FARMACOGNOSIA
Coletânea Científica

ORGANIZADORES

Gustavo Henrique Bianco de Souza
João Carlos Palazzo de Mello
Norberto Peporine Lopes

EDITORA UFOP

Gustavo Henrique Bianco de Souza

João Carlos Palazzo de Mello

Norberto Peporine Lopes

Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo - USP (2005). Graduado em Farmácia Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1998), mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo (2001). Iniciou pós-doutoramento na Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, no Instituto de Química (IQ-UNESP), em janeiro de 2006; e, em seguida, no mês de maio do mesmo ano, ingressou como professor-adjunto da disciplina Farmacognosia da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Experiência na área de Farmácia, com ênfase em Produtos Naturais. Atualmente, ocupa a função de presidente do Conselho Editorial da UFOP e de colaborador como avaliador de publicações em periódicos da área de produtos naturais.

Doutor em Ciências Naturais pela Universität Münster, Alemanha (1995). Graduado em Farmácia pela Universidade Estadual de Maringá (1983), mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1989). Atualmente, é professor-associado em Farmacognosia da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Orientou 22 dissertações de mestrado, 3 teses de doutorado, além de ter orientado trabalhos de iniciação científica e trabalhos de conclusão de curso em Farmácia. Tem experiência na área de Farmácia, com ênfase em Fitoquímica, atuando principalmente nos seguintes temas: taninos condensados (isolamento e identificação estrutural), atividade antimicrobiana, atividade antiviral, ação cicatrizante, atividade antioxidante de extratos e substâncias isoladas de Paullinia cupana, Stryphnodendron adstringens, Stryphnodendron obovatum, Stryphnodendron polyphyllum, Guazuma ulmifolia, Maytenus ilicifolia, Croton echioides, Trichilia catigua, Caesalpinia peltophoroides, dentre outras da biodiversidade brasileira. Além dos temas acima, trabalha também em processos de validação de extratos vegetais. Foi coordenador do Programa de Pós-Graduação em CIências Farmacêuticas da UEM, é membro associado da Sociedade Brasileira de Farmacognosia, da Associação Brasileira de Ciências Farmacêuticas e da Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, da Alemanha. Atualmente, é membro suplente no CA-Farmácia do CNPq.

Doutor em Química (Química Orgânica) pela Universidade de São Paulo - USP (1997). Atualmente, é professor-titular da mesma instituição. No exterior, desenvolveu pesquisas em 3 especializações de longa duração nas Universidades de Tübingen (Alemanha), Estado de Washington (Estados Unidos) e Bristol (Inglaterra). No ano de 2000, realizou estágio de pós-doutoramento em espectrometria de massas de produtos naturais na Universidade de Cambridge (Inglaterra). No ano de 2009, iniciou atividade como professor-convidado em Espectrometria de Massas na Universidade de Münster (Alemanha). Publicou 145 artigos, em periódicos especializados e 207 trabalhos em anais de eventos. Participou do desenvolvimento de três produtos tecnológicos. Participou de 77 eventos realizados (Brasil e exterior). Orientou 12 dissertações de mestrado, 6 teses de doutorado, além de ter orientado trabalhos de iniciação científica e trabalhos de conclusão de curso, nas áreas de Química e Farmácia. Recebeu 8 prêmios e/ou homenagens. Atua na área de Química, com ênfase em Química dos Produtos Naturais e Espectrometria de Massas. Em suas atividades profissionais, interagiu com 240 colaboradores em coautorias de trabalhos científicos.

FARMACOGNOSIA

Coletânea Científica

FARMACOGNOSIA
Coletânea Científica

Gustavo Henrique Bianco de Souza
João Carlos Palazzo de Mello
Norberto Peporine Lopes

ORGANIZADORES

EDITORA UFOP

Ouro Preto | 2011

UFOP
Universidade Federal
Ouro Preto

Reitor | João Luiz Martins
Vice-Reitor | Antenor Rodrigues Barbosa Junior

EDITORA UFOP

Diretor-Presidente | Gustavo Henrique Bianco de Souza
Assessor Especial | Alvimar Ambrósio

CONSELHO EDITORIAL

Adalgimar Gomes Gonçalves
André Barros Cota
Elza Conceição de Oliveira Sebastião
Fábio Faversani
Gilbert Cardoso Bouyer
Gilson Ianinni
Gustavo Henrique Bianco de Souza
Carla Mercês da Rocha Jatobá Ferreira
Hildeberto Caldas de Sousa
Leonardo Barbosa Godefroid
Rinaldo Cardoso dos Santos

APOIO

inct-if
INSTITUTO NACIONAL
de CIÊNCIA e TECNOLOGIA
para INOVAÇÃO FARMACÊUTICA

Dedicatória

A todos os
(co)autores que contribuiram
para a efetivação dessa publicação.

Ao INCT_if/CNPq,
Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia,
pelo estímulo e financiamento.

À EDUFOP,
Editora da Universidade
Federal de Ouro Preto.

© EDUFOP

Coordenação Editorial
Gustavo Henrique Bianco de Souza

Projeto Gráfico / Capa
Alvimar Ambrósio

Revisão
Magda Salmen, Rosângela Maria Zanetti e Fátima Lisboa

Revisão Técnica
Organizadores

Editoração Eletrônica
Autores

Fotografia / Capa
De Laia / UFOP

FICHA CATALOGRÁFICA

F233 Farmacognosia : coletânea científica / Gustavo Henrique Bianco de Souza, João Carlos Palazzo de Mello, Norberto Peporine Lopes, (organizadores). - Ouro Preto : UFOP, 2011.
372p.: il. color.; tabs.; grafs.; mapas.

1. Farmacognosia - Pesquisa. 2. Farmacognosia - Ensino. I. Lopes, Norberto Peporine. II. Souza, Gustavo Henrique Bianco de. III. Mello, João Carlos Palazzo de. IV. Título.

CDU: 615.3(045) ISBN 978-85-288-0270-2

Catalogação: sisbin@sisbin.ufop.br

Reprodução proibida Art. 184 do Código Penal e Lei 9.610 de fevereiro de 1998.
Todos os direitos reservados à

Editora UFOP
http//:www.ufop.br *E-mail*: editora@ufop.br
Tel.: 31 3559-1463 Telefax.: 31 3559-1255
Centro de Vivência | Sala 03 | *Campus* Morro do Cruzeiro
35400.000 | Ouro Preto | MG

Agradecimentos

A todos os
(co)autores que contribuiram para
a efetivação dessa publicação.

Boldo – *Peumus boldus* Molina

Sumário

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

SUMÁRIO

19

FITOCOSMÉTICOS
André Gonzaga dos Santos, Hérida Regina Nunes Salgado, Marcos Antonio Corrêa, Marlus Chorilli, Raquel Regina Duarte Moreira, Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro, Vera Lucia Borges Isaac

69

VINTE E CINCO ANOS DE PESQUISAS NOS LABORATÓRIOS DE FARMACOGNOSIA DA FACULDADE DE FARMÁCIA – UFRGS
Amélia Teresinha Henriques, Gilsane Lino von Poser, José Angelo Silveira Zuanazzi, Miriam Anders Apel, Stela Maris Kuze Rates

117

POTENCIAL TERAPÊUTICO DE ALGUMAS PLANTAS MEDICINAIS DA FLORA CATARINENSE

Alexandre Bella Cruz, Angela Malheiros, Angélica Couto Garcia, Christiane Meyre-Silva, Nara Lins Meira Quintão, Rivaldo Niero, Ruth Meri Lucinda Silva, Sergio Faloni de Andrade, Tania Mari Bellé Bresolin, Valdir Cechinel Filho

157

ENSAIOS BIOLÓGICOS UTILIZADOS NA PESQUISA DE PRODUTOS NATURAIS

Cláudia Alexandra de Andrade, Josiane de Fátima Gaspari Dias, Marilis Dallarmi-Miguel, Michel Otuki, Obdulio Gomes Miguel, Paulo Roberto Wunder, Roberto Pontarolo, Sandra Maria Warumby Zanin, Silvana Krychak-Furtado

177

FARMACOBOTÂNICA E ATIVIDADE ANTIÚLCERA DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS

Edna Tomiko Myiake Kato, Elfriede Marianne Bacchi, Leandro Santoro Hernandes

197

LEGISLAÇÃO QUE INCIDE SOBRE COLETA, ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO E AOS CONHECIMENTOS TRADICIONAIS ASSOCIADOS

Fernanda Alvares da Silva

219

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DE MONOTERPENOS

Adriana Gibara Guimarães, Aldeidia Pereira de Oliveira, Eurica Adélia Nogueira Ribeiro, Fladmir de Sousa Claudino, Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida, Julianeli Tolentino de Lima, Leonardo Rigoldi Bonjardim, Luciano Augusto de Araujo Ribeiro, Lucindo José Quintans-Júnior, Márcio Roberto Viana Santos, Xirley Pereira Nunes

251

PLANTAS MEDICINAIS DA FLORA BRASILEIRA UTILIZADAS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Aldeidia Pereira de Oliveira, Eurica Adélia Nogueira Ribeiro, Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida , Lucindo José Quintans-Júnior, Márcio Roberto Viana Santos

271

VALIDAÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

Maria Cristina Marcucci

295

POTENCIALIDADES DO CERRADO COMO FONTE DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS E DE ESPÉCIES MEDICINAIS PARA O DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS

Rachel Oliveira Castilho, Fernão Castro Braga

319

PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS POPULARMENTE NO BRASIL PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER

Eduardo Antônio Ferreira, Eduardo Benedetti Parisotto, Fernanda Biscaro, João Francisco Gomes Correia, Karina Bettega Felipe, Maicon Roberto Kviecinski, Mirelle Sifroni Farias, Nádia Cristina Falcão Bücker, Rozangela Curi Pedrosa, Tania Mara Fisher Günther

339

EXTRATO SECO VEGETAL E PRODUTOS DERIVADOS

Luiz Alberto Lira Soares, Tatiane Pereira de Souza

361

PESQUISADORES

Relação de Autores

F A R M A C O G N O S I A

Coletânea Científica

Babosa – *Aloe vera*

FITOCOSMÉTICOS

André Gonzaga dos Santos
Hérida Regina Nunes Salgado
Marcos Antonio Corrêa
Marlus Chorilli
Raquel Regina Duarte Moreira
Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro
Vera Lucia Borges Isaac

INTRODUÇÃO

O uso das plantas em Cosmetologia fez aparecer uma terminologia específica para designar o ramo da Cosmetologia que trata do estudo e da utilização de substâncias de origem vegetal empregadas para manutenção e/ou promoção da beleza da pele, a Fitocosmética. Do grego, *phyton* – planta e *kosmein* – cosméticos, o fitocosmético tem sido procurado cada vez mais pelo consumidor, na busca pelo natural (ISAAC *et al.*, 2008). Valfré, em 1990, definiu a Fitocosmética como o segmento da ciência cosmética que se dedica ao estudo e à aplicação dos conhecimentos da ação dos princípios ativos extraídos de espécies do reino vegetal, em proveito da higiene, da estética, da correção e da manutenção de um estado normal (eudérmico) da pele.

Da mesma forma, apareceu também a designação de Cosmético Natural, que pode ser entendido como o produto que contém substâncias encontradas na natureza, sem tratamento, o que não é muito interessante, já que podem ser ins-

táveis do ponto de vista químico, físico e microbiológico (ISAAC *et al*., 2008).

O cosmético natural pode, também, ser entendido como sendo aquele produto que não contém substâncias resultantes de síntese química, embora possa conter conservantes sintéticos. Por outro lado, mesmo com dificuldades para designar corretamente esses novos termos, é preciso reconhecer uma crescente utilização de produtos de origem vegetal, o que fomentou o uso e o estudo para descoberta de novos ativos e sua atuação na pele. Assim, o cosmético natural pode ser entendido como aquele produto que contenha extrato ou óleo vegetal, como ativos, lembrando sempre aquela analogia equivocada do que é natural faz bem (CHARLET, 1996).

Há milhares de anos, o homem vem utilizando os recursos da flora no tratamento de diversas patologias. Gurib-Fakim (2006) afirma que os primeiros registros sobre a utilização de plantas foram escritos em placas de argila, oriundas da Mesopotâmia, e datados por volta de 2600 a.C. Dentre as substâncias que eram usadas estão óleos de *Cedrus* Trew species (Cedar) e *Cupressus sempervirens* L. (Cypress), *Glycyrrhiza glabra* Torr. (Licorice), *Commiphora* Jacq. species (Myrrh) e *Papaver somniferum* L., todos ainda utilizados para o tratamento da indisposição e mal-estar advindos desde tosses e resfriados até infecções parasitárias e inflamações.

No ano 78 d.C., o botânico grego Pedanios Dioscorides descreveu cerca de 600 plantas medicinais, além de produtos minerais e animais no tratado *De materia medica*. Esse tratado permaneceu como fonte de referência por mais de quatorze séculos. Foi através da observação e da experimentação pelos povos primitivos que as propriedades terapêuticas de determinadas plantas foram sendo descobertas e propagadas de geração em geração, fazendo parte da cultura popular (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

No século XVI, o médico suíço Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, conhecido como Paracelsus (1493-1541), formulou a "Teoria das Assinaturas", baseada no provérbio latim *similia similibus curantur,* "semelhante cura semelhante". Com essa teoria, acreditava-se que a forma, a cor, o sabor e o odor das plantas estavam relacionados com as suas propriedades terapêuticas, podendo dar indícios de seu uso clínico. Algumas dessas plantas passaram a fazer parte das farmacopeias alopáticas e homeopáticas a partir do século XIX, quando se começaram a investigar suas bases terapêuticas (ELVIN-LEWIS, 2001).

O isolamento da morfina da *Papaver somniferum* L.*,* em 1803, pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sertürner, marcou o início do processo de extração de princípios ativos de plantas. A partir de então, outras substâncias foram isoladas, como, por exemplo, a quinina e a quinidina obtidas da *Cinchona* spp, em 1819, e a atropina da *Atropa belladonna* L.*,* em 1831, que passaram a ser utilizadas em substituição aos extratos vegetais (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

Assim, a produção de fármacos via síntese química, o crescimento do poder econômico das indústrias farmacêuticas e a ausência de comprovações científicas de eficácia das substâncias de origem vegetal aliada às dificuldades de controle químico, físico-químico, farmacológico e toxicológico dos extratos vegetais até então utilizados impulsionaram a substituição desses por fármacos sintéticos (RATES, 2001).

Após a década de 1960, observou-se, então, um desinteresse da indústria farmacêutica e dos institutos de pesquisa pela busca de novas substâncias de origem vegetal, por se acredi-

tar que já haviam sido isoladas as principais substâncias ativas das drogas vegetais conhecidas, bem como já haviam sido realizadas todas as possíveis modificações químicas de interesse dessas substâncias. Entretanto, a partir dos anos 1980, os avanços técnicos e o desenvolvimento de novos métodos de isolamento de substâncias ativas a partir de fontes naturais permitiram maior rapidez na identificação de substâncias em amostras complexas como os extratos vegetais, ressurgindo o interesse pela pesquisa dessas substâncias como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos.

Assim, mesmo com o desenvolvimento de grandes laboratórios farmacêuticos e dos fármacos sintéticos, as plantas medicinais permaneceram como forma alternativa de tratamento em várias partes do mundo. Observou-se, nas últimas décadas, a revalorização do emprego de preparações à base de plantas, mas o novo avanço, longe de ser uma volta ao passado, caracteriza-se pela busca de produção em escala industrial, diferentemente das formas artesanais que caracterizaram os estágios iniciais de sua utilização (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65 – 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde. Ainda, ao longo do tempo, têm sido registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais. Apesar da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Esses motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2005).

Nos países em desenvolvimento, bem como nos mais desenvolvidos, os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam a cada dia. Os ervanários prometem saúde e vida longa, com base no argumento de que plantas usadas há milênios são seguras para a população. Nos Estados Unidos e na Europa, entretanto, há mais controle no registro e na comercialização dos produtos obtidos de plantas. Nesses países, as normas para a certificação e o controle de qualidade de preparações vegetais são mais rígidos. Já no Brasil, as plantas da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Muitas vezes essas plantas são, inclusive, empregadas para fins diferentes daqueles utilizados pelos silvícolas. Comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas pode parecer trivial, o que, entretanto, não é verdade. É, sim, um problema sério de saúde pública. Os efeitos adversos, possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica com outras substâncias ocorrem comumente (VEIGA JÚNIOR *et al.*, 2005).

Assim, a prática da utilização de plantas de forma segura encontra uma série de dificuldades, que vão desde a identificação correta do material botânico utilizado à quase inexistência de estudos de segurança, eficácia e qualidade de grande parte das plantas, uma vez que as pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas

de produtos naturais (ROCHA *et al.*, 2004).

Como atualmente ainda grande parte da comercialização de plantas e extratos ou óleos vegetais é feita em farmácias e lojas de produtos naturais, onde preparações vegetais são comercializadas com rotulação industrializada e, em geral, essas preparações não possuem certificado de qualidade e são produzidas a partir de plantas cultivadas, este capítulo abordará os compostos ativos, sua utilização em cosméticos, uma introdução ao controle de qualidade de matérias-primas vegetais e de produtos acabados contendo extratos ou óleos vegetais, além das técnicas de identificação e monitoramento de sua constituição química descritas em Farmacopeias e Códigos oficiais, os testes empregados nos ensaios de controle de qualidade para o produto acabado, além de uma série de formulações cosméticas empregando ativos encontrados nas plantas, na obtenção de diferentes tipos de fitocosméticos.

As matérias-primas naturais utilizadas para fabricação/manipulação de produtos cosméticos apresentam vantagens e desvantagens, em relação às sintéticas, tais como:

* os produtos naturais são misturas de um grande número de componentes químicos. Isso pode representar uma enorme dificuldade para o controle de qualidade ou, então, para atribuir a ação a um determinado constituinte;

* os produtos naturais são difíceis de padronizar, em função de seus vários componentes, que fornecem um espectro não definido; assim, uma só substância é considerada, em geral a predominante, para sua padronização, sem considerar os demais componentes; entretanto, a atividade atribuída ao extrato pode ser devida à ação conjunta de dois ou mais constituintes da mesma planta;

* os produtos naturais geralmente apresentam composição variada em função do clima ou da época da coleta ou mesmo da qualidade da terra, o que pode dificultar o emprego dessa planta como fonte de recursos naturais para elaboração de fitocosméticos, por não estar garantida a mesma constituição qualitativa;

* os produtos naturais podem sofrer contaminação por pesticidas, uma vez que, no Brasil, o uso desses produtos químicos ainda é prática costumeira;

* os produtos naturais podem conter substâncias tóxicas, cancerígenas e alergizantes, que não foram identificadas em função da grande quantidade de substâncias presentes nos extratos vegetais;

* os produtos naturais apresentam atividade consagrada, uma vez que sua ação é popularmente conhecida há tempos. Esse conhecimento pode levar a estudos mais aprofundados – traduzidos em dissertações e teses, para comprovação de sua eficácia e segurança;

* os produtos naturais têm sua disponibilidade limitada e sempre sujeita a flutuações. Essa disponibilidade está relacionada à sustentabilidade e as flutuações são decorrentes de intempéries.

Em contrapartida, é possível dizer, a respeito dos produtos sintéticos:

* são mais baratos. Isso pode ser exemplificado com o óleo essencial extraído das flores do jasmim, para fabricação de perfumes: um caminhão de flores fornece cerca de 40ml

de óleo essencial. Após o investimento da pesquisa para a síntese dessa composição aromática, o custo de 40ml representaria bem menos que o custo apresentado pelo caminhão cheio de flores;

* podem apresentar várias atividades, originando fitocosméticos multifuncionais, bastante requisitados pelo mercado consumidor atual;

* podem ter fabricação seletiva, para fins específicos. Isso permite a definição, exata, da atividade do fitocosmético proposto;

* podem ter sua ação ou efeito secundário identificados com maior facilidade, uma vez que os contaminantes presentes em decorrência da síntese química são mais facilmente identificados;

* apresentam qualidade constante, obtida pela rigorosa produção aliada à fácil repetibilidade da rota de síntese;

* exigem tempo de pesquisa e apresentam um custo elevado para serem autorizados como novos produtos, em função da necessidade de comprovação da segurança e eficácia; porém, ao ser aprovados, possibilitam a fabricação dos fitocosméticos de qualidade assegurada (CHARLET, 1996).

Os ativos cosméticos de origem vegetal devem apresentar disponibilidade, ou seja, devem estar disponíveis em função de sua incorporação no veículo/excipiente. Devem, também, apresentar uma ação, seja em função de sua permeação cutânea, proteção à pele ou mesmo por permanecer na superfície da pele.

A natureza dos ativos cosméticos de origem vegetal pode ser hidrossolúvel, tais como os extratos vegetais, e lipossolúvel, como os óleos vegetais. Os extratos vegetais podem ser obtidos a frio ou a quente, a partir de diversas partes das plantas secas (flores, folhas, caules, raízes) e vários líquidos extratores: álcool, água, glicóis (PEYREFITTE *et al.*, 1998) e misturas entre eles, compatíveis com a formulação e com a pele. Embora a aceitação dessa prática esteja próxima do fim, pela preocupação de não se usar produtos potencialmente irritantes ou tóxicos à pele, em função de insolubilidade de alguma substância ativa nos líquidos extratores ou sua mistura, é possível a utilização de um solvente orgânico para fazer a extração, com posterior evaporação desse produto e consequente suspensão do resíduo em um glicol, obtendo-se, assim, o extrato glicólico, com maior compatibilidade com a pele, independentemente do tipo de glicol: propileno, dipropileno ou dietilenoglicol.

Os óleos vegetais são obtidos por prensagem forte e a frio de grãos moídos (PEYREFITTE *et al.*, 1998) ou, em caso de necessidade, extração com um solvente, sua posterior evaporação e suspensão em óleo, geralmente o de amendoim, abundante, barato e de fácil obtenção no Brasil. Em função dos ativos a serem extraídos, é possível também a obtenção de óleos vegetais por meio da maceração da planta em óleo de amendoim ou em triglicerídeo sintético.

Os extratos vegetais podem ser obtidos por maceração, digestão, infusão, decocção, extração com ultrassom, percolação, extração com Soxhlet, extração por fluido supercrítico, originando extratos totais (preparados a partir da planta integral) e extratos parciais (produzidos pela separação seletiva de determinado constituinte ou faixa de constituintes, por meio físico ou químico de um ou mais órgãos da planta). Os extratos são produzidos, ainda, com

solventes seletivos, para cada um dos grupos de substâncias ativas que se queira extrair (SANTOS, 2006).

As propriedades de um extrato derivado de um produto natural podem ser controladas usando o processamento com fluido supercrítico. Essas propriedades, como ponto de fusão, cor e odor do extrato, podem ser totalmente modificadas pelo ajuste do processo de extração (KING, 1992).

A concentração dos extratos vegetais usualmente empregadas nas formulações cosméticas varia em torno de 0,1 a 5%, podendo atingir de 15 até 20% para aquelas preparações cujo tempo de aplicação é muito curto, como, por exemplo, máscaras faciais aplicadas e retiradas em um intervalo de tempo entre 20 e 30 minutos. A concentração escolhida deve considerar, também, a natureza do líquido extrator e sua compatibilidade com a pele e com a formulação. Por isso, quando seus ativos forem termolábeis, os extratos devem ser incorporados no produto pronto, a frio, após o preparo das formulações que necessitam de aquecimento. Os óleos vegetais geralmente são incorporados na concentração de 0,1 a 8%, na fase oleosa da preparação ou em formulações de natureza aquosa, quando apresentarem hidrossolubilidade pela reação com óxidos de etileno.

Em 1989, Caramês propõe o uso de algas marinhas em cosméticos, sugerindo formulações de produtos anticelulite, produtos hidratantes e amaciantes, e cosméticos para o tratamento do cabelo. O autor afirma ainda que os extratos de algas apropriadamente escolhidos e adequadamente formulados oferecem grandes potencialidades no desenvolvimento de uma grande variedade de produtos cosméticos.

Em 1999, Barreto estudou o papel das algas no rejuvenescimento cutâneo, como nova alternativa de benefícios para os cosméticos. Este estudo afirma que o uso de um vetor sinérgico, como extrato de algas rico em polissacarídeos sulfatados, pode ser substituto dos alfa-hidróxi-ácidos, altamente irritantes em concentrações elevadas e, consequentemente, baixos pHs. Assevera ainda que a migração de molécula altamente polar do hidróxi-ácido através das dobras poliméricas está relacionada à ligação de hidrogênio, regulando a penetração na pele e permitindo esfoliação, sem efeitos colaterais.

Em 2003, Briand relatou que os cosméticos azuis ou ingredientes marinhos passaram de mitos para realidades científicas. O vegetal marinho, anteriormente conhecido como alga, foi usado principalmente em esforços de *marketing* até os anos 90. Desde então, sua atividade evoluiu para comprovar sua verdadeira eficácia. A alga deixou seu micromercado e vem fazendo parte das matérias-primas usadas pela indústria internacional de cosméticos. No geral, substâncias algáceas caminham para se tornar componentes importantes dos mais verdadeiros cosméticos de cuidado pessoal.

Em 1997, em artigo de revisão enfocando os aspectos do emprego de fitoterápicos na higienização oral, abordando principalmente os óleos essenciais, Nicoletti e colaboradores afirmaram que o reino vegetal é fonte inesgotável de fármacos que podem ser utilizados na terapêutica desde que devidamente estudados sob vários aspectos técnico-científicos com comprovação de sua atividade farmacológica e inocuidade. A utilização de fitoderivados permite grande versatilidade das formulações para higienização oral, podendo colaborar efetiva-

mente na manutenção da integridade da mucosa ou mesmo em sua regeneração. É importante, porém, ressaltar que o sistema utilizado deverá apresentar compatibilidade fisiológica com a cavidade bucal, promovendo a manutenção das propriedades físico-químicas características desse meio (pH, principalmente), que são necessárias à eficácia da defesa natural, não desencadeando o desequilíbrio biológico; caso contrário, os resultados pretendidos com a utilização desses produtos não passarão de meras promessas de fabricantes, como tantas existentes na área cosmética (NICOLETTI, 1997).

Novacoski & Torres, em 2005, propuseram uma mistura de óleos essenciais de *Lavandula officinalis* Chaix (lavanda), *Melaleuca alternifolia* Cheel (melaleuca), *Juniperus virginiana* L. (cedro), *Eugenia caryophyllata* Thunb. (cravo botão) e *Thymus vulgaris* L. (tomilho) para uso como conservantes em cosméticos; entretanto, os resultados obtidos não foram conclusivos, uma vez que o óleo de cedro não apresentou atividade isoladamente, mas foi observado aumento importante da atividade antibacteriana da mistura equitativa dos óleos.

Embora algumas plantas sejam usadas com apelo do emprego de matéria-prima vegetal para atrair consumidores para aqueles cosméticos, muitas já apresentaram atividade cientificamente comprovada, como mostram alguns estudos.

Os consumidores referem-se a cosméticos naturais como produtos relativos a plantas, com extratos vegetais, segundo Muller, 1993, que propõe um cosmético 100% natural, tendo uma visão mais ampla do termo "ingredientes naturais",considerando produtos com características melhoradas de biodegradabilidade, alcançando "beleza sem crueldade" e "beleza sem danos ao meio ambiente".

Em 1995, Bennett e colaboradores avaliaram uma mistura de alfa-hidróxi-ácidos (AHAs) de ocorrência natural e de origem vegetal, com o objetivo de estender o maior leque possível aos seus efeitos benéficos, variando a distribuição das cadeias de carbono. Para isso, identificaram plantas ricas em ácidos glicólico, lático, cítrico, málico e tartárico, respectivamente *Saccharum officinarum* L.*, Vaccinium myrtillus* L., *Citrus sinensis* (L.) Osbeck e *Citrus limonum* Risso*, Acer saccharum* Marshall, cuja mistura continha 12 a 17% de ácido glicólico, 28 a 32% de ácido lático, 2 a 6% de ácido cítrico, no máximo 1% de ácido málico e no máximo 1% de ácido tartárico, com objetivo de avaliar seu efeito sobre a renovação celular. Os autores concluíram, após resultados positivos, que os AHAs de origem botânica não representavam um conceito revolucionário, mas sim um ingrediente natural e balanceado para o tratamento altamente eficaz da pele.

Nesse mesmo ano, Oliveira e Bloise propõem extratos e óleos naturais vegetais funcionais. Os autores indicam aplicações e concentrações usuais de diversos ingredientes naturais, tais como: *Prunus armeniaca* L. (abricot), *Aloe vera* (L.) Burm. f. (aloe vera), *Prunus amygdalus* Batsch (amêndoas doces), *Calendula officinalis* L. (calêndula), *Prunus persica* (L.) Batsch (caroço de pêssego), *Daucus carota* L. (cenoura), *Triticum sativum* Lam. (germe de trigo), *Sesamum indicum* L. (gergelim), *Helianthus annuus* L. (girassol), *Simmondsia chinensis* (Link) C.K. Schneid. (jojoba), *Limnanthes alba* Hartw. ex Benth. (meadowfoam), *Macadamia ternifolia* F. Muell. (noz macadâmia), *Oenothera biennis* L. (prímula), *Ricinus communis* L. (rícino), *Borago officinalis* L. (semente de borragem), *Prunus avium* (L.) L. (semente de cereja), *Papaver somniferum* L. (semente de papoula), *Vitis vinifera* L. (semente de uva), *Bixa orellana* L. (urucum) *Yucca schidigera*

Ortgies (yucca), concluindo que os ingredientes naturais desempenharão um papel proeminente na cosmética nos anos futuros e assegurando que os termos 'natural', 'derivado de natural' e 'de origem natural' tornar-se-ão mais claros, embora naquela época esses mesmos ingredientes pudessem contar com sua própria funcionalidade e desempenho.

No ano 2000, Silva e colaboradores propuseram o óleo de babaçu como um novo adjuvante lipofílico. Obtido do coco da palmeira babaçu, cuja espécie predominante em uma vasta área das regiões norte e nordeste do Brasil é a *Orbignya phalerata* Mart., é considerada a oleaginosa mais produtiva do mundo, uma vez que começa a produzir aos cinco anos de idade e atinge seu ápice em torno de 35 a 40 anos. O óleo apresenta, em sua composição, ácidos graxos de importância cosmetológica, como os ácidos mirístico, palmítico e oleico, que o qualificam como adjuvante lipofílico em emulsões tópicas do tipo óleo em água.

Dweck, em 2002, mostrou que ingredientes naturais podem ser algo mais do que apenas apelos mercadológicos na hora de redigir o texto publicitário que ilustra a embalagem. Boas aplicações da fitoquímica podem justificar o uso de ingredientes vegetais que tragam verdadeiros benefícios para a pele. Santos, em 2006, afirmou que o mercado de extratos vegetais é interessante e que há vários diferentes tipos de extratos vegetais no mercado tanto da biodiversidade local como internacional, bem como extratos em diversas concentrações e *blends* estáveis de vários extratos. Afirmou, também, que, infelizmente, esse ainda não é um mercado plenamente mapeado em termos de volume e faturamento, mas é sabido que cada vez mais produtores de matérias-primas têm-se voltado para esse negócio.

Roque, em 2003, propõe o uso de *Mentha piperita* L. (hortelã) como aliada no combate às irritações pós-barbear. A presença de flavononas conferiu conforto para a pele sensibilizada, através da redução na liberação de mediadores celulares da inflamação (interleucina – 1 alfa e 8, prostaglandina E_8, histamina) e por estimular a produção de neuropeptídeos do bem-estar, as beta-endorfinas. Em painel sensorial, os julgadores responderam a questionários evidenciando benefícios estatisticamente significativos das flavononas da hortelã no alívio da queimação provocada pela lâmina de barbear, proporcionando agradável sensação de frescor e tonicidade à pele.

Oliveira (2003), mostra benefícios interessantes a partir de óleo de maracujá e da manteiga de cupuaçu. Um cosmético contendo óleo de semente de maracujá promoveu diminuição dos níveis de oleosidade da pele evidenciada por alterações significativas ($p<0,05$) da sebumetria após 7 dias, representando uma diminuição de 27%, quando comparado ao óleo mineral, que não alterou a condição de oleosidade no mesmo período de tempo. Com a manteiga de cupuaçu, houve redução significativa dos parâmetros associados à inflamação, como vermelhidão (redução de 26%), redução do ressecamento da pele, com aumento da hidratação (13%) e redução em 27% da perda de água transepidérmica.

Souza e colaboradores (2005) estudaram a atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae), concluindo que os extratos das flores e folhas não foram efetivos para o preparo de um produto fotoprotetor, uma vez que os comprimentos de onda da máxima absorção apresentados por esses extratos não corresponderam aos comprimentos de onda das radiações ultravioleta A e B.

Salvagnini e colaboradores avaliaram a eficácia de conservantes associados a extrato de

Achillea millefolium L. contra *Bacillus subtilis,* um microrganismo que frequentemente aparece como contaminante em extratos, embora não cause nenhum dano. A eficácia antimicrobiana de conservantes empregados em formulações cosméticas foi avaliada usando Phenova® e Imidazolinidil ureia, que inibiram o crescimento de *Bacillus subtilis* no extrato de *Achillea millefolium* L. e Nipagin®/ Nipasol® 0,2% em propilenoglicol não apresentaram efeito microbicida (Salvagnini *et al*., 2006).

Priest, em 2006, relata que, nos últimos 20 anos, o uso de ingredientes de origem natural em cosméticos ganhou popularidade rapidamente, sendo incluídos nas formulações para agregar bioatividade, funcionalidade e apelo de *marketing*. Ele propõe o uso de óleo de chá australiano, óleo essencial produzido por destilação de vapor das folhas de *Melaleuca alternifolia* Cheel, planta nativa na costa leste da Austrália, contendo, como componente ativo, o terpineno-4-ol, na concentração de 40%, que atua como antibacteriano, antifúngico e anti-inflamatório. Entretanto, pelo seu forte odor, seu uso era restrito, até o surgimento de um derivado, com odor reduzido, obtido por processo de destilação fracionada, sem uso de solvente, que separa e concentra o terpineno-4-ol, conferindo propriedade anti-irritante, tornando-o adequado a peles sensíveis tanto para produtos que permanecem como para os que são removidos da pele.

Souza e colaboradores (2006) estudaram o potencial antimicrobiano de extratos de *Achillea millefolium* L. e concluíram que eles não apresentaram resultados positivos.

As espécies pertencentes ao gênero *Stryphnodendron*, conhecidas como "barbatimão", são nativas do cerrado brasileiro. Possuem taninos como metabólitos secundários primordiais de suas cascas apresentando, dentre outras, atividade antimicrobiana e cicatrizante. A concentração bactericida mínima (CBM) do extrato seco das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville frente a duas bactérias Gram-positivas e uma bactéria Gram-negativa foi determinada pela técnica de diluição em tubos por Souza e colaboradores (2007). A atividade antimicrobiana do extrato seco e a atividade antisséptica de sabonete líquido contendo o extrato seco estudado foram avaliadas pelo método de difusão em ágar. O extrato apresentou valores de concentração bactericida mínima de 50mg/mL frente a *Staphylococcus aureus* e 75mg/mL contra *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* e, no teste de difusão em ágar, *S. aureus* apresentou maior sensibilidade ao extrato seco que as outras bactérias. O sabonete líquido mostrou maior eficiência na atividade antisséptica contra as bactérias testadas na concentração de 100 mg de extrato/mL de sabonete.

Galhardo e colaboradores (2007) estudaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L, para cosméticos a serem empregados na cavidade bucal bem como avaliaram a interferência da época de coleta das folhas na qualidade do óleo, em relação ao potencial inibitório de crescimento microbiano de microrganismos da cavidade bucal. Por meio dos resultados obtidos na avaliação antibacteriana, os autores concluíram que os óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. estudados apresentaram atividade antibacteriana e que a época do ano em que foram coletadas as folhas para a extração do óleo não apresentou influência no poder de inibição. A partir desses resultados, os autores propõem o desenvolvimento de formulações de enxaguatório bucal e pasta dentifrícia contendo o óleo essencial de pitanga e propõem, também, avaliar a atividade antibacteriana do óleo incorporado a essas formulações para verificar se o óleo essencial de pitanga poderia ser utilizado como uma alternativa ao uso da clorhexidina.

Iha e colaboradores, em 2008, realizaram estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) para avaliar o potencial antioxidante visando ao desenvolvimento de formulação fitocosmética. Considerando a qualidade dos fitoterápicos, é importante salientar que a preocupação com essa questão incluiu rigoroso acompanhamento das diferentes etapas do desenvolvimento e produção, desde a coleta do vegetal até a disponibilidade do produto final. Nesse trabalho, os autores realizaram o controle da qualidade, avaliaram o potencial antioxidante como também realizaram ensaios biológicos *in vitro* do fruto da goiabeira (*Psidium guajava* L.) para o desenvolvimento de uma formulação fitocosmética. Os resultados mostraram que o fruto apresenta taninos e flavonoides bem como atividades antioxidante e antimicrobiana. A análise microbiológica não apresentou crescimento de patógenos na formulação desenvolvida entre os outros testes realizados. Destaca-se, nesse estudo, a importância do estabelecimento do controle da qualidade para as plantas, a fim de que sejam utilizadas para o desenvolvimento de uma formulação fitocosmética segura, eficaz e de qualidade.

Cefali e colaboradores, em 2009, avaliaram o potencial do tomate salada como fonte alternativa de antioxidante para uso tópico. O objetivo do estudo foi obter um extrato rico em licopeno através da polpa desse tomate. O extrato foi analisado utilizando os métodos de espectroscopia no ultravioleta/visível, cromatografia de camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência. A atividade antioxidante do extrato foi avaliada utilizando o método do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). Foi identificada a presença de licopeno na polpa do tomate salada e o extrato apresentou uma fração apolar rica em carotenoides referente a 96,70% de licopeno. Na avaliação da atividade antioxidante usando o radical DPPH, o extrato apresentou atividade (IC_{50} de 0,311 mg/mL). Nesse estudo, os autores concluíram que o tomate salada é uma fonte rica em licopeno e pode ser utilizado como antioxidante para uso tópico.

Migliato e colaboradores, em 2009, verificaram a atividade antibacteriana de sabonete líquido contendo extrato glicólico de *Dimorphandra mollis* Benth., conhecido como falso barbatimão. Essa planta é utilizada topicamente como cicatrizante, adstringente e antimicrobiano. No estudo, foi verificada a atividade antibacteriana de sabonete líquido contendo extrato glicólico de *D. mollis* (EGD) em diferentes concentrações (8, 15 e 20%) e em diferentes pHs (6 e 8). Muitas vezes a atividade antibacteriana de extratos vegetais incorporados em formulações é dose-dependente. Assim, foram empregadas concentrações aleatórias de extrato glicólico, trabalhando numa faixa de concentração de extrato relativamente alta (8 a 20%) e procurando garantir que a proposta do sabonete líquido antisséptico fosse positiva. Outro fator a ser considerado diz respeito aos problemas técnicos em relação ao sabonete líquido. Concentrações superiores às escolhidas poderiam afetar a estrutura da fórmula e comprometer a capacidade espumógena da preparação e interferir negativamente sobre a viscosidade. Os autores observaram que o sabonete líquido contendo o EGD, de acordo com o ensaio de difusão em ágar realizado em triplicata, independentemente da concentração e do pH empregados, não apresentou atividade antibacteriana.

Hubinger (2010) avaliou o potencial antioxidante de *Dimorphandra mollis* Benth. O objetivo do estudo foi obter um extrato rico em flavonoides a partir dos frutos de *D. mollis*. Ricos nos flavonoides rutina e quercetina, compostos com elevada atividade antioxidante, os

frutos desse vegetal podem ser utilizados na prevenção de enfermidades causadas por radicais livres. O extrato foi analisado utilizando os métodos de doseamento por espectrofotometria (teor de flavonoides totais de 33,71%) e cromatografia líquida de alta eficiência. O extrato apresentou, ainda, ação antioxidante favorável frente aos radicais DPPH e ABTS.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS

Os parâmetros da qualidade para fins farmacêuticos são, em princípio, estabelecidos nas Farmacopeias e Códigos oficiais. No caso das matérias-primas vegetais oriundas de plantas clássicas, ou seja, aquelas estudadas tanto do ponto de vista químico, quanto farmacológico, existem monografias definindo critérios de identidade, de pureza e de teor de constituintes químicos. Dependendo da origem vegetal, podem ser utilizadas, além da Farmacopeia Brasileira, outras farmacopeias como, por exemplo, Farmacopeia Alemã, Farmacopeia Americana, Farmacopeia Argentina, Farmacopeia Britânica, Farmacopeia Europeia, Farmacopeia Francesa, Farmacopeia Internacional (OMS), Farmacopeia Japonesa, Farmacopeia Mexicana e Farmacopeia Portuguesa (BRASIL, 2009). Ainda, quando uma planta a ser usada ou estudada não consta em uma farmacopeia atualizada, é essencial que o usuário dessa planta como matéria-prima elabore uma monografia estabelecendo seus padrões de qualidade. Assim, a qualidade adequada das matérias-primas deve ser realizada de acordo com bases científicas e técnicas. Nos procedimentos rotineiros de análise da qualidade, geralmente é preconizado o emprego de metodologias químicas, físicas ou físico-químicas e biológicas, sendo necessária a correlação entre os parâmetros analisados e a finalidade a que se destina. Estabelecidos estes critérios, o emprego de protocolos de análise, permitindo o acompanhamento e a documentação de todos os procedimentos, é fundamental para assegurar e o gerenciar a qualidade (SIMÕES *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2010).

CONTROLE DE QUALIDADE DE FORMULAÇÕES FITOCOSMÉTICAS

Um fitocosmético deve passar por todas as etapas de pesquisa: proposição, criação e desenvolvimento, incluindo os testes de estabilidade, para assegurar a atividade durante toda sua vida útil (ISAAC *et al.*, 2008).

A estabilidade é um parâmetro de validação muito pouco descrita em normas de validação de metodologia analítica (VILEGAS & CARDOSO, 2007), mas necessária para assegurar a qualidade do fitocosmético, desde a fabricação até a expiração do prazo de validade. Variáveis relacionadas à formulação, ao processo de fabricação, ao material de acondicionamento e às condições ambientais e de transporte, assim como cada componente da formulação ser ativo ou não, podem influenciar na estabilidade do produto.

As alterações podem ser extrínsecas, ou seja, relacionadas a fatores externos aos quais o produto está exposto (tempo, temperatura, luz e oxigênio, umidade, material de acondicio-

namento e vibração) e intrínsecas, relacionadas à natureza das formulações e, sobretudo, à interação de seus ingredientes entre si e/ou com o material de acondicionamento: incompatibilidade física e incompatibilidade química, como, por exemplo, pH, reações de óxido-redução, reações de hidrólise, interação entre ingredientes da formulação e interação entre ingredientes da formulação e o material de acondicionamento (ISAAC *et al.*, 2008).

TESTES DE ESTABILIDADE

Estabilidade preliminar

O teste de estabilidade preliminar consiste em submeter a amostra a condições extremas de temperatura e realizar os ensaios em relação aos vários parâmetros de acordo com a forma cosmética estudada. O teste de estabilidade preliminar tem a duração de 15 dias, sendo a primeira avaliação realizada no tempo um (t1), que corresponde a 24 horas após a manipulação e/ou produção, para que o produto possa adquirir viscosidade e consistência final após sua maturação. As outras avaliações devem ser realizadas diariamente, durante toda a duração do teste. Alguns dos parâmetros a serem analisados para cada amostra são aspecto, cor, odor, pH, viscosidade, densidade, condutividade elétrica e devem ser apresentados como a média aritmética dos valores obtidos dos testes realizados em triplicata (BRASIL, 2004; ISAAC *et al.*, 2008).

Estabilidade acelerada

Este teste tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento (BRASIL, 2004). Emprega condições não extremas e serve como auxiliar na determinação da estabilidade da formulação. É um estudo preditivo e pode ser usado para estimar o prazo de validade, mas pode ser empregado, ainda, quando houver mudanças na composição ou no processo de fabricação, na embalagem primária ou para validar equipamentos e, também, no caso de fabricação terceirizada. As amostras devem ser acondicionadas em frascos de vidro neutro ou na embalagem a ser acondicionadas como produto final, o que pode antecipar a avaliação da compatibilidade entre a formulação e a embalagem. É importante que a quantidade de produto seja suficiente para as avaliações necessárias e que o volume total da embalagem não seja completado, sendo respeitado um terço da capacidade da embalagem para possíveis trocas gasosas. O teste de estabilidade acelerada tem duração de 90 dias, embora possa ser estendido para seis meses ou um ano, em função das características do produto a ser analisado. As amostras devem ser submetidas a aquecimento em estufas, resfriamento em refrigeradores, exposição à radiação luminosa e ao ambiente, com controle da temperatura e analisadas em relação aos vários parâmetros de acordo com a forma cosmética estudada (BRASIL, 2004; ISAAC *et al.*, 2008).

Teste de prateleira

A amostra, acondicionada em embalagem apropriada e mantida em temperatura ambiente, deve ser analisada periodicamente, até o término do prazo de validade, em relação aos vários parâmetros de acordo com a forma cosmética estudada.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS

Os parâmetros a serem avaliados nos ensaios de estabilidade devem ser definidos e dependerão não só das características do produto como também dos componentes da formulação e, principalmente, da forma cosmética. Podem ser classificados em organolépticos, físico-químicos e microbiológicos. Um cuidado a ser tomado é com os ensaios realizados que devem, de fato, representar o conjunto de parâmetros que avaliem a estabilidade do produto.

Centrifugação

Em tubo de ensaio para centrífuga, cônico, graduado, de 10g de capacidade, devem ser pesados, em balança semianalítica, cerca de 5g da amostra a ser analisada, os quais devem ser submetidos a rotações crescentes de 980, 1800 e 3000rpm, em centrífuga, durante quinze minutos em cada rotação, à temperatura ambiente (IDSON, 1988; IDSON, 1993a; IDSON, 1993b; RIEGER, 1996). A não ocorrência de separação de fases não assegura sua estabilidade, somente indica que o produto pode ser submetido, sem necessidade de reformulação, aos testes de estabilidade (ISAAC *et al.*, 2008).

Estresse térmico

Em embalagem adequada, semelhante àquela a ser usada para a comercialização do produto cosmético, 10g da amostra devem ser submetidos a condições extremas de temperatura, como 5 ºC e 45 ºC, para detecção de sinais de instabilidade a mudanças de temperaturas e sob manutenção de temperaturas baixas e elevadas por um determinado intervalo de tempo. A não ocorrência de separação de fases deve ser indicativa de estabilidade do produto ensaiado (ISAAC *et al.*, 2008).

Ciclos de congelamento e descongelamento

Em embalagem adequada, semelhante àquela a ser usada para a comercialização do

produto cosmético, cerca de 10g da amostra devem ser submetidos a condições extremas de temperatura, nos chamados ciclos, sendo considerados para efeito de estudo de estabilidade preliminar a realização de, pelo menos, seis ciclos. Os ciclos de congelamento e descongelamento alternam 24 horas em temperaturas elevadas e 24 horas em temperaturas baixas, sendo recomendados os seguintes conjuntos: ambiente e –5±2 ºC; 40±2 ºC e 4±2 ºC; 45±2 ºC e –5±2 ºC e 50±2 ºC; –5±2 ºC (BRASIL, 2004, ISAAC *et al.*, 2008).

Exposição à radiação luminosa

Em embalagem adequada, semelhante àquela a ser usada para a comercialização do produto cosmético, cerca de 10g da amostra devem ser submetidos a condições extremas de incidência luminosa direta, para detecção de sinais de instabilidade à exposição à luz. A não ocorrência de separação de fases e a não alteração da coloração devem ser indicativas de estabilidade do produto ensaiado (BRASIL, 2004; ISAAC *et al.*, 2008).

Aspecto

A amostra deve ser analisada, em relação ao padrão, a fim de avaliar as características macroscópicas para verificação de sinais de instabilidade. A não ocorrência de separação de fases, de precipitação e de turvação deve ser indicativa de estabilidade da amostra ensaiada. O aspecto pode ser descrito como granulado, pó seco, pó úmido, cristalino, pasta, gel, fluido, viscoso, volátil, homogêneo, heterogêneo, transparente, opaco e leitoso. A amostra pode ser descrita como normal, sem alteração; levemente separada, precipitada, turva; separada, precipitada, turva (ISAAC *et al.*, 2008).

Cor

A colorimetria deve ser realizada pela comparação visual, sob condições de luz branca e espectrofotométrica, pela análise na região espectral do visível, da cor da amostra com a cor do padrão, armazenado nas mesmas condições e embalagem que a amostra. A comparação visual da cor da amostra ensaiada com a cor do padrão deve ser realizada em cerca de 5g da amostra acondicionadas em frascos iguais. A fonte de luz empregada deve ser a luz branca, natural. Cerca de 1,5g da amostra ensaiada diluídas em água destilada, na proporção de 1:1 (p/p) deve ser submetidos à colorimetria espectrofotométrica pela análise da varredura, na região do visível, e comparação com a varredura do padrão. Efeitos hipercrômico e hipocrômico, referentes à intensidade da banda e efeitos batocrômico ou hipsocrômico, referentes à variação no comprimento de onda relativo à máxima absorção, são indicativos de alteração na in-

tensidade da cor ou mesmo modificação da coloração e, portanto, podem ser indicativos de instabilidade. A amostra pode ser classificada, em relação à cor, em normal; sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada (BRASIL, 2004, ISAAC *et al.*, 2008).

Odor

O odor da amostra ensaiada deve ser comparado ao odor do padrão, diretamente pelo olfato. A amostra pode ser classificada, em relação ao odor, em normal, sem alteração, levemente modificado, modificado e intensamente modificado (ISAAC *et al.*, 2008).

pH

A determinação do pH deve ser realizada em uma dispersão aquosa a 10% (p/p) da amostra ensaiada em água recém-destilada, usando potenciômetro digital, avaliando a diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na amostra em estudo (BRASIL, 2004). O eletrodo deve ser inserido diretamente na dispersão aquosa da amostra (DAVIS & BURBAGE, 1997), e valores mantidos entre 5,5 e 6,5, compatíveis com o pH cutâneo, devem ser usados como critério de estabilidade (ISAAC *et al.*, 2008).

Densidade

A densidade relativa é a relação entre a densidade absoluta da amostra e a densidade absoluta de uma substância usada como padrão. Quando a água é utilizada como substância padrão, a densidade determinada é a densidade específica (BRASIL, 2007). A determinação da densidade específica deve ser realizada em picnômetro, acoplado com termômetro, previamente pesado vazio, para determinação da massa do picnômetro vazio. A amostra deve ser inserida no picnômetro e a temperatura deve ser ajustada para 20 ^{o}C, quando, então, o picnômetro deve ser pesado, para determinação da massa do picnômetro com a amostra. A diferença entre a massa do picnômetro com a amostra e do picnômetro vazio é a massa da amostra. A relação entre a massa da amostra e a massa da água, ambas a 20° C, representa a densidade específica da amostra ensaiada (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2001).

Viscosidade

A viscosidade depende das características físico-químicas e das condições de tempe-

ratura do material (BRASIL, 2007). Pode ser determinada em viscosímetro rotativo coaxial, acoplado a banho termostatizado e a computador para uso de *software* específico para o equipamento, que tem como princípio a velocidade de rotação de eixos metálicos imersos no material ensaiado, e consiste na medição do torque requerido para rodar o sensor imerso na amostra. O controle da temperatura e a escolha do sensor são fundamentais para a adequação da leitura. O sensor deve ser mergulhado diagonalmente na amostra, para evitar formação de bolhas. A quantidade adequada de amostra deve ser inserida no dispositivo de amostras; o sensor imerso deve possibilitar, sob velocidades crescentes, a leitura das viscosidades. Podem ser traçadas curvas ascendente e descendente, correspondentes a velocidades crescentes e decrescentes, a fim de serem classificados os sistemas em newtonianos ou não-newtonianos, isto é, que apresentam ou não viscosidades constantes sob qualquer condição (ISAAC *et al.*, 2008).

Espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade da amostra deve ser realizada a partir da leitura dos diâmetros abrangidos pela amostra em um sistema formado por uma placa-molde circular de vidro com orifício central, sobre uma placa suporte de vidro posicionada sobre uma escala milimetrada (KNORST & BORGHETTI, 2006). Cerca de 0,3g de amostra devem ser colocadas entre duas placas de vidro, com 10 X 18cm e 0,5cm de espessura, sendo uma delas disposta sobre um papel milimetrado, colado em uma placa de madeira. A adição de pesos de 250, 500, 750 e 1000g, a cada três minutos, na placa superior, promove o espalhamento do produto, que pode ser medido como extensibilidade, em centímetros (ISAAC *et al.*, 2008).

Análise térmica

A análise térmica deve ser realizada submetendo a amostra à análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria (TG/DTG). A massa da amostra deve ser colocada em cadinho de platina para as análises de TG e DTG e em cadinho de alumínio com tampa perfurada para a análise de DSC. A razão de aquecimento deve ser determinada experimentalmente, em atmosfera de N_2, utilizando uma ampla faixa de temperatura (ISAAC *et al.*, 2008).

Espectrofluorimetria

A espectrofluorescência pode ser empregada para detectar a presença de peróxido por meio de uma sonda que se torna fluorescente na presença de peróxidos, após incubação

em meio tamponado (PYTEL *et al.*, 2005).

Granulometria a *laser*

No equipamento de granulometria por difração a *laser*, a distribuição de tamanho da partícula é calculada comparando o ensaio de uma amostra com um modelo ótico apropriado. Esse ensaio pode ser realizado para determinação da estabilidade de sistemas emulsionados.

Estudo do comportamento reológico

A determinação do comportamento reológico pode ser realizada em reômetro acoplado em banho termostatizado, por meio de ensaios rotativos e oscilatórios, para caracterização reológica completa dos produtos estudados. Os ensaios rotativos permitem análise do fluxo da amostra, da tixotropia, da área de histerese e determinação do limite de escoamento, utilizando uma tensão de cisalhamento por um determinado período de tempo para a curva ascendente e mesmo tempo para a curva descendente, obtendo, por exemplo, dados relativos a um ponto por segundo, sob temperatura controlada. Os ensaios oscilatórios permitem analisar a deformação e a recuperação da amostra, a susceptibilidade mecânica, depois de aplicadas tensões de cisalhamento por um determinado período de tempo, em temperatura controlada, com o sensor adequado à consistência de cada produto analisado. A amostra deve ser exposta à força oscilatória, isto é, deve ser submetida a uma tensão de cisalhamento utilizando frequências variáveis, sendo possível analisar a viscosidade dinâmica (ç), os módulos de estocagem ou armazenamento (G') e de perda ou deformação (G"), os quais possibilitam inferir sobre a deformação e a recuperação de amostras após o cisalhamento, avaliando a viscoelasticidade dos sistemas (Isaac et al., 2008). Em qualquer tipo de ensaio, devem ser utilizados o sensor (placa-placa, cone-placa ou copos com cilindros coaxiais), a tensão de cisalhamento, a temperatura e o tempo de análise adequados para cada sistema (ISAAC *et al.*, 2008). Para produtos tópicos, é recomendada a temperatura de 32º C, por representar a temperatura da pele (SALGADO *et al.*, 2010).

ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

O objetivo do controle microbiológico de fitocosméticos é assegurar uma produção de boa qualidade, livre de determinados microrganismos, principalmente os potencialmente prejudiciais ao usuário, bem como garantir uma preparação adequada, que permaneça como tal, mesmo após uso contínuo pelo consumidor (CARTURAN, 1999).

Para estudos de estabilidade microbiológica, geralmente, recomenda-se o ensaio de desafio para o sistema conservante. Esse teste deve ser feito quando o produto for susceptível à contaminação potencialmente perigosa ao consumidor (PINTO *et al.*, 2003). Em geral, é aceitável que a carga microbiana de um produto não-estéril mantenha-se dentro dos limites estabelecidos pelos compêndios oficiais com o tempo de armazenamento (vida útil); entretanto, não é desejável que aumente (PINTO *et al.*, 2003).

O teste para avaliação de sistemas conservantes foi descrito pela primeira vez na Farmacopéia Americana em 1970, e abrangia somente produtos estéreis aquosos injetáveis, oftálmicos e nasais. Esse método permaneceu inalterado por cerca de vinte e cinco anos devido à sua boa reprodutibilidade, contribuindo significativamente no estudo da eficácia do sistema conservante (PINTO *et al.*, 2003). Neste teste, conhecido por "desafio", inóculos de 10^5-10^6 de microrganismos-teste das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* e dos fungos *Aspergillus niger* e *Candida albicans*, microrganismos que geralmente aparecem como contaminantes de cosméticos, são inoculados no conservante ou nas formulações que os contenham, sendo feito um acompanhamento da viabilidade desses microrganismos nos tempos de incubação de 7, 14 e 28 dias (USP 33, 2010).

Para Orth (1997), os testes de eficácia conservante são realizados com o objetivo de determinar o tipo e a concentração mínima de efetividade do conservante necessária para a conservação satisfatória das formulações. De acordo com Orth & Steinberg (2003), trata-se de testes de segurança de um produto. Embora os cosméticos e produtos que contenham água não necessitem ser estéreis, visto não serem aplicados em superfícies estéreis, formulações que se conservam adequadamente devem ter um sistema de conservação que as tornem, de certa forma, autoesterilizáveis, ou seja, devem matar os microrganismos contaminantes em tempo suficientemente rápido, de modo que não se tornem um perigo para a saúde e não passem por alterações físicas inaceitáveis, como modificação de pH, cor, odor, viscosidade, dentre outros fatores, que poderiam, inclusive, causar transtornos à pele do consumidor do cosmético.

Um método alternativo para a avaliação da eficácia de sistemas conservantes é baseado no fato de que uma determinada população de microrganismos, quando exposta ao agente antimicrobiano, perde sua viabilidade de modo regular, e a fração de sobreviventes decresce exponencialmente com o tempo (ORTH, 1979). Assim, utiliza-se o valor D como sendo o tempo necessário para a redução de 90% da população de microrganismos-teste quando submetida ao agente letal sob condições constantes. Esses valores podem ser calculados por meio de uma curva expressa pela função obtida entre o log do número de sobreviventes e o tempo (regressão linear) após inoculação (OLIVEIRA, 1999).

Posteriormente, outras publicações como as da *Federation Internationale Pharmaceutiqué* (FIP), Farmacopeias Britânica, Europeia e Japonesa, além da *The Cosmetic Toiletry and Fragance Association* (CTFA), publicaram seus métodos, entre os quais havia algumas diferenças de interpretação (PINTO *et al.*, 2003).

Protocolos microbiológicos

As amostras devem ser avaliadas considerando-se a Resolução 481/99 (BRASIL, 1999) e o fato de não conterem conservantes. Realiza-se a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios (bactérias e fungos) pela técnica de semeadura em profundidade (*pour plate*) e a pesquisa de bactérias patogênicas específicas (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988; KONEMAN *et al.*, 2001; PINTO *et al.*, 2003).

Desse modo, alíquotas de 10g das formulações devem ser acrescentadas em meios de cultura específicos, determinando-se o número total de microrganismos e a presença de *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Nessas análises devem ser utilizadas amostras representativas do conteúdo dos produtos, conforme métodos preconizados na *United States Pharmacopeia* (USP 33, 2010) e por Carturan (1999) no Guia ABC de Microbiologia, da Associação Brasileira de Cosmetologia (ABC). As análises devem ser feitas em triplicata para cada uma das amostras estudadas. As formulações sujeitas ao controle microbiológico devem ser armazenadas em recipientes assepticamente limpos, na ausência de umidade e luz, em locais frescos e arejados, segundo a Farmacopeia Brasileira (1988).

Validação do método de estimativa do número de microrganismos viáveis

Em placas de Petri previamente esterilizadas, deve-se adicionar alíquotas de 1mL das diluições 1:2 ou 1:10 das amostras em solução salina, 0,5mL de suspensão microbiana (cerca de 10^2 UFC/mL) de cada microrganismo padrão estudado e15 mL de meio ágar soja-caseína TSA. O método deve ser realizado em duplicata para cada micro-organismo e diluição. O controle deve ser determinado simultaneamente, transferindo-se 0,5mL de cada suspensão microbiana para placas contendo 15mL de TSA (BOU-CHACRA *et al.*, 2005).

Estimativa do número de microrganismos viáveis

Inicialmente, deve-se realizar a assepsia das embalagens das formulações com etanol 70%, seguindo-se pela pesagem de 10g da amostra em um béquer estéril. Dilui-se a amostra, transferindo-a para *erlenmeyer* estéril com 90mL de meio Letheen (diluição 10^{-1}), o qual será homogeneizado em vórtex. Desse primeiro frasco, transferir 10mL para o segundo, contendo 90 mL de salina estéril (diluição 10^{-2}), homogeneizando novamente. Prosseguir com a transferência de 1mL de cada diluição, acrescentando-se 15 a 20mL de TSA estéril, resfriado em uma temperatura aproximada de 45° C, em duas placas de cada diluição, e ágar Sabouraud (AS) nas outras duas placas. Os ensaios devem ser conduzidos em triplicata. Realizar a homogeneização e, após a solidificação, incubar as placas contendo o meio TSA por 24 horas a 36±1°C (crescimento de bactérias) e aquelas com AS, a 27±1 °C por 7 dias (crescimento de bolores e leveduras). Após o período de incubação, fazer a contagem das colônias crescidas nesses meios de

cultura, calculando posteriormente o número de microrganismos/g do produto e multiplicando pela diluição utilizada, os quais serão expressos em UFC/g.

Pesquisa de Salmonella *sp. e* Escherichia coli

Para a pesquisa de *Salmonella* sp. e *Escherichia coli* deve-se transferir, assepticamente, 10g de amostra para 90mL de caldo lactosado. O caldo deve ser incubado a 36±1ºC durante 24 horas. Após esse período, observar o meio quanto ao crescimento. No segundo dia, transferir 1mL do caldo lactosado para dois tubos contendo caldo tetrationato e caldo selenito cistina, que devem ser incubados a 36±1ºC durante 24 horas, para a pesquisa de *Salmonella* sp. Após esse período, semear, com uma alça de platina, amostra do caldo tetrationato para um tubo contendo ágar inclinado verde brilhante e três placas de Petri contendo ágar xilose-lisina-desoxicolato (XLD) e ágar bismuto sulfito. Proceder da mesma forma com a amostra inoculada no caldo selenito cistina e transferir para os três meios, que serão incubados a 36±1ºC durante 24 horas. Observar o crescimento e as características das colônias. As suspeitas devem ser semeadas com alça reta em tubo contendo ágar inclinado ferro-três açúcares (TSI) e incubadas a 37ºC durante 24 horas. Para a pesquisa de *E. coli,* transferir 1mL do caldo lactosado para a placa de Petri contendo ágar MacConkey. Incubar a 36±1ºC durante 24 horas. Observar o crescimento e as características das colônias. As colônias suspeitas devem ser semeadas com alça de platina em placas de Petri contendo ágar eosina azul de metileno (EMB). Incubar a 36±1ºC durante 24 horas.

Pesquisa de Staphylococcus aureus e Pseudomonas aeruginosa

Para pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* deve-se transferir, assepticamente, 10g de amostra para 90mL de caldo caseína-soja. Incubar o caldo a 36±1ºC durante 24 a 48 horas. Após esse período, observar o meio quanto ao crescimento. Semear em placas de Petri contendo ágar Vogel Johnson para a pesquisa de *S. aureus* e em placas de ágar cetrimida para a pesquisa de *P. aeruginosa*. Incubar a 36±1ºC durante 24 horas. Depois, observar o crescimento e as características das colônias.

Avaliação da eficácia dos fitocosméticos como sistema conservante

Com a finalidade de avaliar a eficácia dos fitocosméticos como sistema conservante, efetua-se o teste de desafio e cálculo do valor D. Para a realização dos experimentos, é necessário inicialmente realizar ensaios preliminares para padronização do inóculo dos diferentes

microrganismos usados, de modo a se quantificar o número de células em torno de 10^6 -10^7/ microrganismos/g nas formulações.

Teste de desafio

Para realizar o teste de desafio, deve-se inocular 10^6 células/g da amostra de cada um dos microrganismos-teste (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*) cultivados previamente em caldo caseína-soja (TSB) por 6 horas a 36±1ºC (bactérias) e caldo Sabouraud a 27±1ºC (fungos), individualmente, em 10g de cada uma das amostras. Imediatamente após a inoculação, retirar amostras de 1g de cada uma das formulações contaminadas (tempo 0), diluindo-se em caldo Letheen e, a seguir, em tubos com solução salina até atingir a concentração necessária para a contagem de colônias, sendo posteriormente semeados 100 µL na superfície de placas contendo TSA e AS (PINTO *et al.*, 2003; USP 33, 2010). Após incubação a 36±1ºC e 27±1ºC, respectivamente, para bactérias e fungos, retirar amostras nos tempos de 7, 14 e 28 dias de incubação para a realização da contagem de colônias, expressando os valores obtidos em UFC/g (PINTO *et al.*, 2003; USP 33, 2010). Os ensaios devem ser realizados em duplicata, utilizando como controle negativo formulação sem conservante e, como controle positivo, formulação com conservante.

Cálculo do valor D

Para calcular o valor D, deve-se inocular 10^6 células/g da amostra de cada um dos microrganismos-teste (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*) cultivados previamente em caldo caseína-soja (TSB) por 6 horas a 36±1ºC (bactérias) e caldo Sabouraud a 27±1ºC (fungos), individualmente, em 10g de cada uma das amostras. Imediatamente após a inoculação, retirar amostras de 1g de cada uma das formulações contaminadas (tempo 0), diluindo-se em caldo Letheen e, a seguir, em tubos com solução salina até atingir a concentração necessária para a contagem de colônias, sendo posteriormente semeados 100 µL na superfície de placas contendo TSA e AS (PINTO *et al.*, 2003; USP 33, 2010). Após incubação a 36±1ºC e 27±1ºC, respectivamente, para bactérias e fungos, deve-se realizar a contagem de colônias, expressando os valores em UFC/g. As contagens devem ser realizadas nos tempos de incubação de 2, 24 e 48 horas para bactérias e 4, 24, 48 horas e 7 dias para fungos, na temperatura ambiente (PINTO *et al.*, 2003; USP 33, 2010). Os ensaios devem ser realizados em duplicata, utilizando como controle negativo formulação sem conservante e, como controle positivo, formulação com conservante.

CITOTOXICIDADE

Ensaios para avaliar a citotoxicidade de extratos e óleos vegetais não eram realizados, até há pouco tempo, quando se usavam plantas e/ou seus derivados em produtos para aplicação tópica; entretanto, essa prática vem sendo realizada nas pesquisas atuais, garantindo segurança no uso de ativos vegetais. Citotoxicidade significa causar efeito tóxico em nível celular. Entre os efeitos tóxicos, podem ser citadas a morte celular, alterações na permeabilidade da membrana, ou a inibição enzimática. Os ensaios *in vitro* são normalmente efetuados como um teste de triagem inicial na primeira fase da avaliação de citotoxicidade. A necessidade de estudos do comportamento celular *in vitro* sobre extratos de diferentes materiais é fundamental para o uso racional e seguro na prática médica. No método *in vitro,* podem ser observados os processos de crescimento celular diretamente sobre as substâncias testadas. Os testes *in vitro* são realizados utilizando linhagens celulares permanentes ou culturas primárias (por exemplo, fibroblastos da pele). Alguns autores afirmam que as culturas primárias refletiriam de forma mais precisa as situações *in vivo*, entretanto apresentam dificuldades no cultivo. Outros afirmam que o uso de linhagens celulares estabelecidas oferece vantagens no cultivo, pois a definição das condições de cultura evita variações individuais e a interferência de complexas interações que ocorrem *in vivo* (FRESHNEY, 2005).

Extrato padronizado de *Ginkgo biloba* L. (EGb 761), significativamente pode suprimir a proliferação e aumentar a citotoxicidade em células $HepG_2$. O extrato de *Ginkgo biloba* L. continha 22-27% de flavonoides e 5-7% de terpenoides em 10mL/L de etanol e 10mL/L de solução de sorbitol (CHAO *et al.*, 2004).

Extrato aquoso de *Mentha piperita* L. mostrou que determinadas doses por tempo de exposição de 24 horas reduziram o crescimento do organismo *Tetrahymena pyriformis* (NEVES *et al.*, 2009). Esse microrganismo é um gênero de protozoários ciliados não patogênicos de vida livre, encontrados principalmente em água fresca.

O extrato aquoso de folhas de *Centella asiatica* (L.) Urb. mostrou, nos testes de citotoxicidade frente a células BHK-21 (linhagem de câncer de rim) e linhagem A549 (linhagem de câncer de pulmão), uma concentração citotóxica acima de 1000ug/mL, representando uma baixa citotoxicidade do extrato testado (PITTELLA *et al.*, 2009).

Uma subfração isolada de extrato etanólico de cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville mostrou, nos testes de citotoxicidade frente a células Vero e macrófagos, uma concentração citotóxica acima de 100mg/mL relativa à concentração inibitória mínima de 5,47±0,92 mg/L, representando uma baixa citotoxicidade da amostra ensaiada (ISHIDA *et al.*, 2006).

A avaliação da segurança de fitocosméticos abrange ensaios de citotoxicidade, o que pode representar um aumento de trabalhos de pesquisa cujo objetivo seja avaliar a citotoxicidade de ativos vegetais empregados em cosméticos. Assim, em um futuro próximo, novas metodologias, em diferentes linhagens celulares, deverão ser propostas para avaliar a segurança desses produtos.

A absorção percutânea de substâncias depende, criticamente, da natureza do veículo. Isso explica, por exemplo, porque a tintura de arnica apresenta alergenicidade muito maior do que a alergenicidade apresentada pelo óleo de arnica, uma vez que o etanol, veículo das tinturas, age como auxiliar da penetração. Ainda, nesse sentido, a vaselina sólida produz forte efeito oclusivo que promove a absorção, aumentando o grau de hidratação da epiderme. Pós ou detergentes, que extraem umidade do extrato córneo, tendem a retardar a penetração (SCHULZ, HANSEL, TYLER, 2002).

ATIVOS VEGETAIS

As plantas, nos seus respectivos extratos e óleos vegetais, podem conter as seguintes substâncias com atividade de interesse cosmético:

GOMAS

As gomas são substâncias poliurônicas, isto é, são polissacarídeos heterogêneos formados por cadeias de ácido urônico. São constituintes naturais que resultam de modificações operadas nas membranas celulares, em certas zonas das plantas, principalmente nos caules e raízes. Escoam lentamente para o exterior sob a forma de geleias das regiões acumuladas quando o vegetal é ferido. Acumulam-se em lacunas situadas em diferentes tecidos, particularmente nos caules e quando as interceptam, geralmente por feridas provocadas a um escoamento tanto para o exterior sob a forma de geleias espessas que, em pouco tempo, adquirem um aspecto cristalino translúcido ou esbranquiçado. De modo geral, são substâncias sólidas, inodoras, insípidas, incolores ou levemente amareladas. Absorvem água com facilidade por serem higroscópicas, produzindo soluções gomosas de natureza coloidal, caracterizadas pela elevada viscosidade. Mostram-se insolúveis em álcool etílico e suas soluções aquosas são ácidas. São exemplos: goma arábica, goma caraia, goma adraganta, goma xantana e goma guar. Em preparações cosméticas, têm sido bastante empregadas as gomas xantana e a guar.

A goma xantana é usada em emulsões como espessante e modificadora sensorial, conferindo toque aveludado e espalhabilidade à preparação. Sua presença em emulsões pode, ainda, conferir maior estabilidade ao sistema. A goma xantana é um poli-holósido heterogêneo, produzida pela fermentação de glúcidos adequados, por estirpes de *Xanthomonas campestris.* Apresenta-se como um pó branco a branco amarelado, solúvel em água, formando uma solução fortemente viscosa de natureza pseudoplástica (CUNHA, 2005).

A goma guar é obtida do endosperma das sementes de *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. (CUNHA, 2005), empregada em xampus como espessantes e condicionadora, principal-

mente na forma quaternizada.

MUCILAGENS

São substâncias macromoleculares (polímeros da glicose e outras *oses*) de natureza glucídica que, em presença de água, incham e tomam o aspecto de soluções viscosas semelhantes a géis. Por sua capacidade de armazenar água, atuam como hidratantes (ALVES & SILVA, 2002). São misturas amorfas de polissacarídeos, considerados produtos normais do metabolismo vegetal e encontram-se sempre nas mesmas espécies localizadas nos mesmos tecidos. São exemplos de vegetais ricos em mucilagens: algas perladas, malva (*Malva sylvestris* L.), alteia (*Althaea officinalis* L.), tília (*Tiliae* sp.), tussilagem (*Tussilago farfara* L.), avenca (*Adiantum capillus-veneris* L.), borragem (*Borago officinalis* L.).

Apresentam propriedades anti-irritante, reduzindo dores de contusões e também emulsificantes. Salvo raras exceções, a matriz celular das algas é glucídica e os poli-holósidos que as constituem são polímeros capazes de formar géis, devido ao fato de as plantas marinhas, diferentemente das terrestres, necessitarem de mais flexibilidade do que de rigidez (CUNHA, 2005).

As carrageninas são mucilagens obtidas de algas vermelhas (Rodofíceas), conhecidas por alga-perlada, musgo branco ou musgo da Irlanda. Constituídas pelas carragenanas, polímeros lineares de D-galactose altamente sulfatados, são classificadas em sete tipos que formam desde soluções bastante viscosas a géis, usados principalmente na estabilização de cosméticos (CUNHA, 2005), como doadores de viscosidade e consistência.

PROTEÍNAS E DERIVADOS

Os constituintes monoméricos das proteínas – os aminoácidos – e os produtos de hidrólise (peptídeos) têm demonstrado ação eficaz no auxílio e manutenção das condições ideais de hidratação do tecido cutâneo (emoliência e maleabilidade da pele e cabelos). São exemplos: proteínas do trigo, complexo NMF, que é o fator de hidratação natural da pele.

Em se tratando de peptídeos, um conceito importante é a forte correlação entre a sequência de aminoácidos na cadeia de peptídeo e a atividade resultante. Alterações nos aminoácidos que compõem os peptídeos levam, quase sempre, a alterações na potência, tipo ou duração da atividade. Um exemplo são os tripeptídeos compostos pelos aminoácidos glicina, histidina e lisina, respectivamente GLI-HIS-LIS. Em uma determinada ordem, o peptídeo é responsável por propriedades de cicatrização de ferimentos por meio do estímulo da síntese de colágeno em fibroblastos, enquanto que em outra ordem o peptídeo apresenta atividade lipolítica nos adipócitos (LEUROX *et al.*, 2000; LINTNER & PESCHARD, 2000; LINTNER, 2008).

LIPÍDEOS

Constituem um conjunto de substâncias de natureza graxa (solúvel em éter) tendo como principais componentes os triglicerídeos (ésteres de glicerol e ácidos graxos), além do colesterol, ceras (ésteres de ácidos graxos com monoálcoois de alto peso molecular), outros esteróides e hidrocarbonetos. Da hidrólise dos triglicerídeos obtêm-se ácidos graxos, que são ácidos carboxílicos de cadeia linear, ramificada ou não, com quatro ou mais átomos de carbono, sendo raros os que possuem número ímpar de átomos de carbono (CUNHA, 2005) e sendo os mais importantes aqueles que apresentam cadeia com 12 a 18 átomos de carbono, conforme mostrado no Quadro 1.

QUADRO 1

Óleos vegetais e seus ácidos graxos

Óleos	Ácidos graxos	Número de carbonos
babaçu	ácido láurico	12
babaçu	ácido mirístico	14
palma	ácido palmítico	16
sebo, cupuaçu	ácido esteárico	18
amendoim e oliva buriti, cupuaçu	ácido oleico	18^{-1}
soja, milho, sementes de uva	ácido linoleico	18^{-2}

Ao sofrerem redução, os ácidos graxos originam álcoois graxos, importantes emolientes empregados em preparações cosméticas. Um exemplo clássico é o ácido láurico, composto por 12 átomos de carbono, que dá origem ao álcool laurílico. Esse álcool graxo, por sua vez, ao ser sulfatado, dá origem a um tensoativo muito usado em produtos cosméticos, com propriedades emulsificante e detergente, o lauril sulfato de sódio. Após a neutralização, pela reação com óxido de etileno, o lauril sulfato de sódio origina o lauril éter sulfato de sódio, tensoativo largamente empregado em xampus.

ÓLEOS ESSENCIAIS

Também são chamados óleos voláteis, essências ou óleos etéreos, são princípios ativos presentes em plantas aromáticas constituídos de uma mistura de substâncias voláteis e hidrofóbicas. Suas características mais peculiares são ter, além do aroma agradável, sabor,

volatilidade, insolubilidade ou pouca solubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos. Podem ser definidos como uma mistura complexa de compostos químicos (terpenoides e fenilpropanoides) de origem vegetal, voláteis e aromáticos.

Quimicamente são classificados como terpenos (acíclicos, monocíclicos e bicíclicos), sesquiterpenos, derivados do fenilpropano. Suas propriedades são antissépticas, refrescantes, rubefacientes, secretolítica, anti-inflamatória e anestésica local. São exemplos de óleos essenciais largamente empregados em fitocosméticos: camazuleno, bisabolol, mentol e cânfora.

Os óleos essenciais são compostos simples, em geral com estrutura cíclica, chamados de terpenos e seus derivados, um álcool, um aldeído ou uma cetona. São voláteis devido ao seu baixo peso molecular e, por isso, são os responsáveis pelos odores das plantas e flores. De acordo com o número de átomos de carbono, os terpenos podem ser divididos em monoterpenos (10C, com atividade anti-irritante); sesquiterpenos (15C, com atividade antimicrobiana) e diterpenos (20C) (ALVES & SILVA, 2002).

TANINOS

Os taninos são polifenóis que formam compostos estáveis com proteínas. Pela classificação química, são divididos em taninos hidrolisáveis (taninos elágicos e taninos gálicos) e taninos condensados (proantocianidinas), pseudotaninos. Possuem propriedades bastante exploradas em fitocosméticos, tais como adstringentes, cicatrizantes, hemostáticos, protetores e reepitelizantes, antissépticos e antioxidantes. Um exemplo bastante comum é o hamamelitanino, presente em *Hamamelis virginiana.*

FLAVONOIDES

São compostos heterocíclicos aromáticos oxigenados, frequentemente encontrados associados com glicosídeos. Estão relacionados à flavona que apresenta ação diminuidora da permeabilidade dos vasos capilares. Agem como vasoprotetores, anti-inflamatórios e antioxidantes naturais. Os flavonoides são uma classe de substâncias presentes em diversos vegetais, conferindo às flores, os frutos e a outras partes da planta colorações diversificadas, que vão desde o branco até o violeta intenso. Quimicamente são classificados em flavonas, flavonóis e seus *O*-glicosídeos; flavonoidesisoflavonoides; flavonoidesneoflavonoides; chalconas; antocianidinas; catequinas; auronas; flavononas, biflavonoides. Apresentam atividade sobre a permeabilidade capilar, antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antitumoral e hormonal.

Os flavonoides também são heterosídeos, ou seja, possuem um açúcar diferente da glicose ligado a uma fração aglicona, que geralmente é um pigmento. O nome vem de *flavus*, que significa amarelo, já que é a principal cor desses pigmentos. Existem dois tipos principais de flavonoides: flavanonas, de maior importância terapêutica, nos quais a fração aglicona é uma flavona, um pigmento amarelado, e os flavonoidesflavonoides antociânicos, quando a fração

aglicona é uma antocianina, um pigmento azul, comum nas flores (ALVES & SILVA, 2002).

SAPONINAS

Pertencem ao grupo de heterosídeos, que são semelhantes aos glicosídeos, pois também possuem uma molécula de açúcar ligada a uma fração aglicona; contudo, os heterosídeos se caracterizam por estar ligados a açúcares diferentes da glicose. São assim chamadas por apresentarem propriedade físico-química de saponificar substâncias lipossolúveis. Quando agitadas em solução aquosa, provocam o aparecimento de espuma, pois diminuem a tensão superficial da água (ALVES & SILVA, 2002), apresentando propriedades tensoativas.

São glicosídeos triterpenoides (quando a fração aglicona é um triterpeno) ou esteroides (se a fração aglicona é um esteroide) (ALVES & SILVA, 2002), e apresentam um amplo espectro de ação: rubefasciente e detergente (saponina da casca de quilaia), vasoprotetora (escina da castanha-da-índia), além de antisséptica, antimicrobiana e anti-irritante por ação esteroide (ALVES & SILVA, 2002). De acordo com a parte genina (sapogenina), são classificadas em saponinas triterpênicas e saponinas esteroidais; de acordo com o caráter ácido, básico ou neutro e pela parte açucarada, são classificadas em monodesmosídicas e bidesmosídicas.

ALCALOIDES

Alcaloides são bases orgânicas nitrogenadas, mas sua estrutura molecular costuma ser bastante diversificada e, por isso, sua classificação é complexa. De todos os grupos de princípios ativos, os alcaloides são os que possuem a maior atividade biológica. Recebem esse nome por apresentarem pH alcalino em solução. Regulam o crescimento do vegetal e têm função protetora (ALVES & SILVA, 2002).

GLICOSÍDEOS

São compostos por um açúcar ligado a uma substância não glicídica chamada genina ou aglicona, a qual é responsável pela atividade farmacológica e classificação. O de importância cosmética são os glicosídeos antraquinônicos, que apresentam uma antraquinona como a fração aglicona, com atividade cicatrizante (ALVES & SILVA, 2002).

RESINAS

Não representam um grupo quimicamente definido, sendo um complexo de subs-

tâncias heterogêneas, em parte dissolvidas em óleos essenciais. A base das resinas é caracterizada pelas substâncias resinosas, que são compostos com 25 ou mais átomos de carbono e seus derivados aldeído e cetona, formando uma mistura que pode ter 30 ou mais componentes diferentes. Encontram-se principalmente no caule do vegetal e podem ser divididas em quatro diferentes tipos: gomo-resina (emulsão com predominância de uma goma); lacto-resina (emulsão leitosa, mais ou menos opaca, de aspecto característico, formada por compostos polimerizados e baixa concentração de óleos essenciais, apresentando elevada toxicidade); óleo-resina (proveniente da polimerização e oxidação incompleta de óleos essenciais) e bálsamo-resina (produto resinosos líquido ou semilíquido, aromático e de aspecto translúcido, com predominância de éteres formados de ácidos aromáticos e das resinatanóis solubilizadas em óleos essenciais) (ALVES & SILVA, 2002).

PLANTAS DE USO COMUM EM FITOCOSMÉTICOS

Nome comum: maracujá

Nome científico: *Passiflora alata* Curtis

Constituintes químicos: ácidos fenólicos, cumarinas, fitosteróis, maltol, glicosídeos cianogenéticos, alcaloides indólicos e flavonoides (vitexina)

Propriedades farmacológicas: sedativo

Nome comum: frutos cítricos

Nome científico: *Citrus* sp. (Rutaceae)

Constituintes químicos: pectinas, óleo essencial e flavonoides

Propriedades farmacológicas: tratamento da fragilidade capilar, crise hemorroidal, insuficiência venolinfática crônica, fragilidade

Nome: camomila

Nome científico: *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (camazuleno, alfa-bisabolol), flavonoides e mucilagens

Propriedades farmacológicas: anti-inflamatório, antiespasmódico, eupéptico, ansiolítico, antibacteriano e antifúngico

Propriedades farmacológicas: transtornos digestivos, carminativa, afecções cutâneas, congestionamentos e inflamações oculares

Nomes comuns: melissa ou erva-cidreira

Nome científico: *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (citral, citronelal, citronelol, pineno, limoneno, linalol e geraniol)

Propriedades farmacológicas: sedativo, espasmolítico, antiviral, antibacteriano, antifúngico carminativo, antitireoidiano e hipotensor, ansiedade, insônia, transtornos digestivos, flatulência, meteorismo

Nomes comuns: hortelã, hortelã-pimenta, menta, hortelã-comum, hortelã-de-cheiro, hortelã-rasteira

Nome científico: *Mentha* sp. (Lamiaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (mentol)

Propriedades farmacológicas: espasmolítico, estomáquico, carminativo, analgésico, colerético e colagogo, transtornos digestivos, flatulência, alterações gastrintestinais, mau-hálito, verminoses, expectorante, anti-helmíntico, descongestionante, antisséptico, anti-inflamatório.

Nome comum: eucalipto

Nome científico: *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (eucaliptol)

Propriedades farmacológicas: expectorante, fluidificante e antisséptico, afecções respiratórias como asma, bronquite, faringite, gripes e resfriados

Nome comum: erva-doce

Nome científico: *Pimpinella anisum* L. (Apiaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (anetol)

Propriedades farmacológicas: expectorante, antiespasmódico, carminativo, galactagogo e emenagogo, secreção brônquica, coqueluche, cólica flatulenta e transtornos digestivos

Nome comum: funcho

Nome científico: *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (anetol)

Propriedades farmacológicas: os mesmos da erva-doce

Nome comum: guaçatonga

Nome científico: *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (casearinas)

Propriedades farmacológicas: antidiarreico, antifebril, depurativo, antirreumático, nas

afecções da pele e nas mordeduras de cobras (especialmente com peçonha proteolíticas, como jararaca e cascavel), úlceras, problemas de digestão e dores de estômago; como remédio para herpes labial, agente desintoxicante e purificador do sangue

Nome comum: quilaia

Nome científico: *Quillaja saponaria Molina* (Quillajaceae)

Constituintes químicos: saponinas (ácido quiláico, quilaína), taninos

Propriedades farmacológicas: detergente, adstringente, antisseborreico, anti-inflamatório, antimicrobiano, cicatrizante, emulsificante, tensoativo, expectorante e tônico capilar

Nome comum: hamamelis

Nome científico: *Hamamelis virginiana* L. (Hamamelidaceae)

Constituintes químicos: taninos (hamamelitanino, catecol, ácido gálico)

Propriedades farmacológicas: ação hemostática, anti-hemorrágico, adstringente, redução de secreções e prevenção de infecções, anti-inflamatório, tônico e vasoconstritoro.

Nome comum: calêndula

Nome científico: *Calendula officinalis* L. (Asteraceae)

Constituintes químicos: óleo essencial, flavonoides

Propriedades farmacológicas: adstringente, analgésico, antialérgico, antifúngico, antisseborreico, anti-inflamatório, antisséptico, antiviral, bactericida, cicatrizante, emoliente, fungicida, protetor dos raios UV (A e B), refrescante, sudorífico, suavizante, tonificante da pele, vasodilatadora

Nome comum: centela

Nome científico: *Centella asiatica* (L.) Urb. (Apiaceae)

Constituintes químicos: triterpenos e saponincas

Propriedades farmacológicas: contra celulite, cicatrizante; atua normalizando a produção de colágeno, promovendo o restabelecimento da trama colágena, ajudando no tratamento de celulites, reduzindo a fragilidade dos vasos capilares e estimulando a circulação venosa; auxilia nos processos de cicatrização, é anti-inflamatória e auxilia no tratamento de desordens dermatológicas como, úlceras, eczemas, úlceras varicosas, hematomas, rachaduras da pele e varizes

Nome comum: castanha-da-índia

Nome científico: *Aesculus hippocastanum* L. (Hippocastanaceae)

Constituintes químicos: saponinas triterpenoídicas (aescina e aescigenina), flavonoides (canferol, quercetina, rutina, astragalin e quercetrina), heterosídeos cumarínicos (fraxina, escopolina, aesculetina, aesculosídeo e aesculina).

Propriedades farmacológicas: adstringente, antiedematoso, anti-inflamatório indicado para insuficiência venosa crônica, como varizes nas pernas e hemorroidas, úlceras varicosas

Nome comum: babosa

Nomes científicos: *Aloe barbadensis* Mill. ou *Aloe vera* (L.) Burm. f. (Liliaceae)

Constituintes químicos: polissacarídeos contendo glicose, galactose e xilose, taninos, esteroides, ácidos orgânicos, enzimas de vários tipos e outros

Propriedades farmacológicas: anestésico, antiviral, cicatrizante, fungicida, regenerador celular, coagulante, anti-inflamatório, queratolítica, reidratante

PERSPECTIVAS DE USO FUTURO EM FITOCOSMÉTICOS PELAS PROPRIEDADES DEMONSTRADAS

Nomes comuns: faveiro, falso-barbatimão

Nome científico: *Dimorphandra mollis* Benth.

Constituintes químicos: flavonoides (rutina e quercetina)

Propriedades farmacológicas: insuficiência venolinfática crônica, fragilidade

Nomes comuns: capim-limão, capim-cidreira

Nomes científicos: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (geranial, geraniol, citral, cineol, mirceno, farnesol, humuleno

Propriedades farmacológicas: analgésico, sedativo, antiespasmódico, nervosismo, ansiedade e insônia

Nome comum: canela

Nome científico: *Cinnamomum* sp. (Lauraceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (aldeído cinâmico)

Propriedades farmacológicas: antiespasmódico, carminativo, antimicrobiano, antidiarreico, emenagogo, flatulência, dispepsias, anorexias, astenia, cólicas e diarreia

Nomes comuns: lípia, falsa-melissa

Nome Científico: *Lippia alba* (Mill.) N.E. ex Britton & P. Wilson (Verbenaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (geraniol, neral, beta-caiofileno, geranial, óxido de cariofileno, mirceno)

Propriedades farmacológicas: digestivo, antidepressivo e sedativo, tratamento da digestão lenta, insônia e angústia, afecções da pele e das mucosas, antisséptica

Nomes comuns: mirtus, mirta, mirto, murta-cheirosa, murta-cultivada, murta-das-noivas, murta-do-jardim, murta-verdadeira, murteira, murtinheira, murtinheiro, murtinho, murtinhos e murto

Nome científico: *Myrtus communis* L. (Myrtaceae)

Constituintes químicos: óleo essencial

Propriedades farmacológicas: efeitos anti-hiperglicêmicos, antimutagênicos e no tratamento de problemas estomacais, antisséptico

Nome comum: alcaçuz

Nome científico: *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae)

Constituintes químicos: saponinas (glicirrizinina)

Propriedades farmacológicas: anti-inflamatório, antitussígeno, antiulceroso e edulcorante

Nomes comuns: barbatimão, barbatimão-verdadeiro, casca-da-virgindade

Nomes científicos:

Stryphnodendron obovatum Benth. (Fabaceae)

Stryphnodendron coriaceum Benth.

Stryphnodendron barbatimam Mart.

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville

Stryphnodendron barbadetiman (Vell.) Mart.

Constituintes químicos: taninos condensados, proantocianidinas

Propriedades farmacológicas: tratamento de úlceras e frieiras, impigens, antisséptico local, anti-inflamatório, antidiarreico, adstringente, diurético, coagulante sanguíneo, tratamento de leucorreia

Nome comum: ginseng

Nome científico: *Panax ginseng* C.A. Mey. (Araliaceae)

Constituintes químicos: saponinas (ginsenosídeos ou panaxosídeos)

Propriedades farmacológicas: adaptógeno, anti-inflamatório, revitalizante tônico

Outros: Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen - ginseng brasileiro*, Panax quinquefolius* L. - ginseng americano*, Panax japonicus* (Nees) C.A. Mey. - ginseng paraguaio.

Nomes comuns: jambolão, baga-de-freira, guapê, jamelão, jalão, azeitona, jambuí, azeitona-da-terra

Nome científico: *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae)

Constituintes químicos: taninos

Propriedades farmacológicas: diabetes, afecções gástricas e pancreáticas, diarreia, disenteria, hemorragias, espasmos, infecções, estimulante gastrintestinal, flatulência, afecções respiratórias. Adstringente, calmante, diurético, hipoglicemiante

Nome comum: erva-mate

Nome científico: *Ilex paraguariensis* A. St. -Hil. (Aquifoliaceae)

Constituintes químicos: saponinas e muitas vitaminas, como as do complexo B, a vitamina C e a vitamina D, e os sais minerais, como cálcio, manganês e potássio

Propriedades farmacológicas: auxilia na digestão e produz efeitos antirreumático, diurético, estimulante e laxante. Não é indicado para pessoas que sofrem de insônia e nervosismo, pois é estimulante natural.

Nome comum: camélia (chá-verde)

Nome científico: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae)

Constituintes químicos: flavonoides, óleos essenciais

Propriedades farmacológicas: combate úlceras; adstringente, antioxidante, antibacteriano e antiviral

Nome comum: romã

Nome científico: *Punica granatum* L. (Lythraceae)

Constituintes químicos: taninos, alcaloides

Propriedades farmacológicas: adstringente, antidiarreica, anti-inflamatória, antisséptica

Nome comum: goiaba

Nome científico: *Psidium guajava* L. (Myrtaceae)

Constituintes químicos: taninos, sais minerais, como cálcio e fósforo, vitaminas A, B_1 (tiamina), e B_2 (riboflavina), B_6 (piridoxina), ácido ascórbico

Propriedades farmacológicas: combate a diarreias, disenterias, excesso de ácido úrico, feridas, ferimentos diversos, gripes, resfriados, retenção de líquidos, cicatrizante de feridas, ajuda a prevenir a acidez do estômago, antioxidante

Nome comum: ginkgo

Nome científico: *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae)

Constituintes químicos: flavonoides e terpenos

Propriedades farmacológicas: vasodilatador arteriolar, vasoconstritor venoso, reforça a resistência capilar, ativa o metabolismo celular, diminui a permeabilidade vascular e inibe a COX e LOX, insuficiência cerebral

Nomes comuns: falsa-calêndula, flor-de-ouro, flor-amarela, estrelinha, pição-da-praia, fel-da-praia, salsa-da-praia

Nome científico: *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC. (Asteraceae)

Constituintes químicos: óleo essencial (E-cariofileno), flavonoides

Propriedades farmacológicas: antisséptico, cicatrizante, anti-inflamatório

Nome comum: carqueja

Nome científico: *Baccharis trimera (Less.) DC. (Asteraceae*)

Constituintes químicos: óleo essencial: (acetado de carquejol, carquejol, cardineno, calameno, eledol, eudesmol), taninos e flavonoides

Propriedades farmacológicas: problemas do fígado e vesícula biliar como cálculos (pedras), digestivos, úlcera, gastrite, má-digestão, diurético.

Nome comum: graviola

Nome científico: *Annona muricata* L. (Annonaceae)

Constituintes químicos: acetogeninas

Propriedades farmacológicas: inseticida, acaricida, fungicida, antiparasíticos. Antitumoral e anticancerígeno (esses estudos foram somente realizados *in vitro* ou *in vivo* em animais, não existindo ainda nenhum estudo clínico em humanos)

Em função das substâncias ativas de interesse cosmético, os extratos e os óleos vegetais podem exercer as seguintes ações:

- adstringente: fecha os poros da pele e desengordura tanto a pele como fios de cabelo;
- anticelulítico: inibe a fosfodiesterase, promove a lipólise;
- anti-inflamatória: reduz a irritação da pele, melhorando a aparência; em cosméticos, é chamada anti-irritante.
- antioxidante: protege a pele da radiação ultravioleta, incluindo redução dos radicais livres;
- antirrugas: retarda o aparecimento das rugas e atenua as preexistentes;
- antisseborreico: diminui a oleosidade da pele e do couro cabeludo;
- antisséptico: agente na limpeza da pele e da cavidade bucal;

- cicatrizante: regenera o tecido, auxiliado pela ação adstringente e antisséptica, às vezes da mesma planta;

- corante: confere atrativo cosmético ou pigmentação para a pele, coloração natural

- demaquilante: remove a maquiagem, removendo a sujidade da pele e os produtos coloridos;

- descongestionante: diminui o processo agressivo causado em depilações, epilações, exposição ao sol sem proteção adequada, e barbeação;

- emoliente: restaura a emulsão epicutânea em seu conteúdo graxo;

- enzima para *peeling*: promove a descamação suave da pele para regeneração e/ou despigmentação;

- estimulante da circulação: pode promover aumento da permeação cutânea de ativos, quando associado a rubefascientes;

- esfoliante: descamam suavemente a pele, renovando o brilho e a maciez;

- filtração dos raios ultravioleta: protege da radiação ultravioleta;

- hidratante: restaura a emulsão epicutânea em seu conteúdo hídrico; repoem o fator de hidratação natural;

- refrescante: é usado em preparações corporais e em produtos para a cavidade bucal para aumentar a sensação de limpeza; associado a ativos hidratantes;

- reepitelizante: regenera o tecido, após barbeação, depilação, epilação e *peelings*;

- regenerador: promove o reparo do tecido cutâneo, renovando as células;

- rubefasciente: promove o aumento da circulação periférica, aumentando a permeação;

- suavizante: promove a descamação da pele tornando-a macia e sedosa; por ação abrasiva, queratolítica ou cáustica;

- tonificante: dar vida, revitalizar, aumentando o brilho da pele e cabelos.

EXEMPLOS DE FITOCOSMÉTICOS

Aqui são colocadas algumas sugestões de fórmulas contendo o nome químico das substâncias e sua função na formulação, bem como a composição percentual em peso/peso de cada componente.

COSMÉTICOS ADSTRINGENTES

- produtos pós-barba: auxiliam a cicatrização e apresentam atividade antisséptica.

TABELA 1: Gel pós-barba cicatrizante

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
DISPERSÃO AQUOSA A 2% DE POLÍMERO DO ÁCIDO ACRÍLICO	CARBOMER	ESPESSANTE	40,00
PROPILENOGLICOL	PROPYLENE GLYCOL	UMECTANTE	5,00
ALANTOÍNA	ALLANTOIN	CICATRIZANTE	0,50
MENTOL	MENTHOL	REFRESCANTE	0,01
EXTRATO VEGETAL *Calendula officinalis*		ANTI-IRRITANTE	1,00
EXTRATO VEGETAL *Hamamelis virginiana*		ADSTRINGENTE	1,00
ÓLEO ESSENCIAL *Matricaria chamomilla*		ANTISSÉPTICO	0,25
ÓLEO ESSENCIAL *Pimpinella anisum L.*		ANTISSÉPTICO	0,25
TRICLOSAN	TRICLOSAN	ANTISSÉPTICO	0,05
TRIETANOLAMINA	TRIETANOLAMINE	CORRETIVO DE pH	QSP pH 6
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO QSP	100,00

• Produtos pós-depilação: impedem a contaminação microbiana em toda a área depilada; favorecem a cicatrização e apresentam atividade antisséptica.

TABELA 2: Emulsão refrescante pós-depilação

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
ÁLCOOL CETOESTEARÍLICO ETOXILADO 20 OE	CETEARETH 20	EMULSIONANTE	2,00
MONOESTEARATO DE GLICERILA	GLYCERYL STEARATE	ESPESSANTE	3,00
TRIGLICERÍDEOS DO ÁCIDO CÁPRICO/CAPRÍLICO	CAPRYLIC/CAPRIC TRIGLYCERIDE	EMOLIENTE	4,00
ÁLCOOL CETÍLICO	CETYL ALCOHOL	AGENTE DE CONSISTÊNCIA	1,00
PROPILENOGLICOL	PROPYLENE GLYCOL	UMECTANTE	3,00
ALANTOÍNA	ALLANTOIN	CICATRIZANTE	0,50
MENTOL	MENTHOL	REFRESCANTE	0,10
EXTRATO VEGETAL *Hamamelis virginiana*		ADSTRINGENTE	3,00
EXTRATO VEGETAL *Syzygium cumini L*		ANTISSÉPTICO	2,00
EXTRATO VEGETAL *Aesculus hipocastanum*		ESTIMULA CIRCULAÇÃO	2,00
IMIDAZOLIDINIL UREIA	IMIDAZOLIDINYL UREA	CONSERVANTE	0,50
METILPARABENO	METYLPARABEN	CONSERVANTE	0,18
PROPILPARABENO	PROPYLPARABEN	CONSERVANTE	0,02
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO q.s.p.	100,00

• Produtos para peles acneicas: auxiliam no tratamento da acne, impedem a contaminação e atuam como antisséptico.

TABELA 3: Gel para peles acneicas

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
DISPERSÃO A 2% DE POLÍMERO DO ÁCIDO ACRÍLICO	CARBOMER	ESPESSANTE	35,00
PROPILENOGLICOL	PROPYLENE GLYCOL	UMECTANTE	5,00
ÁLCOOL ETÍLICO	ALCOHOL	ANTISSÉPTICO	15,00
EXTRATO DE PRÓPOLIS		ANTIACNE	5,00
ÁLCOOL DE LANOLINA ACETILADO	ACETYLATED LANOLIN ALCOHOL	EMOLIENTE	1,00
EXTRATO VEGETAL *Hamamelis virginiana*		ADSTRINGENTE	2,00
TRICLOSAN	TRICLOSAN	ANTISSÉPTICO	0,05
TRIETANOLAMINA	TRIETANOLAMINE	CORRETIVO DE pH qsp	pH 6
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO qsp	100,00

• Produtos para limpeza de pele: permitem a retirada da maquiagem e atuam como antienvelhecimento. Se em sua composição não apresentarem substâncias oclusivas como o óleo mineral, não precisam ser retirados da pele.

TABELA 4: Emulsão de limpeza facial

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
ÁCIDO ESTEÁRICO	STEARIC ACID	EMULSIONANTE "IN LOCO" (SABÃO)	4,00
PALMITATO DE CETILA	CETYL PALMITATE	AGENTE DE CONSISTÊNCIA	3,00
ÓLEO MINERAL	MINERAL OIL	AGENTE DE LIMPEZA	12,00
PROPILENOGLICOL	PROPYLENE GLYCOL	UMECTANTE	5,00
METILPARABENO	METYLPARABEN	CONSERVANTE	0,18
PROPILPARABENO	PROPYLPARABEN	CONSERVANTE	0,02
TRIETANOLAMINA	TRIETANOLAMINE	SAPONIFICAÇÃO DO STEARIC ACID (SABÃO)	1,00
EXTRATO VEGETAL *Ginkgo biloba*		ANTIOXIDANTE	1,00
ÓLEO ESSENCIAL DE *Matricaria chamomilla*		ANTISSÉPTICO	0,10
ÓLEO DE *Passiflora alata*		RECUPERAÇÃO OLEOSIDADE, ANTIOXIDANTE	0,70
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO qsp	100,00

• Produtos para peles oleosas: por conter pós-insolúveis, retiram a oleosidade da pele, permitindo a hidratação e emoliência com os outros ingredientes da formulação.

TABELA 5: Máscara de limpeza hidratante para peles oleosas

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
BENTONITA	BENTONITE	ESPESSANTE, MODIFICADOR REOLÓGICO	5,00
CAULIM	KAOLIN	ESPESSANTE, MODIFICADOR REOLÓGICO	5,00
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO DISPERSANTE	15,00
ÁLCOOL CETÍLICO	CETYL ALCOHOL	AGENTE CONSISTÊNCIA	3,00
METILPARABENO	METYLPARABEN	CONSERVANTE	0,18
PROPILPARABENO	PROPYLPARABEN	CONSERVANTE	0,02
EXTRATO VEGETAL *Hamamelis virginiana*		ADSTRINGENTE, DESENGORDURANTE	5,00
EXTRATO VEGETAL *Aloe vera*		HIDRATANTE	3,00
GLICERINA	GLYCERIN	UMECTANTE	10,00
LAURILSULFATO DE SÓDIO	SODIUM LAURYL SULFATE	EMULSIONANTE, AGENTE DE LIMPEZA	1,00
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO qsp	100,00

COSMÉTICOS ANTIOXIDANTES

• Produtos antienvelhecimento: permitem o rejuvenescimento da pele se usados regularmente

TABELA 6: Loção para peles maduras

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
ÁLCOOL CETOESTEARÍLICO ETOXILADO 20 OE	CETEARETH 20	EMULSIONANTE	1,80
BENTONITA	BENTONITE	MODIFICADOR REOLÓGICO	0,80
MONO-DIESTEARATO ETILENOGLICOL	GLYCOL DISTEARATE	AGENTE DE CONSISTÊNCIA	1,00
ÁLCOOL CETÍLICO	CETYL ALCOHOL	AGENTE DE CONSISTÊNCIA	1,00
MANTEIGA DE *Theobroma grandiflorum*		EMOLIENTE, ABSORVE ÁGUA	2,50
MIRISTATO ISOPROPILA	ISOPROPYL MYRISTATE	EMOLIENTE	3,00
METILPARABENO	METYLPARABEN	CONSERVANTE	0,18
PROPILPARABENO	PROPYLPARABEN	CONSERVANTE	0,02
EXTRATO VEGETAL *Ilex paraguariensis*		ESTIMULANTE	4,00
GLICERINA	GLYCERIN	UMECTANTE	10,00
D-PANTENOL		HIDRATANTE/REGENERADOR	1,00
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO qsp	100,00

• Produtos antirradicais livres: previnem o envelhecimento da pele, atenuando rugas já existentes

TABELA 7: Emulsão para combater o envelhecimento da pele

Composição qualitativa	INCI *name*	Função na formulação	%p/p
ÁLCOOL CETOESTEARÍLICO ETOXILADO 20 OE	CETEARETH 20	EMULSIONANTE	2,00
CAULIM	KAOLIN	MODIFICADOR REOLÓGICO	1,20
MONOESTEARATO DE GLICERILA	GLYCERYL STEARATE	AGENTE DE CONSISTÊNCIA	1,50
ÁLCOOL CETÍLICO	CETYL ALCOHOL	AGENTE DE CONSISTÊNCIA	0,80
MANTEIGA DE *Theobroma grandiflorum*		EMOLIENTE, ABSORVE ÁGUA	0,50
MIRISTATO ISOPROPILA	ISOPROPYL MYRISTATE	EMOLIENTE	1,80
METILPARABENO	METYLPARABEN	CONSERVANTE	0,18
PROPILPARABENO	PROPYLPARABEN	CONSERVANTE	0,02
EXTRATO VEGETAL *Melampodium divaricatum*		ANTISSÉPTICO	2,00
GLICERINA	GLYCERIN	UMECTANTE	4,00
COCOATO DE PEG-7	PEG 7 GLYCERYL COCOATE	UMECTANTE	1,00
ÁGUA DESTILADA	AQUA	VEÍCULO qsp	100,00

DISCUSSÃO

Nos países em desenvolvimento, bem como nos mais desenvolvidos, os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam a cada dia. Muitas vezes, entretanto, as supostas propriedades farmacológicas anunciadas não possuem validade científica, por não terem sido investigadas, ou por não terem tido suas ações farmacológicas comprovadas em testes científicos pré-clínicos ou clínicos. Além disso, muitas vezes tais produtos podem estar acompanhados de adulterantes ou outras substâncias, comprometendo sobremaneira sua qualidade.

Com o objetivo de contribuir com o estudo da qualidade de fármacos vegetais, Duarte & Bardal (2002) realizaram ensaios farmacognósticos com amostras comercializadas em Curitiba, Paraná, Brasil, como meio de avaliar o mercado de fitoterápicos. Foram analisadas 120 amostras de vegetais comercializados em farmácias, ervanários e mercados da cidade no período de 2000 a 2001. As amostras, que consistiam de material vegetal dessecado pulverizado, rasurado ou inteiro, foram submetidas à verificação de identidade, por meio de caracterizações organolépticas, macroscópicas (quando aplicável) e microscópicas, à pesquisa qualitativa de marcadores químicos e/ou substâncias ativas, à pesquisa de impurezas, por meio da determinação das matérias orgânica estranha e inorgânica, e à pesquisa de falsificações. Os vegetais numericamente mais representativos na amostragem foram boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina, Monimiaceae), sene (*Cassia* sp., Fabaceae), espinheira-santa (*Maytenus* sp., Celastraceae), camomila (*Matricaria recutita* L., Asteraceae) e hortelã (*Mentha* sp., Lamiaceae), os quais coincidentemente estão entre os mais utilizados pela população.

Os resultados globais do estudo de Duarte & Bardal (2002) revelaram que, das 120 amostras analisadas, 48,3% foram consideradas insatisfatórias, preponderantemente por apresentarem elevado teor de impurezas, principalmente em relação à matéria orgânica estranha (45,0%), em oposição ao número relativamente pequeno das que não atenderam ao critério de identidade, configurando equívocos quanto à espécie correta (3,3%). Esses podem ser explicados porque os vegetais são denominados popularmente por nomes comuns, podendo vários nomes designarem um único vegetal, bem como diferentes vegetais serem referidos pelo mesmo nome vulgar. O emprego do binômio científico como forma de nomear uma espécie vegetal é desconhecido da população em geral. Sujidades, como insetos, fios de cabelo e terra, acompanhando excesso de matéria orgânica estranha, foram verificadas em 5 amostras, confirmando o mau preparo.

Como a atividade de farmacovigilância no Brasil ainda é incipiente, sendo praticamente inexistente para fitoterápicos, com o objetivo de contribuir nesse setor, Brandão *et al.* (1998) iniciaram um programa de avaliação dos fitoterápicos comercializados em Minas Gerais. Em um de seus estudos, foram analisadas 27 amostras comerciais de camomila, procedentes de farmácias e ervanárias de algumas localidades do Estado, em paralelo a uma amostra comercializada na Europa (Finlândia). Embora o estudo da identidade tenha evidenciado que

todas as amostras eram constituídas da genuína *Matricaria recutita* L., na maior parte das amostras, os capítulos florais se encontravam bastante destruídos, indicativo de manuseio excessivo e má conservação. Também foram detectadas flores estranhas e insetos (coleópteros, muitas vezes vivos) em todos os grupos de amostras brasileiras. Ainda, os constituintes ativos do óleo essencial (azuleno, matricina e alfa-bisabolol) só foram detectados em cerca de metade das amostras. Das 28 amostras analisadas, somente a finlandesa apresentou-se dentro dos padrões de qualidade exigidos pelos códigos oficiais e pela literatura, o que vem ilustrar o fato de que nos Estados Unidos e na Europa há mais controle no registro e na comercialização dos produtos obtidos de plantas, e as normas para a certificação e o controle de qualidade de preparações vegetais são mais rígidos.

COMENTÁRIOS FINAIS

Muitas vezes a contaminação de espécies vegetais é de caráter acidental. No entanto, a adulteração é, por definição, fraudulenta. Atualmente, não existem meios de fiscalização que garantam um controle de qualidade das plantas comercializadas. As primeiras regulamentações vêm sendo implantadas pelos órgãos de Controle Sanitário para o registro dos fitomedicamentos e fitoterápicos, mas grande parte do uso popular é baseada na comercialização em mercados e feiras.

Extratos vegetais para uso cosmético são comercializados livremente, sem a exigência de padronização em conteúdo de ativos e, se forem avaliados extratos de diferentes fornecedores, provavelmente serão encontrados perfis variados. Isso não dá garantia de que seu processamento produzirá fitocosméticos bem definidos e de qualidade aceitável (HANSEL & TRUNZLER, 1989).

Há quase duas décadas, no início dos anos 1990, já se falava que as expectativas do consumidor em relação aos produtos naturais podiam variar, dependendo da categoria do produto; entretanto, muitas delas parecem ser comuns a todas as categorias: o consumidor espera mais pureza, segurança e eficácia, assim como maior compatibilidade com o organismo e os aspectos químicos do corpo (GANS, 1991)

Grande parte dos consumidores de fitocosméticos sente-se encorajada por acreditar que, por serem naturais, são inerentemente seguros. A influência da imprensa na difusão de informações errôneas sobre os efeitos das plantas contidas em cosméticos é muito grande e, além disso, sem qualquer controle na maioria dos países.

Por fim, embora se tenha informações de como devem ser realizados o controle de qualidade de matérias-primas vegetais e das formulações fitocosméticas, a falta de padronização e qualidade das amostras brasileiras são evidentes e comprometem a importância que os fitocosméticos podem representar na saúde pública brasileira, confirmando a necessidade urgente da vigilância com legislação própria e específica.

REFERÊNCIAS

ALALI, F.Q. *et al*. Annonaceous acetogenins: recent progress. **J. Nat. Prod**., v.62, n.3, p.504-40,1993.

ALVES, D.L.; SILVA, C.R. **Fitohormônios**: abordagem natural da terapia hormonal. São Paulo: Atheneu, 2002, 105 p.

BACCHI, E.M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: DISTASI, L.C. **Plantas medicinais**: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996.

BAIRD, R.M.; BLOOMFIELD, S.F. **Microbial Quality Assurance in Cosmetic, Toiletries & Non-Sterile Pharmaceuticals**. New York: Taylor & Francis, 1996. 258 p.

BARRETO, D.W. Papel das algas marinhas no rejuvenescimento cutâneo. **Cosmet. Toilet.,** v.11, n.5, p.42-46, 1999.

BENNETT, S.; SCHOLZ, D.; BROOKS, G.J.; PARISH, D.F.; BURMEISTER, F. Extratos mistos de frutas: novo enfoque para renovação da pele. **Cosmet. Toilet.,** v.7, n.5, p.59-63, 1995.

BOU-CHACRA, N.A.; GOBI S.S.; OHARA, M.T.; PINTO, T.J.A. Antimicrobial activity of four different dental gel formulas on cariogenic bacteria evaluated using the linear regression method. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.,** v.41, n.3, p.323-331, 2005.

BRANDÃO, M.G.L.; FREIRE, N.; VIANNA-SOARES, C.D. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comercias de camomila. Cad. Saúde Pública, v.14, n.3, p.613-616, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes conforme o anexo desta resolução. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.** Brasília, DF, 27 set. 1999. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 14 jul. 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** Brasília, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos.** Brasília, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 37, de 6 de julho de 2009. Trata da admissibilidade das Farmacopéias estrangeiras. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.** Brasília, DF, 8 jul. 2009. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/res0037_06_07_2009.html>. Acesso em: 23 out. 2010.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutr. Rev.**, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BRIAND, X. Substâncias ativas derivadas de algas. **Cosmet. Toilet.** v.15, n.4, p.54-61, 2003.

CAPASSO, R.; IZZO, A.A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia,** p.S58-S65, 2000.

CARAMÊS DE GOUVÊIA. Algas marinhas em cosméticos. **Cosmet. Toilet.** v.1, n.4, p.13-17, 1989.

CARTURAN, G.F. **Guia ABC de microbiologia:** controle microbiológico na indústria e produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. 2.ed. São Paulo: ABC, 1999. 78p.

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

CEFALI, L.C.; RINALDO, D.; BARBOSA, V.F.; SALGADO. H. R.N.; VILEGAS, W.; OLIVEIRA, O.M.M.F.; ISAAC, V.L.B.

Tomate salada: uma alternativa como fonte de antioxidante para uso tópico. **Lat. Am. J. Pharm.,** v.28, n.4, p.589-593, 2009.

CHAO, J.; CJ, CHU, C. C. Effects of Ginkgo biloba extract on cell proliferation and cytotoxicity in human hepatocellular carcinoma cells. **World J. Gastroenterol.,** v.10, n.1, p.37-41, 2004.

CHARLET, E. **Cosmética para farmacêuticos.** Zaragoza: Editorial Acribia, 1996. 192p.

COSTA, A.F. **Farmacognosia:** farmacognosia experimental. 3. ed. Revista e atualizada pelo Prof. A. Proença da Cunha. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.III. 992p.

CUNHA, A.P. **Farmacognosia e fitoquímica.** Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2005. 670p.

DAVIS, S.S.; BURBAGE, A.S. Electron micrography of waterin-oil-in-water emulsions. **J. Colloid Interface Sci.**, v.62, p.361-363, 1997.

DUARTE, A.B.N. Avaliação da qualidade de amostras de *Illicium verum* Hoo K.F. comercializadas na região do distrito federal. **Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente,** v.XVII, n.14, 2009.

DUARTE, M.R.; BARDAL, D. Qualidade de amostras de fármacos vegetais comercializados em Curitiba-PR. **Visão Acadêmica,** v.3, n.2, p.65-68, 2002.

DWECK, A. C. Formulando com ingredientes naturais. **Cosmet. Toilet.,** v.4, n.3, p.56-59, 2002.

ELVIN-LEWIS, M. Should we be concerned about herbal remedies? **J. Ethnopharmacol.,** v.75, p.141-164, 2001.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. p.1.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1996. p.2, f.1.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2000. p.2, f.2.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu; 2001. pt.2. p.146.

FENG, P.C. et al. Pharmacological screening of some west indian medicinal plants. **J. Pharm. Pharmacol.,** 14 : 556-561 (1962)

FLAUSINO JR, O.; ABISSI, B.M.; VIEIRA JR, G.M.; SANTOS, A.G.; SILVA, D.H.S.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S. Protease inhibition activity of extracts from Salicaceae species from Brazilian Cerrado and Atlantic Rain Forest and of an enriched fraction of clerodane diterpenes (casearins). **Rev. Bras. Farmacog**., v.19, p.755-758, 2009.

FRESHNEY, R. I. **Culture of animal cells: a manual of basic technique.** 5. ed. New Jersey: Wiley-Liss, 2005.

GALHARDO, N.C.W.; ISAAC, V.L.B.; PIZZOLITTO, A.C.; MOREIRA, R.R.D.; CORRÊA, M.A. Avaliação antibacteriana do óleo essencial de pitanga para ser utilizado em produtos para higiene da cavidade bucal. **Cosmet.Toil.,** v.19, n.5, p. 33-36, 2007.

GANS, E.H. Apoio científico ao uso de ingredientes naturais. **Cosmet. Toil.,** v.3, n.1, p.51-54, 1991.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Mol. Aspects Med.,** v.27, n.1, p.1-93, 2006.

HANSEL, R.; TRUNZLER, G. Wissenswertes üher Phytopharmaka. Taschenbuch Medizin. G. Braun Verlag, Karlsruhe. In: SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. **Fitoterapia racional**. 4.ed., Manole, Barueri: 2002. 386p.

HAVSTEEN, B.N. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacol. Therapeut.**, v.96, p.67-202, 2002.

HENRIQUES, A.T.; LIMBERGER, R.P.; KERBER, V.A.; MORENO, P.R.H. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R**. Farmacognosia;** da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da Universidade/UFRGS / Ed. da UFSC, 2004. 1102p.

HUBINGER, S.Z. **Estudo farmacognóstico e desenvolvimento de fitocosmético de ação antioxidante a partir dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae - Caesalpinioideae).** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

HUBINGER, S.Z.; CEFALI, L.C.; VELLOSA, J.C.R.; SALGADO, H.R.N.; ISAAC, V.L.B.; MOREIRA, R.R.D. *Dimorphandra mollis*: uma alternativa como fonte de flavonoides de ação antioxidante. **Lat. Am. J. Pharm.,** v.29, n.2, p.271-4, 2010.

IDSON, B. Stability testing of emulsions. **Drug Cosmet. Ind.,** v.103, n.12, p.35-38, 1988

IDSON, B. Stability testing of emulsions. I. **Drug Cosmet. Ind.,** v.142, n.1, p.27-28, 1993a.

IDSON, B. Stability testing of emulsions. II. **Drug Cosmet. Ind.,** v.142, n.2, p.38-43, 1993b.

IHA, S.M.; MIGLIATO, K.F.; VELLOSA, J.C.R.; SACRAMENTO, L.V.S.; PIETRO, R.C.L.R.; ISAAC, V.L.B.; BRUNETTI, I.L.; CORRÊA, M.A.; SALGADO, H.R.N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Rev. Bras. Farmacog.,** v.18, n.3, p.387-393, 2008.

ISAAC, V.L.B.; CEFALI L.C.; CHIARI, B.G.; OLIVEIRA, C.C.L.G.; SALGADO H.R.N.; CORRÊA, M.A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.29, n.1, p.81-96, 2008.

ISHIDA, K.; MELLO, J.C.P., CORTEZ , D.A.G., DIAS FILHO, B.P., UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C.V. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy,** v.58, p.942–949, 2006.

JORGE, F.C.; BRITO, P. Cascas de árvores e seus extractos taninosos: propriedades e aplicações. **Vida Rural,** n.20, p.19-23, 2003.

KING, J.W. Extração utilizando fluído no estado supercrítico. **Cosm. Toil.,** v.4, n.1, p.34-38, 1992.

KNORST, M.T.; BORGHETTI, G.S. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtro solares. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.,** v.42, n.4, p.531-537, 2006.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WASHINGTON, C.W. **Diagnóstico microbiológico**. São Paulo: Medsi, 2001. 1465p.

LINTNER, K.; PESCHARD, O. Biologically active peptides: from a lab bench curiosity to a functional skin care product. **Int. J. Cosm. Sci.,** v.22, p.207-218, 2000.

LEUROX, R.; PESCHARD, O.; MAS-CHAMBERLIN, C.; LINTNER, K.; GUEZENNEC, A.; GUESNET, J. Shaping up. **Soao, Perfumary and Cosmetics**. v.73, n.12, p.22-24, 2000.

LINTNER, K. Peptídeos, aminoácidos e proteínas o tratamento da pele? **Cosmet. Toiletries,** v. 20, n.3, p.42-48, 2008.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; DE VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão *(Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciênc. Rural**, v.35, n.2, p.371-376, 2005.

MEYER, T.M. The alkaloids of *Annona muricata*. **Ing Ned Indie** 8 6: 64- (1941).

MIGLIATO, K.F.; CHORILLI, M.; SCARPA, M.V.; MOREIRA, R.R.D.; CORRÊA, M.A.;

ISAAC, V.L.B.; SALGADO, H.R.N. Verificação da atividade antibacteriana de sabonete líquido contendo extrato glicólico de *Dimorphandra mollis* Benth. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.,** v.30, n. 2, p.69-74, 2009.

MOREIRA, R.R.D.; ANNO, I.S.; LEITE, C.Q.F. Sensibility profile mycobateria in respect to different species of Eucalyptus L'Herit. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v.28, p.28, 1997.

MOREIRA, R.R.D.; LEITE, C.Q.F.; JORGE NETO, J. Action of *Eucalyptus* oils aginst *Mycobacterium avium*. **Fitoterapia**, v.69, n.3, p.282-283, 1998.

MULLER, A. O que é natural nos cosméticos? **Cosmet. Toilet.** v. 4, n.1, p.26-27, 1993.

NEVES, J.M.; MATOS, MC.; MOUTINHO, G.C.; GOMES, L.R.; TEIXEIRA, T. Avaliação in vitro da citotoxicidade de extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita*. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde.** Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa, v.6, p.344-354, 2009.

NICOLETTI, M.A.; ORSINE, E.M.A.; ZAMUR, J.; TORTAMANO, N. Aspectos do emprego de fitoterápicos na higienização oral. Parte I – óleos essenciais. **Cosmet. Toilet.,** v.9, n.5, p.30-34, 1997.

NOVACOSKI, R., TORRES, R.S.L.A. Atividade antibacteriana sinérgica de óleos essenciais. **Cosmet. Toilet.,** v.7, n.5, p.74-76, 2005.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia.** São Paulo: Atheneu, 1998. p.32-33.

OLIVEIRA, L.C., BLOISE, M. I. Extratos e óleos naturais vegetais funcionais. **Cosmet. Toilet.,** v.7, n.2, p.30-37, 1995.

OLIVEIRA, L.M. Benefícios comprovados de óleos brasileiros. **Cosmet. Toilet.,** v.15, n.5, p.50-55, 2003.

OLIVEIRA, R.V.M. **Avaliação do sistema conservante em xampu anticaspa com cetoconazol a 2%.** 1999. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

OLIVEIRA, A.M.; SANTOS, A.G.; SANTOS, R.A.; CSIPAK, A.R.; OLIVATO, C.; SILVA, I.C.; FREITAS, M.B.; BASSI, C.L.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S.; SILVA, D.H.S.; SAKAMOTO-HOJO, E.T.; TAKAHASHI, C.; SOARES, C.P. Ethanolic extract of *Casearia sylvestris* and its clerodane diterpen (caseargrewiin F) protect against DNA damage at low concentrations and cause DNA damage at high concentrations in mice s blood cells. **Mutagenesis,** v.24, p.501-506, 2009.

ORTH, D.S.; STEINBERG, D.C. Fator segurança no teste de eficácia de preservante. **Cosmet. Toiletries,** v.15, n.3, p.76-81, 2003.

ORTH, D.S. Avaliação do risco microbiológico de matérias-primas. **Cosmet. Toiletries**, v.9, n.3, p.34-35, 1997.

ORTH, S.S. Linear regression method for rapide determination of cosmetic preservative efficacy. **J. Soc. Cosmet. Chem**., v.30, p.321-332, 1979.

PELISSARI, G.C. **Estudos farmacognósticos e avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e imunológica de óleos essenciais obtidos a partir de *Melampodium divaricatum* (Rich. In Pers.) DC. 2008.** Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

PELISSARI, G.P.; PIETRO, R.C.L.R; MOREIRA, R.R.D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich. In Pers.) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** (Impresso), v.20, p.70-74, 2010.

PEREIRA, A.S.; AQUINO NETO, F.R. Estado da arte da cromatografia gasosa de alta resolução e alta temperatura. **Quím. Nova**, v.23, n.3, p.370-379, 2000.

PEYREFITTE, G., MARTINI, M.C., CHIVOT, M. **Estética –** Cosmética Cosmetologia Biologia Geral Biologia da Pele. São Paulo: Andrei, 1998. 507p.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Quím. Nova**, v.25, supl.1, p.45-61, 2002.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 325p.

PIRES, V.S.; TAKETA, A.T.C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Saponins and sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. **Journal of the Brazilian Chemical Society,** v.13, n.2, p.135-139, 2002.

PITELLA, F.; DUTRA R.C.; JUNIOR D.D.; LOPES M.T.P.; BARBOSA, N.R. Antioxidant and cytotoxic activities of *Centella asiatica* (L Urb.) **Int. J. Mol. Sci**., v.10, p.3713-3721, 2009.

PRIEST, D. Novo ingrediente ativo natural para a pele. **Cosmet. Toilet.,** v.18, n.1, p.62-65, 2006.

PYTEL, R.F.; SILVA, L.V.N.; NUNES A.S.; GESZTESI, J.L.; COSTA, A. Estudo *in vivo* de atividade anti-radicalar por quantificação de peróxidos cutâneos. **An. Bras. Dermatol.,** v.80, n.3, p.323-328, 2005.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon,** v.39, p.603-613, 2001.

RIEGER, M.M. Teste de estabilidade para macroemulsões. **Cosm. Toilet.,** v.8, n.5, p.47-53, 1996.

RIESER, M.J. et al. Five novel mono-tetrahydrofuran ring acetogenins from the seeds of *Annona muricata*. **J. Nat. Prod**., v.59, n.2, p.100-108, 1996.

ROCHA, L.O.; SOARES, M.M.S.R.; CORRÊA, C.L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Farm.,** v.40, n.4, p.521-527, 2004.

ROQUE, T.F.C. Hortelã: uma aliada no combate às irritações pós-barbear. **Cosmet. Toilet.,** v.15, n.5, p.56-60, 2003.

SALGADO, A.C.G.B.; SILVA, A.M.N.N.; MACHADO, M.C.J.C.; DUARTE, M.A.S.C.; RIBEIRO, H.M.O.M. Development, stability and in vitro permeation studies of gels containing mometasone furoate for the treatment of dermatitis of the scalp. **Rev. Bras. Cienc. Farm.,** v.46, n.1, p. 109-114, 2010.

SALGADO, H.R.N.; RONCARI, A.F.F.; MICHELIN, D.C.; MOREIRA, R.R.D. Evaluation of antidiarrhoeal effects of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) aqueous leaf extract in mice. **Rev. Ciênc. Farm. Bás. Aplic.**, v.27, p. 89-92, 2006.

SALVAGNINI, L.E.; MIGLIATO, K.F.; ISAAC,V.L.B.; CORRÊA, M.A.; SALGADO, H.R.N.; PIETRO, R.C.L.R. Evaluation of efficacy of preservatives associated with *Achillea millefolium* L. extract against *Bacillus subtilis*. **Braz. J. Microbiol.,** v.37, p.75-77, 2006.

SANTOS, C.A.P. Extratos vegetais em cosméticos. **Cosmet. Toilet.,** v.18, n.2, p.96-103, 2006.

SANTOS, A.G.; FERREIRA, P.M.P. ; VIEIRA JUNIOR, G.M.; PEREZ C.C.; TININIS, A.G.; SILVA G.H.; BOLZANI, V.S.; COSTA-LOTUFO, L.; PESSOA, C.; CAVALHEIRO, A.J. Casearin X, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumour human cells. **Chemistry & Biodiversity**, v.7, p.205-215, 2010.

SANTOS, A.G.; PEREZ, C.C.; TININIS, A.G.; BOLZANI, V.S.; CAVALHEIRO, A.J. Clerodane diterpenes from the leaves of *Caseria sylvestris* Swartz. **Quím. Nova,** v.30, p.1100-1103, 2007.

SANTOS, M. H.; MÉGDA, J.; CRUZ P. B. M.; MARTINS, F. T.; MOREIRA, M. E. C. Um espalhador de baixo custo de fase estacionária em placas para cromatografia em camada delgada. **Quím. Nova***,* v. 30, n. 7, p. 1747-1749, 2007.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. **Fitoterapia racional**. 4.ed. Barueri: Manole, 2002. 386p.

SILVA, M.F.; SILVA, L.B.L.; ROLIM NETO, P.J.; SANTANA, D.P.; WANDERLEY, A.G.; DIAS, P.C.; CARVALHO, J.E. Óleo de babaçu: novo ingrediente lipofílico. **Cosmet. Toilet.,** v.12, n.5, p.65-68, 2000.

SILVA, C.H.P.M.; NETTO, H.T. Contaminação microbiana em produtos cosméticos. **Sci. News**, v.1, n.2, p.5-7, 2002.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 3. ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da Universidade/UFRGS / Ed. da UFSC, 2004.

SOUZA T.M.; SANTOS, L.E.; MOREIRA, R.R.D.; ISAAC, V.L.B. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea*

millefolium L. (Asteraceae), **Rev. Bras. Farmacog.,** v.15, n.1, p. 36-38, 2005.

SOUZA, T.M.; ISAAC, V.L.B.; PIETRO, R.C.L.R; SANTOS, L.E.; MOREIRA, R.R.D. Phytochemical screening of *Achillea millefolium* L. harvested at Araraquara – SP. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.esp., p.151-154, 2006.

SOUZA, T.M.; MOREIRA, R.R.D.; PIETRO, R.C.L.R,; ISAAC, V.L.B. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Rev. Bras. Farmacog.,** v.17, n.1, p. 71-75, 2007.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Farm.,** v.42, n.2, p.289-306, 2006.

USP XXXIII. The United States Pharmacopoeia: USP 33; The National Formulary. United States Pharmacopeial Convention. Rockville, MD, 2010.

VALFRÉ, H. Fitocosmética. **Cosmet. Toilet.** v.2, n.5, p.9-14, 1990.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Quim. Nova,** v.28, n.3, p.519-528, 2005.

VILEGAS, W.; CARDOSO, C.A.L. Controle químico de qualidade de fitoterápicos e plantas medicinais. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia.** Itajaí: Univali; 2007. p.157-82.

WHO. **Quality control methods for medicinal plant materials.** Geneva, World Health Organization/ Pharmaceuticals Unit, 1992. Disponível em: <http://dosei.who.int/>. Acesso em: 14 jul. 2010.

WHO. **Quality control methods for medicinal plant materials - Revised Draft Update.** Geneva, World Health Organization, 2005. Disponível em: <http://dosei.who.int/>. Acesso em: 14 jul. 2010.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant productions: A review. **J. Agric. Food Chem.**, v.53, p.8093-8105, 2005.

WU F.E. et al. Additional bioactive acetogenins, annomutacin and (2,4-trans and cis)-10R-annonacin-A-ones, from the leaves of *Annona muricata*. **J. Nat. Prod.,** v.58, n.9, p.1430-1437, 1995.

YANG, H.; ZHAO, C.; WANG, X.; LIANG, Y.; ZENG, Y.; WU, H.; LV, H. Chromatographic fingerprint investigation for quality evaluation and control of shengui hair-growth tincture. **Planta Med.,** v.76, p.372-377, 2010.

ZENG, L. et al. Five new monotetrahydrofuran ring acetogenins from the leaves of *Annona muricata*. **J. Nat. Prod**., v.59, n.11, p.1035-1042, 1996.

VINTE E CINCO ANOS DE PESQUISAS NOS LABORATÓRIOS DE FARMACOGNOSIA DA FACULDADE DE FARMÁCIA – UFRGS

Amélia Teresinha Henriques
Gilsane Lino von Poser
José Angelo Silveira Zuanazzi
Miriam Anders Apel
Stela Maris Kuze Rates

O desenvolvimento de programas de investigação em plantas com interesse medicinal é inerente a laboratórios de Farmacognosia, disciplina do âmbito profissional farmacêutico, fato esse que pode ser verificado pela produção de artigos científicos na área de produtos naturais bioativos em países como EUA, Alemanha e França. No Brasil, entretanto, por razões históricas, o estudo de plantas medicinais estabeleceu-se incialmente, e de forma muito consistente, ligado a grupos de investigadores na área de química. O pesquisador pioneiro da área foi o Dr. Walter B. Mors, químico, com atuação inicial no Instituto de Química Agrícola (IQA) e, posteriormente, no Centro de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro, da Faculdade de Farmácia. O estabelecimento posterior de outros pesquisadores estrangeiros no Rio de Janeiro, como os doutores Benjamin Gilbert, Keith Brown Jr e Paul Baker além dos brasileiros, como Hugo

Monteiro e Afonso Seabra, a maioria químicos, intensificou as pesquisas na área fundamental de química de produtos naturais.

Igualmente referência na área de produtos naturais, o Dr. Otto Gottlieb também do IQA, transferiu-se para a Universidade de Brasília, depois para a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e para a Universidade de São Paulo, onde nucleou diversos grupos de pesquisas na área, em institutos de química. Nesses grupos, o interesse estava direcionado principalmente à obtenção de novas estruturas e sua síntese ou semissíntese. Só a partir da década de 1990, houve uma modificação nesses perfis. Os pesquisadores da área de química, que ainda predominam fortemente no segmento, passam a preocupar-se também com as atividades biológicas, e os grupos instalados em faculdades de farmácia, que por muitos anos especializaram-se na autenticação e qualidade acessada por avaliação microscópica de drogas vegetais, iniciaram trabalhos para isolamento e caracterização de produtos naturais.

Nesse sentido, a Faculdade de Farmácia da UFRGS é pioneira no Brasil no desenvolvimento de estudos químicos no âmbito da Farmacognosia, o qual teve sua origem em convênio com a Universidade Münster, Alemanha, no início da década de 1970. Essa cooperação permitiu a instrumentalização dos laboratórios analíticos e a presença de pesquisadores alemães da área, e foi decisiva para a implantação de programa de Pós-Graduação em Farmácia, também pioneiro no país, e no incentivo ao aperfeiçoamento dos docentes.

Nos anos 1980, houve uma modificação na composição dos docentes da faculdade pela absorção de pesquisadores que se doutoraram no estrangeiro e iniciaram trabalhos de cunho tecnológico e químico, visando qualificar matérias-primas vegetais, bem como avaliar as potencialidades de aplicação da flora para a saúde humana e animal. Nos laboratórios de Farmacognosia, as pesquisas ganharam novo direcionamento. Os estudos iniciais focalizaram alcaloides, mas hoje abrangem também iridoides, óleos voláteis e compostos fenólicos, associando o estudo químico a ensaios biológicos e estudo farmacológico. Além disso, são desenvolvidos projetos envolvendo biotransformação e controle químico de qualidade.

Ao longo dos últimos 25 anos, muitos e significativos resultados foram obtidos e, para tanto, diversas colaborações foram estabelecidas, com grupos da própria Universidade, de outros e Estados do Brasil e do estrangeiro, destacando-se França e Espanha.

Os trabalhos incluídos nesta revisão representam apenas um recorte dos muitos desenvolvidos ao longo do tempo. Esse recorte considerou a homogeneidade temática. Vários não estão aqui sumarizados. Esse fato não indica que foram esquecidos ou menos valorizados, todos foram relevantes e contribuíram para o desenvolvimento do laboratório até a fase atual; deixaram de ser apresentados apenas por logística ou por estar inseridos em temas em consolidação e/ou inovadoras. Com certeza, constarão em versões futuras, ampliadas. Destacamos numerosas dissertações e teses com temas relacionados ao controle de qualidade de drogas vegetais (SCOPEL, 2005; SCHWANZ, 2006) e atividades biológicas (SUYENAGA, 2002, VARGAS, 1995; BRIDI, 1999, MACHADO, 1993), análise química e de bioatividades em frutas, realizadas com objetivo de contribuir para o conhecimento de suas propriedades nutracêuticas (DRESCH, 2008; MARIN, 2008; RAMIREZ, 2008) ou esponjas marinhas e organismos associados (DRESCH, 2008a). Também poderiam ser destacados inúmeros trabalhos ligados a levantamentos etnobotânicos e utilização de plantas medicinais e fitoterápicos. Para a concretização desses resultados, muitas colaborações foram estabelecidas, sem as quais não teria sido possível alcançar os objetivos

pretendidos que se materializaram em numerosas publicações e alguns processos patenteados.

PESQUISAS NA ÁREA DE ALCALOIDES

Alcaloides representam fonte altamente provável de obtenção de produtos bioativos, fármacos ou modelos para investigação farmacológica, pela reatividade com sistemas enzimáticos, ligações a receptores biológicos e como agentes intercalantes no DNA. Suas características estruturais, como presença de heteroátomos, anéis aromáticos, peso molecular, lipofilicidade limitada, dentre outros, atendem muitos requisitos estabelecidos pelas regras de Lipinski de previsão de bioatividades.

Nesse contexto, inicialmente a família Apocynaceae e posteriormente Rubiaceae e Amarylidaceae constituem temas preferenciais de investigação de alcaloides dos laboratórios de Farmacognosia da UFRGS.

Indóis monoterpenos: *Apocynaceae*

Essa família tem sido frequentemente investigada e muitos e importantes alcaloides utilizados em terapia foram isolados. Esse fato incitou a busca por substâncias em espécies brasileiras.

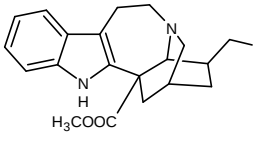
Ervatamia coronaria (Jacq.) Stapf, primeira espécie investigada, forneceu 6 alcaloides: coronaridina, heineanina, voacristina, voacamina, descarbometoxivoacamina e 19-20-diidrohervaanina A, inédito na literatura à época. Os extratos aquosos e alcoólicos da espécie apresentaram atividades analgésica e antiinflamatória no teste de edema de pata de rato induzida por carragenina e potenciaram o tempo de sono induzido por pentobarbital. O produto majoritário, voacristina, apresentou efeitos citostáticos e citotóxicos dose-dependente sobre células em divisão de *Saccharomyces cerevisiae*. As lesões induzidas *in vivo* pelo alcaloide foram, predominantemente, do tipo adições, mas também foram observadas quebras de cadeias de DNA. As lesões foram reparáveis na linhagem selvagem e foi constatado que o produto do gene RAD6 estaria implicado a expressão de lesões pré-mutagênicas induzidas (MELO, 1986; MELO *et al.*, 1986; HENRIQUES *et al.*, 1996).

O extrato de folhas de *Peschiera australis* Muell Arg. Miers, var *australis* forneceu os alcaloides catarinensina e olivacina; de sementes, foram isoladas coronaridina, tabersonina e coronaridina-hidroxiindolenina e de cascas das raízes, olivacina e coronaridina. Os extratos de folhas e sementes demonstraram atividade antitumoral em roedores sobre carcinoma de Ehrlich e sarcoma 180 (RATES *et al.*, 1988, RATES, 1989; RATES *et al.*,1993).

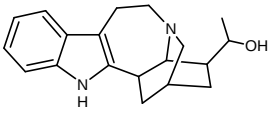
Um trabalho realizado em colaboração com grupo da UFRJ avaliou a ação da coronaridina sobre *Leishmania amazonensis* identificando atividade inibitória de crescimento de promastigotos e amastigotos (DELORENZI *et al.*, 2001). Os alcaloides indólicos monoterpênicos

(MIA), coronaridina, venalstonina, andrangina, vincadiformina e voacristina, isolados de diversas espécies, exibiram atividade antioxidante e anticolinesterásica em ensaios autobiográficos *in vitro*. Substâncias com dupla atividade, anticolinesterásica e antioxidante, vêm sendo consideradas como uma nova abordagem terapêutica para o tratamento farmacológico da doença de Alzheimer, evidenciando o interesse de avaliar esse grupo químico (KONRATH, 2006).

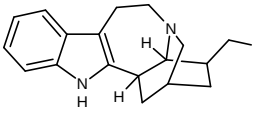
As cascas das raízes de *Rauvolfia sellowii* Mull. Arg., forneceram aricina, ajmalina, tetraidroalstonina, reserpina e ajmalicina. Reserpina, quando testada pelo modelo cromoteste SOS, não demonstrou genotoxicidade e também não induziu mutações reversas e eventos mitóticos recombinacionais (*crossing-over* e conversão gênica) em cepa diploide de levedura XS2316. A ajmalicina, embora não mostrando efeito mutagênico, apresentou uma indução de eventos recombinogênicos em células de levedura tratadas em fase exponencial de crescimento, quando o nível de citocromo P-450 é elevado, indicando que a ação recombinogênica é dependente de ativação metabólica (VON POSER, 1987; VON POSER *et al.*, 1990). Dos extratos de folhas dessa espécie foram isolados: vomilenina, 12-demetoxitabernulosina, picrinina, 19-20-epoxiaquamicina, raucafrinolina, peraquina, dimetilacetalperaquina e um alcaloide inédito à época, selowiina. Calus e suspensões celulares foram estabelecidos a partir de folhas e foi verificado que os alcaloides majoritários isolados das folhas foram produzidos: sellowiina, 19-20-epoxiaquamicina, vomilenina, picrinina e demetoxitabernulosine (BATISTA, 1994; BATISTA *et al.*, 1996; RECH *et al.*, 1998). As estruturas dos principais alcaloides isolados de espécies dessa família estão apresentadas na Figura 1.



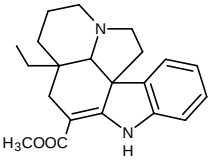
Coronaridina



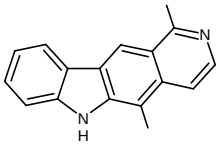
Heineanina



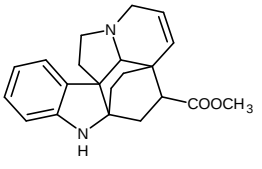
Ibogamina



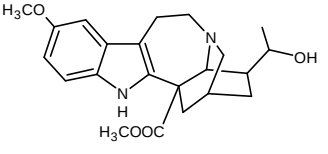
Tabersonina



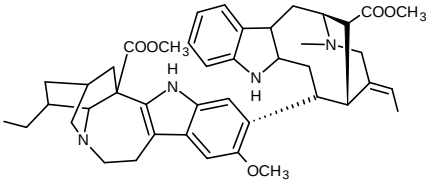
Olivacina



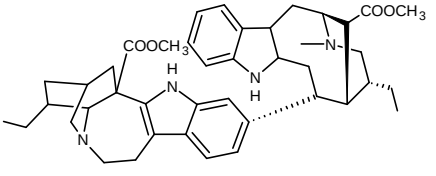
Venalstonina



Voacristina



Voacamina



19,20-Diidrohervaanina A

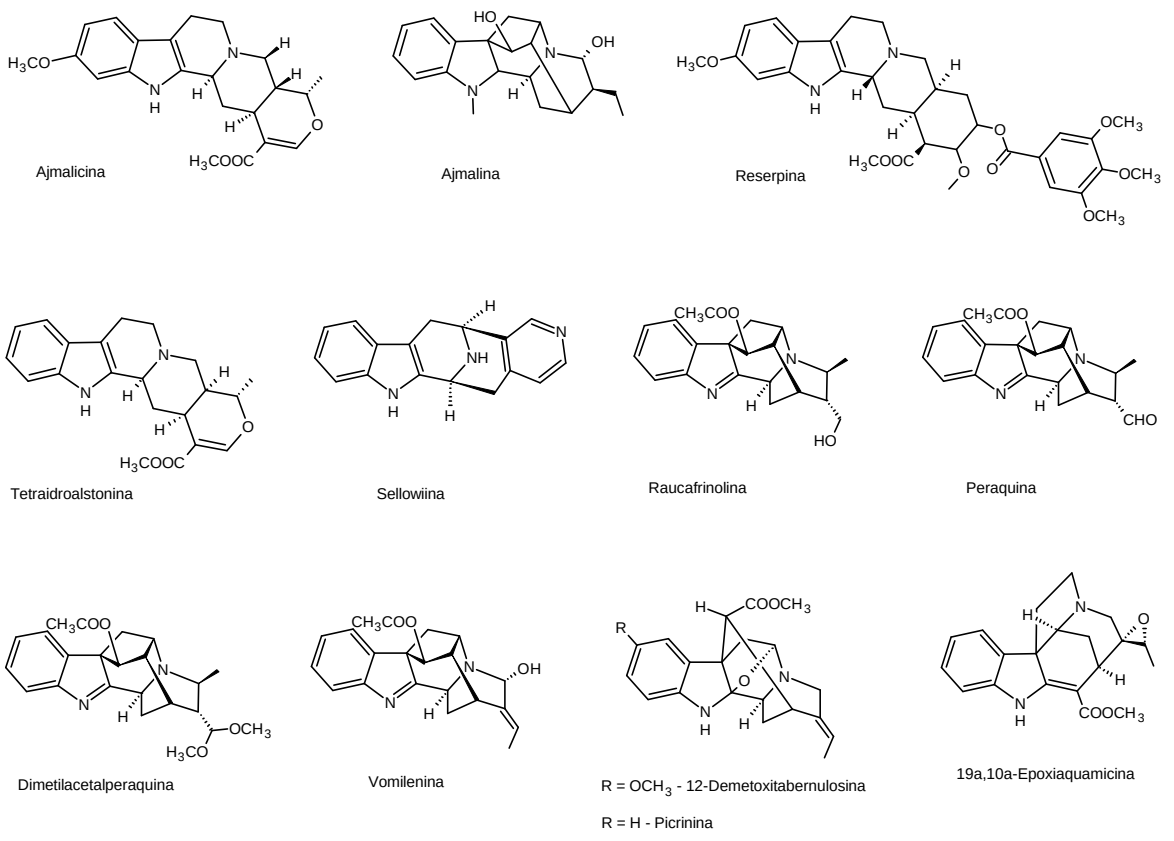


FIGURA 1. Estruturas dos principais alcaloides isolados de espécies da família Apocynaceae. Indóis monoterpenos: Rubiaceae

Espécies da família Rubiaceae são amplamente distribuídas em regiões de mata do todo o mundo, mas predominam em florestas úmidas tropicais e incluem mais de 600 gêneros, sendo a quarta maior família de angiospermas. Nessa família, o alvo principal de nossas investigações tem sido o gênero *Psychotria* L., o maior da família, incluindo cerca de 1800 espécies. No Brasil, ocorrem 264 espécies, 5 subespécies e 2 variedades; 140 dessas são endêmicas. Quanto à distribuição, a maioria ocorre na região Norte e o menor número, na região Sul do Brasil, em acordo com o esperado pelas características do *habitat* preferencial do grupo. Em face do elevado percentual de endemismo e ao fato que muitas espécies têm distribuição restrita e sensibilidade ecológica, algumas são vulneráveis e com risco de extinção. Devido à dificuldade na delimitação de suas fronteiras, *Psychotria* L. é motivo de controvérsia entre taxonomistas e têm sido estreitamente relacionado à *Palicourea* Aubl. e *Cephaelis* Sw., apresentando, também, similaridades com os gêneros

Calycodendron A. C. Sm. e *Calycosia* A. Gray. Recentemente, algumas espécies foram transferidas para *Margaritopsis* C. Wright. Na região Sul, está registrada a presença de 18 espécies (TAYLOR, 2010). Esse número pode não ser real, uma vez que um grande número de espécies ocorre no estado de São Paulo, podendo haver expansão para a parte mais setentrional da região Sul.

A avaliação dos perfis cromatográficos e dos espectros na região do ultravioleta para os extratos etanólicos de espécies de *Psychotria* coletadas no sul do Brasil, realizada por cromatografia líquida acoplada a detector de arranjo de diodos, permitiu a verificação de cromóforos típicos de MIAs e b-carbolínicos glicosilados em catorze das quinze espécies estudadas (LOPES *et al*., 2004). Esse fato permitiu estabelecer diferença significativa de outros metabólitos comuns nesse gênero os alcaloides poliindolínicos, de origem biogenética distinta.

Foram investigadas as espécies *P. brachyceras* Müll. Arg., *P. brachypoda* (Müll.Arg.) Britton, *P. suterella* Müll. Arg., *P. myriantha* Müll. Arg., *P. nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra e *P. leiocarpa* Cham. & Schltdl.

As folhas de *P. brachyceras* forneceram um MIA inédito, braquicerina, cuja estrutura deriva da condensação direta da triptamina com 10-oxo-1-epiloganina sem a cisão do anel, com formação de secologanina, passo biossintético usual para esse grupo químico, indicando uma nova classe de alcaloide indólico. Adicionalmente, há manutenção da glicose, indicando que as enzimas hidrolíticas estão reprimidas (KERBER, 1999; KERBER *et al.,* 2001, GREGIANINI *et al*., 2003; GREGIANINI *et al*., 2004).

Das folhas de *P. brachypoda* foi isolado um alcaloide majoritário, a psicolatina, cuja estrutura deriva a condensação do iridoide 10-oxo-5-epi-geniposideo com triptamina, e, como no caso anterior, sem passar por secoiridoide. Outros 3 produtos também foram isolados: 3,4-desidro-18,19-b-epoxi-15-epi-psicolatina, N^4-[1-(2-a-hidroxipropil)]-psicolatina e N^4-[1-(2-b-hidroxipropil)]-psicolatina (KERBER, 1999, KERBER *et al*., 2008). Trabalhos realizados em colaboração com o Departamento de Farmacologia – UFRGS permitiram verificar que psicolatina, em modelos térmicos de nocicepção, produziu efeito dose-dependente, parcialmente reversível por naloxona, sugerindo participação de receptores do tipo opioide no seu mecanismo de ação. Em modelos animais de dor induzida por capsaicina, psicolatina demonstrou atividade analgésica dose-dependente, além de efeitos ansiolítico e antidepressivo. O mecanismo da atividade ansiolítica parece incomum, uma vez que é revertida por tratamento prévio com ritanserina e MK801, antagonistas de 5HT2 e NMDA, respectivamente (BOTH *et al*., 2002; 2005; 2006). Posteriormente foi avaliado o efeito de tratamento agudo e subcrônico com psicolatina sobre os níveis de aminoácidos excitatórios em hipocampo e córtex pré-frontal de ratos, sendo observado efeito significante nos níveis de neurotransmissores excitatórios no córtex pré-frontal, mas não no hipocampo. Foi observado aumento nos níveis de aspartato, glutamato e glutamina e decréscimo na concentração de glutamina no córtex pré-frontal após tratamento subcrônico. Esses resultados parecem

sugerir plasticidade induzida pelo alcaloide sobre receptores (PASSOS, 2008).

A partir do extrato de alcaloides obtidos de folhas de *Psychotria suterella* Müll.Arg. foram isolados os MIAs: lialosídeo, estrictosamida e naucletina. Culturas *in vitro* foram estabelecidas e houve a formação de alcaloides. Tanto o extrato quanto lialosídeo reduziram a atividade locomotora em modelos animais, indicando ação depressora (SANTOS, 1999; SANTOS *et al.*, 2001).

A partir de *Psychotria myriantha* Müll Arg. foram isolados os alcaloides estrictosamida, ácido estrictosidínico e outro não relatado anteriormente a miriantosina A. O extrato *n*-butanólico de alcaloides e as substâncias isoladas, apresentaram atividade inibidora da migração de leucócitos, sugerindo efeito anti-inflamatório, e capacidade de inibir a ação da enzima acetilcolinesterase. O mesmo extrato e o alcaloide ácido estrictosidínico aumentaram o tempo de latência no teste da retirada da cauda frente ao estímulo térmico, indicando uma atividade analgésica do tipo opioide. Foi verificada a influência do ácido estrictosidínico sobre os níveis de aminas biogênicas dopamina e serotonina e seus metabólitos em estruturas cerebrais de ratos. Hipocampos de animais que receberam injeção intra-hipocampal bilateral de ácido estrictosidínico apresentaram redução nos níveis de serotonina, enquanto os córtices desses animais apresentaram redução nos níveis de DOPAC, 3-MT e 5-HIAA. Hipocampos e estriados de ratos tratados com injeção i.p. de ácido estrictosidínico demonstraram diminuição de 63,4 e 28,7% nos níveis de 5-HT, respectivamente. Esses dados indicam que esse grupo de MIAs pode constituir potencial fonte de substâncias com atividade sobre o sistema nervoso central (FARIAS, 2006; SIMÕES-PIRES *et al.*, 2006; FARIAS *et al.*, 2010).

Psychotria nuda Cham. & Schltdl. Wawra apresentou estrictosamida como produto majoritário. Esse alcaloide foi encontrado na maioria das espécies de *Psychotria* de ocorrência no Brasil e apresenta atividade antimalárica e inibidora de canais iônicos em rins e cérebros de ratos. Ensaios de quimiotaxia realizados com leucócitos polimorfonucleares indicaram atividade inibidora da migração frente ao agente lipolissacarídeo obtido de *E. coli* (FARIAS *et al.,* 2008).

Folhas de *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltdl. forneceram um MIA majoritário a N,b-D-glicosilvincosamida, inédito e raro por apresentar a porção indol N-glicosil além de outra O-glicose, como na maioria dos alcaloides do grupo (LOPES, 1998; HENRIQUES *et al.*, 2004).

Estudos de regulação da produção desses alcaloides foram realizados em colaboração com grupo de pesquisa em botânica desta Universidade (PARANHOS *et al.*, 2005; PARANHOS *et al.*, 2009). O efeito da luz branca e açúcar exógeno foram avaliados em plântulas. A produção do alcaloide N-glicosilado de *P. leiocarpa*, restrita aos brotos, foi fortemente influenciada pela presença da luz e inibida pela adição de glicose ao meio de cultura, indicando a impor-

tância do metabolismo fotoautotrófico e desenvolvimento fotomorfogênico para acumulação do alcaloide (PORTO *et al.*, 2009). As estruturas dos principais alcaloides isolados desse gênero estão apresentadas na Figura 2.

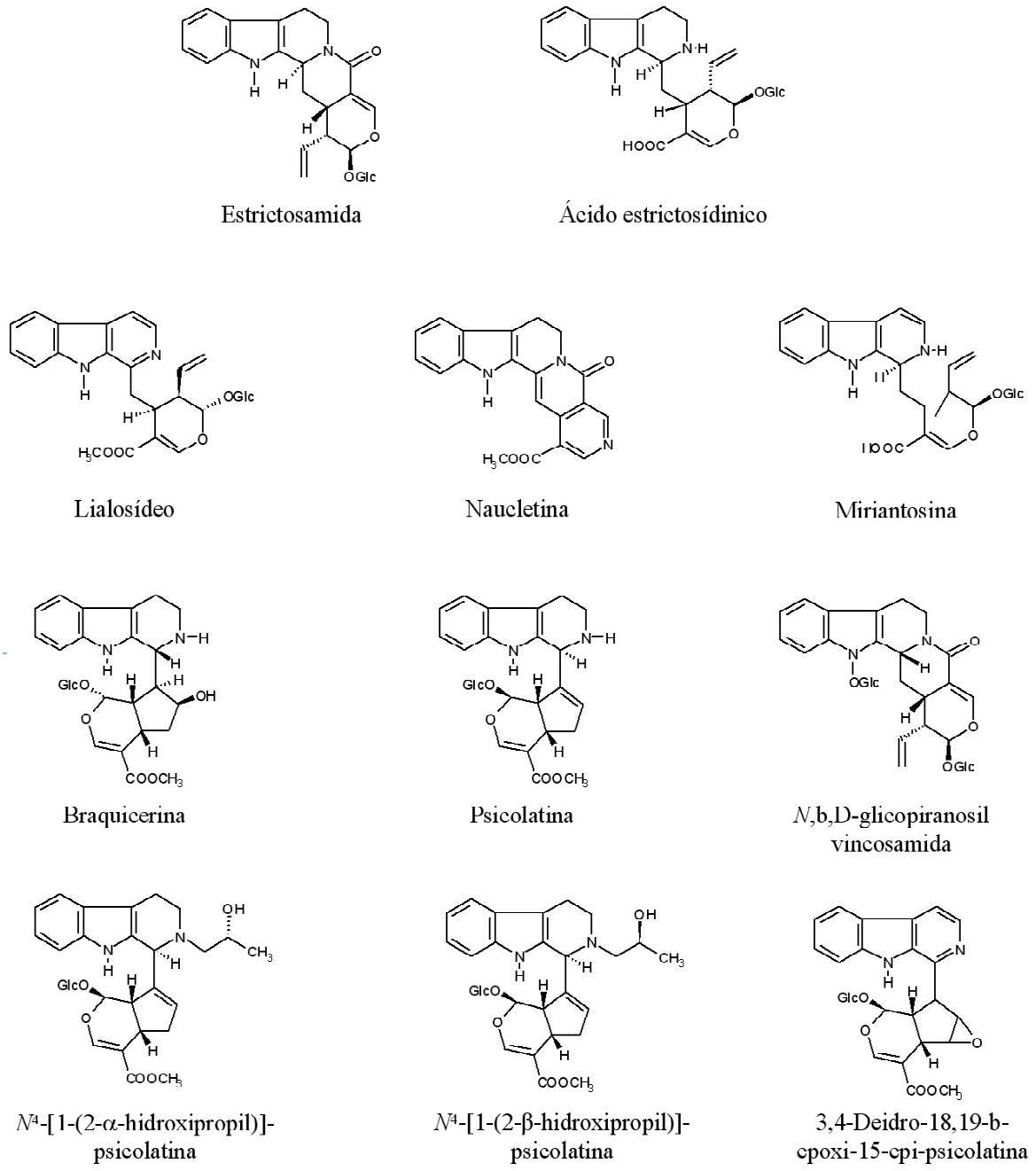


FIGURA 2. Estruturas dos alcaloides isolados de espécies do gênero *Psychotria*.

ALCALOIDES DE AMARYLLIDACEAE

A importância do estudo desses metabólitos tem crescido, devido ao potencial emprego terapêutico sobretudo na terapia contra o câncer e ação no sistema nervoso central, como a substância galantamina. Diversas espécies dessa família ocorrem no Brasil e a investigação química e/ou biológica era quase inexistente. Estudos têm mostrado que a atividade biológica desses vegetais está relacionada à presença de alcaloides tetraidroisoquinolínicos, embora outros compostos não alcaloídicos também tenham sido encontrados. Um dos gêneros estudados no Laboratório de Farmacognosia, *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae), está amplamente distribuído nas Américas Central e do Sul, sendo caracterizado pela presença de alcaloides de ocorrência quase exclusiva nesta família, dado de importância taxonômica.

Hippeastrum glaucescens Mart., primeira espécie investigada, forneceu três alcaloides: licorina, tazetina e pretazetina, obtidos de bulbos frescos. Os extratos de *H. glauscencens* foram investigados quanto à atividade antiproliferativa, frente às linhagens celulares de câncer de pulmão HT-29 e H-460, apresentando resultado positivo para a maior parte das frações contendo alcaloides e resultado negativo para aquelas onde esses compostos estavam ausentes. Os extratos e produtos isolados foram também avaliados quanto à ação antiviral utilizando HSV-1 cepa KOS, sendo que, pelo método empregado, os resultados não foram significativos (HOFFMAN JR, 2002; HOFFMAN JR *et al*., 2002; 2003).

Extratos dos bulbos da espécie *H. vittatum* (L´Hér.) Herb. forneceram montanina, licorina, pancracina e vitatina. A partir de bulbos de *H. striatum* (Lam.) H.E. Moore foi isolado em grande quantidade o alcaloide licorina e o alcaloide vitatina, e os extratos diclorometano e *n*-BuOH de *H. vittatum* demonstraram inibir moderadamente o crescimento de células tumorais (HT29 - adenocarcinoma de cólon, H460 - carcinoma de células não pequenas de pulmão, RXF393 - carcinoma renal, MCF7 - câncer de mama e OVCAR3 - câncer epitelial de ovário) e a montanina apresentou significativo efeito antiproliferativo contra as mesmas células testadas (SILVA, 2005; SILVA *et al*., 2008).

A dose letal mediana de montanina para camundongos machos foi calculada em 64,7 mg/kg i.p. A montanina não alterou a locomoção e a atividade exploratória de camundongos. Na avaliação da atividade central da montanina, foi observada uma atividade ansiolítica (labirinto em cruz elevado), antidepressiva (nado forçado). No paradigma de memória de esquiva inibitória passiva, a montanina não alterou significativamente o comportamento de ratos. Na investigação da modulação da via de sinalização das MAPKs (envolvidas com a memória) em fatias hipocampais tratadas (ratos), concluiu-se que a montanina e a galantamina aumentaram a fosforilação (atividade) das proteínas testadas. Os resultados obtidos para a galantamina sugeriram uma possível ação, contribuindo para a melhora da memória em ratos na esquiva inibitória (SILVA *et al*., 2006).

Montanina foi também foi avaliada na tarefa de reconhecimento de objeto, com administração intra-hipocampal, testado 24 horas pós-treino (memória de longa duração). Foi obtida curva dose-resposta para o alcaloide, com dose pró-cognitiva estatisticamente significante de 1 µg/µl. Essa mesma dose foi avaliada na mesma tarefa para obtenção de curva temporal. A

montanina demonstrou efeito pró-cognitivo na tarefa de reconhecimento de objetos, administrada pós-treino (ANDRADE, 2007). Os resultados mostraram que os animais tratados com montanina na dose de 3µg/µl, 24 horas após a última sessão de treino, lembravam mais da localização da plataforma quando comparados ao grupo-controle, sugerindo que a montanina ativa mecanismos relacionados com a formação da memória espacial. O papel da montanina na consolidação da memória pode ser justificado pela ação inibitória desse alcaloide sobre a atividade da acetilcolinesterase, mesmo que em menores concentrações que a galantamina. A inibição dessa enzima faz com que aumente a concentração da acetilcolina na fenda sináptica, promovendo maior afinidade desse neurotransmissor com seus receptores. Por fim, este trabalho traz a montanina como um composto com significativo potencial de inibição da acetilcolinesterase, possuindo relação com processos mnemônicos e, dessa forma, contribuindo para pesquisas de novos fármacos relacionados ao tratamento de desordens neurológicas como a dopamina (PAGLIOSA, 2009; PAGLIOSA *et al*., 2010).

A espécie *H. breviflorum* Herb. coletada na região de Aparados da Serra (RS) foi separada em dois grupos, de acordo com a coloração das flores (vermelhas ou brancas). Empregando-se cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência dos extratos obtidos, verificou-se que os dois grupos vegetais são idênticos qualitativamente. Foram isolados três alcaloides: licorina, licosinina-B e 9-*O*-demetil-licosinina-B, inédito na literatura. Os extratos e produtos isolados foram avaliados quanto às atividades anticolinesterásica, antioxidante e antiviral. Apenas o extrato de bulbos apresentou atividade anticolinesterásica, sendo esta atividade também detectada para os compostos licosinina-B e 9-*O*-demetil-licosinina-B. Todos os extratos de folhas de *H. breviflorum* apresentaram inibição do vírus HSV-1 cepas KOS e ATCC-VR733 inferior a 50% (SEBBEN, 2005).

Realizou-se a investigação de alcaloides dos extratos de *H. papilio* (Ravenna) Van Scheepen, coletada na região serrana do estado do Rio Grande do Sul. Estudos por cromatografia líquida e gasosa, acopladas a espectrômetro de massas nos extratos dessa planta, apontaram para a existência de alcaloides dos núcleos licorina e haemantamina sob a forma de heterosídeos. Além disso, a mesma análise indicou a existência de núcleos galantamina nos extratos, indicando a presença de narvedina e sanguinina, esta com capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase superior a da galantamina. Os extratos enriquecidos em alcaloides de *H. papilio* demonstraram inibição da enzima acetilcolinesterase, pelo método da bioautografia em cromatoplaca (ANDRADE, 2007).

Foi avaliado o conteúdo químico em alcaloides em duas plantas *H. morelianum* Lem. (coletada no estado de São Paulo) e *H. santacatarina* (Traub) Dutilh (coletada no Rio Grande do Sul), além da investigação das atividades antioxidante, anticolinesterásica e antimicrobiana dos produtos isolados e extratos (GIORDANI *et al*., 2008). A partir de *H. morelianum,* foram identificados e elucidados doze alcaloides: 2α,7-dimetoxi-homolicorina (inédito), candimina, para a qual foi realizada a primeira descrição dos dados espectroscópicos, haemantamina, trisfaeridina, tazetina, pretazetina, hamaína e 3-epimacronina. A partir de *H. santacatarina,* foram identificados três alcaloides: licorina, haemantamina e pseudolicorina. Todos os extratos avaliados, de ambos os vegetais, mostraram efeitos antioxidante e anticolinesterásico, porém não antimicrobiano. Quanto aos produtos isolados, destaca-se a atividade antioxidante da

licorina, verificada pelo método da inativação do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). No *screening* de atividade anticolinesterásica, todos os alcaloides isolados de *H. morelianum,* exceto um, apresentaram resultado positivo. Para *H. santacatarina*, a licorina, assim como outros isolados, demonstrou atividade anticolinesterásica, também com 5µg de amostra (GIORDANI, 2007).

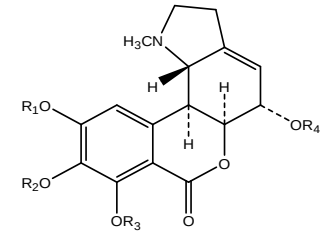
Hippeastrum psittacinum (Ker Gawl.) Herb. (coletada no estado de São Paulo) foi investigado e apresentou, como alcaloides majoritários, tazetina, pretazetina e hipeastrina. As frações diclorometano dos bulbos do vegetal apresentaram-se ricas em alcaloides, sendo identificado sal de pretazetina, pretazetina e hipeastrina (PAGLIOSA, 2009).

Em trabalho mais recente, investigou-se a aplicação do potencial citotóxico dos alcaloides licorina e candimina como compostos anti-*Trichomonas vaginalis*. O parasito *T. vaginalis* pode ser considerado um microrganismo-modelo para estudos de morte celular, pois é amitocondriado. O efeito citotóxico anti-*T. vaginalis* da candimina não apresentou perfil dose-dependente. Por outro lado, no tratamento com licorina, a viabilidade dos parasitos foi reduzida duas vezes, quando o efeito das concentrações menores (2,5 e 5,0µM) foi comparado ao efeito das maiores concentrações (250, 500 e 1.000µM). Licorina e candimina retardaram o ciclo celular do *T. vaginalis* na fase G2/M, mais pronunciado após 24 horas de incubação. Após extração do DNA total dos parasitos, não se verificou a fragmentação do DNA total após o tratamento com ambos os alcaloides. Ainda, não foi detectado qualquer efeito na exposição de resíduos de fosfatidilserina após o tratamento, portanto, não há indicativo de morte celular por apoptose. Após incubação com licorina e candimina, análise por microscopia eletrônica de varredura permitiu verificar diversos sulcos na superfície, além de aspecto enrugado áspero e alterações no tamanho celular. Através da microscopia eletrônica de transmissão, verificou-se que os alcaloides não induziram a formação de células multinucleadas – sinais característicos de apoptose – entretanto, o núcleo demonstrou uma forma anormal: alongado ou ramificado em diversas células após ambos os tratamentos. Intensa vacuolização periférica formando vacúolos entre a membrana citoplasmática e a matriz, já em estado avançado de degeneração, foram verificados após ambos os tratamentos, além de vacúolos em forma de estrias: uns contendo figuras de mielina e outros contendo estruturas membranosas que poderiam indicar um fenômeno de degeneração autofágica. Em relação à licorina, podemos sugerir que seu mecanismo de ação citotóxico em células eucarióticas difere entre as que possuem mitocôndrias e as amitocondriadas. Algumas características observadas após o tratamento com ambos os alcaloides são comuns a uma forma alternativa de morte celular programada, a paraptose.

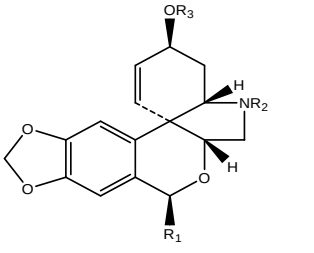
Licorina e candimina inibiram a atividade das enzimas NTPDase e ecto-5'-nucleotidase sendo os resultados mais expressivos: (i) a candimina inibiu, aproximadamente, 90% da hidrólise do ATP; (ii) licorina inibiu 64% da hidrólise do ADP e 62% da hidrólise do AMP; e (iii) os alcaloides não inibiram a transcrição dos genes NTPDase. Os efeitos modulatórios de alcaloides de Amaryllidaceae em ectonucleotidases de parasitos é uma abordagem inovadora dentro da extensa gama de atividades farmacológicas apresentadas por esses alcaloides (GIORDANI, 2010; GIORDANI *et al.*, 2010).

Duas outras espécies de ocorrência no Rio Grande do Sul foram estudadas: *Habranthus erectus* Ravenna e *Rhodophiala bifida* (Herb.) Traub. Alguns autores afirmam ser grande a proximidade taxonômica entre os gêneros *Rodophiala* e *Hippeastrum,* e outros consideram que

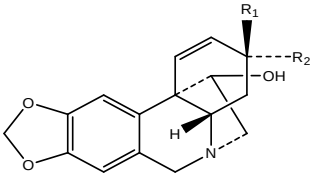
ambas pertenceriam a um só gênero. Três alcaloides foram isolados de *H. erectus* e dois outros a partir de *R. bifida:* nangustina e montanina. Este último, representando cerca de 90% dos alcaloides totais (diclorometano) de *R. bifida*, apresentou ação inibitória sobre o crescimento de culturas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides*, *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, além de demonstrar significativa atividade citostática sobre todas as linhagens celulares tumorais testadas (UACC-62 – melanoma, MCF-7 – mama, NCL-460 – pulmão, OVCAR – ovário, PCO-3 – próstata, HT-29 – cólon, 786-0 – rim, NCL-ADR – mama multidroga resistente) (CASTILHOS, 2004; CASTILHOS *et al.*, 2007). As estruturas dos principais alcaloides isolados desta família estão apresentadas no Figura 3.



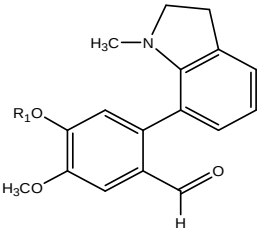
R1 = R2 = R3 = R4 = OCH_3: 2,7-dimetoxi-homolicorina
R1 + R2 = OCH_2O; R3 = OCH_3; R4 = OH: Candimina
R1 + R2 = OCH_2O; R3 = H; R4 = OH: Hipeastrina



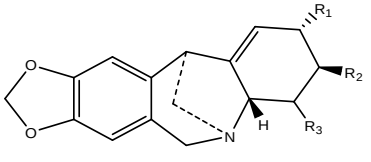
R1 = OH; R2 = CH_3; R3 = CH_3: Pretazetina
R1 = H; R2 = CH_3; R3 = CH_3: Tazetina
R1 = O; R2 = CH_3; R3 = CH_3: 3-epimacronina



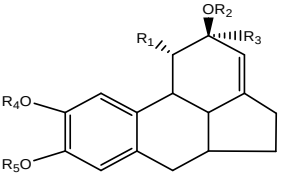
R1 = H; R2 = OH: Hamaína
R1 = OCH_3; R2 = H: Haemantamina



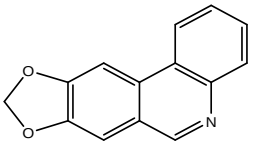
R1 = CH_3: 9-*O*-demetillicosinina
R1 = OH: Licosinina



R1 = OCH_3; R2 = OH; R3 = H: Montanina
R1 = OH; R2 = OH; R3 = H: Pancracina
R1 = H; R2 = OH; R3 = OH: Nangustina



R1 = OH; R2 = H; R3 = H; R4+R5 = CH_2: Licorina
R1 = OH; R2 = H; R3 = H; R4 = H; R5 = CH_3: Pseudolicorina



Trisfaeridina

FIGURA 3: Estruturas dos principais alcaloides isolados de espécies da família Amaryllidaceae

OUTROS GRUPOS DE ALCALOIDES: QUÍMICA E BIOATIVIDADES

Alguns grupos pontuais foram também objeto de trabalho; alcaloides totais obtidos *Erythroxylum argentinum* O. E. Schulz apresentaram atividade anestésica local semelhante à cocaína e efeito significativo na prevenção e reversão de ptose palpebral induzida por reserpina, indicando efeito estimulante. No extrato, foram caracterizados os alcaloides 3â,6â-ditigloiloxinortropano, 3,6 dipropanoiloxinortropano, 3, propanoiloxitigloiloxinortropano e tropacocaína (CHAVES *et al.*, 1988; ZUANAZZI, 1990; ZUANAZZI *et al.*, 2000; ZUANAZZI *et al.*, 2001).

Zanthoxylum chiloperone Mart. ex Engl., Rutaceae, forneceu cantin-6-ona, 5-metoxicantin-6-ona, celeritrina e esquimianina. 5-metoxicantin-6-ona demonstrou ser um agente genotóxico e mutagênico de ação direta em células procarióticas (DIEHL, 1992; DIEHL *et al.*, 2000).

A partir de *Helietta apiculata* Benth., também Rutaceae, foram isolados os alcaloides maculosina, flindersiamina e dois inéditos à época: helietinina e helietidina (HECKLER, 1993). A mistura de alcaloides furoquinolínicos induz inibição do sistema micorossomal P450, alterando o padrão de aminopirina-N-demetilação e 3,4-benzopireno hidroxilação (CASADO *et al.*, 1985; GOLUBKOVA *et al.*, 1998).

Em cascas do tronco *Nectandra grandiflora* Nees & C. Mart. ex Nees., Lauraceae, foram caracterizados os alcaloides aporfínicos: laurolitsina, laurotenina, boldina e isoboldina (MORENO, 1989; MORENO *et al.*, 1991). O extrato total demonstrou atividade antitumoral em sarcoma 180 e carcinoma de Erhlich em camundongos (MORENO *et al.,* 1993). Trabalhos posteriores em colaboração com pesquisadores do Departamento de Bioquímica desta universidade confirmaram a atividade em modelos celulares de gliomas, com boldina isolada (GERHARDT *et al.*, 2009). Esse alcaloide não apresentou efeitos mutagênicos em organismos procarióticos e eucarióticos, entretanto, em sistema eucariótico, foi capaz de induzir efeitos recombinacionais do tipo conversão gênica (HENRIQUES *et al.*, 1991; MORENO *et al.*, 1991).

Estudos realizados empregando um modelo *in vitro* de fatias hipocampais de ratos, submetidas à privação de oxigênio e glicose (POG) e métodos de avaliação da toxicidade dos alcaloides pela avaliação da liberação da enzima lactato desidrogenase (LDH) citosólica e redução do MTT (viabilidade mitocondrial) com os alcaloides boldina e vincamina, demonstraram que estes promoveram um aumento de 40% na liberação de LDH nas fatias que sofreram POG na concentração de 100µM, além de aumento significativo na liberação dessa enzima também nas fatias controles. Psicolatina e reserpina também tiveram efeitos neurotóxicos. Foi verificado que a POG em fatias hipocampais promove uma diminuição nas medidas do potencial antioxidante total (TRAP) e reatividade antioxidante total (TAR), de 63% e 16,5%, respectivamente, além de causar um aumento nos níveis de malonodialdeído liberado pelas fatias, detectado pelo ensaio de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS). Entretanto, esse efeito foi revertido pela presença de boldina nas concentrações de 10µM e de 50µM. Esse mesmo alcaloide, com reconhecida atividade antioxidante, também demonstrou ser um sequestrador de radicais peroxila mais potente que o padrão trolox (KONRATH, 2006, KONRATH *et al.*, 2008).

PESQUISAS NA ÁREA DE IRIDOIDES

O interesse na pesquisa de iridoides nasceu a partir do estudo dos alcaloides indólicos monoterpenos, uma vez que fazem parte da rota biossintética destes últimos. Além disso, foi verificado na literatura que os dois grupos de iridoides encontrados nos vegetais, seco-iridoides e iridoides carbocíclicos, são compostos com importante significância taxonômica, área de interesse do grupo de pesquisa.

Nesse sentido, foi iniciado o estudo de espécies nativas das ordens Lamiales e Gentianales (*sensu* Dahlgren), onde os iridoides têm papel importante na revisão dos sistemas taxonômicos. Nesses táxons, os compostos são formados por diferentes rotas biossintéticas sendo seco-iridoides, mais frequentes nos representantes da ordem Gentianales e iridoides carbocíclicos amplamente distribuídos na ordem Lamiales. Os iridoides carbocíclicos, por sua vez, ocorrem nas formas carboxilada e descarboxilada e esse padrão de substituição também tem significado taxonômico especialmente em níveis hierárquicos como subfamílias e tribos.

Utilizando extensa revisão da literatura sobre a ocorrência dessas substâncias e aliando-se aos dados do laboratório, foram desenvolvidos diversos trabalhos de quimiotaxonomia (VON POSER *et al*., 1997a; VON POSER *et al*., 1998a; VON POSER *et al.,* 2000a).

A primeira planta analisada visando à obtenção de iridoides foi *Verbenoxilum reitzii* (Moldenke) Tronc. (Verbenaceae). Dessa espécie foram isolados teviridosídeo, ipolamídeo e 2'-apiosilgardosídeo, um iridoide inédito e exclusivo, até o momento, para essa espécie (VON POSER *et a*l., 1995; VON POSER et al., 1998b). Foram também investigadas espécies de Scrophulariaceae, obtendo-se de *Angelonia integerrima* Spreng., além de oito iridoides conhecidos, um iridoide inédito denominado angelosídeo (VON POSER *et al*., 1997b). De *Scoparia* ericacea Cham. & Schltdl. foram obtidos ácido geniposídico, geniposídeo, carioptosídeo e ésteres metílicos de escandosídeo e de xanzisídeo, enquanto *Agalinis communis* (Cham. & Schltdl.) D'Arcy forneceu aucubina, ésteres metílicos de xanzisídeo e de gardosídeo, 5-desoxipulquelosídeo I, bartisiosídeo e 8-*epi*-loganina (VON POSER *et al*., 1997c).

Ainda, como representantes da ordem Lamiales, foram estudadas diversas espécies da família Bignoniaceae, em que a ocorrência dos diferentes padrões de substituição dos iridoides carboxilados tem estreita relação com dados morfológicos que delimitam as tribos da família. Nessas espécies foram identificados 6-*O*-*p*-hidroxibenzoil-6-*epi*-aucubina em *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo, *T. alba* (Cham.) Sandwith e *T. chrysotricha* (Mart. ex A. DC.) Standl. e teviridosídeo, ipolamídeo e estrictolosídeo em *Pithecoctenium crucigerum* (L.) A.H. Gentry e *Adenocalymma marginatum* (Cham.) DC. (VON POSER *et al*., 2000b).

No decorrer do estudo sobre iridoides, foram analisadas quanto à presença de iridoides algumas espécies da família Rubiaceae, ordem Gentianales, obtendo-se gardenosídeo de *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (VON POSER *et al*., 1998c) e asperulosídeo e desacetilasperuloside de *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltdl. (LOPES *et al*., 2004).

Como representantes da ordem Dipsacales, foram investigadas algumas espécies brasileiras de *Valeriana* (Valerianaceae). A família é constituída de 400 espécies, porém as preparações farmacêuticas empregadas em diversas regiões do planeta como agentes sedativos são

obtidas das raízes de apenas duas espécies, *V. officinalis* L. e *V. wallichii* DC. Ainda que as Valerianaceae apresentem iridoides estruturalmente semelhante aos compostos já citados, que, em sua ampla maioria, ocorrem na forma glicosilada, seus representantes são abundante fonte de outro grupo de iridoides, exclusivos da família, os valepotriatos.

Valepotriatos são iridoides carbocíclicos não glicosilados e suas variações estruturais devem-se aos diferentes substituintes ácidos esterificados com os grupos hidroxila, à presença ou ausência de um grupo epóxido e ao número e posição das ligações duplas no núcleo principal. Dividem-se em dois grupos principais: monoênicos e diênicos. Os valepotriatos monoênicos mais frequentes em espécies de *Valeriana* são diidrovaltrato e homodiidrovaltrato, enquanto que os diênicos são valtrato, isovaltrato, diavaltrato, acevaltrato e 1-b-acevaltrato. Esses compostos são instáveis e sob influência de calor, umidade e acidez, decompõem-se produzindo ácidos livres e núcleos monoterpênicos. A hidrólise de valtrato e diidrovaltrato, por exemplo, durante o processo de secagem e armazenamento da planta, resulta na liberação de ácido valérico, responsável pelo odor característico das espécies de *Valeriana*.

No Rio Grande do Sul, o gênero é representado por doze espécies. Dessas, nove foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência quanto ao conteúdo de valepotriatos, verificando-se que *V. glechomifolia* F.G. Mey. é a espécie em que esses compostos estão presentes em maior concentração (SILVA *et al*., 2002). Dessa mesma espécie foram isolados os valepotriatos diênicos valtrato, diavaltrato, acevaltrato e 1-β-aceacevaltrato e os monoênicos diidrovaltrato e AHD-valtrato, além de diidrocornina, um iridoide carbocíclo glicosilado (SALLES *et al*., 2000). Esse vegetal foi cultivado *in vitro*, verificando-se que indivíduos micropropagados, bem como calos e células em suspensão mantiveram a capacidade biossintética, produzindo os mesmos valepotriatos encontrados na planta *in natura* (SALLES *et al*., 2002; MAURMANN *et al*., 2006). As estruturas dos principais iridoides isolados estão apresentados na Figura 4.

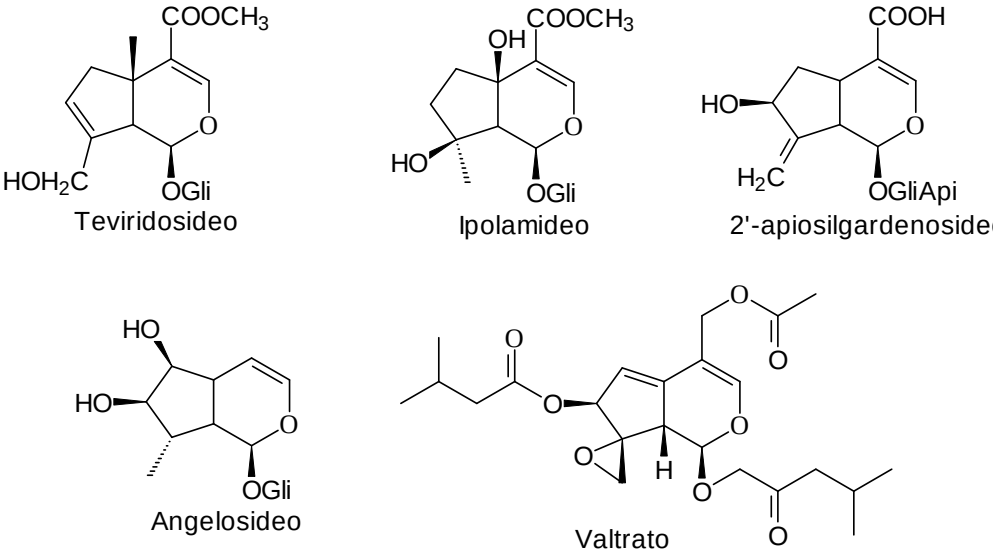


FIGURA 4: Estruturas dos principais iridoides isolados

Recentemente, Maurmann e colaboradores (2010) demonstraram que uma fração enriquecida em valepotriatos, obtida de *V. glechomifolia,* apresenta propriedades sedativa e ansiolítica e, além disso, prejudica a memória de reconhecimento em camundongos, sugerindo um perfil de ação semelhante aos fármacos benzodiazepínicos. Porém, Salles (2010) verificou que os valepotriatos não apresentam afinidade pelo receptor benzodiazepínico em cérebro de ratos e também não se ligam ao receptor serotonérgico 5HT1a. Esses dados permitem dizer que os valepotriatos agem por um mecanismo de ação distinto dos ansiolíticos benzodiazepínicos e buspirona. Eles inibem a atividade da enzima Na+/K+ ATPase de homogenatos de rins e cérebro de ratos, atividade que pode estar relacionada com seu efeito sobre o Sistema Nervoso Central e, também, com a toxicidade já demonstrada para *V. glechomifolia* (SALLES, 2010). Interessantemente, um extrato obtido por CO_2 supercrítico (padronizado em valepotriatos) de *Valeriana glechomifolia* apresentou atividade em um modelo animal para *screening* de antidepressivos (SALLES, 2010).

PESQUISAS NA ÁREA DE FENÓIS

Gênero *Hypericum*

A partir de 1998, iniciou-se o estudo de espécies de *Hypericum* nativas do RS. Esse trabalho foi motivado pela ampla utilização de *Hypericum perforatum* L. em diversos países da Europa e EUA, movimentando milhões de dólares. Estima-se que a comercialização de fitoterápicos praparados a partir de extratos padronizados de *H. perforatum* tenha tido um incremento de quase 4000% entre 1995 e1998.

O gênero *Hypericum* pertence à família Guttiferae, a qual é formada por cerca de 1200 espécies, distribuídas em 50 gêneros de larga distribuição nas regiões tropicais e subtropicais do planeta. Dentre esses, *Hypericum* (subfamília *Hypericoideae*; tribo *Hypericeae*) abrange aproximadamente 450 espécies, acomodadas em mais de 30 diferentes seções taxonômicas, sendo também encontrado nas regiões temperadas do hemisfério norte.

Do ponto de vista químico, as espécies de *Hypericum* se caracterizam pela produção de grande diversidade de compostos fenólicos abrangendo desde metabólitos amplamente distribuídos, como os derivados do ácido cinâmico, flavonoides e taninos, como também compostos fenólicos de distribuição restrita, como naftodiantronas, xantonas, derivados de floroglucinol, benzopiranos e benzofenonas.

Aproximadamente vinte espécies desse gênero têm ocorrência natural no Brasil e concentram-se, principalmente, na Região Sul do país. Algumas das espécies nativas do Rio Grande do Sul vêm sendo estudadas em nossos laboratórios, verificando-se a produção de compostos fenólicos como os benzopiranos 6-isobutiril-5,7-dimetóxi-2,2-dimetil-benzopirano (HP1), 7-hidróxi-6-isobutiril-5-metóxi-2,2-dimetil-benzopirano (HP2) e 5-hidróxi-6-isobutiril 7-metoxi-2,2-dimetil-benzopirano (HP3) de *H. polyanthemum* Klotzsch ex Reichardt (FERRAZ

et al., 2001) e duas benzofenonas (carifenona A e carifernona B) de *H. carinatum* Griseb. (BERNARDI *et al.*, 2005), todos de estruturas inéditas. Também vêm sendo isolados derivados diméricos de floroglucinol (FERRAZ *et al.*, 2002a; NÖR *et al.*, 2004), os quais foram apontados como marcadores químicos das seções onde estão acomodadas as espécies nativas. Taninos (DALL'AGNOL *et al.*, 2003), flavonoides e ácidos fenólicos (NUNES *et al.*, 2010) são abundantes nas espécies. Um dado interessante é a ausência das naftodiantronas de hipericina e derivados (FERRAZ *et al.*, 2002b), consideradas juntamente com hiperforina, as substâncias marcadoras químicas de *H. perforatum*. Confirmando dados da literatura para outras espécies de *Hypericum*, as flores das espécies nativas mostraram abundância de compostos fenólicos, incluindo benzopiranos, derivados de floroglucinol e flavonoides (NÖR et al., 2008). As principais estruturas isoladas estão apresentadas na Figura 5.

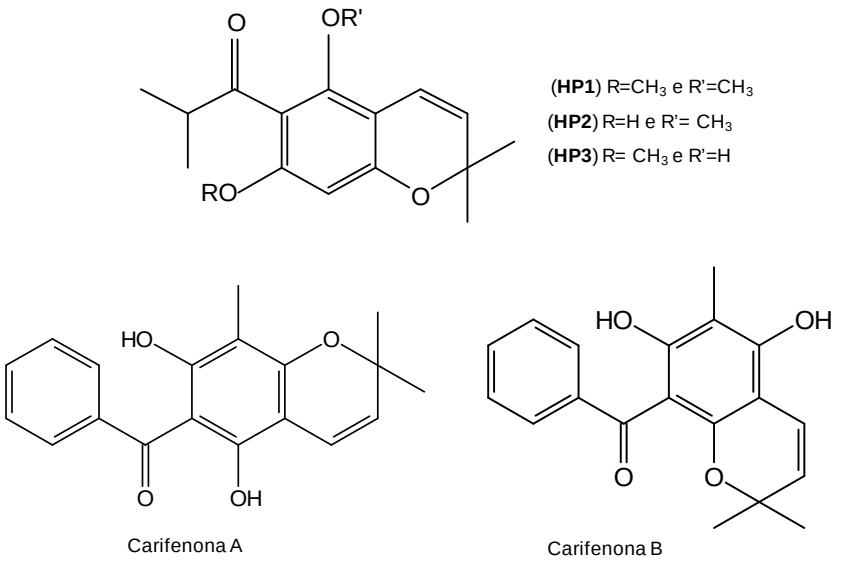


FIGURA 5: Estruturas dos principais benzopiranos isolados de espécies do gênero *Hypericum.*

Além disso, alguns estudos biológicos vêm sendo realizados. Muitos extratos e frações vêm apresentando atividades interessantes, como antimicrobiana frente a bactérias e leveduras (DALL'AGNOL *et al.*, 2003), antifúngica frente a alguns dermatófitos (FENNER *et al.*, 2005), antiviral, frente ao vírus da imunodeficiência felina FIV (SCHMITT *et al.*, 2001) e ao herpesvirus (FRITZ *et al.*, 2006) e antiproliferativa (FERRAZ *et al.*, 2005a). Muitas dessas atividades podem ser devidas, ao menos parcialmente, ao potencial antioxidante demonstrado por essas espécies, ricas em compostos fenólicos (BERNARDI *et al.*, 2008a).

Os extratos metanol bruto e hexano de *H. polyanthemum* foram ativos frente ao carrapato bovino, *Rhipicefalus* (*Boophilus*) *microplus* (RIBEIRO *et al.*, 2007). Essa atividade foi atribu-

ída aos benzopiranos presentes nos extratos.

Destaca-se a atividade antimicrobiana dos benzopiranos de *H. polyanthemum* (DALL'AGNOL *et al.*, 2005; FERRAZ *et al.*, 2005c) e dos derivados de floroglucinol, uliginosina B isolada de *H. myrianthum* (FERRAZ *et al.*, 2002a), *H. carinatum* e *H. polyanthemum* (NÖR *et al.*, 2004), hiperbrasilol B, presente em *H. caprifoliatum* e *H. connatum* (NÖR *et al.*, 2004*),* assim como japonicina A, isolada de *H. myrianthum* (DALL'AGNOL *et al.*, 2005). Benzofenonas de *H. carinatum* (BERNARDI *et al.*, 2005) e flavonoides de *H. ternum* (BERNARDI *et al.*, 2007a) foram avaliados quanto ao potencial antioxidante e alguns deles apresentaram relevante atividade. Ainda, os benzopiranos de *H. polyanthemum* apresentaram atividade antitumoral *in vitro* (FERRAZ *et al.*, 2005b), sendo demonstrado que esses têm efeito sinérgico (GRIVICICH *et al.*, 2008). Os compostos, após avaliação quanto à genotoxicidade (FERRAZ *et al.*, 2009), provaram ser bons candidatos para estudos *in vivo* de atividade antitumoral.

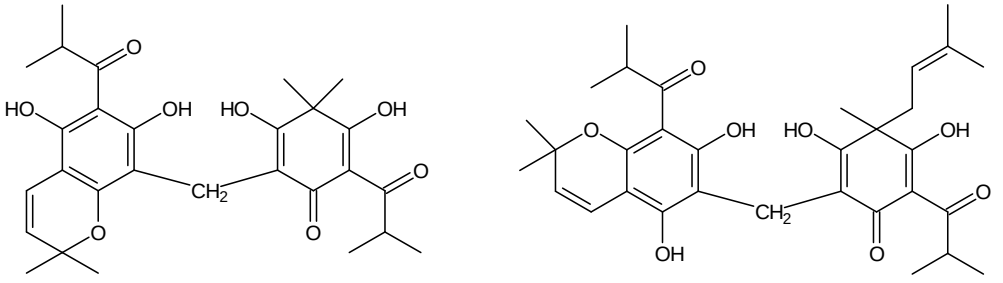


FIGURA 6: Estruturas dos principais floroglucinois isolados de espécies de *Hypericum*

Destacam-se, no entanto, as atividades analgésica e antidepressiva de extratos, frações e compostos isolados, como será detalhado a seguir.

Atividade antidepressiva de espécies de *Hypericum* nativas do Rio Grande do Sul

O gênero *Hypericum* (Guttiferae) tem despertado interesse dos pesquisadores na busca de novos tratamentos antidepressivos. Esse interesse deve-se principalmente ao uso clínico de *H. perforatum*, utilizado na Europa, Estados Unidos e América do Sul para o tratamento de depressão leve a moderada. Além disso, relatos sugerem que esses extratos podem ser efetivos no tratamento clínico para dependência de substâncias como álcool e tabaco. O mecanismo de ação ainda não está completamente elucidado, mas vários estudos indicam que os

extratos de *H. perforatum* atuam de modo diferente dos antidepressivos usuais (LINDE, 2009).

Assim, considerando a abordagem quimiotaxonômica para a busca de moléculas bioativas, o estudo do gênero *Hypericum* destaca-se como perspectiva para a identificação de fontes alternativas de moléculas com atividade antidepressiva e/ou protótipos para o desenvolvimento de fármacos com mecanismo de ação diferenciado dos antidepressivos atuais.

O uso de espécies brasileiras de *Hypericum* com finalidade antidepressiva pela população não é documentado. No início da década de 1990, surgiram os primeiros trabalhos com uma espécie brasileira, realizados por pesquisadores de outras instituições. Rocha e colaboradores (1994; 1995; 1996) relataram a atividade inibitória de *H. brasiliense* Choisy sobre a enzima monoamino oxidase (MAO). Porém, essa mesma espécie não foi ativa no teste de natação forçada em ratos (MENDES *et al.*, 2002), um modelo animal classicamente utilizado para rastreamento de substâncias com atividade antidepressiva.

A partir de 1998, paralelamente ao estudo químico, foi iniciada nos Laboratórios de Farmacognosia uma linha de pesquisa visando à investigação da atividade antidepressiva das espécies de *Hypericum* nativas. As espécies mais amplamente distribuídas na região sul do Brasil foram submetidas ao teste da natação forçada: *H. brasiliense* Choisy, *H. caprifoliatum* Cham. & Schltdl, *H. carinatum* Griseb., *H. connatum* Lam., *H. cordatum* (Vell.) N. Robson, *H. myrianthum* Cham. & Schltdl., *H. polyanthemum* Klotzsch ex Reichardt e *H. ternum* A. St. -Hil. (DAUDT *et al.*, 2000, GNERRE *et al.*, 2001). Inicialmente, foram testados extratos metanol das partes aéreas. *H. caprifoliatum* apresentou os resultados mais promissores e novos extratos foram obtidos, com solventes de diferentes polaridades, sendo o extrato éter de petróleo o mais ativo (DAUDT *et al.*, 2000). Diferentes extratos de *H. caprifoliatum*, *H. piriai* Arechav. e *H. polyanthemum* apresentaram também atividade inibidora da MAO (IMAO) *in vitro* (GNERRE *et al.*, 2001). No entanto, esta atividade não parece ser relevante para o efeito observado *in vivo*, visto que os extratos com melhor atividade IMAO não foram os mesmos ativos no teste de natação forçada.

Na continuidade dos estudos, o extrato éter de petróleo de *H. caprifoliatum* mostrou-se tóxico (VIANA, 2002; VIANA *et al.*, 2006) e foi, então, substituído por um extrato ciclo-hexano. Viana e colaboradores (2005) aprofundaram o estudo da ação antidepressiva de *H. caprifoliatum* e demonstraram em experimentos *in vivo* que extrato ciclo-hexano dessa espécie apresentam efeito sobre a neurotransmissão dopaminérgica: o efeito dos extratos no teste de natação forçada foi prevenido com uma administração prévia de sulpirida ou SCH 23390 (antagonistas de receptores dopaminérgicos D2 e D1, respectivamente). Experimentos *in vitro* mostraram que esse extrato e uma fração enriquecida em derivados de floroglucinol (HC1) inibiram a captação e aumentaram a liberação de monoaminas cerebrais, em particular de dopamina, em sinaptossomas de ratos. No entanto, esses derivados de floroglucinol não se ligaram a transportadores monoaminérgicos neuronais, sugerindo que a atividade antidepressiva está relacionada a mecanismos diferentes de outras classes de antidepressivos. Além disso, Munari (2006) demonstrou, em experimentos de microdiálise cerebral em ratos acordados, que a administração do extrato não induz aumento consistente dos níveis cerebrais de dopamina. Por outro lado, o extrato induz alterações na ativação de proteína G induzida por dopamina, noradrenalina e serotonina, demonstrando que a administração do extrato em ratos é capaz de atuar sobre a

sinalização celular monoaminérgica (VIANA, 2007). A possível ação sobre receptores serotonérgicos foi também demonstrada em nível periférico, em preparações de órgão isolado (VIANA *et al.*, 2007).

Foi demonstrado também que o tratamento com um extrato ciclo-hexano de *H. caprifoliatum* atenua o aumento dos níveis séricos e cerebrais de corticosterona em camundongos submetidos ao estresse da natação forçada, um efeito diferente dos antidepressivos imipramina e bupropiona, visto que estes reduzem apenas os níveis séricos (VIANA *et al.*, 2008). Esses dados indicam que essa espécie atua também no eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, considerado como um dos alvos biológicos para ação antidepressiva, mas, novamente, de uma forma distinta dos antidepressivos disponíveis na terapêutica.

H. caprifoliatum também foi avaliado em modelos experimentais de indução de sono, ansiedade e convulsão, mas não apresentou atividade significativa (VIANA, 2002; VIANA *et al.*, 2006).

O estudo da espécie *H. polyanthemum* (VIANA, 2007) resultou em pedidos de depósito de patente de uso dessa espécie (PI0900614-1.INPI; PCT: EP2010/0518116).

Borsoi (2010) verificou que o extrato ciclo-hexano de *H. polyanthemum* potencia os efeitos neurotóxicos de 6-hidroxidopamina em um modelo experimental de Parkinson.

Por fim, o flavonoide hiperosídeo, abundante em várias espécies desse gênero, também apresenta atividade antidepressiva no modelo da natação forçada, mediada pela neurotransmissão dopaminérgica (HAAS, 2010).

Atividade antinociceptiva de *H. caprifoliatum* e *H. polyanthemum*

Extratos ciclo-hexano (ECH) e metanólico (MET) das partes aéreas de *H. caprifoliatum* apresentaram efeito antinociceptivo em roedores. ECH foi ativo nos testes da placa aquecida e de contorções abdominais causadas por ácido acético. O efeito antinociceptivo de ECH no teste da placa aquecida foi prevenido com o pré-tratamento com naloxona (um antagonista opioide não seletivo). MET foi ativo apenas no teste da placa aquecida, e o pré-tratamento com naloxona preveniu parcialmente o efeito antinociceptivo do extrato administrado pela via intraperitoneal, mas não afetou a antinocicepção causada pelo tratamento pela via oral, indicando que o extrato contém pelo menos dois grupos de substâncias ativas, com distintos perfis farmacológicos (VIANA *et al.*, 2003).

Um extrato ciclo-hexano das partes aéreas de *H. polyanthemum* (POL) também apresentou efeito antinociceptivo na placa quente, o qual foi prevenido pelo pré-tratamento com naloxona. Entretanto, os floroglucinóis majoritários presentes nessas espécies (HC1 e uliginosina) não inibiram a ligação da [^{3}H]-naloxona e também não modificaram a ligação de [^{35}S]-GTPγS estimulada por DAMGO (agonista opioide), em cérebro de ratos (VIANA, 2007), indicando que eles não agem por uma ativação direta de receptores opioides. Por outro lado,

Haas e colaboradores (2010) demonstraram que o benzopirano HP1, isolado de *H. polyanthemum* apresentou atividade antinociceptiva em roedores bloqueada pela administração de naloxona.

Estudos de cultivo *in vitro*

Considerando-se o potencial desses vegetais, esforços estão sendo realizados visando obter biomassa produtora dos metabólitos de interesse. A espécie mais estudada até o momento é *H. polyanthemum*. Esse vegetal foi micropropagado *in vitro* e posteriormente aclimatizado mantendo, após 45 dias de crescimento *ex-vitro*, a capacidade de sintetizar os benzopiranos (BERNARDI *et al.*, 2007b). Estudos subsequentes avaliaram o teor desses compostos em plantas aclimatizadas, após seis meses de cultivo em campo, mostrando que *H. polyanthemum* pode ser eficientemente propagado e aclimatizado para produzir benzopiranos e outros compostos fenólicos (BERNARDI *et al.*, 2008b). Estudos avaliando efeito do tempo de cultivo e da fertilização na produção dos metabólitos de interesse também foram realizados com esse vegetal (NUNES *et al.*, 2009a; NUNES *et al.*, 2009b). Esses estudos de propagação *de H. polyanthemum* estão sendo estendidos a outras espécies e recentemente avaliada para *H. ternum* a produção de compostos fenólicos em plântulas e indivíduos aclimatizados. Foi verificado que os teores de alguns flavonoides e do derivado de floroglucinol uliginosina B foi superior àqueles encontrados na planta *in natura* (PINHATTI *et al.*, 2010).

Com o objetivo de alcançar maiores rendimentos no processo extrativo, as partes aéreas de *H. polyanthemum* foram submetidas à extração com CO_2 supercrítico, utilizando-se diferentes temperaturas e pressões. Os experimentos mostraram que o método é bastante eficiente, obtendo-se frações enriquecidas com altos teores dos compostos de interesse, confirmando a seletividade do método (CARGNIN *et al.*, 2010).

Efeitos ansiolítico, sedativo e tóxico de *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae)

Dentre as espécies da flora nativa com interesse farmacêutico ricas em compostos fenólicos, especialmente flavonoides, destaca-se a *Passiflora alata* Curtis, empregada na medicina popular e pela indústria farmacêutica nacional para produção de fitoterápicos com indicação como sedativo. Além disso, é uma espécie inscrita na Farmacopeia Brasileira. Vários trabalhos na literatura relatam a consituição química e a atividade de diferentes extratos em modelos animais de sedação e ansiedade. Porém, não havia relatos sobre mecanismo de ação e estudos de toxicidade.

A administração aguda, em camundongos, de um extrato aquoso nebulizado das partes aéreas de *P. alata*, caracterizado em 2,6 % de flavonoides, provocou efeito hipnótico e hipotérmico, não sendo observados efeitos ansiolítico e sedativo. Quando avaliada em ratos, a administração aguda desse extrato, surpreendentemente, resultou em uma tendência a um

efeito ansiogênico, que foi confirmada após tratamento repetido (FENNER, 2006). Por outro lado, a administração aguda de um extrato hidroetanol, além do efeito hipnótico-sedativo, causou efeito do tipo ansiolítico no labirinto em cruz elevado, o qual foi bloqueado pela administração de flumazenil. Porém, esse extrato em concentrações até 1000 μg/mL não deslocou a ligação de [3H]-flunitrazepam. Esses dados indicam que o efeito ansiolítico é mediado pelo sítio benzodiazepínico, mas não pela interação direta das substâncias presentes no extrato com esse sítio (PROVENSI, 2007; PROVENSI *et al.*, 2008).

O extrato aquoso liofilizado de *P. alata* (2,6 % de flavonoides) foi também avaliado em testes de toxicidade aguda e de doses repetidas. Quando considerado letalidade, parâmetros bioquímicos, histológicos, hematológicos e sinais físicos gerais, o extrato apresentou uma toxicidade considerada baixa. No entanto, a administração de doses repetidas prejudicou o desenvolvimento ponderal de ratos, o que poderia representar um indício de toxicidade. Além disso, a administração aguda e repetida do extrato provocou aumento significativo no índice e frequência de dano no DNA em células de cérebro, fígado e sangue periférico e medula de camundongos avaliados no ensaio cometa alcalino e teste de micronúcleo (FENNER, 2006; BOEIRA *et al.*, 2010).

ISOFLAVONAS DE LEGUMINOSAS

Plantas da família das Leguminosas são de grande interesse comercial. Nesse universo, o fenômeno da fixação de nitrogênio atmosférico, verificado em espécies da família, tem despertado a curiosidade de cientistas há mais de três séculos. Malpighi, em 1679, já estudava nódulos em raízes. Diversos trabalhos sucederam até que, em 1886, Hellriegel sugeriu que as plantas poderiam assimilar nitrogênio atmosférico por intermédio de bactérias. Essa constatação é considerada uma das mais importantes descobertas das ciências biológicas do século XIX (QUISPEL, 1988; SCHILLING, 1988). A implicação dos flavonoides na simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico em trabalhos mais recentes sugere a importância de estudos químicos em espécies da família, sobretudo as nativas de nosso País.

O intuito de desenvolver esse tipo de análise baseia-se na contribuição que o estudo químico dessa família pode fornecer aos estudos ecológicos de interação planta microrganismos (sobretudo no processo de fixação de nitrogênio atmosférico).

Investigamos *Lupinus lanatus* Benth., a partir do qual foram isoladas oito substâncias: citisosídeo, angustona A (essa isoflavona está descrita neste trabalho pela primeira vez em nódulos de Leguminosae), ramnosil-*O*-vitexina (inédito) e ramnosil-*O*-citisosídeo (inédito). Uma substância isolada de folhas demonstrou ser idêntica à outra, presente na flor (4'-metóxi-5,7-dihidroxiflavona-8-*C*-glicosídeo). Esse tipo de estrutura é característica em lupinos americanos em aparece em grande quantidade, servindo como marcador taxonômico.

Avaliada a atividade antioxidante pelo método da inativação do radical 2,2-difenil-1-

picrilidrazila (DPPH) em placa, a fração diclorometano dos nódulos apresentou diversos compostos com atividade positiva. Desse extrato foi isolada a angustona A. Todas essas substâncias podem evitar o estresse oxidativo e, consequentemente, a senescência da estrutura nodular, tendo em vista que a quantidade de nódulos é proporcional ao nitrogênio fixado. Esse foi o primeiro relato do flavonoide angustona A apresentando atividade como antioxidante. No ensaio do DPPH, citisosídeo apresentou atividade positiva e ramnose-*O*-citisosídeo e ramnose-*O*-vitexina negativa; desse modo pode-se inferir que a metoxila na posição 4' não está relacionada com esta atividade, e sim que a presença de uma unidade glicídica (ramnose) ligada ao heterosídeo provavelmente determina a atividade antioxidante. As três flavonas *C*-glicosiladas no ensaio de atividade antimicrobiana pelo método da autobiografia apresentaram resultado negativo frente à levedura e bactérias gram-negativas do solo que exercem interação (tanto simbiótica como parasitária). Entretanto, em outros trabalhos, flavonas *C*-glicosiladas aparecem como componentes de defesa (fitoalexina) em *Cucumis sativus* L. (Cucumberaceae). A flavona citisosídeo e ramnose-*O*-citisosídeo foram testadas também frente a patógenos humanos, indicando resultado negativo tanto para bactérias gram-positivas, gram-negativas e leveduras. Em outro ensaio de autobiografia, ramnose-*O*-vitexina exibiu atividade frente a patógenos humanos, sugerindo que a atividade se deve principalmente à presença da hidroxila na posição 4', e não com a natureza ou número de unidades de açúcar (SOUZA FILHO, 2004).

A leguminosa *Bauhinia forficata* Link subespécie *pruinosa* (*Bauhinia forficata* subsp. Pruinosa (Vogel) Fortunato & Wunderlin) conhecida como pata-de-vaca foi também investigada. Foi possível constatar as inúmeras ambiguidades relacionadas à identificação do vegetal.

Os constituintes químicos presentes em *B. forficata* subespécie *pruinosa* são extremamente sensíveis e degradam com certa facilidade, o que foi observado no experimento de estabilidade acelerada. Reforça-se então, a necessidade de um controle de qualidade adequado para *B. forficata* com um número maior de amostras e um período de análise de longa duração. Na análise de *B. forficata* subespécie *pruinosa*, os tempos de vida útil e meia-vida encontrados demonstraram valores bastante reduzidos, sugerindo assim altíssima sensibilidade da planta frente às variações de temperatura e umidade as quais ela foi exposta. Para que as análises de estabilidade fossem realizadas e devidamente validadas, foi escolhida a substância química majoritária, como marcador. Já há descrições na literatura indicando a canferitrina como marcador para a espécie (identificado em *B. forficata* subespécie *forficata*). Todavia, esse metabólito não foi identificado na planta estudada neste trabalho. Aprofundando as análises, foi verificado que as subespécies *forficata* e *pruinosa* apresentam perfil químico diferenciado. Dessa forma, ao analisar e comparar essas subespécies, o isolamento da substância química majoritária (SQM – um heterosídeo de canferol) tornou-se praticamente vital para que os estudos fossem de fato realizados. Assim, foi validado método por CLAE para o controle da qualidade desta planta também utilizado na análise da estabilidade acelerada de *B. forficata* sub. *pruinosa*.

A atividade antioxidante, já bastante vinculada aos flavonoides, foi demonstrada, *in vitro*,

para diferentes extratos de *B. forficata* e corroborou para que se realizassem outros experimentos: atividade antiedematogênica pelo modelo do edema em pata de ratos e autobiografia para a atividade anticolinesterásica. O teste do edema demonstrou uma atividade significativa para o extrato aquoso da planta, enquanto a atividade anticolinestrásica foi negativa (ARIGONY, 2005).

Outro tema relevante desenvolvido foi o estudo de isoflavonoides fitoestrógenos. Esses compostos apresentam também atividade antioxidante, inibição da atividade enzimática, dentre outras, proporcionando potenciais benefícios ao controle de muitas doenças crônicas. A detecção da presença de isoflavonas em espécies de Leguminosas tem muitas implicações. As espécies com altos teores de isoflavonas tornam-se interessantes fontes dessas substâncias, podendo ser utilizadas na indústria de suplementos alimentares, já que uma dieta rica desses compostos pode auxiliar na prevenção de doenças crônicas. Ainda, o elevado teor de isoflavonas torna essas plantas propícias para ser empregadas na área farmacêutica, para redução dos sintomas pós-menopausa. Extratos de isoflavonas de soja e trevo-vermelho já são comercializados para esse fim. Já as espécies de Leguminosas com ausência ou baixos teores de isoflavonas são indicadas para o emprego como plantas forrageiras, sem alterar negativamente a fisiologia e a reprodução dos animais.

Nesse contexto, foi investigada a presença das isoflavonas daidzeína, genisteína, formononetina e biochanina A, em 153 espécies de Leguminosas nativas da Região Sul do Brasil. Dessas, 42 espécies apresentaram ao menos uma das isoflavonas investigadas. Essas espécies são novas fontes potenciais de isoflavonas para industrialização. Todas as 42 espécies que apresentaram ao menos uma das quatro isoflavonas investigadas pertencem à subfamília Faboideae (Papilionoideae). As espécies analisadas das subfamílias Caesalpinioideae e Mimosoideae não apresentaram isoflavonas. Isso enfatiza a importância dos isoflavonoides como caracteres de diagnóstico químico para a subfamília Faboideae. Nesse estudo foi determinado que as espécies de Leguminosas nativas da Região Sul do Brasil (a maioria sem estudos de identificação de isoflavonas) obedecem a premissa de que os isoflavonoides ocorram apenas em espécies da subfamília Faboideae (DETTENBORN, 2009).

De todas as espécies nativas investigadas, apenas a espécie *Trifolium riograndense* Burkart continha as quatro isoflavonas. Considerando que essa espécie nativa é do mesmo gênero do exótico trevo-vermelho (*Trifolium pratense* L.), investigou-se a espécie de trevo nativa do Rio Grande do Sul, a fim de comparar com a espécie exótica, que já é, inclusive, comercializada como fonte de isoflavonas (DETTENBORN, 2009).

Trifolium riograndense Burk. apresentou elevados teores de isoflavonas. Somando as quatro isoflavonas quantificadas, a espécie apresentou um total de 18,3mg de isoflavonas por grama de amostra seca analisada, o que é considerável, quando comparado com outras plantas fontes de isoflavonas. Todas as partes da planta apresentaram isoflavonas, no entanto, a parte da planta com maior concentração foi a folha, com 7,3mg por grama. Essa espécie vem sendo estudada há alguns anos em relação ao seu melhoramento genético, com o objetivo de aprimorar a qualidade e o rendimento na produção, para posterior utilização dessa planta como forrageira adaptada e produtiva nas condições do Rio Grande do Sul. Os altos níveis de isoflavonas

encontrados em *T. riograndense* devem servir de alerta para técnicos e produtores, para tomar medidas de manejo, evitando o pastoreio contínuo de fêmeas destinadas à reprodução, pois ainda não se sabe o real impacto que o teor elevado de isoflavonas causa aos animais.

Considerando que os flavonoides em geral apresentam atividade antiinflamatória, o extrato das folhas de *T. riograndense* foi submetido a dois ensaios. Um desses avaliou a atividade migratória de leucócitos tratados com extrato frente a agentes quimiotáxicos, enquanto outro determinou a atividade antiedematogênica pelo método do edema em pata de rato. Em ambos os ensaios, o extrato de *T. riograndense* apresentou atividade significativa (DETTENBORN, 2009).

Outro trabalho desenvolvido nesse tema foi o estudo químico de diferentes acessos de trevo-vermelho (*Trifolium pratense* L.) e atividades biológicas. *T. pratense* (trevo-vermelho) é uma importante planta forrageira e contém as isoflavonas formononetina e biochanina A, e em menores concentrações daidzeína e genisteína. Recentemente, em 2009, essa espécie foi incluída na lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) que contém plantas medicinais com potencial de gerar produtos para serem produzidos e distribuídos pelo SUS. No mercado brasileiro, podemos encontrar um medicamento fitoterápico constituído de extrato de trevo-vermelho, Climadil®, fabricado pela Marjan Ind. e Com. LTDA, e tem como indicação o alívio aos sintomas da menopausa. Mas é importante destacar que não existem estudos de quantificação de isoflavonas em trevo-vermelho cultivados no Brasil.

Para quantificar as isoflavonas em folhas e extrato seco de trevo-vermelho foi importante desenvolver um método de preparo da amostra que garantisse completa hidrólise das isoflavonas, pois essas se encontram no trevo-vermelho majoritariamente em forma de glicosídeos e malonato. O método cromatográfico desenvolvido e validado utilizou um tempo de análise de apenas 12 minutos, enquanto os métodos cromatográficos da literatura costumam apresentar mais de 30 minutos para analisar as mesmas quatro isoflavonas. Com a análise dos 77 acessos de trevo-vermelho e de uma população cultivada no Brasil, foi possível, a partir dos grupos formados, selecionar as plantas de maior interesse para a indústria farmacêutica, e selecionar as plantas para melhoramento genético, com finalidade de se obter uma população com elevados teores de isoflavonas e que se adaptasse bem às nossas condições de clima e solo. A diferença entre os teores das isoflavonas nos diferentes acessos pode ser atribuída a diferenças genéticas, uma vez que as plantas foram cultivadas nas mesmas condições (RAMOS *et al.*, 2008). Como atividade complementar, incluiram-se testes de atividade anti-inflamatória e de inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro* dos extratos. O ensaio *in vitro* (quimiotaxia) de extrato seco de trevo-vermelho reduziu, em todas as concentrações testadas, significativamente, a migração dos neutrófilos através da câmara de Boyden. No tratamento *in vivo* (inibição do edema em pata de rato) pode-se observar atividade antiedematogênica significativa. No teste da inibição da acetilcolinesterase, o extrato seco de trevo-vermelho não demonstrou atividade, mas esta falta de atividade pode ser devida ao teste ter sido desenvolvido *in vitro*, uma vez que outros trabalhos já demonstraram essa atividade para isoflavonas, em testes *in vivo* (RAMOS, 2010). As estruturas das pricipais isoflavonas isoladas estão representadas na Figura 7.

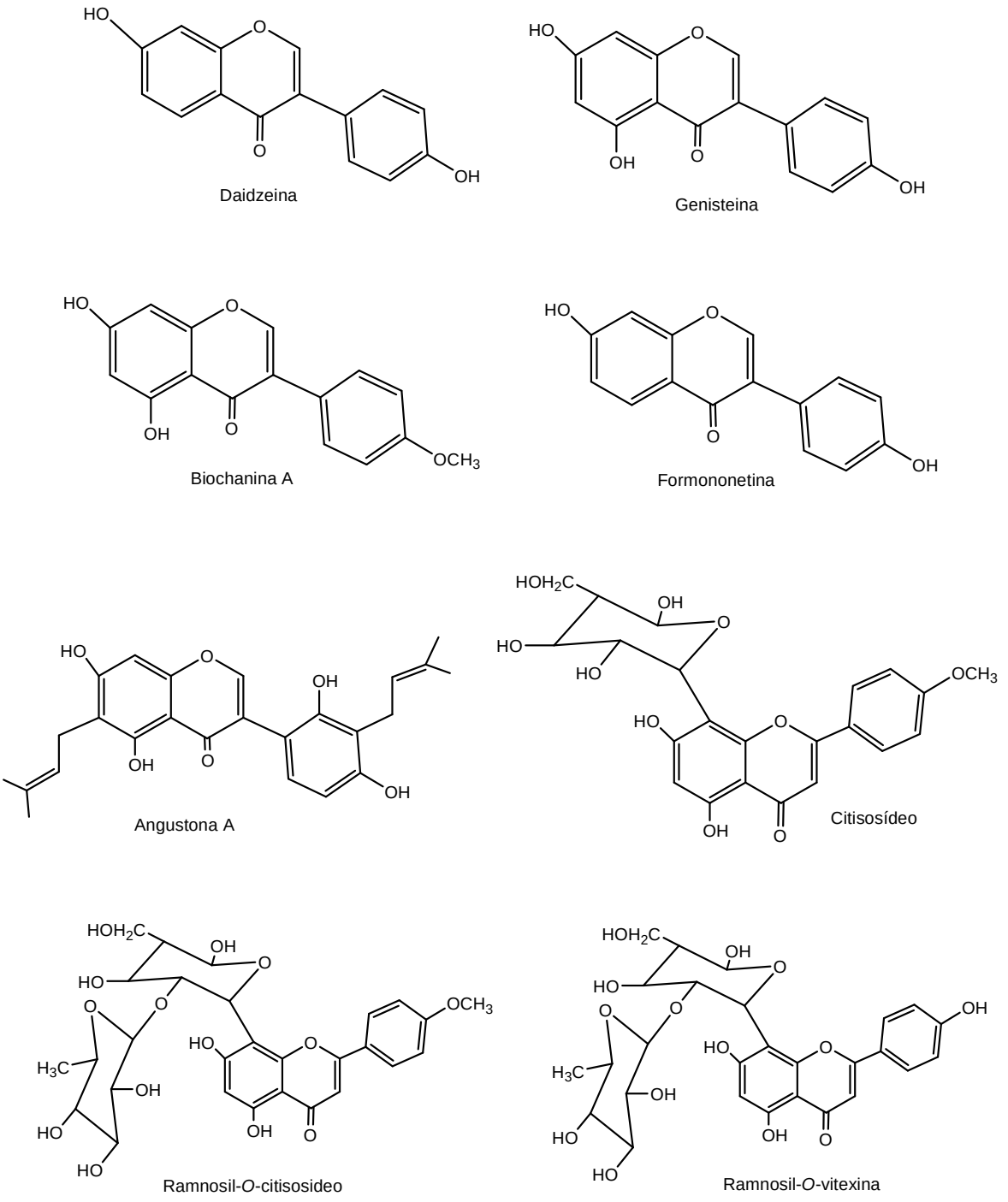


FIGURA 7: Estruturas das principais isoflavonas de espécies da família Leguminosae

PESQUISAS NA ÁREA DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são compostos voláteis de baixo peso molecular e representam importante matéria-prima para as indústrias farmacêutica e alimentícia. Essas substâncias compreendem potentes princípios ativos responsáveis por diversas aplicações terapêuticas de plantas medicinais. A composição química de óleos voláteis pode variar amplamente, desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com nitrogênio e enxofre, ocorrendo prevalência de uma ou duas delas, caracterizando, assim, o aroma das plantas. Entretanto, nem todas as essências apresentam odor agradável, representando uma mistura complexa de compostos orgânicos voláteis, com até centenas de constituintes distintos, obtidos por diferentes técnicas de extração. Toda essa diversidade funcional, no entanto, pode ser agrupada em duas séries principais: a série aromática e a série terpênica.

Os óleos voláteis não apresentam distribuição muito ampla no reino vegetal, sendo encontrados, em aproximadamente, 50 famílias. Dentre elas, Myrtaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Gramineae e Asteraceae são bastante conhecidas por suas propriedades aromáticas relacionadas a eles, e apresentam diversos representantes no estado do Rio Grande do Sul.

Família Myrtaceae

A família Myrtaceae, amplamente distribuída no Rio Grande do Sul, foi objeto de investigações visando estabelecer a composição química dos óleos voláteis e potenciais atividades biológicas. As espécies pertencentes a essa família são popularmente utilizadas como antidiarreicas e prestigiadas por seus frutos comestíveis, apresentando predominância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Essa família divide-se em duas subfamílias, Myrtoideae e Leptospermoideae, que se distinguem pelos frutos carnosos e folhas opostas na primeira e frutos secos e folhas alternas na segunda. No Brasil, todos os representantes nativos pertencem à subfamília Myrtoideae. Essa subfamília consiste de uma só tribo, Myrteae, que se divide em três subtribos, Eugeniinae, Myrciinae e Myrtinae. Dos 24 gêneros de Myrtaceae de ocorrência no Brasil (928 espécies) (SOBRAL *et al.*, 2010), dezoito estão representados no Rio Grande do Sul, sendo oito gêneros para a subtribo Eugeniinae, 5 para Myrciinae e 5 também para Myrtinae, compreendendo um total de 105 espécies, todas elas coletadas e analisadas (LIMBERGER, 1998; APEL, 2001; LIMBERGER, 2001).

Subtribo Eugeniinae

Para a subtribo Eugeniinae, 48 espécies distribuídas entre oito gêneros (*Calycorectes*, *Eugenia*, *Hexachlamys, Myrcianthes, Myrciaria, Neomitranthes, Plinia* e *Siphoneugena*) foram coletadas de diversas localidades do Estado (Tabela 1) e o óleo foi obtido das folhas frescas por hidrodestilação e analisado por cromatografia a gás acoplada a espectrômetro de massas.

TABELA 1: Lista de espécies estudadas da subtribo Eugeniinae

ESPÉCIE	ESPÉCIE
Calycorectes australis D. Legrand	*E. speciosa* Cambess.
C. psidiiflorus (O.Berg) Sobral	*E. stigmatosa* DC.
Eugenia arenosa Mattos	*E. sulcata* Spring ex Martius
E. bacopari D. Legrand	*E. umbelliflora* O. Berg
E. beaurepairiana (Kiaersk.) Legrand	*E. uruguayensis* Cambess.
E. brasiliensis Lam	*E. xiriricana* Mattos
E. burkartiana (D. Legrand) D. Legrand	*Hexachlamys edulis* (O. Berg) Kausel & D. Legrand
E. catharinensis D. Legrand	*H. hamiltonii* Mattos
E. cuprea (O. Berg) Nied	*H. humilis* O. Berg
E. dimorpha O. Berg	*H. itatiaiensis* Mattos
E. florida DC.	*Myrciaria cuspidata* O. Berg
E. hiemalis Cambess.	*M. delicatula* (DC.) O. Berg
E. johnsonii F. Muell.	*M. floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg
E. klappenbachiana Mattos & D. Legrand	*M. plinioides* D. Legrand
E. mansoi O. Berg	*M. tenella* (DC.) O. Berg
E. mattosii D.Legrand	*Myrcianthes cisplatensis* (Cambess.) O. Berg
E. moraviana O. Berg	*M.gigantea* (D. Legrand) D. Legrand
E. multicostata D. Legrand	*M. pungens* (O. Berg) D. Legrand
E. pitanga (O. Berg) Kiaersk.	*Neomitranthes cordifolia* (D. Legrand) D. Legr.
E. platysema O. Berg	*Plinia cauliflora* (DC.) Kausel
E. pluriflora DC.	*P. cordifolia* (D. Legrand) Sobral
E. pyriformis Cambess.	*P. edulis* (Vell.) Sobral
E. ramboi D. Legrand	*P. trunciflora* (O. Berg) Kausel
E. repanda O. Berg	*Siphoneugena reitzii* D. Legrand

A maioria dos óleos analisada apresentou sesquiterpenos. Das 48 espécies analisadas, apenas *Eugenia dimorpha, E. speciosa, E. pluriflora, E. umbelliflora, Myrcianthes cisplatensis* e *Siphoneugena reitzii* apresentaram o óleo constituído principalmente por monoterpenos (APEL *et al.*, 2001a, 2006a). Dentre os monoterpenos encontrados, α-pineno e β-pineno, limoneno e 1,8-cineol foram os compostos detectados em quantidade relevante nas espécies citadas. O óleo de *Eugenia stigmatosa* e *Myrciaria floribunda* apresentou uma composição particular. Para a primeira espécie, o composto majoritário do óleo foi o ácido fisitérico, um composto alifático olefínico, e, para a segunda, a xantoxilina, um composto aromático (APEL *et al.*, 2004a).

Das espécies analisadas, 40 apresentaram o óleo composto predominantemente por sesquiterpenos. Entre os não oxigenados, germacreno, biciclogermacreno, aromadendreno, β -cariofileno, β-elemeno e β-selineno foram os de maior percentagem. Dos oxigenados, espatulenol, globulol, *epi*-globulol, α-cadinol e δ-cadinol foram os principais constituintes (APEL *et al*., 2001b, 2002a, 2002b, 2002c, 2004b, 2004c, 2004d, 2005a, 2005b, 2006b, 2006c).

Os compostos voláteis presentes nas frutas de guabiju (*Myrcianthes pungens*), guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*), cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.), pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e araçá (*Psidium cattleyanum* var. *coriaceum* (Mart. ex O. Berg) Kiaersk.), cultivadas no sul do Brasil, também foram estudados. Para estas espécies limoneno, β-cariofileno, germacreno D, biciclogermacreno, ácido hexadecanóico, neo-intermedeol e β-selineno estão entre os compostos majoritários do óleo (MARIN et al., 2008).

Os óleos voláteis foram testados frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Micrococcus luteus* e os fungos *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Foram ensaiadas aquelas espécies que apresentaram quantidade relevante de óleo, dentre elas: *Eugenia bacopari, E. dimorpha, E. hyemalis, E. pluriflora, E. speciosa, E. uruguayensis, Hexachlamys edulis, H. hamiltonii, Myrciaria cuspidata, M.delicatula, M. floribunda* e *Siphoneugena reitzii.* Quase todas as amostras apresentaram ação em diferentes graus de potência, exceto *M. floribunda*, cujo óleo foi inativo contra os microrganismos testados. *Eugenia uruguayensis, E. pluriflora e Siphoneugena reitzii* foram as espécies que demonstraram melhor atividade, principalmente frente à *Saccharomyces cerevisiae*, verificando-se, inclusive, halos de inibição superiores ao da nistatina. Visando caracterizar a contribuição dos diferentes monoterpenos para ação antifúngica verificada, foram realizados ensaios com os produtos isolados, sendo identificado R-α-pineno, S-β-pineno, α-terpineol e linalol como os rincipais componentes ativos (LIMBERGER *et al*., 1999).

A atividade antiinflamatória foi também testada pelos modelos de indução de edema em pata de rato, de pleurisia e ação antiquimiotáxica utilizando o modelo da câmara de Boyden. Nos dois primeiros, foi utilizada a carragenina como agente flogístico e para o último LPS (lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*) foi o agente quimiotáxico. Foram testadas as seguintes espécies: *Hexachlamys hamiltonii*, *Neomitranthes cordifolia*, *Myrciaria cuspidata* e *Siphoneugena reitzii*. No ensaio de indução de edema em pata de rato, foi observada atividade somente para *S. reitzii* (APEL *et al*., 2002d). No ensaio de pleurisia, foi verificado que o óleo de *S. reitzii* reduziu significativamente a migração de neutrófilos e, quando testado no ensaio antiquimiotáxico *in vitro*, observou-se que também foi capaz de inibir a migração de neutrófilos.

Subtribo Myrtinae

O óleo volátil de nove espécies vegetais pertencentes a essa subtribo foram estudadas: *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret, *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (LIMBERGER *et al*., 2001a), *Campomanesia aurea* O. Berg*, Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg, *Campomanesia rhombea* O. Berg, *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (LIMBERGER *et al*., 2001b), *Myrrhinium atropurpureum* Schott (LIMBERGER *et al*., 2001c), *Psidium cattleyanum* var. *coriaceum* (Mart. ex O. Berg) Kiaersk. e *Psidium guajava* L. (LIMBERGER et al., 2001d). A fração monoterpênica foi especialmente caracterizada por β-pineno, β-mirceno e linalool. Dentre os sesquiterpenos hidrocarbonados, β-cariofileno, α-selineno, β-selineno, aromadendreno, desidroaromadendrano e biciclogermacreno foram os compostos predominantes; e para os

sesquitepenos oxigenados *E*-nerolidol, espatulenol, globulol, *epi*-globulol e α-cadinol foram as principais substâncias. A atividade antimicrobiana foi avaliada frente às bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*; Gram-negativa: *Escherichia coli*; e fungos: *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* pelo método de difusão em ágar. Os resultados demonstraram atividade antimicrobiana para todos os óleos voláteis ensaiados, em diferentes graus de potência, sendo que *Marlierea eugeniopsoides* demonstrou a maior atividade frente a todos os microrganismos testados e *Myrceugenia cucullata* mostrou excelente atividade frente a *S. cerevisiae*.

Subtribo Myrciinae

Trinta e três espécies da subtribo Myrciinae (família Myrtaceae) foram investigadas (Tabela 2) e foram realizados estudos de biotransformação de geraniol, (+)-α-pineno e (-)-α-pineno e (-)-bisabolol como substratos exógenos em suspensões celulares de *Bipolaris sorokiniana*, *Saccharomyces cerevisiae, Rauvolfia sellowii* e *Psychotria brachyceras*. As espécies analisadas estão distribuídas nos seguintes gêneros: *Calyptranthes* (LIMBERGER *et al*., 2002a); *Gomidesia* (LIMBERGER *et al*., 2003a); *Marlierea* (LIMBERGER *et al*., 2004a); *Myrceugenia* (LIMBERGER *et al*., 2002b; 2002c, 2005); e *Myrcia* (LIMBERGER *et al*., 2004b).

TABELA 2: Lista de espécies estudadas da subtribo Myrciinae

ESPÉCIES	ESPÉCIES
Calyptranthes concinna DC.	*M. glaucescens* (Cambess.) D. Legrand & Kausel
C. lucida Mart. ex DC.	*M. mesomischa* (Burret) D. Legrand & Kausel
C. rubella (O. Berg) D. Legrand	*M. miersiana* (Gardner) D. Legrand & Kausel
Gomidesia anacardiaefolia (Gardner) O. Berg	*M. myrcioides* (Cambess.) O. Berg
G. palustris (DC.) Legr.	*M. myrtoides* O. Berg
G. sellowiana O. Berg	*M. oxysepala* (Burret) D. Legrand & Kausel
G. schaueriana O. Berg	*M. pilotantha* (Kiaersk.) Landrum
G. spectabilis (DC.) O. Berg	*Myrcia arborescens* O. Berg
G. tijucensis (Kiaersk.) D. Legrand	*M. hatschbachii* D. Legrand
Marlierea eugeniopsoides (D. Legrand & Kausel) D. Legrand	*M. lajeana* D. Legrand
M. obscura O. Berg	*M. obtecta* (O. Berg) Kiaersk.
M. silvatica (Gardner) Kiaersk.	*M. oligantha* O. Berg
M. tomentosa Cambess.	*M. pubipetala Miq.*
Myrceugenia campestris (DC.) D. Legrand & Kausel	*M. richardiana* (O. Berg) Kiaersk.
M. cucullata D. Legrand	*M. rostrata* DC.
M. euosma (O. Berg) D. Legrand	*M. selloi* (Spreng.) N. Silveira
M. foveolata (O. Berg) Sobral	

Acúmulo de óleos voláteis foi verificado em todas as espécies, com teores variando de 0,1 a 0,7%. De forma geral, os óleos apresentaram constituição química complexa com predominância de sesquiterpenoides cíclicos de núcleo germacrano, cadinano e cariofilano, sendo biciclogermacreno, espatulenol, globulol, germacreno D, δ-cadineno, α-cadinol, β-cariofileno e óxido de cariofileno, os principais constituintes caracterizados. Os óleos de *Marlierea eugeniopsoides, Myrceugenia alpigena* e *M. mesomischa* distinguiram-se dos demais por apresentar predominância de monoterpenos (pinenos, *p*-cimeno e terpinoleno), enquanto nos óleos de *Myrceugenia cucullata* e *M. euosma* foi detectado alto conteúdo de (*E*)-nerolidol (92,6 e 46,7%, respectivamente). Nos estudos de transformações enzimáticas (LIMBERGER *et al.*, 2003b), todos os sistemas testados apresentaram potencial biocatalítico na conversão do geraniol, sendo observadas reações de isomerização da dupla ligação, com formação de nerol, redução de dupla ligação alílica à hidroxila, fornecendo citronelol e processos de oxidação com formação de citral (geranial + neral) e metil-heptenona. Na bioconversão do α-pineno (LIMBERGER *et al.*, 2007), foi observada a formação de trans-verbenol, com posterior oxidação alílica, resultando em verbenona, sendo os melhores resultados alcançados com (-)-α-pineno e *P. brachyceras* (80,9% de (-)-verbenona em 10 dias), e com (+)-α-pineno e *B. sorokiniana* (31,7% de (+)-verbenona em 5 dias). *S. cerevisiae* e *P. brachyceras* demonstraram seletividade ao enantiômero (-) do α-pineno, e o fungo *B. sorokiniana*, ao isômero (+). Nenhum dos sistemas testados promoveu alteração de centro estereogênico. Na biotransformação do α-bisabolol, o melhor sistema caracterizado foi *B. sorokiniana*, sendo o óxido de bisabolol B o principal produto obtido (84,2% em 7 dias de incubação). *R. sellowii* apresentou lenta metabolização do substrato, com detecção de produtos de oxidação após 15 dias de incubação, enquanto *S. cerevisiae* e *P. brachyceras* não apresentaram capacidade biocatalítica frente ao (-)-α-bisabolol.

No conjunto das espécies das subtribos avaliadas, foi verificada a predominância de sesquiterpenos, seguida por onoterpenos, conforme apresentado na Figura 8.

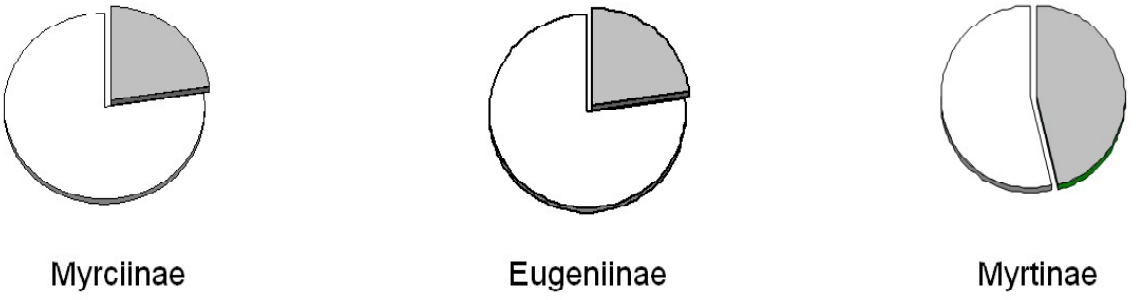


FIGURA 8: Proporção de monoterpenos e sesquiterpenos para a subfamília Myrtoideae. Cinza: monoterpenos; branco: sesquiterpenos

Família Asteraceae

O gênero *Eupatorium*, amplamente distribuído no Rio Grande do Sul, foi investigado visando ao estabelecimento da composição química de óleos voláteis obtidos por hidrodestilação das folhas e inflorescências frescas, bem como pela técnica de *headspace*. Trinta e três espécies foram coletadas em diversas localidades desse estado. Duas espécies de outro gênero estreitamente relacionado, *Symphyopappus*, foram também analisadas (Tabela 3) (SOUZA, 2007; SOUZA *et al.*, 2007).

TABELA 3: Lista de espécies estudadas dos gêneros *Eupatorium* e *Symphyopappus*

ESPÉCIES	ESPÉCIES
Eupatorium ascendens Sch.Bip. ex Baker	*E. macrocephalum Less.*
E. betoniciiforme (DC.) Baker	*E. nummularium* Hook. & Arn.
E. buniifolium Hook. ex Arn.	*E. oblongifolium* (Spreng.) Baker
E. bupleurifolium DC.	*E. pedunculosum* Hook. & Arn.
E. clematideum Griseb.	*E. picturatum Malme*
E. congestum Hook. & Arn.	*E. polystachyum* DC.
E. consanguineum DC.	*E. purpurascens* Sch.Bip. ex Baker
E. ericoides DC.	*E. rufescens* P.W. Lund ex DC.
E. gaudichaudianum DC.	*E. serratum* Spreng.
E. grande Sch.Bip. ex Baker	*E. serrulatum* DC.
E. hecatanthum (DC.) Baker	*E. spathulatum* Hook. & Arn.
E. intermedium DC.	*E. subhastatum* Hook. & Arn.
E. inulifolium Kunth	*E. tanacetifolium* Gillies ex Hook. & Arn.
E. ivifolium L.	*E. tremulum* Hook. & Arn.
E. laete-virens Hook. & Arn.	*E. tweedieanum* Hook. & Arn.
E. laevigatum Lam.	*Symphyopappus casarettoi* B.L. Rob.
E. lanigerum Hook. & Arn.	*S. reticulatus* Baker
E. ligulaefolium Hook. & Arn.	

Os óleos voláteis das espécies analisadas apresentaram um padrão qualitativo recorrente, com compostos acíclicos ou de núcleo pinano e *p*-mentano entre os monoterpenos majoritários e de compostos de núcleo cariofilano, germacrano, aromadendrano e cadinano entre os sesquiterpenos. Além desses, foram observados esporadicamente sesquiterpenos de núcleo bisabolano, santalano, elemano e compostos alifáticos entre os principais constituintes

dos óleos. As variações quantitativas observadas entre os óleos foram relevantes, com muitas diferenças tanto na proporção entre monoterpenos e sesquiterpenos, como entre sesquiterpenos hidrocarbonados e oxigenados. A fração volátil analisada por *headspace* foi composta principalmente por monoterpenos, sendo majoritários os mesmos componentes observados na fração monoterpênica dos óleos obtidos por hidrodestilação. Adicionalmente, foram avaliadas as atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos obtidos. A ação antioxidante foi determinada por bioautografia frente ao radical 1,1-difenil-2-picrilidrazila (DPPH). A grande maioria dos óleos avaliados apresentou resultado positivo, sendo este bem pronunciado para o óleo de *E. laevigatum*, do qual foi isolado o sesquiterpeno furânico levigatina, também apresentando marcada atividade. A ação anticolinesterásica dos óleos voláteis foi avaliada por bioautografia frente à enzima acetilcolinesterase. Muitos óleos voláteis exerceram atividade inibitória, especialmente aqueles contendo grande percentual de monoterpenos (SOUZA, 2007).

O gênero *Baccharis* pertence à subtribo Baccharidinae, tribo Astereae. Foram investigadas oito espécies de *Baccharis* pertencentes à seção Caulopterae: *B. articulata* (Lam.) Pers., *B. crispa* Spreng., *B. microcephala* Baker, *B. cf. milleflora* DC., *B. myriocephala* DC., *B. stenocephala* Baker, *B. trimera* (Less.) DC. e *B. usterii* Heering (SIMÕES-PIRES, 2004). A maioria das espécies apresentou predominância de sesquiterpenos, com exceção das duas espécies bialadas estudadas, *B. articulata* e *B. stenocephala*, as quais apresentaram quantidades apreciáveis do monoterpeno β-pineno, e da espécie farmacopeica, *B. trimera*, com a predominância de acetato de carquejila. Devido à dificuldade na diferenciação das espécies *B. trimera* e *B. crispa* por meio de caracteres morfo-anatômicos, estas tiveram a composição química de seu óleo volátil acompanhada ao longo de diferentes épocas e locais de coleta. Os extratos hexano dessas espécies foram também analisados por CG e CG/EM a fim de detectar a presença de acetato de carquejila em amostras coletadas no Brasil e na Argentina. Os resultados sugerem a presença de acetato de carquejila como um marcador da espécie *B. trimera* (SIMÕES-PIRES *et al.*, 2005). Os óleos voláteis de *B. articulata*, *B. crispa*, *B. microcephala*, *B. myriocephala*, *B. trimera* e *B. usterii* foram investigados quanto à atividade antimicrobiana pelo método da bioautografia e todas elas apresentaram alguma atividade. Os óleos voláteis de *B. articulata*, *B. crispa* e *B. trimera* apresentaram fraca atividade antinflamatória *in vitro* pelo método da câmara de Boyden modificada (SIMÕES-PIRES, 2004).

Espécies do gênero *Mikania* são popularmente conhecidas pelo nome de guaco e são largamente utilizadas em afecções das vias respiratórias. Cinco espécies desse gênero foram estudadas quanto à constituição química do óleo volátil e atividade antimicrobiana: *M. burchellii* Baker, *M. glomerata* Spreng., *M. hirsutissima* DC., *M. micrantha* Kunth e *M. paranensis* Dusén. Os resultados demonstraram a predominância de sesquiterpenos para todas as espécies analisadas. Para a fração monoterpênica, α-pineno, β-pineno, mirceno e linalol foram os principais constituintes. A fração de sesquiterpenos hidrocarbonetos foi caracterizada por β-cariofileno e germacreno D, enquanto os principais sesquiterpenos oxigenados foram óxido de cariofileno e espatulenol (LIMBERGER *et al.*, 1998; 2001e).

Outra espécie estudada pertencente a essa família foi *Heterothalamus psiadioides* Less., um arbusto conhecido popularmente no sul do Brasil como *alecrim-do-campo*. Essa espécie ocorre ainda na Argentina e no Uruguai, sendo empregada na medicina tradicional contra veneno de cobra. A análise do óleo volátil destacou a presença de germacreno D e

biciclogermacreno. Entre os monoterpenos, β-pineno foi o mais abundante, seguido de δ-3-careno (SUYENAGA *et al.*, 2004).

Outras famílias

Duas espécies do gênero *Hesperozygis* (Lamiaceae), nativas da Mata Atlântica da região Sul do Brasil, foram estudadas. *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling é uma erva nativa em campos rupestres da região Sudeste do Rio Grande do Sul; embora ela ocorra pouco na região, é a espécie dominante nos locais onde ocorre, indicando algum efeito alelopático sobre as demais espécies. A planta é utilizada por suas propriedades antiparasitárias e é conhecida pelo nome popular de "espanta pulga". *Hesperozygis rhododon* Epling é um arbusto que cresce em campos rupestres no topo das montanhas ao longo da Serra do Mar nos estados do Paraná e São Paulo, sem dominância observada no local de coleta, embora a espécie seja muito frequente. A análise do óleo volátil de ambas as espécies por combinação de técnicas analíticas revelou pulegona como componente majoritário da primeira espécie e esse composto junto com mentona caracterizam o óleo da segunda. Em teste realizado com o objetivo de comprovar sua ação alelopática, esse demonstrou resultado positivo para o óleo de *H. ringens* (Von POSER *et al.*, 1996). Além desse, outros ensaios foram realizados para determinar a toxicidade do óleo essencial de *H. ringens* em espécies de fêmeas prenhas e larvas de carrapato dos bovinos *Riphicephalus* (Boophilus) *microplus,* utilizando os métodos de imersão de adultos (AIT) e de imersão larval (LIT). Foi encontrada atividade carrapaticida significativa e, após o teste com a pulegona, principal componente isolado do óleo, esta substância apresentou efeito semelhante sobre as fêmeas e as larvas, indicando que ele é responsável pela atividade (RIBEIRO *et al.*, 2009).

Cunila, outro gênero da família Lamiaceae, foi objeto de estudo (APEL *et al.*, 2009) e a análise da composição química do óleo volátil de cinco espécies nativas do sul do Brasil caracterizou o óleo de *Cunila angustifolia* Benth. pela presença majoritária de sabineno; *Cunila incana* Benth. rica em α-pineno e β-pineno, *Cunila spicata* Benth. e *Cunila microcephala* Benth. apresentaram mentofurano como componente principal e, no óleo de *Cunila incisa* Benth., o principal componente foi 1,8-cineol. Ensaios foram realizados para determinar o efeito dos óleos essenciais dessas espécies sobre larvas de carrapato bovino *Riphicephalus* (Boophilus) *microplus*. *C. angustifolia*, *C. incana* e *C. spicata* foram as amostras mais ativas matando quase a totalidade das larvas.

Da família Poacae, a espécie *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, conhecida como capim-limão, apresenta óleo volátil amplamente utilizado em perfumes e cosméticos, além de ser material de partida em síntese, devido ao seu alto conteúdo de citral, uma mistura natural de dois aldeídos isoméricos, neral e geranial. As atividades antibacterianas e antifúngicas do óleo volátil e de seus componentes foram acessadas, sendo atribuído o efeito fortemente positivo, sobretudo ao componente principal, o citral. Sendo assim, foi desenvolvido um trabalho direcionado para a incorporação do óleo volátil de *C. citratus* em preparações farmacêuticas semissólidas (BASSANI *et al.*, 1997), considerando seu potencial antifúngico contra *Candida* spp. Trabalhos subsequentes permitiram gerar processo de patente (RAUBER *et al.*, 2002).

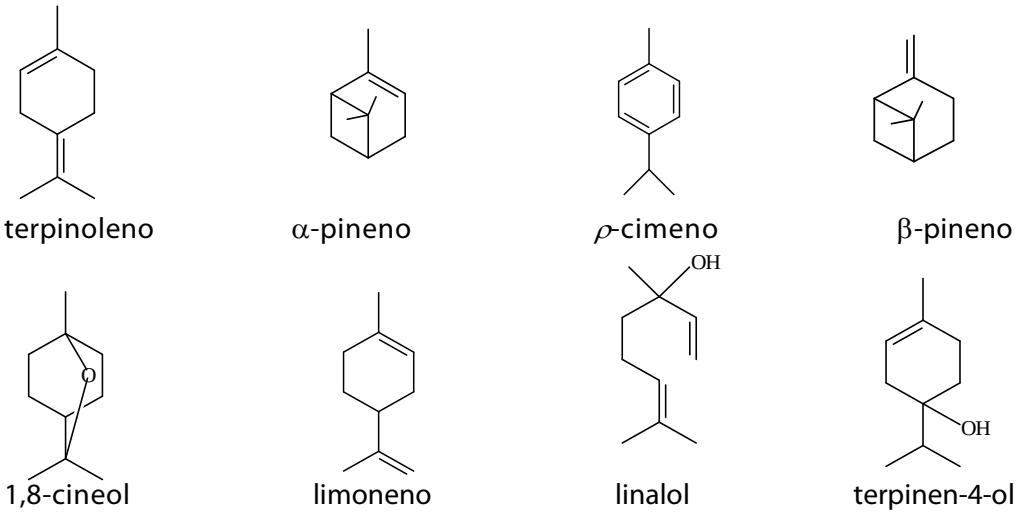


FIGURA 9: Principais monoterpenos identificados

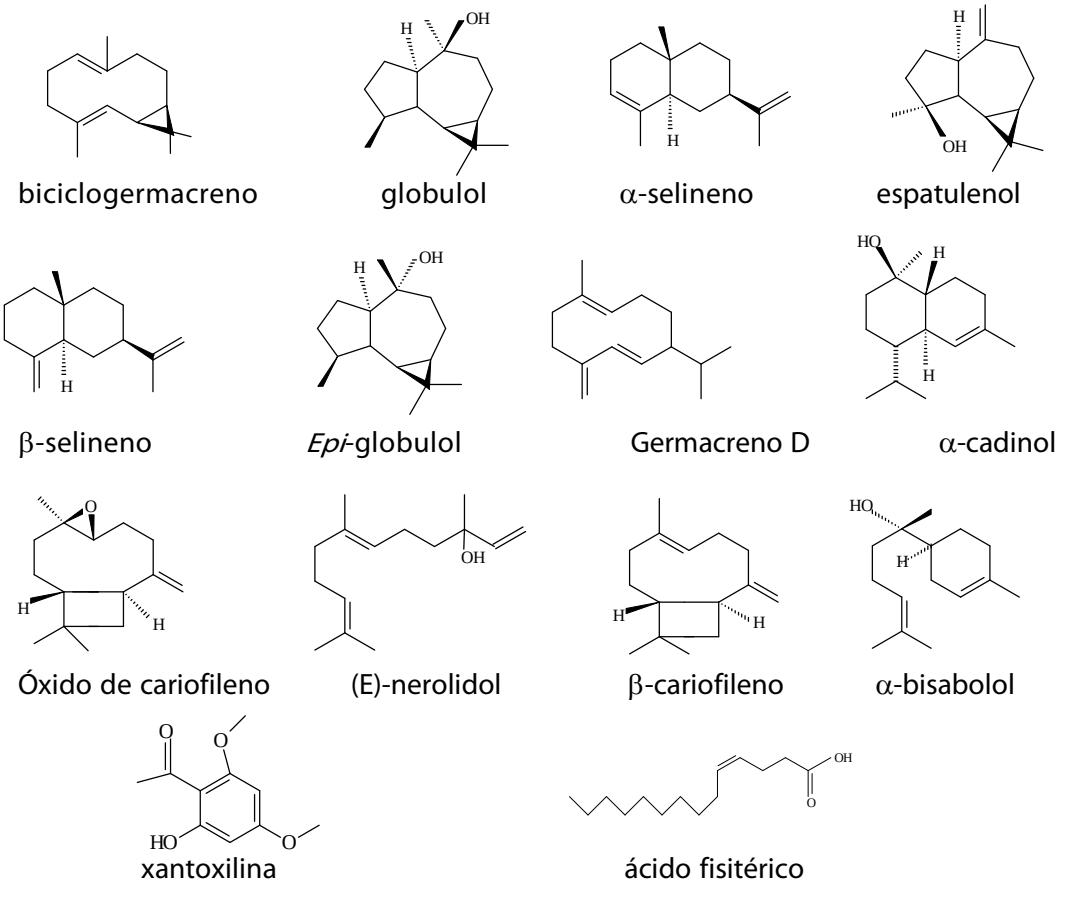


FIGURA 10: Principais sesquiterpenos identificados

CONCLUSÃO

O panorama apresentado mostra que o Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da UFRGS tem contribuído de forma significativa para o avanço no conhecimento da constituição química e das propriedades biológicas da flora nativa, especialmente do sul do Brasil. Foram estudadas centenas de espécies, agrupadas em mais de dez famílias, principalmente Rubiaceae (ênfase no gênero *Psychotria*), Apocynaceae, Leguminosae, Amarylidaceae (ênfase no gênero *Hippeastrum*), Guttifereae (ênfase no gênero *Hypericum*) e Myrtaceae. Dentre os metabólitos secundários estudados destacam-se alcaloides indolmonoterpênicos e tetraidroisoquinolínicos, iridoides, isoflavonas, floroglucinóis e terpenos voláteis. Entre as atividades biológicas estudadas, o maior volume e profundidade dos conhecimentos gerados concentram-se no Sistema Nervoso Central, com destaque para obtenção de moléculas com potencial para o desenvolvimento de novos antidepressivos, analgésicos e fármacos para doenças neurodegenerativas, como Alzheimer. Também é digno de nota o estudo de extratos e moléculas com ação antiparasitária (*Trychomonas vaginallis*), antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, inseticida e antimicrobiana. Para além da pesquisa básica, os estudos realizados também estão inseridos na visão de desenvolvimento da indústria farmacêutica nacional e proteção da biodiversidade brasileira, gerando pedidos de patente. Por fim, salientamos que a grande maioria dos trabalhos arrolados foi desenvolvida no âmbito de teses (19) e dissertações (46), muitas delas em cooperação com outros laboratórios da UFRGS e outras instituições de ensino e pesquisa nacionais e internacionais, o que está de acordo com o caráter multidisciplinar da Farmacognosia, por definição, e demonstra a capacidade de o laboratório formar recursos humanos altamente qualificados para trabalhar na pesquisa da flora nativa, com vistas ao desenvolvimento de novos fármacos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. P. **Análise química e biológica em alcaloides do gênero *Hippeastrum* (Amaryllidaceae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2007. 102p.

APEL, M. A. **Óleos voláteis de Eugeniinae (Myrtaceae):** composição química e atividades antimicrobiana e antiinflamatória. Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2001, 256p.

APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; MENUT, C.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of the essential oil of *Siphoneugena reitzii* D. Legr. *J. Essent. Oil Res.*, 13: 429-430, 2001a.

APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; MENUT, C.; SOBRAL, M. E. G.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of the essential oil of *Neomitranthes cordifolia* (D. Legr.) D. Legr. *J. Essent. Oil Res.*, 13(9): 250-251, 2001b.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M. Chemical composition of the essential oil from Southern Brazilian *Eugenia* species. Part IV. Section Racemulosae. *J. Essent. Oil Res.*, 14(4): 290-292, 2002a.

APEL, M. A.; NTALANI, H.; VERIN, P.; LIMBERGER, R. P.; MENUT, C.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. Chemical

composition of the essential oil from southern Brazilian *Eugenia* species. Part III. *J. Essent. Oil Res.*, 14(4): 259-262, 2002b.

APEL, M. A.; NTALANI, H.; LIMBERGER, R. P.; MENUT, C.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of the essential oil from Southern Brazilian *Eugenia* species. Part II. *J. Essent. Oil Res.*, 14(3): 163-166, 2002c.

APEL, M. A.; ALEIXO, A.; SUYENAGA, E. S.; CHAVES, C. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; LIMBERGER, R. P.; BAPTISTELLA, L. H. B.; HENRIQUES, A. T. Antitinflammatory activity of *Siphoneugena reitzii* (Myrtaceae) and some isolated volatile compounds on chemotaxis of polymorphonuclear leucocytes. *Rev. Fitoter.*, 2: 303-303, 2002d.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of the essential oils of *Eugenia hyemalis* and *Eugenia stigmatosa*. *J. Essent. Oil Res.*, 16(5): 437-439, 2004a.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Essential Oils from *Eugenia* species. Part VII sections Phyllocalyx and Stenocalyx. *J. Essent. Oil Res.*, 16(2): 135-138, 2004b.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of the essential oils of *Eugenia beaurepaireana* and *Eugenia pyriformis*. Part V. Section Dicotomae. *J. Essent. Oil Res.*, 16(3): 191-192, 2004c.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of *Eugenia florida* and *Eugenia mansoi*. *J. Essent. Oil Res.*, 16(4): 258-259, 2004d.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ZUANAZZI, J. A.; HENRIQUES, A. T. Volatile constituents of four *Hexachlamys* species growing in South Brazil. *Flav. Fragr. J.*, 20(2): 176-179, 2005a.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; SHAPOVAL, E. E. S.; MENUT, C.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of *Eugenia mattosii* (Myrtaceae). *J. Essen. Oil Res.*, 17(3): 284-285, 2005b.

APEL, M. A.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil. **Rev. Bras. Farmacog.,** 16: 402-407, 2006a.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of four *Plinia* species (Myrtaceae). *Flav. Fragr. J.*, 21(3): 565-567, 2006b.

APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of *Calycorethes australis* and *C. psidiiflorus*. *Flav. Fragr. J.*, 21(4): 656-658, 2006c.

APEL, M. A.; RIBEIRO, V. L. S.; BORDIGNON, S. A. L.; HENRIQUES, A. T.; von POSER, G. L. Chemical composition and toxicity of the essential oils from *Cunila* species (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Parasitol. Res.*, 105: 863-868, 2009.

ARIGONY, A. L. **Determinação química e biológica de *Bauhinia forficata* Link Subespécie *pruinosa* (Pata-de-vaca - Leguminosae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2005. 160p.

BASSANI, V. L.; SCHUCK, V. A.; HENRIQUES, A. T.; GUTERRES, S. S.; SCHAPOVAL, E. E. S. Incorporation of the antifungal volatile oil of *Cymbopogom citratus* in semi-solid pharmaceutic preparations. In: II World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Humann Welfare, 1997, MENDOZA, 1997. p. 424.

BATISTA, C. V. F. **Alcaloides indólicos de folhas e culturas *in vitro* de *Rauvolfia selowii* Muell. Arg. (Apocynaceae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1994. 150p.

BATISTA, C. V. F.; SCHRIPSEMA, J.; VERPOORTE, R.; RECH, S.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids from *Rauwolfia sellowi*. *Phytochemistry,* 41(3): 969-973, 1996.

BERNARDI, A. P.; FERRAZ, A. B. F.; ALBRING, D.; BORDIGNON, S.; SCHRIPSEMA, J.; BRIDI, R.; DUTRA FILHO, C. S.; HENRIQUES, A. T.; VON POSER, G. L. Benzophenones from *Hypericum carinatum*. *J. Nat. Prod.*, 68: 784-786, 2005.

BERNARDI, A. P.; LÓPEZ-ALARCON, C.; ASPEC, A.; RECH, S.; VON POSER, G. L.; BRIDI, R.; LISSI, E. Antioxidant activity of flavonoids isolated from *Hypericum ternum*. *J. Chil. Chem. Soc*., 52: 1326-1329, 2007a.

BERNARDI, A. P.; MAURMANN, N.; RECH, S. B.; VON POSER, G. L. Benzopyrans in *Hypericum polyanthemum* Klotzsch ex Reicherdt cultured *in vitro*. *Acta Physiol. Plant*., 29: p. 165-170, 2007b.

BERNARDI, A. P.; LÓPEZ-ALARCON, C.; ASPEC, A.; RECH, S. B.; VON POSER, G. L.; BRIDI, R.; DUTRA FILHO, C. S.; LISSI, E. Antioxidant activity in Southern Brazil *Hypericum* species. *J. Chil. Chem. Soc*., 54: 1565-1569, 2008a.

BERNARDI, A. P.; NUNES, J. M.; MARCHIORO, M. K.; ROSA, L. M. G.; VON POSER, G. L.; RECH, S. B. Phenolic compounds profiles during ex vitro acclimatization of micropropagated *Hypericum polyanthemum*. *Plant Physiol. Biochem*., 46: 694-700, 2008b.

BOEIRA, J. M.; FENNER, R.; BETTI, A. H.; PROVENSI, G.; LACERDA, A.; BARBOSA, P. R.; GONZÁLEZ, F. H.; CORRÊA, A. M.; DRIEMEIER, D.; DALL'ALBA, M. P.; PEDROSO, A. P.; Gosmann, G.; da Silva, J.; Rates, S. M. Toxicity and genotoxicity evaluation of *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae). *J. Ethnopharmacol*., 128(2): 526-32, 2010.

BORSOI, M. **Avaliação dos efeitos de extrato lipofílico de *Hypericum polyanthemum* em modelo animal da doença de Parkinson induzido por 6-hidroxidopamina**. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre. 2010. 47p.

BOTH, F.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A T.; ELISABETSKY, E. Analgesic properties of umbellatine from *Psychotria umbellata*. *Pharm. Biol*., 40: 336-341, 2002.

BOTH, F.; MENEGHINI, L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A T.; ELISABETSKY, E. Psychopharmacological profile of the alkaloid psychollatine as a 5HT2A/C serotonin modulator. *J. Nat. Prod.,* 68: 374-380, 2005.

BOTH, F.; MENEGHINI, L.; KERBER, V. A.; HENRIQUES, A T.; ELISABETSKY, E. **Role of glutamate and dopamine receptors in the psychopharmacological profile of the indole alkaloid psychollatine.** *J. Nat. Prod.,* 69(4): 342-345, 2006.

BRIDI, R. **Investigação da atividade neuroprotetora do extrato padronizado de *Gingko biloba* (EGb 761) em ratos.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1999. 130p.

CARGNIN, S. T.; NUNES, J. M.; HAAS, J. S.; BALADÃO, L. F.; CASSEL, E.; VARGAS, R. F.; RECH, S. B.; von POSER, G. L. Supercritical fluid extraction and high performance liquid chromatographic determination of benzopyrans and phloroglucinol derivative in *Hypericum polyanthemum*. *J. Chromatogr. B*, 878: 83-87, 2010.

CASADO, M. M. C. W.; SILVA, O. E.; HENRIQUES, A. T.; MARIZ, G. E.; WANDSCHEER, D. E.; SILVA, N. H. Ação de alcaloides indólicos sobre o sistema nervoso**. Rev. Inst. Antibiot.,** 22(1/2): 11-17, 1984/1985.

CASTILHOS, T. S.; GIORDANI, R. B.; HENRIQUES, A. T.; MENEZES, F. S.; ZUANAZZI, J. A. S. Avaliação das atividades antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcaloide montanina. **Ver. Bras. Farmacog.**, 17: 209-214, 2007.

CASTILHOS, T. S. **Investigação Química dos Alcaloides em *Habranthus erectus* Ravenna e *Rodophiala bifida* (Herb.) Traub (Amaryllidaceae) e avaliação biológica *in vitro* do alcaloide montanina.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2004. 158p.

CHAVES, C. G.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ZUANAZZI, J. A.; DIEHL, E. E. SIQUEIRA, N. C. S.; HENRIQUES, A. T. *Erythroxylum argentinum:* Assays for anti-inflammatory activity. *J. Ethnopharmacol*.**,** 22: 117-120, 1988.

DALL'AGNOL, R.; FERRAZ, A. B. F.; BERNARDI, A. P.; ALBRING, D.; NOR, C.; von POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S. Bioassy-guided isolation of antimicrobial benzopyrans and phloroglucinol derivatives from *Hypericum* species. *Phytother. Res*., 19: 291-293, 2005.

DAUDT, R.; von POSER, G. L.; NEVES, G.; RATES, S. M. K. Screening for the antidepressant activity of some species of *Hypericum* from South brazil. Phytoter. Res., 14: 344-346, 2000.

DELORENZI, J. C.; ATTIAS, M.; GATTASS, C.; ANDRADE, M.; REZENDE, C.; PINTO, A. C.; HENRIQUES, A T.; BOU-HABIB, D.C.; SARAIVA, E. M. B. Antileishmanial activity of an indole alkaloid from *Peschiera australis. Antimicrob. Agents Chemother.*, 45(5): 1349-1354, 2001.

DIEHL, E. E. **Zanthoxylum chiloperone:** Análise química e determinação de efeitos biológicos. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1992. 146p.

DIEHL, E. E.; von POSER, G. L.; HENRIQUES, A.T. Constituents of *Zanthoxylum rugosum* St.-Hil &Tul. *Biochem. Syst. Ecol.,* 28: 275-277, 2000.

DRESCH, M. T. K. **Avaliação de extratos de espécies vegetais ricas em polifenóis cultivadas no Rio Grande do Sul com potencial atividade antioxidante para utilização em formulações de uso cutâneo. Dissertação** (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2008. 122p.

DRESCH, R. R. **Purificação e caracterização das lectinas ACL-I e ACL-II da esponja marinha *Axinella corrugata*, imunolocalização da ACL-I e avaliação do seu potencial como marcador de transformação celular.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2008, 222p.

FARIAS, F. M. ***Psychotria myriantha* Müll. Arg. (Rubiaceae):** Caracterização dos alcaloides e avaliação das atividades antiquimiotáxica e sobre o sistema nervoso central. Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2006, 191p.

FARIAS, F. M.; KONRATH, E. L.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Strictosamide from *Psychotria nuda* (Cham. et Schltdl) Wawra (Rubiaceae). *Biochem. Syst. Ecol.,* 36: 19-20, 2008.

FARIAS, F. M.; PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; ZUANAZZI, J. A. S.; STEFFEN, V. M.; HENRIQUES, A. T. Monoamine levels in rat striatum after acute intraperitoneal injection of strictosidinic acid isolated from *Psychotria myriantha* Mull. Arg. (Rubiaceae). *Phytomedicine*, 17(3-4): 289-291, 2010.

FENNER, R.; SORTINO, M.; RATES, S. M. K.; DALL'AGNOL, R.; FERRAZ, A. B. F.; BERNARDI, A. P.; ALBRING, D.; NOR, C.; von POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ZACCHINO, S. Antifungal activity of some Brazilian *Hypericum* species. *Phytomedicine*, 12: 236-240, 2005.

FENNER, R. 2006. **Avaliação do efeito hipnótico/sedativo e ansiolítico de um extrato seco nebulizado de *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2006. 105p.

FERRAZ, A. F. B. **Análise química e antiproliferativa de espécies de *Hypericum* nativas do Rio Grande do Sul. 2004**. Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2004, 270p.

FERRAZ, A. B. F.; BORDIGNON, S.; STAATS, C.; SCHRIPSEMA, J.; VON POSER, G. L. Benzopyrans from *Hypericum polyanthemum*. *Phytochemistry*, 57(8): 1227-1230, 2001.

FERRAZ, A. B. F.; SCHRIPSEMA, J.; POHLMANN, A.; von POSER, G. L. Uliginosin B in *Hypericum myrianthum*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 30: 989-991, 2002a.

FERRAZ, A. B. F.; BORDIGNON, S.; MANS, D.; SCHMITH, A.; RAVAZZOLO, A.; von POSER, G. L. Screening for the presence of hypericins in southern Brazilian species of *Hypericum* (Guttiferae). *Pharmaceut. Biol.*, 40(4): 294-297, 2002b.

FERRAZ, A. B. F.; ROCHA, A.; SCHWARTSMANN, G.; HENRIQUES, A. T.; von POSER, G. L. Screening for the antiproliferative activity of six southern Brazilian species of *Hypericum*. *Phytomedicine*, 12: 112-115, 2005a.

FERRAZ, A. B. F.; GRIVICICH, I.; von POSER, G. L.; FARIA, D. H.; KAYSER, G. B.; SCHWARTSMANN, G.; HENRIQUES, A. T.; ROCHA, A. Antitumor activity of three benzopyrans isolated from *Hypericum polyanthemum*. *Fitoterapia*, 76: 210-215, 2005b.

FERRAZ, A.; DA SILVA, J.; DEIMLIMG, L.; SANTOS-MELLO, R.; SHARLAU, A.; von POSER, G.; PICADA, J. Genotoxicity evaluation of three benzopyrans from *Hypericum polyanthemum*. *Planta Med.*, 75: 37-40, 2009.

FRITZ, D.; VENTURI C. R.; CARGNIN, S. T.; SCHRIPSEMA, J.; ROEHE, P. M.; MONTANHA, J.; von POSER, G. L. Herpes virus inhibitory substances from *Hypericum connatum* Lam., a plant used in southern Brazil to treat oral lesions. *J. Ethnopharmacol.*, 113: 517-520, 2007.

GERHARDT, D.; HORN, A. P.; GAELZER, M. M.; FROZZA, R. L.; DELGADO-CAÑEDO, A. L.; HENRIQUES, A. T.; LENZ, G.; SALBEGO, C. Boldine: a potential new antiproliferative drug against glioma cell lines. *Invest. New Drugs*, 27: 517-525, 2009.

GIORDANI, R. B. Estudo químico e farmacológico em *Hippeastrum morelianum* Lem. e *Hippeastrum santacatarina* (Traub) Dutilh: duas espécies de Amaryllidaceae. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2007. 125p.

GIORDANI, R. B.; PAGLIOSA, L. B.; DUTILH, J.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). **Quím. Nova**, 31: 2042-2046, 2008.

GIORDANI, R. B.; WEIZENMANN, M.; ROSEMBERG, D. B.; DE CARLI, G. A.; BOGO, M. R.; ZUANAZZI, J. A. S.; TASCA, T. *Trichomonas vaginalis* nucleoside triphosphate diphosphohydrolase and ecto-5?-nucleotidase activities are inhibited by lycorine and candimine. *Parasitol. Int.*, 59: 226-231, 2010.

GIORDANI, R.B. ***Hippeastrum morelianum* e *Hippeastrum santacatarina* (Amaryllidaceae):** análise química e investigação de atividade antiparasitária de alcaloides isolados. Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2010.

GNERRE, C.; VON POSER, G. L.; FERRAZ, A.; VIANA, A.; TESTA, B.; RATES, S. M. K. Monoamine oxidase inhibitory activity of some *Hypericum* species native to South Brazil. J. Pharm. Pharmacol., 53: 1273-1279, 2001.

GOERK, G. **Investigação de isoflavonas em espécies de leguminosas nativas do Sul do Brasil, com ênfase em *Trifolium riograndense* Burkart.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2009.

GOLUBKOVA, T.; HECKLER, E.; RATES, S. M. K.; HENRIQUES, A. T. Inhibition of cytocrome P450-dependent monooxigenases by alkaloid fraction of *Helietta apiculata* (Rutaceae) markedly potentiate the hypnotic action of pentobarbital. Implications on the mechanism of action. *J. Etnopharmacol.,* 60: 141-148, 1998.

GREGIANINI, T. S.; SILVEIRA, V. C.; PORTO D. D.; KERBER, V.A.; HENRIQUES, A. T.; FETT-NETO, A. G. The alkaloid brachycerine is induced by ultravolet radiation and is a singlet oxygen quencher. *Photochem. Photobiol.*, 78: 5, 470-474, 2003.

GREGIANINI, T. S.; PORTO D. D.; NASCIMENTO, N. C.; FETT, J. P.; HENRIQUES, A.T.; FETT-NETO, A. G. Environmental and ontogenetic control of accumulation of brachycerine, a bioactive indole alkaloid from *Psychotria brachyceras*. *J. Chem. Ecol.*, 30(10): 2023-2036, 2004.

GRIVICICH, I.; FERRAZ, A.; FARIA, D. H.; REGNER, A.; SCHWARTSMANN, G.; HENRIQUES, A. T.; VON POSER, G.; ROCHA, A. B. Synergistic effect of three benzopyrans isolated from *Hypericum polyanthemum* in U-373 MG glioblastoma cell line. *Phytother. Res.*, 22: 1577-1580, 2008.

HAAS, J. S. **Isolamento e avaliação biológica de compostos fenólicos de espécies de *Hypericum* nativas do Sul do Brasil.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Gradua-

ção em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2010. 128p.

HAAS, J., VIANA, A., MACHADO HECKLER, A., von POSER, G. L., RATES, S. M. K. The antinociceptive effect of a benzopyran (HP1) isolated from in mice hot-plate test is blocked by naloxone. *Planta Med.*, 2010 [Epub ahead of print] DOI: 10.1055/s-0029-1240942.

HECKLER, E. **Identificação de metabólitos secundários e avaliação de atividades biológicas do extrato de alcaloides das folhas de *Helietta apiculata* (Rutaceae),** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1993. 109p.

HENRIQUES, J. A. P.; MORENO, P. R. H.; von POSER, G. L.; HENRIQUES, A. T. Genotoxicity effects of alkaloids. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 86 (Suppl.II) 71-74, 1991.

HENRIQUES, A. T.; MELO, A. A.; MORENO, P. R. H.; ENE, L. L.; HENRIQUES, J. A. P.; SCHAPOVAL, E. E. S. *Ervatamia coronaria*: chemical constituents and biological assays. *J. Ethnopharmacol.,* 50(1): 19-25, 1996.

HENRIQUES, A. T. H.; LOPES, S. O.; FETT-NETO, A.; GREGIANINI, T.; PARANHOS, T.; VON POSER, G. L.; SCHRIPSEMA, J. *N*,b-D-Glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa*. *Phytochemistry,* 65(4): 449-454, 2004.

HENRIQUES, A. T.; FERRAZ, A.; VON POSER, G. L.; LIMBERGER, R. P. Essential oil in southern Brazilian *Hypericum* species. *Flav. Fragr. J.*, 20(3): 335-339, 2005.

HOFMANN JUNIOR, A. E. **Análise Química e Biológica em *Hippeastrum glaucescens* (Martius) Herbert.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2002. 101p.

HOFMANN JUNIOR, A. E.; DA SILVA, A. F. S.; DA FONSECA, A. C. E.; SEBBEN, C.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Alkaloids of *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) from the South of Brazil. *Rev. Fitoter.*, 2: 304-304, 2002.

HOFMANN JUNIOR, A. E.; SEBBEN, C.; SOBRAL, M. E. G.; DUTILH, J.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Alkaloids of *Hippeastrum glaucescens*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 31(12): 1455-1456, 2003.

KERBER, V. A. **Análise dos alcaloides de *Psychotria brachyceras* Mull. Arg. e *P umbellata* Vell., e estabelecimento e carcterização de cultura de células de *P. umbellata* Vell.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1999, 240p.

KERBER, V. A.; GREGIANINI, T. S.; PARANHOS, J. T.; FARIAS, F.; SCHWAMBACH, J. F.; FETT, J. P.; ZUANAZZI, J. A. S.; QUIRION, J. C.; ELISABETSKY, E.; HENRIQUES, A.T. Brachycerine, a novel type of monoterpene indole alkaloid from *Psychotria brachyceras* (Rubiaceae). *J. Nat Prod.*, 64(5): 677-679, 2001. Errata 66 (7): 1038-1038 JUL 2003.

KERBER, V. A.; PASSOS, C. S.; VERLI, H., FETT-NETO, A. G.; QUIRION, J. P.; HENRIQUES. A.T. Psychollatine, a glucoside monoterpene indole alkaloid from *Psychotria umbellata* Vell. *J. Nat. Prod.,* 71: 697-700, 2008.

KONRATH, E. **Investigação *in vitro* do efeito neurotóxico, antioxidante e anticolinesterásico de alcaloides e avaliação de parâmetros de estresse oxidativo em fatias de hipocampo submetidas à privação de oxigênio e glicose**. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2006. 195p.

KONRATH, E. L.; SANTIN, K.; NASSIF, M.; ALEXANDRA LATINI, A.; HENRIQUES, A. T.; SALBEGO, C. Antioxidant and pro-oxidant properties of boldine on hippocampal slices exposed to oxygen–glucose deprivation *in vitro*. *Neurotoxicology,* 29: 1136-1140, 2008.

LIMBERGER, R. P. **Estudo de óleos voláteis de espécies de *Mikania* (Asteraceae) e da subtribo Myrtinae (Myrtaceae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1998. 121p.

LIMBERGER, R. P.; SUYENAGA, E. S.; HENRIQUES, A. T.; LAMATY, G.; MENUT, C. Chemical composition of essential oils from three southern Brazilian species of *Mikania* (Asteraceae). *J. Essent. Oil Res.*, 10: 363-367, 1998.

LIMBERGER, R. P.; HENRIQUES, A. T.; APEL, M. A.; SCHAPOVAL, E. E. S. Atividade antimicrobiana de óleos voláteis. **Rev. Bras. Farm**., 79(1-2): 49-52, 1999.

LIMBERGER, R. P. **Composição química de óleos voláteis de Myrciinae e biotransformação de terpenóides.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2001, 300p.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M. E. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; MORENO, P. R. H.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T. Biological activities and essential oil composition of leaves of *Blepharocalyx salicifolius*. *Pharmaceut. Biol.*, 39(4): 308-311, 2001a.

LIMBERGER, R. P.; APEL, M. A.; MENUT, C.; SOBRAL, M. E. G.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Chemical composition of essential oils from some *Campomanesia species* (Myrtaceae). *J. Essent. Oil Res.*, 13: 113-115, 2001b.

LIMBERGER, R. P.; MORENO, P. R. H.; FARIAS, F. M.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. Essential oil of *Myrrhinium atropurpureum* Schott (Myrtaceae) leaves . *J. Essent. Oil Res.*, 13: 47-48, 2001c.

LIMBERGER, R. P.; FARIAS, F. M.; SOBRAL, M. E. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Composição química do óleo volátil de *Psidium cattleyanum, P. guaiava, P. incanum* e *P. luridum*. **Rev. Bras. Farm.**, 81(1/2): 53-56, 2001d.

LIMBERGER, R. P.; ABOY, A. L.; BASSANI, V. L.; MORENO, P. R. H.; RITER, M.; HENRIQUES, A. T. Essential oils from four *Mikania* species (Asteraceae). *J. Essent. Oil Re.*, 13(4): 225-228, 2001e.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; HENRIQUES, A. T. Essential oils from *Calyptranthes concina, C. lucida* and *C. rubela*. (Myrtaceae). **Rev. Bras. Cienc. Farm**., 16:. 176-182, 2002a.

LIMBERGER, R. P.; SIMÕES-PIRES, C. A.; SOBRAL, M.; MENU, C.; BESSIERE, J.; HENRIQUES, A. T. Essential oils from some *Myrceugenia* species (Myrtaceae). *Flav. Fragr. J.*, 17(5): 341-344, 2002b.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M. E. G.; MENUT, C.; BESSIERE, J. M.; HENRIQUES, A. T. Essential oils from six southern Brazilian *Myrceugenia* species. *J. Essent. Oil Res.*, 14(4): 302-304, 2002c.

LIMBERGER, R. P.; SIMÕES-PIRES, C. A.; SOBRAL, M.; MENUT, C.; BESSIERE, J.; HENRIQUES, A. T. Essential oils of six *Gomidesia* spp. from southern Brazil. *Flav. Fragr. J.*, 18: 144-147, 2003a.

LIMBERGER, R. P.; FERREIRA, L.; CASTILHOS, T. S.; ALEIXO, A. M.; PETERSEN, R. Z.; GERMANI, J. C.; ZUANAZZI, J. A. S.; FETT NETO, A. G.; HENRIQUES, A. T. The ability of *Bipolaris sorokiniana* to modify geraniol and (-)-alpha-bisabolol as exogenous substrates. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 61: 552-555, 2003b.

LIMBERGER, R. P.; PIRES, C. A. S.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. Essential oils of *Marlierea* species. *J. Essent. Oil Res.*, 16(5): 479-482, 2004a.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Quím. Nova**, 27(6): 916-919, 2004b.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T. Intraspecific volatile oil variation in *Myrceugenia cucullata* (Myrtaceae). *Biochem. Syst. Ecol.*, 33: 287-293, 2005.

LIMBERGER, R. P.; ALEIXO, A. M.; FETT NETO, A. G.; HENRIQUES, A. T. Bioconversion of (+)- and (-)-alpha-pinene to (+)- and (-)-verbenone by plant cell cultures of *Psychotria brachyceras* and *Rauvolfia sellowi*. *Electr. J. Biotechnol.*, 10: 500-507, 2007.

LINDE, K. St. John's wort - an overview. *Forsch Komplementmed*, 16(3): 146-55, 2009.

LOPES, S. O. **Análise química e cultivo in vitro de Psychotria. leiocarpa Cham. et Schlecht. e Psychotria**

carthagenensis Jacq. (Rubiaceae). Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1998. 121p.

LOPES, S. O.; VON POSER, G. L.; KERBER; V. A.; DE SANTOS, L. V.; MORENO, P. R. H.; FERREIRA, L.; FARIAS, F. M.; SOBRAL, M. E. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Alkaloids and iridoid glucosides in *Psychotriea*e (Rubiaceae) from Brazil. *Biochem. Syst. Ecol.,* 32: 1187-1195, 2004.

MACHADO, C. A. **Investigação química e biológica dos extratos de *Machaonia spinosa*.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1993. 122p.

MARIN, R. **Análise química e bioatividades *in vitro* de espécies de Arecaceae.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2008. 123p.

MARIN, R.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA J. F.M.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Volatiles components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in Southern Brazil. *Acta Farm. Bonaer.*, 27: 172-177, 2008.

MAURMANN, N.; SILVA, A. L.; FETT-NETO, A.; VON POSER, G. L.; RECH, S. B. Valepotriates accumulation in callus, suspended cells and untransformed root cultures of *Valeriana glechomifolia*. *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Plant*, 42(1): 50-53, 2006.

MAURMANN, N.; REOLON, G. K.; RECH, S. B.; FETT-NETO, A. G.; ROESLER, R. A valepotriate fraction of *Valeriana glechomifolia* shows sedative and anxiolytic properties and impairs recognition but not aversive memory in mice. eCAM publicado on line em 2009.

MELO, A. A. **Isolamento, análise estrutural dos alcaloides indólicos de *Ervatamia divaricata* (L) Burkill e efeitos citostático e mutagênico da voacristina em linhagens proficientes e deficientes em reparo de ADN de *Saccharomyces cerevisiae*.** Dissertação (mestrado). UFPE. Bioquímica. 1986.

MELO, A. A.; QUEROL, C. B.; HENRIQUES, A. T.; HENRIQUES, J. A. P. Cytostatic, cytotoxic and mutagenic effects of the voacristine an indole alkaloid in wild type and repair deficient yeast. *Mutat. Res.,* 171(1): 17-24, 1986.

MENDES, F.R.; MATTEI, R.; CARLINI, E.L.A. Activity of *Hypericum brasiliense* and *Hypericum cordatum* on the central nervous system in rodents. *Fitoterapia*, 73: 462-471, 2002.

MORENO, P. R. H. **Alcaloides de Nectandra grandiflora Ness et Mart. (ex Ness).** Análise química e biológica. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1989. 155p.

MORENO, P. R. H.; ANDRADE, H. H. R.; VARGAS, V. M. F.; HENRIQUES, A. T.; HENRIQUES, J. A. P. Genotoxicity of the boldine, aporphine alkaloid in eukaryotic and prokaryotic organisms. *Mutat. Res.,* 235: 37-43, 1991.

MORENO, P.R.H.; von POSER, G.L.; HENRIQUES, A.T. Atividade antimicrobiana e isolamento de alcaloides de *Nectandra lanceolata*. **Rev. Bras. Farm**., *72* (2), 27-28, 1991.

MORENO, P. R. H.; von POSER, G. L.; GOLUBKOVA T.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R.; HENRIQUES, A. T. Chemical constituents and and antitumour activity of *Nectandra grandiflora. Int. J. Pharmacog.*, 31: 189-192, 1993.

MUNARI, L. **Avaliação do efeito de um extrato lipofílico de *Hypericum caprifoliatum* Cham. &Schltdl sobre os níveis cerebrais de dopamina e seus metabólitos através demicrodiálise cerebral em ratos conscientes.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2006, 161p.

NOR, C.; BERNARDI, A. P.; HASS, J. S.; SCHRIPSEMA, J.; RECH, S. B.; von POSER, G.L. Phenolic constituents of

Hypericum flowers. *Nat. Prod. Commun.*, 3: 237-240, 2008.

NOR, C.; FERRAZ, A. B. F.; ALBRING, D.; SCHRIPSEMA, J.; PIRES, V.; SONNET, P.; GUILHAUME, D.; von POSER, G. L. Chemotaxonomic features of phloroglucinol derivatives occurring in *Hypericum* species belonging to the Trigynobrathys section. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32: 517-519, 2004.

NUNES, J. M.; PINHATTI, A. V.; ROSA, L. M. G.; von POSER, G. L.; RECH, S. B. Roles of in vitro plantlet age and growing period in the phenolic constituent yields of acclimatized *Hypericum polyanthemum*. *Environ. Exper. Botany*, 67: 204-208, 2009a.

NUNES, J. M.; PINHATTI, A. V.; von POSER, G. L.; RECH, S. B. Promotive effects of long-term fertilization on growth of tissue culture-derived *Hypericum polyanthemum* plants during acclimatization. *Ind. Crops Prod.*, 30: 329-332, 2009b.

NUNES, J. M.; PINTO, P. S.; BORDIGNON, S.; RECH, S. B.; von POSER, G. L. Phenolic compounds in *Hypericum* species from the Trigynobrathys section. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38: 224-228, 2010.

PAGLIOSA, L. B.; MONTEIRO, S.; ANDRADE, J. P.; DUTILH, J.; BASTIDA, J.; CAMMAROTA, M.; ZUANAZZI, J. A. S. Effect of isoquinoline alkaloids from two *Hippeastrum* species on in vitro acetylcholinesterase activity. *Phytomedicine*, 17: 698-701, 2010.

PAGLIOSA, L. B. **Análise Química e Biológica de Hippeastrum psittacinum e Estudos em Memória da Montanina.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2009, 119p.

PARANHOS, J. T.; FRAGOSO, V.; HENRIQUES, A.T.; FERREIRA, A. G.; FETT-NETO, A. G. Regeneration of *Psychotria umbellata* Vell and production of the analgesic indole alkaloid umbellatine. *Tree Physiol.*, 25: 251-255, 2005.

PARANHOS, J. T.; FRAGOSO, V.; SILVEIRA, HENRIQUES, A. T.; FETT NETO, A. Organ-specific and environmental control of accumulation of psychollatine, a major indole alkaloid glucoside from *Psychotria umbellata*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 37: 707-715, 2009.

PASSOS, C. S. **Psicolatina:** caracterização conformacional e avaliação do efeito sobre os níveis de aminoácidos excitatórios e inibitórios em regiões cerebrais de roedores. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2008. 127p.

PINHATTI, A. V.; NUNES, J. M.; MAURMANN, N.; ROSA, L. M. G.; VON POSER, G. L.; RECH, S. B. Phenolic compounds accumulation in *Hypericum ternum* propagated in vitro and during plant development acclimatization. *Acta Physiol. Plant.*, 32: 675-681, 2010.

PORTO, D. D.; HENRIQUES, A. T.; FETT-NETO, A. G. Bioactive alkaloids from South American *Psychotria* and related species. *Open Bioact. Compd. J.*, 2: 29-36, 2009.

PROVENSI, G. **Investigação da atividade ansiolítica de *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2007. 135p.

PROVENSI, G.; LOPES, D. V.; FENNER, R.; BETTI, A. H.; DE COSTA, F.; MORAIS, E. C.; GOSMANN, G.; RATES, S. M. K. Participation of GABA-benzodiazepine receptor complex in the anxiolytic effect of *Passiflora alata* Curtis (Passifloraceae). *Acta Farm. Bonaer.*, 27: 845-851, 2008.

QUISEPEL, A. In: Bothe, H.; de Brujin, F. J. e Newton, W. E., (Eds.), *Nitrogen Fixation: Hundred Years After*, Gustav Fischer: Stuttgart, p. 3-12, 1988.

RAMIRES, M. R. **Avaliação farmacológica de extratos vegetais contendo antocianosideos sobre o aprendizado e memória em diferentes modelos animais.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2008, 223p.

RAMOS, G. P. **Estudo químico de diferentes acessos de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) e atividades biológicas.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2006, 256p.

RAMOS, G. P.; DIAS, P. M. B.; MORAIS, C. B.; FRÖEHLICH, P. E.; DALL'AGNOL, M.; ZUANAZZI, J. A. S. LC Determination of four isoflavone aglycones in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Chromatographia*, 67: 125-129, 2008.

RATES, S. M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; SOUZA, I. A.; HENRIQUES, A. T. Chemical constituents and pharmacological activities of *Peschiera australis. Int. J. Pharmacog.,* 31(4): 288-294, 1993.

RATES, S. M. K. **Alcaloides Indólicos de *Peschiera australis var australis.*** Análise estrutural e determinação de efeitos biológicos, Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1989. 110p.

RATES, S. M. K.; CAUDURO, A. D.; SALAZAR, V.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T. Alcaloides indólicos de *Peschiera australis* (Muell.Arg.) Miers *var. australis.* **Cad. Farm.,** 4(1/2): 51-62, 1988.

RAUBER, C.; GUTERRES, S. S.; HENRIQUES, A. T.; SCHAPOVAL, E. E. S. **Composições farmacêuticas para o tratamento de afecções cutâneas causadas por *Candida* spp. e fungos dermatófitos e uso de óleo volátil de *Cymbopogom citratus* nas ditas composições.** 2002.

RECH S. B.; FERREIRA BATISTA C. V.; SCHRIPSEMA, J.; VERPOORTE, R.; HENRIQUES, A. T. Cell cultures of *Rauwolfia sellowii*: growth and alkaloid production. *Plant Cel.l Tiss.Org. Cult.*, 54: 61-63, 1998.

RIBEIRO, V. L. S.; DOS SANTOS, J. C.; BORDIGNON, S. A. L.; APEL, M. A.; HENRIQUES, A. T.; von POSER, G. L. Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozygis ringens* (Lamiaceae) on the cattle tick *Riphicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Biores. Technol.*, 101: 2506-2509, 2009.

RIBEIRO, V. L. S.; TOIGO, E. ; BORDIGNON, S ; GONÇALVES, K.; von POSER, G.L. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemun* on the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.*, 147: 199-203, 2007.

ROCHA, L.; MARSTON, A.; KAPLAN, M. A. C.; STOECKLI-EVANS, H.; THULL, U.; TESTA, B.; HOSTETTMANN, K. An antifungal gamma-pyrone and xanthones wit monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, 36(6): 1381-1385, 1994.

ROCHA, L.; MARSTON, A.; POTTERAT, O.; KAPLAN, M. A. C.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K. Antibacterial phloroglucinols and flavonoids from *Hypericum brasiliense*.

Phytochemistry, 40(5): 1447-1452, 1995.

ROCHA, L.; MARSTON, A.; POTTERAT, O.; KAPLAN, M. A. C.; HOSTETTMANN, K. More phloroglucinols from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, 42: 185-188, 1996.

SALLES, L. A.; SILVA, A. L.; ZANATTA, N.; RECH, S. B.; von POSER, G. L. Constituents of *Valeriana glechomifolia* Meyer. *Biochem. Syst. Ecol.*, 28(9): 907-910, 2000.

SALLES, L. A.; SILVA, A. L; von POSER, G. L.; FETT-NETO, A.; RECH, S. B. *Valeriana glechomifolia*: *in vitro* propagation and production of valepotriates. *Plant Sci.*, 163(1): 165-168, 2002.

SALLES, L. A. **Obtenção de frações de valepotriatos através de fluido supercrítico e triagem psicofarmacológica de *Valeriana glechomifolia* Meyer**. Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2010. 106 p.

SANTOS, L. V. ***Psychotria suterella* Müell. Arg.:** Caracterização de alcaloides, análise farmacológica e cultivo *in vitro* de calos e raízes". Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1999. 116p.

SANTOS, L. V.; HENRIQUES, A. T.; FETT-NETO, A. G.; ELIZABETSKY, E.; QUIRION, J. C. Leaf alkaloids and establishment

of in vitro cultures of *Psychotria suterella. Biochem. Syst. Ecol.* 29: 1185-1187, 2001.

SCHILLING, G. In: Bothe, H.; de Brujin, F. J. e Newton, W. E., (Eds.), *Nitrogen Fixation: Hundred Years After*, Gustav Fischer: Stuttgart, p.13–19, 1988.

SCHMITH, A.; RAVAZZOLO, A.; von POSER, G.L. Investigation of some *Hypericum* species native to Southern of Brazil for antiviral activity. *J. Ethnopharmacol.*, 77: 239-245, 2001.

SCHWANZ, M. **Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de boldina em *Peumus boldus* Molina e estudos de estabilidade.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2006. 123p.

SCOPEL, M. **Análise botânica, química e biológica comparativa entre flores das espécies *Sambucus nigra* L. e *Sambucus australis* Cham. & Schlecht. e Avaliação Preliminar da Estabilidade.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2005. 256p.

SEBBEN, C. **Investigação Química em *Hippeastrum breviflorum* Herb. (Amaryllidaceae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2005. 194p.

SILVA, A. F. S.; ANDRADE, J. P.; BEVILAQUA, L. R. M.; DE SOUZA, M. M.; IZQUIERDO, I.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Anxiolitic-, antidepressant- and anti-convulsant- like effects of the alkaloid montanine isolated from *Hippeastrum vittatum*. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 85:148-154, 2006.

SILVA, A. F. S.; ANDRADE, J. P.; MACHADO, K. R. B.; ROCHA, A. B.; APEL, M. A.; SOBRAL, M. E. G.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Screening for cytotoxic activity of extracts and isolated alkaloids from bulbs of *Hippeastrum vittatum*. *Phytomedicine*, 15: 882-885, 2008.

SILVA, A. F. **Estudo Químico e Biológico de *Hippeastrum vittatum* (L Hér.) Herberte *Hippeastrum striatum* (Lam.) Moore (Amaryllidaceae).** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2005, 182p.

SILVA, A. L.; RECH, S. B.; von POSER, G. L. Quantitative determination of Valepotriates from *Valeriana* native to South Brazil. *Planta Med.*, 68(6): 570-572, 2002.

SIMÕES-PIRES, C. A. **Análise química e biológica em espécies de *Baccharis* - Cauloptera.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2005. 162p.

SIMÕES-PIRES, C. S.; DEBENEDETTI, S.; SPEGAZZINI, E.; MENTZ, L. A.; MATZENBACHER, N.; HENRIQUES, A. T. Investigation of the essential oil from eight species of *Baccharis* belonging to section Caulopterae (Asteraceae, Astereae): a taxonomic approach. *Plant Syst. Evolut.*, 253(1-4): 23-32, 2005.

SIMÕES-PIRES, C. A.; FARIAS, F. M.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F.; CHAVES, C. G.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Indole monoterpenes with antichemotatic activity from *Psychotria myriantha*. *Nat. Prod. Commun.*, 1(12): 1101-1106, 2006.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. 2010. ***Myrtaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000171).

SOUZA FILHO, P. A. C. **Compostos Fenólicos de *Lupinus lanatus* Benth. (Leguminosae-Faboideae).** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2004. 100p.

SOUZA, T. J. T. **Determinação da composição química e avaliação preliminar das atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L (Asteraceae).**

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2007. 232p.

SOUZA, T.; APEL, M. A.; MATZENBACHER, N.; BORDIGNON, S. A. L.; MENTZ, L. A.; HENRIQUES, A. T. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Rev. Bras. Farmacog.**, 17: 368-372, 2007.

SUYENAGA, E. S. **Avaliação da atividade antiinflamatória de flavonoides por ensaios *in vitro* e *in vivo*.** Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2002, 230p.

SUYENAGA, E. S.; APEL, M. A.; CHAVES, C. G.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Essential oil composition of *Heterothalamus psiadioides* Less. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32: 83-86, 2004.

TAYLOR, C. 2010. ***Psychotria in* Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (*http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB014153*).

VARGAS, M. R. W. ***Stachytharpheta cayennensis*: isolamento de constituintes químicos monitorado por ensaios biológicos. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1996. 127p.

VIANA, A. F. **Estudo da atividade psicofarmacológica de espécies de *Hypericum* nativas do Rio Grande do Sul e toxicidade aguda de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schledt.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2002. 124p.

VIANA, A. F.; HECKLER, A.P.; FENNER, R.; RATES, S. M. K. Analgesic activity of *Hypericum caprifoliatum* and *Hypericum polyanthemum* (Guttiferae). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36: 631-634, 2003.

VIANA, A. F.; REGO, J. C.; von POSER, G. L.; FERRAZ, A.; HECKLER, A.P.; COSTENTIN, J.; RATES, S. M. K. The antidepressant-like effect of *Hypericum caprifoliatum* Cham & Schlecht (Guttiferae) on forced swimming test results from an inhibition of neuronal monoamine uptake. *Neuropharmacology*, 49: 1042-1052, 2005.

VIANA, A. F.; REGO, J. C.; MUNARI, L.; DOURMAP, N.; HECKLER, A. P.; COSTA, T. D. C.; von POSER, G. L.; COSTENTIN, J.; RATES, S. M. K. *Hypericum caprifoliatum* (Guttiferae) Cham. & Schltdl.: a species native to South Brazil with antidepressant-like activity. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 20: 507-514, 2006.

VIANA, A. F. **Estudo de moléculas potencialmente antidepressivas e analgéscias de espécies nativas de Hypericum nativas do Rio Grande do Sul.** Tese (doutorado) Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 2007. 197 p.

VIANA, A. F.; HECKLER, A. P. M.; von POSER, G. L.; LANGELOH, A.; RATES, S. M. K. Efeito de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schltdl. (Guttiferae) sobre contrações em íleo isolado de cobaio induzidas por diferentes agonistas. **Rev. Bras. Farmacog**., 17: 378-383, 2007.

VIANA, A.; RATES, S.; NAUDIN, B.; JANIN, F.; COSTENTIN, J.; DO REGO, J-C. Effects of acute or 3-day treatments of *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schltdt. (Guttiferae) extract or of two established antidepressants on basal and stress-induced increase in serum and brain corticosterone levels. J. Psychopharmacol., 22: 681-690, 2008.

von POSER, G. L.; MENUT, C.; TOFFOLI, M. E.; VÉRIN, P.; SOBRAL, M.; BESSIÈRE, J.; LAMATY, G.; HENRIQUES, A. T. Essential Oil Composition and Allelopathic Effect of the Brazilian Lamiaceae *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling and *Hesperozygis rhododon* Epling. *J Agric. Food Chem.*, 44: 1829-1832, 1996.

von POSER, G. L.; DAMTOFT, S.; HENRIQUES, A. T.; SCHRIPSEMA, J.; JENSEN, S. R. Iridoids glucosides from *Angelonia integerrima*. *Phytochemistry*, 46: 371-373, 1997b.

von POSER, G. L.; HENRIQUES, A. T.; SCHRIPSEMA, J. The distribution of iridoids in Labiatae *sensu lato*. *Acta Farm.*

Bonaer., 19(1): 69-71, 2000a.

von POSER, G. L.; HENRIQUES, A. T.; SCHRIPSEMA, J.; JENSEN, S. R. Iridoides e fenilpropanóides glicosados de *Agalinis communis* Cham. e Schlecht. e *Scoparia ericacea* Cham. Scrophulariaceae.. *Rev. Bras. Farm.*, 77(4): 134-136, 1997c.

von POSER, G. L.; MOULIS, C.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Chemotaxonomic features of iridoids occuring in *Verbenoxylum reitzii,* Verbenaceae. *Plant Syst. Evolut.*,198: 287-290, 1995.

von POSER, G. L.; SCHRIPSEMA, J.; HENRIQUES, A. T.; JENSEN, S. R. The distribution of iridoids in Bignoniaceae. *Biochem. Syst. Ecol.*, 28(4): 351-366, 2000b.

von POSER, G. L.; SCHRIPSEMA, J.; OLSEN, C. E.; JENSEN, S. R.; HENRIQUES, A. T. 2-Apiosylgardoside, an iridoid glucoside from *Verbenoxylum reitzii*. *Phytochemistry*, 49(5): 1471-1473, 1998b.

von POSER, G. L.; SEIBT, L. T. Gardenoside from *Tocoyena bullata*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 26: 669-670, 1998c.

von POSER, G. L.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; TOFFOLI, M. E. G. Implicações taxonômicas de iridoides em Verbenaceae. **Cad. Farm.**, 169: 169-172, 1998a.

von POSER, G. L.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; TOFFOLI, M. E. G. Iridoid glucosides substitution patterns in Verbenaceae and its taxonomic implication. *Plant Syst. Evolut.*, 205: 265-287, 1997a.

von POSER, G. L.*Rauvolfia sellowii* Mull. Arg. **Análise química em espécies autêntica e comercializada.** Determinação de efeitos genotóxicos, mutagênicos e recombinogênicos dos alcaloides em sistema eucariótico e procariótico, Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1987. 127p.

von POSER, G. L; ANDRADE, H. H. R.; SILVA, K. V. C. L; HENRIQUES A. T.; HENRIQUES, J. A. P. Genotoxic, mutagenic and recombinogenic effects of *Rauwolfia* alkaloids*. Mutat. Res.,* 232: 37-43, 1990.

ZUANAZZI, J. A. S. **Investigação química e farmacológica em *Erytroxylum argentinum* Schulz.** Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre, 1990. 124p.

ZUANAZZI, J. A. S.; RATES, S. M. K.; HENRIQUES, A T. Cocaine –like actions of *Erythroxylum argentinum Schulz* (Erythroxylaceae)*, Acta Farm. Bonaer.*, 19(2): 105-108, 2000.

ZUANAZZI, J. A. S.; TREMEA, V.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES A. T. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from South Brazil. *Biochem. Syst. Ecol.,* 29(8): 819-825, 2001.

Nogueira-de-Iguape – *Aleurites moluccana*

POTENCIAL TERAPÊUTICO DE ALGUMAS PLANTAS MEDICINAIS DA FLORA CATARINENSE

Alexandre Bella Cruz
Angela Malheiros
Angélica Couto Garcia
Christiane Meyre da Silva Bittencourt
Nara Lins Meira Quintão
Rivaldo Niero
Ruth Meri Lucinda Silva
Sergio Faloni de Andrade
Tania Mari Bellé Bresolin
Valdir Cechinel Filho

INTRODUÇÃO

As plantas superiores são utilizadas há séculos pela civilização humana para o tratamento e cura de inúmeras patologias, propiciando subsídios importantes para o nascimento da medicina. É inegável a contribuição das plantas medicinais seja como fonte de fitofármacos, de substâncias que servem de protótipos para novos fármacos ou de fitoterápicos para a indústria farmacêutica mundial, muitas vezes representando alternativas terapêuticas únicas para o tratamento de enfermidades. A natureza tem sido pródiga em produzir

substâncias com potencial terapêutico, muitas delas de grande complexidade estrutural, o que inviabilizaria técnica e economicamente a síntese orgânica de tais substâncias.

Uma considerável porcentagem de plantas apregoadas como medicinais pela população tem sido validada cientificamente, tanto em estudos pré-clínicos como clínicos, comprovando a importância da pesquisa etnofarmacológica. Tais informações têm sido de grande importância para a escolha do material vegetal e patologias a serem investigados, levando ao desenvolvimento de vários medicamentos, oriundos de síntese usando molécula de origem natural como protótipo ou por meio de isolamento, algumas vezes biomonitorado (MALHEIROS *et al.*, 2010).

O uso de plantas e seus derivados, com finalidades terapêuticas tem ocorrido de forma extensiva e crescente em todo o mundo, conforme dados obtidos junto ao mercado farmacêutico e às altas cifras que circundam a comercialização de fitomedicamentos, observados na última década (NIERO, 2010). Nesse contexto, cabe ressaltar que o Brasil é o País com maior potencial para pesquisa com espécies vegetais, pois detém a maior e a mais rica biodiversidade do planeta, cerca de 1/3, distribuída em biomas distintos.

O Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR) da Universidade do Vale do Itajaí (Univali) completou, em 2010, quinze anos de atividades de pesquisa, com particular ênfase na área de produtos naturais e sintéticos bioativos. Durante esse período, estabeleceu várias e importantes parcerias com instituições de pesquisa do País e do exterior, órgãos de fomento públicos e indústrias farmacêuticas nacionais, além da implantação do Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, que completou recentemente dez anos de atividades. Tais iniciativas permitiram a obtenção de muitos resultados relevantes (BRESOLIN e CECHINEL FILHO, 2007; CECHINEL FILHO, 2009a), muitos dos quais serão descritos no decorrer deste capítulo.

Nessa perspectiva, serão demonstrados os principais resultados químicos, biológicos, toxicológicos e tecnológicos obtidos com algumas plantas selecionadas oriundas da flora catarinense e utilizadas pela medicina tradicional no Brasil e em outros países, com finalidades terapêuticas, abordando os resultados mais relevantes obtidos pelo NIQFAR/Univali.

Aleurites moluccana Willd. (Euphorbiaceae)

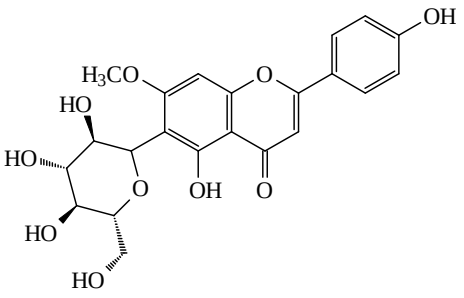
Aleurites moluccana Willd. (Sinonímia: *Aleurites triloba* J.R. Forst. & G. Forst., *Croton moluccanus* L., *Jatropha moluccana* L.*)* é uma árvore exótica, natural da Indonésia e largamente cultivada no estado de Santa Catarina, conhecida popularmente como Nogueira-da-índia, noz-da-índia, nogueira-de-bancul ou nogueira-de-iguape (FIGURA 1). Floresce de novembro a abril no estado de Santa Catarina, Brasil (PIO CORREA, 1984; FORSTER, 1996), sendo muito utilizada na medicina popular para o tratamento de tumores, úlceras, dores de cabeça, febre, diarreia, disenteria, asma, conjuntivite, gonorreia, processos inflamatórios, e também para reduzir o colesterol (PIO CORREA, 1984; DUKE, 1991; SHARMA & SINGH, 2002).

FIGURA 1: Partes aéreas, frutos e sementes da *A. moluccana* Willd
Fonte:http://www.seedshelf.com/index.php?main_page=product_info&cPath=12&products_id=39

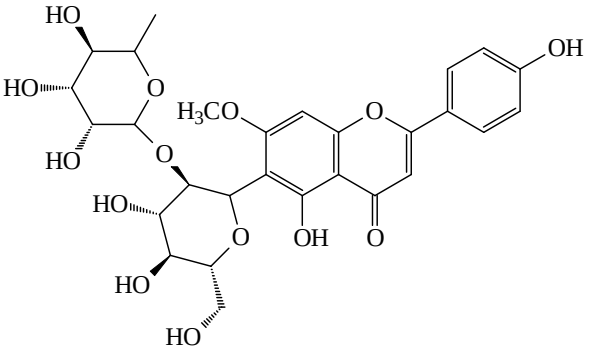
Essa espécie vegetal tem sido alvo de extensas pesquisas científicas na Universidade do Vale do Itajaí há mais de 10 anos, por conseguinte a solicitação de pedido de patente junto ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI) em outubro de 2007 (CECHINEL *et al.*, 2007) veio a termo, em julho de 2010, sob o número PI0804525-9 A. Os estudos clínicos do fitoterápico na forma de comprimidos de 250 e 500mg de extrato seco padronizado de *A. moluccana* Willd. foram previstos para 2011, representando uma parceria efetiva inovadora entre universidade e empresa na área farmacêutica (EUROFARMA, 2010).

Os estudos fitoquímicos realizados com as folhas de *A. moluccana* Willd. permitiram o isolamento e a identificação do *n*-hentriacontano, mistura de α,β-amirina, α,β-amirinona, estigmasterol, β-sitosterol e campesterol, além dos flavonoides swertisina (1) e 2″-*O*-ramnosil swertisina (2) (MEYRE-SILVA *et al.*, 1998; 1999), e das cascas foi isolado o ácido acetil aleuritólico (MEYRE-SILVA *et al.*, 1997).

Estudos anteriores com as partes aéreas dessa planta revelaram a presença de moretenona, moretenol, β-sitosterol, ácido molucânico, éster metílico do ácido molucânico, ácido 6,7-dehidromolucânico, 13-*O*-miristil-20-*O*-acetil-12-deoxiforbol, podocarpanos como (5β,10α)-12,13-dihidroxicarpa-8,11,13-trien-3-ona, (5β,10α)-12-hidroxi-13-metoxipodocarpa-8,11,13-trien-3-ona, (5β,10α)-13-hidroxi-12-metoxicarpa-8,11,13-trien-3-ona, (3α,5β,10α)-13-metoxipodocarpa-8,11,13-trien-3,12-diol e 12-hidroxi-13-metilpodocarpa-8,11,13-trien-3-ona, espruceanol, *ent*-3α-hidroxipimara-8(14), 15-dien-12-ona, *ent*-3β,14α-hidroxipimara-7,9(11),15-trien-12-ona e dos caules o coumarinolignoide moluccanin (HUI & HO, 1968; SHAMSUDDIN *et al.*, 1988; LIU *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2008).



Swertisina (1)



2''-*O*-Ramnosilswertisina (2)

Os extratos e frações de *A. moluccana* Willd. e alguns dos compostos supracitados revelaram potencial analgésico em diferentes modelos experimentais de dor em camundongos, principalmente para a fração mais polar da planta tendo como compostos majoritários os dois flavonoides (1, 2) (MEYRE-SILVA *et al.*, 1998; MEYRE-SILVA *et al.*, 1999).

Os estudos farmacológicos conduzidos com esses flavonoides demonstraram que a swertisina (1) não exerce efeito analgésico no modelo de contorções abdominais induzida pelo ácido acético em camundongos. Entretanto, a 2''-*O*-ramnosil swertisina (2) foi 16 vezes mais potente do que a aspirina nesse modelo, sugerindo que o grupo ramnosil é importante para a ação analgésica desses compostos (MEYRE-SILVA *et al.*, 1999).

Além de efeito analgésico, observou-se a presença de substâncias bioativas com significativa atividade hipocolesterolêmica, proporcionando proteção contra elevado teor de gordura da dieta induzida por hiperlipidemia com benefício para patologias cardiovasculares (PEDROSA *et al.*, 2002), bem como de ações antiúlcera córnea (SAID *et al.*, 2009) e citoprotetora ocular (SAID *et al.*, 2007).

Os extratos da planta coletada no Havaí exerceram ações antivirais, especialmente contra o vírus HIV (LOCHER *et al.*, 1996), além de efeito antibacteriano contra *Staphylococus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (LOCHER *et al.*,1995). Todavia, estudos conduzidos com a planta coletada no Brasil indicaram que os diferentes extratos de *A. moluccana* Willd. não apresentaram efeito contra bactérias, incluindo *Staphylococus aureus* e fungos (MEYRE-SILVA, 1997), sugerindo que os fatores ambientais podem influenciar na biossíntese dos fitoconstituintes, o que pode alterar a constituição química da planta.

Considerando que o flavonóide 2''-*O*-ramnosil swertisina (2) apresentou importante atividade farmacológica no modelo experimental de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos, com uma inibição de 92±4% e DI50 de 8,4 (6,9-10,2 μmol/kg), esse foi escolhido como principal marcador químico dessa espécie descrito na referida patente (CECHINEL *et al.*, 2007). Com o intuito de realizar o controle de qualidade do material vegetal em questão foi desenvolvida metodologia por ultravioleta com o doseamento de flavonoides totais (MATOS *et al.*, 2010) e por CLAE-DAD (CESCA, 2010), a fim de quantificar os principais biomarcadores do extrato seco.

A partir dos estudos fitoquímicos, analíticos e biológicos, o extrato seco padronizado das folhas de *A. moluccana* Willd. foi otimizado em escala laboratorial por pesquisadores da Universidade do Vale do Itajaí, e posteriormente, produzido em escalas-piloto (5kg) e industrial (100kg), visando ao desenvolvimento do medicamento fitoterápico. O extrato seco foi obtido por nebulização (*spray dryer*), a partir da solução extrativa usando a maceração como método de extração e a solução hidroalcoólica como solvente. Como adjuvante de secagem, foi usado o dióxido de silício coloidal. Na produção do extrato seco em escala industrial, o *ratio* (proporção droga vegetal:extrato seco) foi de 7,89±0,44. O extrato seco de *A. moluccana* Willd. possui cor pardo-esverdeado, partículas esféricas e lisas e caracteriza-se como um pó fino (QUINTÃO *et al.*, 2010).

Allamanda cathartica L. (Apocynaceae)

Dentre as trepadeiras da família Apocynaceae, destaca-se o gênero *Allamanda* L., com doze espécies distribuídas pela parte tropical da América. No Brasil, são encontradas dez espécies distribuídas por todo o território nacional. A mais comum é a *A. cathartica* L. (sinonímia *A. cathatica* var. grandiflora (Aubl) Bailey & C. P. Raffill, *A. cathartica* williensi Hort, A. *grandiflora* Lam.). Essa espécie é conhecida popularmente como alamanda-de-flor-grande, dedal-de-dama ou quatro-patacas-amarela e é normalmente encontrada como planta ornamental de jardins devido as suas abundantes e vistosas flores amarelas (SCHULTZ, 1984; JOLY, 1998; LORENZI & SOUZA, 2008) (FIGURA 2).

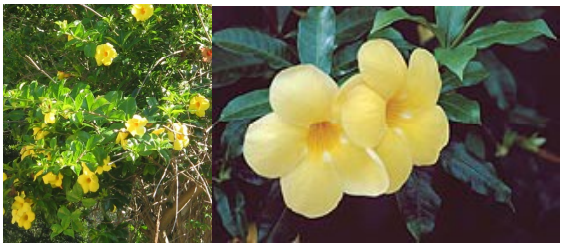


FIGURA 2: Partes aéreas e flores da *A. cathartica* L.

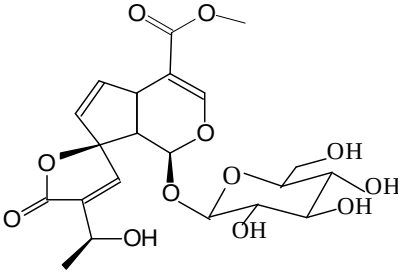
A literatura etnofarmacológica relata que a infusão das folhas é utilizada como catártica, e a decocção dos caules e folhas como purgante. O látex também se mostrou purgativo, porém se ingerido em doses maiores, provoca significativa toxicidade. Na China, existem relatos de seu uso como abortivo. As flores e raízes são usadas pela população em forma de suco para combater afecções do baço e casos de intoxicação saturnina (cólica de pintores ou cólica do chumbo). Ainda existem relatos de que o decocto é utilizado no combate à escabiose e pediculose (CORREA JR. *et al.*, 1984; LORENZI & SOUZA, 2008). Os indígenas das Guianas utilizavam o decocto de sua casca deixada algum tempo ao sol como antitérmico, em aplicação tópica, esfregando-o no corpo (GRENAND *et al.*, 1987).

O primeiro trabalho publicado sobre atividade farmacológica da *A. cathartica* L. foi realizado por Jewers *et al.* (1971) em que observou-se que o extrato das raízes em éter de petróleo, éter etílico e clorofórmio eram tóxicos para ratos.

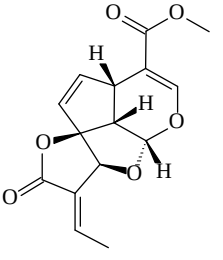
Kupchan *et al.* (1974) verificaram que o extrato etanólico das raízes possuía significante atividade *in vivo* contra leucemia em um modelo P-388 em ratos e *in vitro* contra células derivadas de carcinoma humano nasofaringeal (KB).

Resultados preliminares demonstraram que o extrato bruto de hexano das folhas de *A. cathartica* L. foi tóxico para as células cancerosas COLO-205, Hela e HepG2 (UTHAISANG & KHAWSAK, 2005). Já os extratos aquosos das folhas da *A. cathartica* L., e *Laurus nobilis* L. avaliados em modelo de incisão de feridas em ratos, demonstraram a superioridade da *A. cathartica* L. na cicatrização e atividade antiinflamatória (SHIVANANDA *et al.*, 2006).

Dentre os compostos isolados nessa espécie, encontram-se os iridoides: plumericina e isoplumericina, allamandina, isoallamandina, allamancina, 3-O-metil allancina, 13-O-acetato metil allamancina, allancidina, glicosil allancindina, protoplumericina A, protoplumericina B, allanerosídeo, plumierídeo, deglicosil-plumierídeo, 13-O-acetato de plumierídeo, 13-O-cumaroil plumierídeo, cumarato de plumerídeo, glicosil cumarato de plumerídeo, plumiepóxido, gardenosídeo, 10-diidrogardenosídeo (PAI *et al.*, 1970; JEWERS *et al.*, 1971; KUPCHAN *et al.*, 1974; JEWERS *et al.*, 1975; DIXIT *et al.*, 1982; COPPEN & COBB, 1983; ABDEL-KADER *et al.*, 1997; MALHEIROS *et al.*, 1997). Os terpenos e esteróis: ácido ursólico, β-amirina, lupeol, acetato de lupeol, β-sitosterol, 5,6-diidroestigmasterol, sitosterona, ácido octasanóico e trifolina (GUPTA *et al.*, 1969; AGRAWAL *et al.*, 1983; MALHEIROS, 1995). Desses, destacam-se os iridoides plumierídeo (3) e os plumericina (4), em função dos rendimentos e efeitos biológicos.



(3) plumierídeo



(4) plumericina

O plumierídeo (3) apresenta propriedade inibitória de crescimento de plantas (ADAM *et al.*, 1979), potencial antifúngico (AFIFI *et al.*, 2006), além do potencial inibitório sobre o crescimento de plantas (TIWARI *et al.*, 2002) e ação antitumoral em células de fibrosarcoma. Algumas modificações na sua estrutura, como esterificação da unidade glicosídica, hidrólise de éster e amidação, promoveram a formação de derivados que demonstraram aumento da citotoxicidade (DOBHAL *et al.*, 2004).

A plumericina (4) foi reportada por apresentar bioatividade frente à cultura de tecidos KB (KUPCHAN *et al.*, 1974), células 9KB (carcinoma nasofaringeal humano) (ANDERSON *et al.*, 1988). Este iridoide também apresenta atividade antimicrobiana (LITTLE & JOHNSTONE, 1951; HAMBURGUER *et al.*, 1991), antifúngica, além de ter ação antineoplásica, antiflogística (BOLZANI *et al.*, 1998; LI, 2006) e potente atividade antileishmaniose (CASTILHO *et al.*, 2007).

Espécies pertencentes ao gênero *Allamanda* L. vêm sendo investigadas nos últimos anos por pesquisadores do NIQFAR da Universidade do Vale do Itajaí e alguns resultados vêm chamando a atenção com destaque para a *A. cathartica* L. Um dos principais resultados está relacionado ao potencial antileucêmico na proliferação e viabilidade celular de células leucêmicas da linhagem K562 e células endoteliais da medula espinhal (BMEC) e da veia umbilical endotelial humana (HUVEC) (SCHMIDT *et al.*, 2006). Os extratos de diclorometano das raízes, caules e folhas e a plumericina (4) apresentaram citotoxicidade em células HELA (FAQUETI, 2008). Também se constatou atividade antineoplásica em tumor de Erlish em camundongos para o extrato etanólico das partes aéreas (BERRI & SCARIOT, 2004). Resultados promissores foram obtidos no NIQFAR, quando se avaliou o ácido ursólico sobre o sono de animais induzido por barbitúricos (dados não publicados). Cabe ainda destacar a atividade antiinflamatória em diversos modelos experimentais de inflamação induzidos por agentes flogísticos apresentada pelo plumierídeo (3) isolado das partes aéreas dessa planta (SIMÃO DA SILVA, 2007).

Os resultados apresentados tanto dos extratos como de compostos isolados despertam bastante interesse na pesquisa com a *A. cathartica* L., em especial relacionado à propriedade antitumoral, tornando dessa uma espécie de grande interesse para a futura produção de fitofármacos ou como fonte de protótipos para o estabelecimento de novos agentes antitumorais.

Bauhinia forficata Link (Leguminosae)

O gênero *Bauhinia* L. compreende aproximadamente 300 espécies vegetais, encontradas principalmente nas áreas tropicais do planeta. Muitas dessas plantas são usadas na medicina popular em várias regiões do mundo, incluindo África, Ásia e América Central e do Sul (SILVA & CECHINEL-FILHO, 2002; CECHINEL-FILHO, 2009b). No Brasil, as plantas do gênero *Bauhinia* L. são conhecidas como pata-de-vaca ou unha-de-boi. As folhas de *Bauhinia forficata* Link (FIGURA 3) são amplamente utilizadas no Brasil e em outros países em forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades, mas principalmente, no tratamento do *diabetes mellitus* (PEPATO *et al.*, 2002; CECHINEL-FILHO, 2009b). Devido ao amplo uso popular, vários estudos foram conduzidos por meio de experimentos pré-clínicos e clínicos.

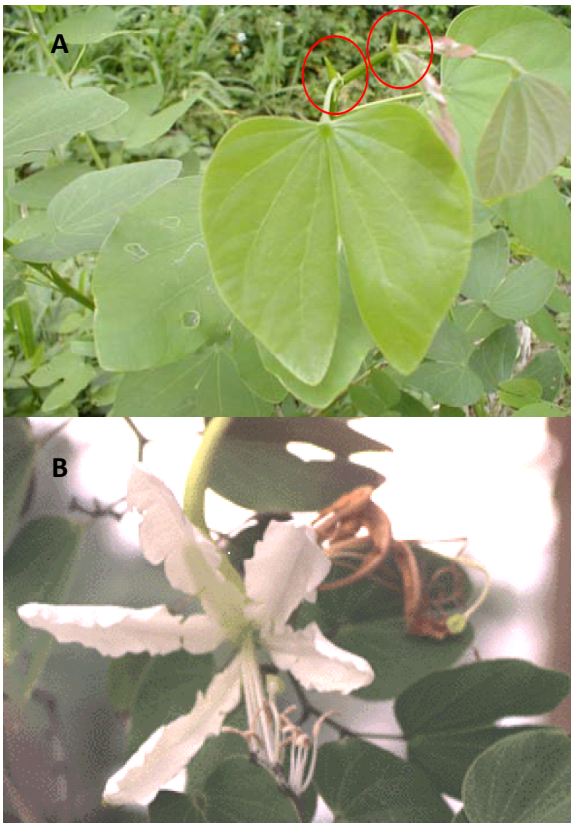


FIGURA 3: Ilustração das folhas e flores (A) de *B. forficata* Link; (B) detalhes da flor (Arigony, 2005)

Dessa forma, a atividade anti-hiperglicemiante do extrato aquoso, etanólico e hexânico de *B. forficata* Link foi investigada em modelo de diabetes induzido por aloxano em ratos. Nesse estudo, os parâmetros bioquímicos estudados foram glicose plasmática, triglicerídeos séricos, colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL). Os extratos foram administrados diariamente por 7 dias, em doses de 200 e 400mg/kg, via oral. Os animais diabéticos apresentaram reduções significativas na glicemia, triglicérides, colesterol total e HDL após o tratamento com os extratos, em comparação com os controles diabéticos, enquanto os níveis de LDL não foram alterados. Os autores concluíram que os extratos da planta, quando administrados via oral podem reduzir a glicemia, triglicerídeos, colesterol total e colesterol-HDL, sugerindo a validade do uso clínico de *B. forficata* Link no tratamento da diabetes mellitus tipo II (LINO *et al.*, 2004). Em outro estudo, foi avaliado o efeito da administração da fração *n*-butanol do extrato das folhas de *B. forficata* Link, via oral, sobre os níveis sanguíneos de glicose em ratos. A administração dessa fração levou a uma redução significativa dos níveis de glicemia em ratos normais e diabéticos. O efeito hipoglicemiante foi observado em doses de 500 e 600mg/kg, 1 e 2 horas após o tratamento, respectivamente, em ratos normais. O efeito máximo foi observado com 800mg/kg, 1 hora após o tratamento em animais diabéticos (SILVA *et al.*, 2002).

Os efeitos do uso da decocção de folhas de *B. forficata* Link (150g/L de água), como substituto de água potável induzida por 1 mês sobre o diabetes por estreptozotocina em ratos Wistar machos, foram investigados. Os ratos diabéticos tratados com decocção mostraram redução significativa nos níveis de glicose no soro e na urina (PEPATO *et al.*, 2002). A partir da fração *n*-butanólica do extrato das folhas, foi isolado um flavonoide majoritário conhecido como dirhamnosídeo kaempferol-3 ,7-*O*-(alfa) (kaempferitrina), em concordância com os estudos preliminares descritos (SILVA *et al.*, 2001) que indicavam essa substância como um possível marcador para a espécie. Esse marcador também foi isolado da *B. forficata* Link por Menezes *et al.* (2007), além da quercetina-3,7-*O*-dirhamnosido, a partir de extrato aquoso das folhas, com comprovada atividade hipoglicemiante em camundongos. Além do kaempferol, Pizzolatti *et al.* (2003) evidenciaram a presença de 4 flavonoides glicosilados nas folhas da *B. forficata, a* 3,7-di-*O*-α-L-ramnopiranosilkaempferol, 3,7-di-*O*-α-ramnopiranosilquercetin, 3-*O*-[α-L-ramnopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosil]-7-O-α-L-ramnopiranosilkaempferol e 3-*O*-[α-L-ramnopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosil]-7-O-α-L-ramnopiranosilquercetina. Das flores somente foi isolado o 7-*O*-α-L-ramnopiranosilkaempferol.

Os efeitos desse composto sobre os níveis de glicose no soro bem como seu potencial antioxidante foram avaliados. A administração oral de kaempferitrina levou a um significativo efeito hipoglicemiante em ratos normais e em ratos com diabetes induzida por aloxano. Em ratos normais, a diminuição da glicemia foi observada somente com a dose mais elevada de kaempferitrina (200mg/kg), 1 hora após o tratamento. Porém, o efeito hipoglicemiante de kaempferitrina em ratos diabéticos foi evidente em todas as doses testadas (50, 100 e 200mg/kg), e esse perfil foi mantido durante todo o período estudado, para as doses mais elevadas. Além disso, o composto mostrou significativa atividade antioxidante (SOUSA *et al.*, 2004).

Cunha *et al.* (2010) investigaram a atividade hipoglicemiante de extratos secos das folhas de *B. forficata* Link folhas, bem como a influência dos processos de secagem e granulação nessa atividade, utilizando ratos com diabetes induzida por streptozotocina. Após 7 dias de tratamento (200mg/kg), a glicemia de jejum foi determinada, os fígados retirados para determinação de glicogênio hepático e também observado que os extratos secos agem de maneira diferente de glibenclamida.

Por outro lado, em um estudo clínico, Russo *et al.* (1990) relataram que a infusão preparada com as folhas da *B. forficata* Link não apresentou efeito hipoglicemiante em pacientes com glicemia normal e em pacientes com diabetes tipo II (não insulino dependente). Também são relatados estudos que verificaram que o extrato alcoólico de folhas dessa planta não reduz a concentração da glicose em ratos diabéticos induzidos pela streptozotocina (DAMASCENO *et al.,* 2000 *apud* SILVA E CECHINEL-FILHO, 2002). Os resultados discrepantes, segundo Silva e Cechinel-Filho (2002), podem ser devido a vários aspectos não levados em consideração nessas investigações, como os fatores ambientais (tipo de solo, clima, dentre outros) e sazonais.

Com relação aos estudos toxicológicos, o efeito do extrato aquoso de *B. forficata* Link sobre a reprodução e os sistemas antioxidantes em ratas diabéticas for avaliado por Volpato *et al.* (2008). As doses avaliadas foram de 500mg/kg do 0 ao 4º dia de gestação, 600mg/kg do 5º ao 14º dia e 1.000mg/kg do 15º ao dia 20º. Os resultados mostraram que as matrizes diabéticas apresentaram aumento do nível da glicemia, reabsorção, peso placentário, índice placentário e anomalias fetais. Foi observado também redução de Glutationa (GSH) e Superóxido dismutase

(SOD), de fetos vivos, de aumento de peso materno, de peso do útero gravídico e de peso fetal. Além disso, foi verificado que o tratamento com *B. forficata* Link não teve nenhum efeito hipoglicemiante, não melhorou o desempenho reprodutivo das ratas diabéticas, mas contribuiu para manter a concentração de GSH semelhante a grupos não diabéticos, sugerindo relação com a diminuição da incidência de anomalias viscerais.

Tzeng *et al.* (2009) avaliaram a ativação das vias de transdução de sinal e sobre a secreção de adipocinas pela estimulação da kaempferitrina em adipócitos. Os autores demonstram que o tratamento com o marcador resultou em um aumento no nível de regulação da fosforilação sobre os receptores beta e o substrato 1 do receptor de insulina, além de estimular a secreção de adiponectina de modo mais sustentado do que a própria insulina. Os resultados evidenciam o efeito dual da substância, de um lado aumentando a resistência à insulina pela ativação das vias clássicas de transdução da insulina e, por outro, aumentando a secreção de adiponectina, podendo auxiliar a promoção da sensibilidade periférica à insulina. Os autores concluem que a kaempferitrina pode representar um potencial fármaco ou suplemento alimentar para diabéticos.

Dentre os estudos de controle de qualidade da droga vegetal comercializada no Sul do Brasil, destaca-se o grande número de reprovação de amostras, sendo que, das 6 analisadas, todas foram reprovadas quanto à presença de material estranho (>2%), identificação microscópica positiva somente para 2 amostras e presença de kaempferitrina (CCD e CLAE) somente em 4 amostras (ENGEL *et al.*, 2008). Como subsídio à diferenciação entre a *B. forficata* Link e a *B. variegata* L., Lusa e Bona (2009) descrevem análises em microscopia fotônica e eletrônica de varredura das folhas destas espécies.

Para essa espécie, há vários estudos na literatura sobre o desenvolvimento tecnológico de extratos que podem subsidiar a obtenção de fitoterápicos bem como o efeito da posição do atomizador e das condições de operação na obtenção de extrato seco de *B. forficata* Link por secagem em leito, com o monitoramento do produto – propriedades físicas, degradação de flavonoides (SOUZA & OLIVEIRA, 2005). Souza *et al.* (2009a) avaliaram o uso de dois distintos secadores (leito de jorro e *spray dryer*) para a produção de extratos secos de *B. forficata* Link, obtendo, com sucesso, um produto seco adequado sob o ponto de vista físico e químico (análise de perfil cromatográfico dos flavonoides por CLAE). Os autores compararam os métodos de secagem e monitoraram a bioatividade dos extratos secos quanto à atividade antioxidante *in vitro* e observaram uma pequena redução na atividade sequestradora de radicais livres nos extratos secos, atribuindo a reações oxidativas, decomposição e/ou perdas de compostos termolábeis induzidas pelo calor. Cunha *et al.* (2010) mostraram que os processos de secagem por *spray dryer* ou estufa na obtenção de extrato seco de *B. forficata* Link não alteraram significativamente o perfil de flavonoides (por CLAE) e sua atividade hipoglicemiante.

Calophyllum brasiliense Cambess. (Clusiaceae/Guttiferae)

O gênero *Calophyllum* L. possui distribuição pantropical e é constituído de 180 a 200 espécies de grande interesse econômico, pois são árvores empregadas na produção de madeiras nobres. A *Calophyllum brasiliense* Cambess. é uma espécie arbórea e amplamente distri-

buída do Brasil ao México (REYES-CHILPA *et al.*, 2008), conhecida popularmente como guanandi, guarandi, olandi ou jacareúba (NOLDIN *et al.*, 2006), com altura variando entre 20 a 40m e diâmetro de 40 a 60cm, que se desenvolve preferencialmente em ambientes ciliares, devido à sua preferência em colonizar solos com alta saturação hídrica (FIGURA 4). Está presente principalmente na Mata Atlântica e no Cerrado brasileiro (JUNIOR *et al.*, 2005, NOLDIN *et al.*, 2006, CECHINEL FILHO *et al.*, 2009). A infusão da casca é usada popularmente no tratamento de reumatismo, varicoses, hemorroidas, úlceras crônicas e diarreia; na Guiana, misturada com *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum., é empregada no tratamento de diabetes e verminose (NOLDIN *et al.*, 2006, REYES-CHILPA *et al.*, 2008).

Por ser uma espécie usada em áreas de reflorestamento, estudos morfoanatômicos (JUNIOR *et al.*, 2005) e de cultivo (VIEIRA *et al.*, 2003) são descritos na literatura.

Na análise da composição química das diferentes partes da planta, das raízes foram isoladas as substâncias 1,5-diidroxixantona, friedelina e ácido betulínico, enquanto nos frutos os principais compostos são ácido gálico e ácido protocatético e, em menor proporção, o hiperosídeo. Nas flores há predominância de ácido protocatético e epicatequina e *ent*-epicatequina (NOLDIN *et al.*, 2006; CECHINEL FILHO *et al.*, 2009c).

FIGURA 4. Ilustração das partes aéreas, folhas, flores e frutos de *C. brasiliensis.*

Estudos farmacológicos utilizando o extrato hexânico obtido das cascas da *C. brasiliensis* revelaram uma significativa atividade gastroprotetora (SARTORI *et al.*, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos com o extrato hidroetanólico e fração diclorometano, atribuindo essa atividade ao aumento nos níveis de PGE_2 (SOUZA *et al.*, 2009b). Parte dessa atividade parece estar atribuída à presença dos compostos mammea A/B, mammea C/AO e xantonas, podendo ser evidenciada a atividade inibitória sobre a bomba de K^+/ATPase e H^+ (REYES-CHILPA *et al.*, 2006). Cabe ressaltar ainda a atividade antiespasmódica e indutora de proliferação linfocitária do extrato metanólico (EMENDÖRFER *et al.*, 2005; PHILIPPI *et al.*, 2010), anti-hipertensiva do extrato de caule e folhas (BRAGA *et al.*, 2007), além da atividade antineoplásica do extrato de caules e folhas

(BRAGA *et al.*, 2007; SUFFREDINI *et al.*, 2007) e dos compostos isolados Coumarins (RUIZ-MARCIAL *et al.* 2007), Calophylloide, mammea B/BB (ITO *et al.*, 2006) e GUT-70 (KIMURA *et al.*, 2005).

Estudos têm demonstrado atividade contra bactérias Gram-positivas (DHARMARATNEET *et al.*, 1999; COTTIGLIA *et al.*, 2004; PRETTO *et al.*, 2004), sendo que Pretto *et al.* (2004) verificaram que alguns dos compostos responsáveis pela atividade eram o ácido protocatético e 1,5-dihidroxichalcona. Souza *et al.* (2009b) demonstraram que a fração diclorometano do extrato hidroalcoólico apresentou atividade contra a bactéria Gram-negativa *Helycobacter pylori,* que é responsável por alguns tipos de úlcera péptica, gastrite e cancro do estômago. Extratos dessa planta ainda apresentam atividade contra fungos filamentosos (Reyes-Chilpa et al., 1997; Pretto, 2004) e o ácido protocatético foi ativo contra o fungo leveduriforme *Candida* sp (Pretto et al., 2004). Atividade antiparasitária também tem sido relatada contra *Leishmania amazonensis* e contra *Trypanosoma cruzi* (NOLDIN *et al.*, 2006; CECHINEL FILHO *et al.*, 2009). Cumarinas e xantonas isoladas dessa planta apresentaram potente inibição da transcriptase reversa do HIV-1 (MCKEE *et al.*, 1998; DHARMARATNE, 2002; ITO *et al.*, 2002; NOLDIN *et al.*, 2006).

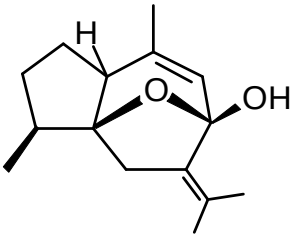
Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe (Zingiberaceae)

A *C. zedoaria* (Christm.) Roscoe, conhecida como zedoraria, gajitsu, dentre outras, é uma erva perene (FIGURA 5), encontrada em países tropicais, como Índia, Japão, Tailândia, etc., e ocorre em abundância no Brasil, onde está muito bem adaptada. Tem amplo uso medicinal, especialmente seus rizomas, que são empregados para no tratamento de distintas enfermidades, incluindo câncer, hepatite, diarreia, infecções, inflamações, processos dolorosos, dentre outros. Muitos de seus apregoados efeitos medicinais foram confirmados em estudos pré-clínicos, cujos principais princípios ativos são os terpenos (NAVARRO *et al.*, 2002; LOBO *et al.*, 2009).

FIGURA 5: Partes aéreas de *C. zedoaria* (Christm.) Roscoe
Fonte:http://www.gingersoftexas.com/images/albums/NewAlbum_2b811/tn_curcuma_zedoaria.jpg

Estudos farmacológicos indicaram que o extrato aquoso obtido da *C. zedoaria* apresenta atividade antiproliferativa sobre células de leiomioma (BAJRACHARYA *et al.*, 2009) e miofibroblastos hepáticos humanos (KIM *et al.*, 2005). Esses efeitos parecem relacionados com o aumento nos níveis de PGE_2 e COX_2 (KIM *et al.*, 2005). Foi ainda observada atividade antimutagênica para o extrato aquoso (Peng et al., 2010), extrato metanólico (PENG *et al.*, 2010) e fração CZ1-1-III (KIM *et al.*, 2000), atividade citotóxica dos compostos isolados curcumina e bisdemetoxicurcumina para células de câncer ovariano (SYU *et al.*, 1998), redução do sarcoma pela fração CZ1-1-III (KIM *et al.*, 2000) e inibição do crescimento de células Vero pelo extrato bruto de *C. zedoaria* (SEO *et al.*, 2005).

Matsuda *et al.* (1998) demonstraram o efeito hepatoprotetor dos seguintes compostos isolados desta espécie: curcumina, furanodienona, germacrone, isocurcumenol, aerugidiol, zendoarondiol, curcumenona, curdiona e curcumenol (5). Trabalhos desenvolvidos por pesquisadores vinculados à Univali comprovaram a atividade antinociceptiva dos compostos curcumenol e diidrocurdiona (NAVARRO *et al.*, 2002; PAMPLONA *et al.*, 2006), enquanto outros investigadores confirmaram ação antiinflamatória para os compostos furanodieno, furanodienona e diidrocurdiona (YOSHIOKA *et al.*, 1998; MAKABE *et al.*, 2006).



(5)

Foram relatadas ainda as atividades antioxidantes do óleo essencial e do composto isolado curcumina (LOC *et al.*, 2008), efeito excitatório do decocto (XU *et al.*, 2001) e redução nos níveis de NO, e expressão de iNOS e COX_2 com o extrato bruto (HONG *et al.*, 2002; SEO *et al.*, 2005), β-turmerona e Ar-turmerona (HONG *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2002). O composto 1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrieno-3-one foi capaz de reduzir os níveis de no e a expressão de iNOS (JANG *et al.*, 2004), a curdiona foi capaz de interferir nos níveis de PGE_2 e COX_2 (OH *et al.*, 2007) e os compostos 1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrieno-3-one, procurcumenol e epiprocurcumenol reduziram os níveis de TNFα e macrófagos estimulados com LPS (JANG *et al.*, 2001).

Drimys brasiliensis Miers (Winteraceae)

A *Drimys* seção *wintera* é nativa do sul do Brasil e de alguns outros países da América do Sul. Em Santa Catarina, o gênero *Drimys* J.R. Forst. & G. Forst. ocorre em duas espécies: *Drimys angustifolia* Miers (Drimys winteri J.R. Forst. & G. Forst.), sinonímia: *Drimys winteri fo. angustifolia* (Miers) Eichl e *Drimys brasiliensis* Miers subsp. *sylvatica* (Sant Hilaire) Ehrendorfer & Gottsb, sinonímias: *Drimys granadensis* L. var. sylvatica A. St.-Hil.; *Drimys granadensis* L. f. var. montana

A. St.-Hil.; *Drimys granadensis* L. f. var. axillaris A. St.-Hil.; *Drimys brasiliensis* Miers var. sylvatica (A. St.-Hil.) Ehrend., Silberb.-Gottsb. & Gottsb.; *Drimys brasiliensis* Miers var. montana (A. St.-Hil.) Hauman e *Drimys montana* (A. St.-Hil.) Miers. Essas espécies são conhecidas popularmente como casca-d'anta, casca-de-anta, cataia, caá-pororoca, canela-amarga, capororoca-picante, carne-de-anta, melambo, e pau-pra-tudo (FIGURA 6). São utilizadas na região do Planalto Catarinense, como condimento para carnes, usando a casca em pó como substituto da pimenta-do-reino. Também são empregadas como estimulante, antiespasmódico, aromático, antidiarreico, antifebril, contra hemorragia uterina, em certas afecções do trato digestivo e, algumas vezes no tratamento do câncer (SIMÕES *et al.*, 1986; TRINTA & SANTOS, 1997; LORENZI & MATOS, 2002; ABREU *et al.*, 2005).

FIGURA 6. Partes aéreas da *Drimys brasiliensis* Miers

As principais classes de metabólitos secundários encontradas nesse gênero são os sesquiterpenos e flavonoides. Dentre os sesquiterpenos, encontra-se a subclasse dos drimanos, que possue grande variedade de atividades biológicas, incluindo antibacteriana, antifúngica, repelente, inseticida, reguladora de crescimento de planta, citotóxica, antinociceptiva, dentre outras (ANKE & STERNER, 1991; JANSEN & GROOT, 1991, 2004; MALHEIROS *et al.*, 2001; CASTELLI *et al.*, 2005; MALHEIROS *et al.*, 2005).

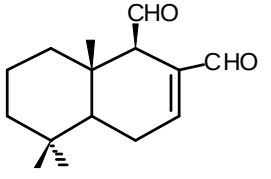
O poligodial (6), encontrado no extrato clorofórmico das cascas e estudado por pesquisadores do NIQFAR em colaboração com outros centros de pesquisa, mostrou-seativo em contrações induzidas por vários mediadores químicos que participam da etiologia de doenças respiratórias (EL SAYAH *et al.*, 1998, 2000). Também apresentou potente atividade antinociceptiva, antiinflamatória e antialérgica em camundongos (TRATSK *et al.*, 1997; CECHINEL-FILHO *et al.*, 1998; MALHEIROS *et al.*, 2001; CUNHA *et al.*, 2001) e anti-hiperalgésicas (MENDES *et al.*, 1998). O mecanismo de ação antinociceptiva parece envolver interação com o

sistema opioide, apresentando-se com grande potencial para implementação no arsenal de analgésicos (MENDES *et al.*, 2000; MARTINI *et al.*, 2006). Foi demonstrado que esse drimano induz à ação vaso-relaxante mediada pela liberação de óxido nítrico (NO) ou por uma substância relacionada ao endotélio vascular (ANDRÉ *et al.*, 1999; EL SAYAH *et al.*, 2000). Os estudos também comparam a ação do poligodial com aquelas causadas pela acetilcolina e pelo nitroprussídeo de sódio (SNP) nos corpos cavernosos de coelho *in vitro* (André et al., 2003).

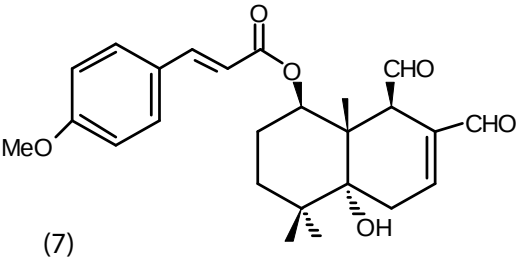
Além do poligodial, destaca-se o drimano drimanial (7) isolado do extrato das cascas, que também apresentou atividade antinociceptiva envolvendo a participação em receptores vaniloides, causando antinocicepção persistente similar àquele induzido pela capsaicina no estudo de tratamento em ratos neonatos (MALHEIROS *et al.*, 2001; SCHEIDT *et al.*, 2002; ANDRÉ *et al.*, 2004). Também evidenciou pronunciada ação antinoceptiva na dor aguda na dor crônica, possivelmente por interação com receptores de glutamato tanto em nível periférico quanto medular ou supramedular (SCHEIDT *et al.*, 2002; ANDRÉ *et al.*, 2004; ANDRÉ *et al.*, 2006; MARTINI *et al.*, 2007).

O 1-β-(p-metoxicinamil-poligodial) (7) exibiu ação antinociceptiva pela rota intraperitonial e oral em contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos (CECHINEL FILHO *et al.*, 1998, MALHEIROS, 2001).

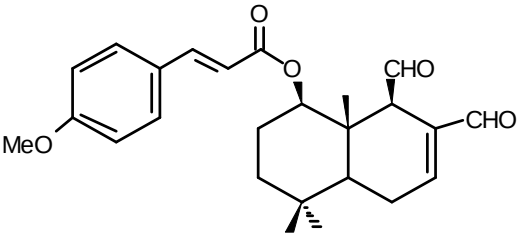
O poligodial (6) apresentou atividade para os fungos *Epidermophyton floccosum* e *Trichopyton rubrum,* com CIM (µg/mL) de 3 e 25, respectivamente e o 1-β-(p-metoxicinamil-poligodial) (8) foi ativo contra os fungos *Epidermophyton floccosum, Trichopyton rubrum e Trichophyton mentagrophyte,* com CIM (µg/mL) de 6,25 (MALHEIROS *et al,* 2005). Também observou-se a inibição da síntese de ATP acoplada à oxidação succinato (IC_{50} = 2,4±0,1µM) e inibição de transporte de elétrons e atividade de ATPase (IC_{50}=97±4µM). Tais mecanismos podem estar relacionados com atividade antifúngica desses compostos (CASTELLI *et al.*, 2005).



(6)



(7)



(8)

Esses dados apresentados estimulam a continuidade dos estudos, com potenciais candidatos a marcadores para a droga vegetal e fitoterápicos ou ainda candidatos a fitofármacos e/ou protótipos para a obtenção de novos agentes terapêuticos.

Ipomoea pes-caprae (L.) R. Br. (Convolvulaceae)

A *I. pes-caprae* (L.) R. Br. (FIGURA 7) é uma planta de restinga que coloniza o pós-praia e a duna frontal nas regiões tropicais e subtropicais do mundo inteiro, uma vez que o seu crescimento requer temperaturas quentes. No entanto, sua ocorrência natural não é permanente ao longo do tempo, devido ao efeito das marés altas ou à expansão das praias e dunas em períodos favoráveis de deposição (CASTELLANI & SANTOS, 2005). Em virtude de seu próprio local de origem, é amplamente utilizada por pescadores e banhistas no tratamento de ferimentos na pele causados pelas águas-vivas (WASUWAT, 1970; CHRISTMAN, 2000; CASTELLANI & SANTOS, 2005). Também é utilizada na medicina popular de muitos países para a cura de inflamações, cólicas, processos dolorosos e desordens gastrointestinais (Pogprayoon et al. 1989; Assis et al., 1994; Khan et al., 1994).

FIGURA 7. Partes aéreas e flores da *I. pes-caprae* (L.) R. Br.

Estudos realizados por Pangprayoon ET AL., 1989, demonstraram que o extrato bruto da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. apresentou atividade antiespasmódica, que parece envolvida com a presença dos compostos isoprenoides beta-damascenona e E-phytol (PONGPRAYOON *et al.*, 1989; 1992). Evidenciou-se também a atividade antinociceptiva do extrato metanólico (SOUZA *et al.*, 2000) e dos compostos isolados glochidona, ácido betulínico, acetato de α- e β-amirina e isoquercitrin (KROGH *et al.*, 1999). Há relatos acerca da atividade imunoestimulatória do extrato metanólico (PHILIPPI *et al.*, 2010), atividade inibitória do extrato bruto sobre a agregação plaquetária (ROGERS *et al.*, 2000) e síntese de PGE_2 (PONGPRAYOON *et al.*, 1991b), efeito inibitório de ésteres de ácido quínico sobre a colagenase (TERAMACHI *et al.*, 2005), bem como da eficácia do extrato bruto contra dermatite induzida por água-viva (PONGOPRAYOON *et al.*, 1991a).

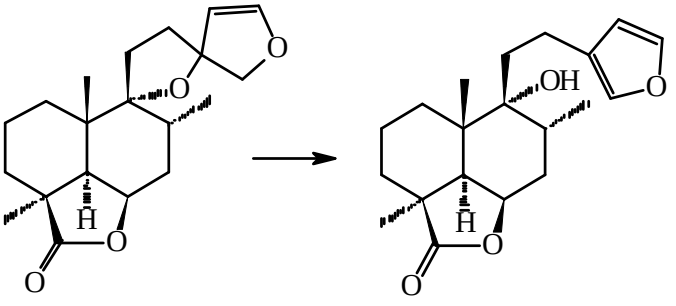
As partes aéreas da *I. pes-caprae* foram caracterizadas como matéria-prima farmacêutica quanto aos ensaios de perda por dessecação, teor de extrativos, cinzas totais, cinzas ácidas insolúveis e sulfatadas, teor de flavonoides totais (TFT) e cromatografia em camada delgada (CCD) (BARNI; CECHINEL FILHO; COUTO, 2009). O teor de extrativos e flavonoides totais sempre foi maior nas folhas, e a isoquercitrina foi evidenciada em todas as soluções hidroetanólicas a 5%, obtidas com aquecimento sob refluxo. Em estudo a ser publicado, em vias de publicação, Couto e colaboradores (2010) otimizaram as condições do processo extrativo por maceração e validaram a atividade antinocicetiva e antiinflamatória para o extrato otimizado, obtido a partir de 12,5% (m/V) (planta:solvente), em álcool 70°GL, no tempo de 5 dias. No experimento das contorções abdominais induzidas por ácido acético, o extrato (5-20mg/kg) produziu uma inibição do número de contorções abdominais de forma estatisticamente significante. No modelo da pleurisia, verificou-se que o extrato de *I. pes-caprae* (5, 10, 15 e 20mg/kg, i.p) foi capaz de inibir, de forma significativa e dependente, a migração celular para a cavidade pleural.

Marrubium vulgare L. (Lamiaceae)

Marrubium vulgare L. (sinonímia: *Marrubium album* Car. et. Lag) (FIGURA 8), pertencente à família Lamiaceae, é uma planta herbácea, que floresce de junho a setembro, sendo encontrada principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e São Paulo (PIO CORREA, 1984). É conhecida popularmente como marroio, marroio-branco, marroio-comum e maromba, e usada em forma de chá estimulante, antiespasmódico, febrífugo, e para tratar o vírus influenza, além da asma. Suas raízes são indicadas como diuréticos e nas doenças do fígado e rins (PIO CORREA, 1984; BALMÉ, 1982; CIRILO, 1993; LORENZI & MATOS, 2002).

FIGURA 8. *Marrubium vulgare* L.

O gênero *Marrubium* é conhecido por produzir grande quantidade de diterpenoides, como a marrubiina, identificada em 1842 e isolada, pela primeira vez, das folhas da espécie *M. vulgare* (APPLETON *et al.*, 1967; HENDERSON & MCCRINDLE, 1969). É importante mencionar que a marrubiina é gerada como artefato durante o processo de extração, a partir do metabólito secundário pré-marrubiina (FIGURA 9, composto 1). Considerando que o uso medicinal dessa espécie envolve extração mediante aquecimento, a marrubiina é sempre produzida, e o efeito medicinal relacionado principalmente à presença dessa substância, levando em conta o seu alto rendimento e suas propriedades biológicas relatadas em estudos prévios (APPLETON *et al.*, 1967; KNOESS & ZAPP, 1998).



Pré-marrubiina (1) Marrubiina (2)

FIGURA 9**.** Formação da marrubiina a partir da pré-marrubiina

Estudos realizados com o diterpeno marrubiina revelaram propriedades anti-hipertensiva, antidiabética, analgésica e antiedematogênica (HERRERA-ARELLANO *et al.*, 2004; DE SOUZA *et al.*, 1998; DE JESUS *et al.*, 1999; MEYRE-SILVA *et al.*, 2005; EL BARDAI *et al.*, 2003a; STULZER *et al.*, 2006)

POr causa da sua importância biológica, foram conduzidos estudos para a otimização de sua obtenção a partir das partes aéreas de *M. vulgare*, que evidenciaram aumento significativo no rendimento da extração com a utilização do polímero natural quitina com baixo custo (RODRIGUES *et al.*, 1998).

Modificações químicas foram realizadas e viabilizaram a obtenção dos derivados de marrubiína, identificados como ácido marrubiínico, marrubenol, éster benzílico do ácido marrubiínico e éster metílico do ácido marrubiínico. Todos os derivados foram avaliados quanto à atividade analgésica em camundongos. Marrubenol apresentou a maior atividade com inibição de 94% as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, seguido pela marrubiína, ácido marrubiínico e seus ésteres (MEYRE-SILVA *et al.*, 2005). Estudos realizados com o ácido marrubiínico e marrubenol demonstraram também ação colerética e cardiovascular, respectivamente (KREJCI & ZADINA, 1959; EL BARDAI *et al.*, 2003b).

Estudos fitoquímicos realizados com essa espécie têm revelado a presença de uma variedade de compostos como alcaloides, esteroides, lactonas, terpenos, taninos, açúcares e vitamina C. Alguns dos compostos isolados, além da marrubiína e pré-marrubiína, destacam-se apigenina, apigenina 7-*O*-glucosídeo, apigenina 7-lactato, apigenina 7-(6''-p-coumaroil)-glucosídeo, luteolina, luteolina 7-*O*-β-D-glucosídeo, luteolina 7-lactato, crisoeriol, quercetina 3-*O*-α-L-ramnosil-glucosídeo, isoquercitrina, ácido ursólico, ácido gálico, ácido cafeico, cafeoil maleico, vulgarol, vulgarin, β-sitosterol, estigmasterol, vitexina, acteosídeo, forsitosídeo B, arenariosídeo, ballotetrosídeo, marrubosídeo B, acetil marrubosídeo, marrubenol (SAHPAZ *et al.*, 2002; POPA &, SHAMSHIR KH SALEI 1973; NAWWAR *et al.*, 1989; POPA & PASECHNIK, 1975; POPA & PASECHNIK, 1968; KOWALEWSKI & MATLAWSKA, 1978; AMER, 1993).

Vários estudos com relação à atividade biológica têm sido realizados com *M. vulgare,* demonstrando efeito como hipoglicemiante, hipotensivo, antioxidante, anti-inflamatório, ação colerética, hipolipidêmico e antiasmático (ROMÁN *et al.*, 1992; WEEL ET AL., 1999; EL BARDAI *et al.*, 2001; BERROUGUI *et al.*, 2006; KREJEI & ZADINA, 1959). Estudos evidenciaram que o extrato hidroalcoólico, obtido das partes aéreas de *Marrubium vulgare*, apresenta efeito antiespasmódico, antidiabético e analgésico, sendo esta última atividade relacionada à presença do composto majoritário, a marrubiína (SCHLEMPER *et al.*, 1996; NOVAES *et al.*, 2001; DE JESUS *et al.*, 1999; DE SOUZA *et al.*, 1998).

Além das atividades supracitadas, estudos com as folhas de *M. vulgare* demonstraram discreta atividade antidiabética e moderada atividade antimicrobiana contra as bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Sthapylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus* (AL-BAKRI *et al.*, 2007; MASOODI *et al.* 2008). Embora geralmente essa planta não tenha demonstrado atividade contra bactérias Gram-negativas, Masoodi e colaboradores (2008) relataram atividade contra *Escherichia coli* e *Proteus vulgaris*, porém inativo contra *Pseudomonas aeruginosa*.

A importância química e biológica dessa espécie pode ser confirmada pela publicação da patente identificada como WO2007018432 de 2007 com o título: "*Marrubiin and composition for reducing snoring, package and method*". A presente invenção refere-se à formulação farmacêutica com aplicação no tratamento da asma (BRAND & GOEDBLOED, 2007).

Outros estudos envolvendo o extrato metanólico (MATKOWSKI & PIOTROWSKA *et al.*, 2006; FIRUZI *et al.*, 2010), extrato aquoso (BERROUGUI *et al.*, 2006) e os polifenóis isolados dessa planta – acteosídeo-1, forsythoside B2, arenariosídeo-3 e balotetrosídeo-4 (MARTIN-NIZARD *et al.*, 2003) – apresentaram atividade antioxidande em diferentes modelos *in vitro*. Foi comprovada também a ação vaso-relaxante, hipotensor e anti-hipertrófico do extrato aquoso (EL BARDAI *et al.*, 2001; 2004) e vaso-relaxante dos compostos isolados marrubiin e marrubenol (EL BARDAI *et al.*, 2003a; 2003b).

Novaes *et al*. (2001) e Roman Ramos *et al*. (1992) descreveram a atividade hipoglicemiante do extrato bruto da *M. vulgare*, além da atividade antinociceptiva e antiedematogênica do composto marrubiína (DE JESUS *et al.*, 2000; STULZER *et al.*, 2006), antinociceptiva do ácido marrubiínico (MEYRE-SILVA *et al.*, 2005), bem como o efeito inibitório do composto éster de fenilpropanoide glicosídico sobre a enzima COX_2 (SAHPAZ *et al.*, 2002).

Finalmente, o extrato de *M. vulgare* mostrou atividade principalmente para as bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (AL-BAKRI; AFIF, 2007) e *Paenibacillus larvae* (GONZÁLES, MARIOLI, 2010), e fraca atividade ou inativa contra bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (AL-BAKRI; AFIF, 2007) e *Mycobacterium tuberculosis* (MOLINA-SALINAS *et al.*, 2006).

Maytenus robusta Reissek (Celastraceae)

Muitas espécies da família Celastraceae vêm sendo alvo de estudos para desvendar suas propriedades químicas, botânicas ou farmacológicas, além de manter um controle de qualidade eficiente. A família Celastraceae compreende cerca de 60 gêneros e mais de 200 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. Algumas espécies apresentam importantes efeitos farmacológicos como anti-inflamatório, analgésico, antioxidante, antimalárico e antimicrobiano (VELLOSA, *et al.*, 2006; SOSA *et al.*, 2007; PESSUTO *et al.*, 2009; BAGGIO *et al.*, 2009; MARTUCCIELLO *et al.*, 2010). Dentre as mais estudadas, destaca-se a *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch., conhecida como espinheira-santa, cancerosa, espinheira- divina, salva-vidas, dentre outros. No Brasil são utilizados nos casos de úlcera estomacal, processos inflamatórios e feridas (KROGH, 1996). O efeito terapêutico da *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. manifesta-se não somente no estômago, combatendo as dispepsias, gastralgias hiperclorídricas, etc., mas também no intestino exercendo ação analgésica (CARLINI, 1988). Até o presente, inúmeras substâncias têm sido isoladas, incluindo triterpenoides, alcaloides, flavonoides, taninos e sesquiterpenos (NIERO *et al.*, 2006; REYES *et al.*, 2006; TORPOCCO *et al.*, 2007; GUTIERREZ *et al.*, 2007; PESSUTO *et al.*, 2009). No entanto, ainda não se

tem um controle de qualidade efetivo pela falta de um marcador químico eficiente. Um fator importante foi a descoberta de uma espécie endêmica da região e identificada como *Maytenus robusta* Reissek (FIGURA 10).

FIGURA 10. Ilustração do ramo com inflorescência de *M. Robusta* Reissek

Estudos realizados em nossos laboratórios demonstraram que essa planta apresenta constituição química semelhante à *M. ilicifolia* (Schrad.) Planch. (NIERO *et al.*, 2001). Recentemente um estudo fitoquímico permitiu o isolamento e a identificação de um triterpeno inédito na literatura e denominado de 3,15-dioxo-21α-hydroxy-friedelan. Esse composto, em dados preliminares, mostrou-se efetivo em diferentes modelos farmacológicos de dor e inflamação e importante perfil antiulcerogênico (NIERO *et al.*, 2006; ANDRADE *et al.*, 2007; 2008).

Rubus imperialis Cham. & Schltdl. (Rosaceae)

A família Rosaceae é representada por cerca de 100 gêneros e mais de 700 espécies, sendo a maioria dessas espécies encontrada em climas temperados (JOLY, 1991). Na flora brasileira, é representada por cinco gêneros, vicejando principalmente o sul do País. O gênero *Rubus* L., em especial, tem se destacado por causa de seus frutos saborosos, usados também para fazer geleias e doces. Na medicina popular, suas folhas são empregadas em infuso com propósito terapêutico. Muitas espécies têm sido alvo de vários estudos científicos visando à avaliação do potencial farmacológico de extratos e compostos isolados (PATEL *et al.*, 2004; NAN, *et al.*, 2006; NIERO & CECHINEL FILHO, 2008; SISTI *et al.*, 2008; HONG *et al.*, 2010). *R. imperialis* (FIGURA 11) é um arbusto conhecido comumente como amora-branca, amora-do-mato e suas folhas são usadas na medicina popular para o tratamento de diversas patologias, como diabetes, processos inflamatórios e dolorosos (CIRILO, 1993; NIERO *et al.*, 1999).

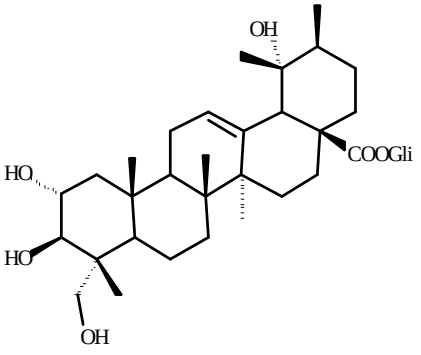
FIGURA 11. Ilustração das partes aéreas da *R. imperialis* Cham. & Schltdl

Estudos farmacológicos demonstraram significativa atividade antinociceptiva do extrato metanólico, fração de acetato de etila obtida das raízes e do composto isolado niga-ichigoside F1 (NIERO *et al.*, 1999; NIERO *et al.*, 2002; KANEGUSUKU *et al.*, 2002; ARDENGHI *et al.*, 2006). Ademais, pode-se citar a relevante atividade hipoglicemiante dos extratos metanólico e bruto obtidos da *R. imperialis* Cham. & Schltdl. (NOVAES *et al.*, 2001; KANEGUSUKU *et al.*, 2002).

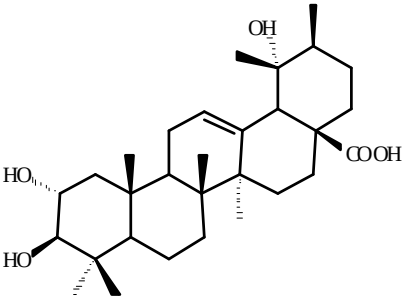
Em estudos realizados em nossos laboratórios, alguns extratos e um triterpeno denominado niga-ichigosideo F1 exerceram importante atividade antinociceptiva em diferentes modelos experimentais em animais. Essa substância foi aproximadamente 30 vezes mais potente do que a aspirina e o paracetamol, dois medicamentos usados clinicamente (NIERO *et al.*, 1999). Alguns extratos das partes aéreas também se mostraram bastantes efetivos em diminuir os níveis de glicose em ratos hiperglicêmicos, induzidos por aloxano (NOVAES *et al.*, 2001). Estudos sobre a citotoxicidade frente á *Artemia salina* mostraram a inocuidade do niga-ichigosídeo F1. Mais recentemente, estudo realizado sobre o mecanismo da ação antinociceptiva dessa substância apresentou resultados importantes e que sugerem envolvimento tanto no sistema adrenérgico quanto no serotonérgico, não tendo participação evidente no sistema opioide

(ARDENGHI *et al.*, 2006).

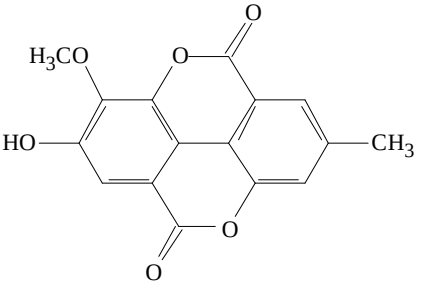
Paralelamente um estudo sobre a possível atividade antimicrobiana foi realizado, empregando extratos e frações obtidos de diferentes partes de *R. imperialis* Cham. & Schltdl. contra bactérias e fungos. O estudo demonstrou que as diferentes partes da planta apresentaram ação seletiva sobre bactérias Gram-positivas (BELLA CRUZ *et al.*, 2006). Por outro lado, algumas substâncias isoladas, incluindo o niga-ichigosideo F1(9), ácido tormentico (10) e 3-*O*-metil-4-metilelágico (11), mostraram-se inativas, sugerindo que outros compostos presentes nessa espécie possam ser os responsáveis pelo efeito encontrado (BELA CRUZ *et al.*, 2006).



(**9**)



(**10**)



(**11**)

Em outro estudo, foi verificado que o extrato de *R. imperialis* apresentou ação antiviral contra Herpes simplex (MÜLLER *et al.*, 2007). Atualmente projetos subsidiados por órgãos de fomento apoiam um estudo de propagação em viveiros bem como controle de qualidade na busca de um marcador químico eficiente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme pôde ser observado no decorrer do capítulo, os resultados obtidos em estudos realizados na Universidade do Vale do Itajaí e/ou em parceria com outras instituições de pesquisa do País e do exterior permitiram evidenciar inúmeras substâncias com relevantes e promissoras propriedades biológicas. Muitas dessas moléculas demonstraram, em experimentos pré-clínicos, ser mais efetivas do que fármacos disponíveis no mercado. Embora alguns desses estudos validem o uso medicinal da maioria das plantas analisadas, algumas delas carecem de investigações mais aprofundadas, especialmente no que tange aos possíveis efeitos tóxicos. Salienta-se também a necessidade de evoluir nos estudos com preparações mais assemelhadas ao uso tradicional, na forma de infusos ou decoctos, visando avaliar a eficácia do uso tradicional das plantas, além de outros aspectos como os estudos farmacognósticos e demais análises que subsidiem a elaboração de monografias para o futuro controle de qualidade da droga e derivados vegetais. Nos estudos realizados, identificaram-se vários potenciais marcadores para as plantas, visando estabelecer novos fitoterápicos, bem como, em alguns casos, foram realizados estudos de desenvolvimento tecnológicos de extratos visando à sua futura produção industrial.

Nos últimos anos, constatou-se real aproximação entre as universidades e o setor produtivo (indústrias), porém, é cada vez mais necessário e urgente que se estabeleça no País uma política científica direcionada para a produção de medicamentos de origem essencialmente brasileira. E para que isso efetivamente ocorra, é fundamental a integração entre o governo, a indústria farmacêutica e as universidades ou centros de pesquisa, pois somente dessa forma será possível o aproveitamento racional da rica biodiversidade brasileira e os relevantes e promissores resultados evidenciados pelos inúmeros grupos de pesquisa na área de produtos naturais e sintéticos bioativos do País.

Os resultados aqui descritos permitem constatar muitos avanços, confirmando o potencial terapêutico das plantas selecionadas em modelos experimentais em animais e a descoberta de vários de seus princípios ativos, porém muito há que se fazer, em testes pré-clínicos e clínicos, até atingir a tão almejada meta: o desenvolvimento de novos e efetivos fitoterápicos, fitofármacos ou fármacos de origem brasileira.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a todos que contribuíram para a obtenção dos resultados descritos no decorrer deste capítulo, em especial aos acadêmicos e professores pesquisadores vinculados ao NIQFAR/CCS/UNIVALI e ao Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas/UNIVALI. Agradece ainda aos colaboradores externos que participaram ativamente no desenvolvimento de muitos projetos de pesquisa que geraram parte dos resultados já publicados e aqui descritos. Agradecem também aos órgãos de fomento do País (CNPq, CAPES, FINEP), a Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e ao Programa Iberoamericano de Ciência y Tecnologia para o Desarrollo (CYTED), especialmente à Rede RIBIOFAR RT 0284.

REFERÊNCIAS

ABDEL-KADER, M.S.; WISSE, J.; EVANS, R.; VAN DER W. H.; KINGSTON, D. G. Bioactive iridoids and a new lignan from *Allamanda cathartica* and *Himatanthus fallax* from the Suriname rainforest. **Journal of Natural Products**, v.12, n.60, p.1294-1297, 1997.

ABE, F.; NAGAFUJI, S.; OKABE, H.; AKAHANE, H.; ESTRADA-MUNIZ, E.; HUERTA-REYES, M.; REYES-CHIPLA, R. Trypanocidal constuints in plants, leaves of *Garcinia intermedia* and heartwood of *Calophyllum brasiliense*. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v.27, n.1, p.141-143, 2004.

ABREU, A. C. D; KUNIYOSHI, S. P; MEDEIROS, S. C. A; NOGUEIRA, C. A. Caracterização morfológica de frutos e sementes de Cataia (*Drimys brasiliensis* Miers – Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.2, p 67-74, 2005.

ADAM, G.; KHOR, N. H.; BERGNER, C.; LIEN, N. T. Plant growth inhibiting properties of plumieride from *Plumeria obtusifolia*. **Phytochemistry**, v.18, p.1399-1400, 1979.

AFIFI, M.S.; GOHAR, A.A.; MARZOUK, A.N.; SALAMA, O.M. Iridoids with antimicrobial activity from *Plumeria alba* l. **Bulletin of Pharmaceutical Sciences,** v.29, n.1, p.215 – 223, 2006.

AGRAWAL, P. K.; SHARMA, M. P. Chemical constituents of *Allamanda cathartica*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.45, n.6, p.246-48, 1983.

AL-BAKRI, A. G.; AFIF, F. U. Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. **Journal of Microbiological Methods**, v.68, p.19-25, 2007.

AMER, M.M.A. Constituents of the aerial parts of *Marrubium vulgare* L. **Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v.9, n.1, p. 92-8, 1993.

ANDERSON, J. E.; CHANG, C. J.; McLAUGHLIN, J. L. Bioative components of *Allamanda schotii* .**Journal of Natural Products,** v.51, n.2, p.307-308, 1988.

ANDRADE, S. F.; LEMOS, M.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; FILHO V. C.; NIERO R. Evaluation of the antiulcerogenic activity of *Maytenus robusta* (Celastraceae) in different experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology,** v.113, p.252-257, 2007.

ANDRADE, S. F.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; MONACHE, F. D.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO. R. Antiulcerogenic activity of fractions and 3,15-dioxo-21alpha-hydroxy friedelane isolated from *Maytenus robusta* (Celastraceae). **Archives Pharmacal Research**, v.31, p41-46, 2008.

ANDRÉ, E.; CAMPI, B.; TREVISANE, M.; FERREIRA, J.; MALHEIROS, A.; YUNES, R. A; CALIXTO, J. B.; GEPPETTI, P. Pharmacological characterization of the plant sesquiterpenes polygodial and drimanial as vanilloid receptor agonists. **Biochemical Pharmacology,** v.71. p.1248-1254, 2006.

ANDRÉ, E.; FERREIRA, J.; MALHEIROS, A.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Evidence for the involvement of vanilloid receptor in the antinociception produced by the dialdeydes unsaturated sesquiterpenes polygodial and drimanial in rats. **Neuropharmacology**, n.46, p. 590-597, 2004.

ANDRÉ, E.; MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Mechanisms underlying the relaxation caused by the sesquiterpene polygodial in vessels from rabbit and guinea-pig. **European Journal of Pharmacology**, v.386. p.47-53, 1999.

ANDRÉ, E.; MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Role of nitric oxide and K+ channels in relaxation induced by polygodial in rabbit corpus cavernous *in vitro*. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, n.41, p.300-306, 2003.

ANKE, H. & STERNER, O. Comparison of the Antimicrobial and Cytotoxic Activities of tenty unsaturated sesquiterpene dialdehides from plants and mushrooms. **Planta Medica**, n.57, p.344-346, 1991.

APPLETON, R.A.; FULKE, J.W.B.; HENDERSON, M.S.; MCCRINDLE, R. The stereochemistry of marrubiin. **Journal of the Chemical Society (C)**, p.1943-1948, 1967.

ARDENGHI, J.V.; KANEGUSUKU, M.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES R.A.; DELLE MONACHE, F.; SOUZA, M.M. Analysis of the mechanism of antinociceptive action of niga-ichigoside F1 obtained from *Rubus imperialis* (Rosaceae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.50, p.1669-1675, 2006.

ARIGONY, A. L. V. **Determinação química e biológica de *Bauhinia forficata* Link subespécie *Pruinosa* (pata-de-vaca – Leguminosae)**. 2005. 119p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre.

ASSIS, C.; TOLEDO, C. B.; NETO, S. R.; CORDEIRO, I. **Nossas Plantas** (Mata Atlântica). São Paulo: FTS, 1994.

BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; MAYER B.; SANTOS A.C.; TWARDOWSCHY, A.; POTRICH F. B.; CIPRIANI, T. R.; DE SOUZA, L. M.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; MARQUES, M. C. A.; MESIA-VELA S. Muscarinic-dependent inhibition of gastric emptying and intestinal motility by fractions of *Maytenus ilicifolia* Mart ex. Reissek. **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, n.3, p.385-391, 2009.

BAJRACHARYA, P.; LEE, E.J; LEE, D.M.; SHIM, S.H.; KIM, K.J.; LEE, S.H.; BAE, J.J.; CHUN, S.S.; LEE, T.K.; KWON, S.H.; CHOI, I. Effect of different ingredients in traditional Korean medicine for human uterine leiomyoma on normal myometrial and leiomyomal smooth muscle cell proliferation. **Archives of Pharmacal Research**, v.32, n.11, p.1555-1563, 2009.

BALLERO, M.; SOTGIU, A. M.; PIV, G. Empirical administration of preparations of *Marrubium vulgare* in the asthmatic syndrome. **Biomedical Letters**, v.57, p.31-36, 1998.

BALMÉ, F. **Plantas Medicinais**. São Paulo: Hemus. 1982, 398p.

BARNI, S.T.; CECHINEL FILHO, V.; COUTO, G.C. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.4, p.865-870, 2009.

BELLA CRUZ, A.; CRUZ, R.C.B.; KANEGUSUKU, M.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F.; NIERO, R. Antimicrobial activity of *Rubus imperialis* (Rosaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v.25, n.2, p.256-259, 2006.

BERRI,A.; SCARIOT, M. **Estudo da atividade antineoplásica do extrato da planta *Allamanda cathartica* L. e do ácido ursólico em camundongos**. 2004, 63p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Curso de Farmácia, Universidade do Vale do Itajaí, Itajai.

BERROUGUI, H.; ISABELLE, M.; CHERKI, M.; KHALI, A. *Marrubium vulgare* extract inhibits human-LFL oxidation and enhances HDL-mediated cholesterol effux in THP-1 macrophage. **Life Sciences**, v.80, p.105-112, 2006.

BOLZANI, V.S.; CORDEIRO, M.C.; PINHEIRO, M.L.B.; PINTO, H.L.B.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M.; SILVA, J.R.A.; TAMBORÍN, E.; YOUNG, C.M. Ésteres triterpênicos de *Himantanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. **Química Nova**, v.21, n.6, p.702-704, 1998.

BRAGA, F.C.; SERRA, C.P.; VIANA, N.S. JR; OLIVEIRA, A.B.; CÔRTES, S.F.; LOMBARDI, J.A. Angiotensin-converting emzyme inhibition by Brazilian plants. **Fitoterapia**, v.78, n.5, p.353-358, 2007.

BRAND, H.M.; GOEDBLOED, A.F. Marrubiin and composition for reducing snoring, package and method. **Patent WO2007018432**, Feb 15, 2007.

BRESOLIN, T.B.B.; CECHINEL FILHO, V. Plantas medicinais e fitoterápicos: 12 anos de estudos realizados no NIQFAR/UNIVALI. **Revista do Elofar** (Florianópolis-SC), v. 2, p.13-16, 2007.

CARLINI, E. L. A. **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras:** *Maytenus ilicifolia* (Espinheira Santa), CEME/AFIP, Brasília, DF, Brasil, 1988.

CASTELLANI, T. T.; SANTOS, F. A. M.. Abundância de ramos reprodutivos e produção de sementes em populações de *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. na Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.19, n.2, p.251-264, 2005.

CASTELLI, V. M.; LODEYRO, F. A.; MALHEIROS, A. ZACCHINO, S. A. S.; ROVERI, A. O. Inhibition of the mitochondrial ATP synthesis by polygodial, a naturally occurring dialdehyde unsaturated sesquiterpene. **Biochemical Pharmacology**, v.70, p.82-89, 2005.

CASTILLO, D.; AREVALO, J.; HERRERA, F.; RUIZ, C.; ROJAS, R.; RENGIFO, E.; VAISBERG, A.; LOCK, O.; LEMESRE, J.L.; GORNITZKA, H.; SAUVAIN, M. Spirolactone iridoids might be responsible for the antileishmanial activity of a Peruvian traditional remedy made with Himatanthus sucuuba (Apocynaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.112, n.2, p.410 -414, 2007

CECHINEL FILHO, V. Produtos Naturais e Sintéticos com Potencial Terapêutico: 15 Anos de Estudos Realizados no Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR)/UNIVALI. **Revista FITOS**, v.4, n.2, p 6-23, 2009a.

CECHINEL FILHO, V. Chemical Composition and Biological Potential of Plants from the Genus Bauhinia. **Phytotherapy Research**, v.23, p.1347-1354, 2009b.

CECHINEL FILHO, V., MEYRE-SILVA, C., NIERO, R. Chemical and Pharmacological Aspects of the Genus *Calophyllum.* **Chemistry & Biodiversidty**, v.6, n.3, p.313-327, 2009c.

CECHINEL FILHO, V.; SCHLEMPER, V; SANTOS, A. R. S; PINHEIRO, T. R; YUNES, R. A; MENDES, G. L; CALIXTO, J. B; DELLE MONACHE, F. Isolation and identification of active compounds from *Drimys winteri* barks. **Journal of Ethnopharmacology**, n 62, p.223-27, 1998.

CECHINEL-FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B.; BITTENCOURT, C. M. S.; SOUSA, M. M.; LUCINDA-SILVA, R. M.; QUINTÃO, N. L. M.; MORA, T. C.; PICOLLI, C.; PEDREIRA, M. C.; NITA, M. E.; SPRISSIGO, R. Processo de obtenção de um extrato padronizado com propriedades antinociceptivas, anti-inflamatórias e antipiréticas, composição farmacêutica, processo de preparação da mesma, método de tratamento e uso no tratamento de afecções dolorosas e inflamatórias. INPI. n. **PI 0804525-9A2**. 28, out 2007.

CESCA, T.G. **Formas semissólidas contendo extrato seco de *Aleurites moluccana* L. Willd. (Euphorbiaceae)**: desenvolvimento, controle de qualidade e estudo farmacológico. 2010. 120p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí.

CIRILO, V. K. **Manual de Plantas Medicinais**. 44 ed. Francisco Beltrão: Ed. Assesoar, 1993,102p.

COPPEN, J. J. W.; COBB, A. L. The occurrence of iridoids in *Plumeria* and *Allamanda*. **Phytochemistry**, v.22, n.1, p.125-28, 1983.

CORREA Jr, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas.** 2. ed. Jaboticabal, FUNEP, 1984. p.35-43.

CORREA, P. M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.5, 1984, 294-295p.

COTTIGLIA, F.; DHANAPAL, B.; STICHER, O.; HEILMANN, J. New chromanone acids with antibacterial activity from *Calophyllum brasiliense*. **Journal of Natural Products**, v.67, p.537-541, 2004.

CRISTMAN, S. ***Ipomoea pes-caprae***. Tallahassee, 2000. Disponível em: < http://www.floridata.com/ref/I/ipom_pes.cfm>. Acesso em 19 maio 2008.

CUNHA, A.M.; MENON, S.; MENON, R.; COUTO, A.G.; BURGER, C.; BIAVATTI, M.W. Hypoglycemic ctivity of dried extracts of Bauhinia forficata Link. **Phytomedicine**, v.7, n.1, p.37-41, 2010.

CUNHA, F. M; FRONDE, T. S.; MENDES, G. L.; MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Additional evidence for the anti-inflammatory and anti-allergic properties of the sesquiterpene polygodial. **Life Sciences**, v.30, n.70, p.159-169, 2001.

DA SILVA, K.L.; BIAVATTI, M.W.; LEITE, S.N.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical and pharmacognositc investigation of *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae). **Zeitschrift für Naturforschung. C, A Journal of Biosciences**, v.55, p.478-480, 2000.

DE JESUS, R.A.P.; CECHINEL-FILHO, V.; OLIVEIRA, A.E.; SCHLEMPER, V. Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*. **Phytomedicine**, v.7, n.2, p.111-115, 1999.

DE JESUS, R.A.; CECHINEL-FILHO, V.; OLIVEIRA, A.E.; SCHLEMPER, V. Analysis of the antinociceptive properties of marrubiin isolated from *Marrubium vulgare*. **Phytomedicine.** v.7, n.2, p.111-115, 2000.

DE SOUZA, M.M.; DE JESUS, R.A. P.; CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V. Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. **Phytomedicine**, v.5, n.2, p.103-107, 1998.

DE SOUZA, M.M.; MADEIRA, A.; BERTI, C.; KROGH, R.; YUNES, R.A.; CECHINEL-FILHO, V. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. **Journal of Ethnopharmacology**, v.69, n.1, p.85-90, 2000.

DHARMARATNE, H. R., WIJENGHE, W. M., THEVANASEM, V. Antimicrobial activity of xanthones from *Calophyllum* species, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Ethnopharmacology**, v.66, n.3, p.339-342, 1999.

DHARMARATNE H. R. W.; TAN G. T.; MARASINGHE G. P.; PEZZUTO J. M. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and HIV-1 replication by *Calophyllum* coumarins and xanthones. **Planta Medica**, v.68, p.86-87, 2002.

DIXIT, S. N.; TRIPATHI, S. C.; OJAHA, T. N. Allamandoside - A new fungitoxic substance from *Allamanda cathartica* L. **Journal of Antibacterial Antifungical Agents**, v.10, n.5, p.197-9, 1982.

DOBHAL, M. P. et al. Structural modifications of plumieride isolated from *Plumeria bicolor* and the effect of teshe modifications on in vitro anticancer activity. **The Journal of Organic Chemistry**, v.69, p.6165-72, 2004.

DUKE, J.A. **Handbook of Medicinal Herbs**. USA: CRC Press. 1991. 677p.

EL BARDAI, S.; LYOUSSI, B.; WIBO, M.; MOREL, N. Pharmacological evidence of hypotensive activity of *Marrubium vulgare* and *Foeniculum vulgare* in spontaneously hypertensive rat. **Clinical and Experimetnal Hypertension**, v.23, n.4, p.329-343, 2001.

EL BARDAI, S.; WIBO, M.; HAMAIDE, M.; LYOUSSI, B.; QUETIN-LECLERCQ, J.; MOREL, N. Characterisation of marrubenol, a diterpene extracted from *Marrubium vulgare*, as an L-type calcium channel blocker. **British Journal of Pharmacology**, v.140, p.1211-1216, 2003a.

EL BARDAI, S.; MOREL, N.; WIBO, M.; FABRE, N.; LLABRES, G.; LYOUSSI, B.; QUETIN-LECLERCQ, J. The vasorelaxant activity of marrubenol and marrubiin from *Marrubium vulgare*. **Planta Medica**, v.69, n.1, p.75-77, 2003b.

EL BARDAI, S.; LYOUSSI, B.; WIBO, M.; MOREL, N. Comparative study of the antihypertensive activity of *Marrubium vulgare* and of the dihydropyridine calcium antagonist amlodipine in spontaneously hypertensive rat. **Clinical and Experimetnal Hypertension** , v.26, n.6, p.465-474, 2004.

EL SAYAH, M.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; PINHEIRO, T. R.; CALIXTO, J. B. Action of polygodial, a sesquiterpene isolated from *Drimys winteri* in the guinea pig ileum and trachea in vitro. **European Journal of Pharmacology**, n.344, p.215-221, 1998.

EL SAYAH, M.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; MALHEIROS, A.; CALIXTO, J. B. Action of polygodial on agonist-induced contractions of the rat portal vein *in vitro*. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, n.35, p.670-675, 2000.

EMENDÖRFER, F.; EMENDÖRFER, F.; BELLATO, F.; NOLDIN, V.F.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; CARDOZO, A.M. Evaluation of the relaxant action of some Brazilian medicinal plants in isolated guinea-pig ileum and rat duodenum. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v.8, n.1, p.63-68, 2005.

ENGEL, Indianara C.; FERREIRA, Renê A.; CECHINEL-FILHO, Valdir and MEYRE-SILVA, Christiane. 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.

EUROFARMA. Aleurites. **Newsletters:** Área de Pesquisa Clínica, ano 1, n.4, 2010.

FAQUETI, A. **Avaliação fitoquímica de *Allamanda cathartica e Allamanda schottii* e teste de citotoxicidade em células tumorogênicas e não tumorogênicas**. 2008. 37p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí.

FICKER, C. E.; SMITH, M.L.; SUSIARTI, S.; LEAMAN, D. J.; IRAWATI, Ç.; ARNASON, J. T. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). **Journal of Ethnopharmacology**, v.85, p.289-293, 2003.

FIRUZI, O.; JAVIDNIA, K.; GHOLAMI, M.; SOLTANI, M.; MIRI, R. Antioxidant activity and total phenolic content of 24 Lamiaceae species growing in Iran. **Natural Product Communications**, v.5, n.2, p.261-264, 2010.

FORSTER, P. I. A taxonomic revision of *Aleurites* J. R. Forst. and G. Forst. (euphorbiaceae) in Australia and New Guinea. **Muelleria**, v.9, p.5-13, 1996.

GONZÁLES, M. J.; MARIOLI, J. M. Antibacterial activity of water extracts and essential oils of various aromatic plants against *Paenibacillus larvae* the causative agent of American Foulbrood. **Journal of Invertebrate Pathology**, *in press*, 2010.

JORGE, L.I.F.E & MARKMAN, B.E.D. Caracterização histológica das folhas e dos frutos de *Rubus rosaefolius* Smith (amora do mato). **Revista do Instituto Adolfo Lutz,** v.53, p.1-4, 1993.

GRENAND, P.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H. **Pharmacopées Traditionelles em Guyane: Créotes, Palikur, Wauãp, Paris.** Editorial 1 ORSTOM, Coll Men, 1987.

GUPTA, N. C.; BHAGIRATH, S.; BHAKUNI, D. S. Steroids and triterpenes from *Alangium lamarckii, Allamanda cathartica, Abrus precatorius* and *Haloptelea integrifolia*. **Phytochemistry**, v.8, p.791-92, 1969.

GUPTA, S. K.; BANERJEE, A. B.; ACHARI, B. Isolation of Ethyl p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of *Curcumba zedoaria*. **Lloydia**, v.39, p.218-22, 1976.

GUTIERREZ, F.; ESTEVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G. Terpenoids from the Medicinal Plant *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products,** v.70, n.6, p.1049-1052, 2007.

HAMBURGER, M. O.; CORDELL, G. A.; RUANGRUNGSI, N. Traditional medicinal-plants of Thailand. 17 Biologically-active constituents of *Plumeria rubra*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.33, n.3, p.289-292, 1991.

HENDERSON, M.S.; MCCRINDLE, R. Premarrubiin. A diterpenoid from *Marrubium vulgare* L. **Journal of the Chemical Society (C)**, p.2014-2015,1969.

HERRERA-ARELLANO, A.; AGUILA-SANTAMARIA, L.; GARCIA-HERNÁNDEZ, B.; NICASIO-TORRES, P.; TORTORIELLO, J. Clinical Trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. **Phytomedicine**, v.11, p.561-566, 2004.

HONG, C.H.; NOH, M.S.; LEE, W.Y.; LEE, S.K. Inhibitory effects of natural sesquiterpenoids isolated from the rhizomes of *Curcuma zedoaria* on prostaglandin E2 and nitric oxide production. **Planta Medica**, v.68, n.6, p.545-547, 2002.

HONG, Z.; CHEN, W.; ZHAO, J.; WU, Z.; ZHOU, J.; LI, T.; HU, J. Hepatoprotective effects of *Rubus aleaefolius* Poir. and identification of its active constituents. **Journal of Ethnopharmacology,** v.129, n.2, p.267-272, 2010.

HUERTA-REYES, M., BASUALDO, M. C., ABE, F., JIMENEZ-ESTRADA, M., SOLER, C., REYES-CHILPA, R. HIV-1 Inhibitory Compounds from *Calophyllum brasiliense* Leaves. **Biological & Pharmaceutical Bulletin,** v.2, n.9, p.1471-1475, 2004.

HUI, W.H. & HOI, C. T. An Examination of the Euphorbiaceae of Hong Kong. **Australian Journal of Chemistry**, v.21, p.1675-7, 1968.

ITO, C.; ITOIGAWA, M.; MISHINA, Y.; CECHINEL FILHO, V.; MUKAINAKA, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; FURUKAWA, H. Chemical constituents of *Calophyllum brasiliense*: Structure elucidation of seven new xanthones and their cancer chemopreventive activity. **Journal of Natural Products**, v.65, n.3, p.267-272, 2002.

ITO, C.; MURATA, T.; ITOIGAWA, M.; NAKAO, K.; KANEDA, N.; FURUKAWA, H. Apoptosis inducing activity of 4-substituted coumarins from Calophyllum brasiliense in human leukaemia HL-60 cells. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.58, n.7, p.975-980, 2006.

JANG, M.K.; LEE, H.J.; KIM, J.S.; RYU, J.H. A curcuminoid and two sesquiterpenoids from *Curcuma zedoaria* as inhibitors of nitric oxide synthesis in activated macrophages. **Archives of Pharmacal Research**, v.27, n.12, p.1220-1225, 2004.

JANG, M.K.; SOHN, D.H.; RYU, J.H. A curcuminoid and sesquiterpenes as inhibitors of macrophage TNF-alpha release from *Curcuma zedoaria*. **Planta Medica**, v.67, n.6, p.550-552, 2001.

JANSEN, B. J. M. & GROOT, A. the occurrence and biological activity of drimane sesquiterpenoids. **Natural Product Reports,** v.8, n.3, p.309-318, 1991.

JANSEN, B. J. M. & GROOT, A. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. **Natural Product Reports,** v.21, p.449-477, 2004.

JEWERS, K.; MANCHANDA, A. H.; CATILLO, A. V. The constituents of *Allamanda cathartica* L. **Asian Journal of Pharmacy**, v.2, n.1, p.5-10, 1971.

JEWERS, K.; COPPEN, J. J. W.; MANCHANDA, A. H.; PAISLEY, H. M.; CASTILLO, A. Biologically activite lactonas of *Allamanda cathartica*. **Pahlavi Medicinal Journal**, v.6, n.1, p.52-62, 1975.

JOLY A. B**. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal.** 10. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1991, 777p.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**.12.ed. São Paulo: Editora Nacional, 1998, 777p.

JUNIOR, A. G., FERREIRA, I,C. P., NAKAMURA, C, V., FILHO, B. P. D., JACOMASSI, E., YOUNG, M. C. M., CORTEZ, D. A. G. Estudo morfo-anatômico das folhas e caule da *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma contribuição ao estudo farmacognóstico da droga vegetal. **Acta Farm. Bonaerense**,v.24, n.3, p.371-376, 2005.

KANEGUSUKU, M.; BENASSI, J.C.; PEDROSA, R.C.; YUNES, R.A.; FILHO, V.C.; AIA, A.A.; DE SOUZA, M.M.; DELLE MONACHE, F.; NIERO, R. Cytotoxic, hypoglycemic activity and phytochemical analysis of Rubus imperialis (Rosaceae). **Zeitschrift für Naturforschung C A Journal of Biosciences**. v. 57, n. 3-4, p. 272-276, 2002.

KHAN, M. M., AHMAD, F., RASTOGI, A. K., KIDWAI, J. R.. Insulinogenic and hypoglycemic activities of *Ipomoea pes-caprae*. **Fitoterapia.** v. 65, p. 231-234, 1994.

KIM, K.I.; KIM, J.W.; HONG, B.S.; SHIN, D.H.; CHO, H.Y.; KIM, H.K.; YANG, H.C. Antitumor, genotoxicity and anticlastogenic activities of polysaccharide from *Curcuma zedoaria*. **Molecules and Cells.** v. 10, n. 4, p. 392-398, 2001.

KIM, D.I.; LEE, T.K.; JANG, T.H.; KIM. C.H. The inhibitory effect of a Korean herbal medicine, Zedoariae rhizoma, on growth of cultured human hepatic myofibroblast cells. **Life Sciences**, v. 77, n. 8, p. 890-906, 2005.

KIMURA, S.; ITO, C.; JYOKO, N.; SEGAWA, H.; KURODA, J.; OKADA, M.; ADACHI, S.; NAKAHATA, T.; YUASA, T.; FILHO, V.C.; FURUKAWA, H.; MAEKAWA, T. Inhibition of leukemic cell growth by a novel anti-cancer drug (GUT-70) from *calophyllum brasiliense* that acts by induction of apoptosis. **International Journal of Cancer**, v.113, n.1, p.158-165, 2005.

KNOESS, W.; ZAPP, J. Accumulation of furam labdane diterpenes in *Marrubium vulgare* and *Leonurus cariíaca*.

Planta Medica, v.64, n.4, p.357-361, 1998.

KOWALEWSKI, Z.; MATLAWSKA, I. Flavonoid compounds in the herb *Marrubium vulgare*. **Herba Polonica,** v.24, n.4, p.183-6, 1978.

KREJEI, I.; ZADINA, R. Choleretic action of marrubiin and marrubic acid. **Planta Med**ica, v.7, p. 1-7, 1959.

KROGH, R. **Isolamento e identificação de triterpenos friedelanos de *Maytenus robusta* Reiss.** Florianópolis, 1996.Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis.

KROGH, R.; KROTH, R.; BERTI, C.; MADEIRA, A.O.; SOUZA, M.M.; CECHINEL-FILHO, V.; DELLE-MONACHE, F.; YUNES, R.A. Isolation and identification of compounds with antinociceptive action from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. **Pharmazie**, v.54, n.6, p.464-466, 1999.

KUPCHAN, S. M.; DESSERTINE, A. L.; BLAYLOCK, B. T.; BRUAN, R. F. Isolation and structural elucidation of allamandin, an antileukemic iridoid lactone from *Allamanda cathartica*. **The Journal of Organic Chemistry**, v.39, n.17, p.2477-84, 1974.

LAI, E. Y. C.; CHYAU, C-C.; MAU, J-L.; CHEN, C-C.; LAI, Y-J.; SHIH, C-F.; LIN, L-L. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the essential oil of *Curcuma zedoaria*. **American Journal of Chinese Medicine** , v.32, p.281-290, 2004.

LEE, S.K.; HONG, C.H.; HUH, S.K.; KIM, S.S.; OH, O.J.; MIN, H.Y.; PARK, K.K.; CHUNG, W.Y.; HWANG, J.K. Suppressive effect of natural sesquiterpenoids on inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) activity in mouse macrophage cells. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v.21, n.2, p.141-148, 2002.

LI, B.Y.; HU, Y.; LIANG, Y.Z.; XIE, P.S.; DU, Y.P. Quality evaluation of fingerprints of herbal medicine with chromatographic data. **Analytica Chimica Acta**, v.21, p.1-9, 2006.

LINO, C. S.; DIOGENES, J.P.L.; PEREIRA, B.A.; FARIA, R.A.P.G.; ANDRADE NETO, M.; ALVES, R.S.; QUEIROZ, M.G.R.; SOUZA, F.C.F.; VIANA, G.S.B. Antidiabetic Activity of *Bauhinia forficata* Extracts in Alloxan-Diabetic Rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.27, n.1, p.125-127, 2004.

LITTLE, J.E.; JOHNSTONE, D.B. Plumericin; an antimicrobial agent from *Plumeria multiflora.* **Archives of Biochemistry**, v.30, n.2, p.445 -452, 1951.

LIU, H.; LI, S.; ZHAO, Y.; HAO, X.; LI, J.; HUA, Y.; XIE, B.; QING, C.; CHEN, C. Four new podocarpane-type trinoditerpenes from *Aleurites moluccana*. **Helvetica Chimica Acta**, v.90, p.2017-2023, 2007.

LIU, H.; DI, Y.; YANG, J.; TENG, F.; LU, Y.; NI, W.; CHEN, C.; HAO, X. Three novel 3,4-seco-podocarpane trinorditerpenoids from *Aleurites moluccana*. **Tetrahedron Letters**, v.49, p.5150-5151, 2008.

LOBO, R.; PRABHU, K.S.; SHIRWAIKAR, A.; SHIRWAIKAR, A. *Curcuma zedoaria* Rosc. (white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology**,. v. 61, n. 1, p. 13-21, 2009.**

LOC, N.H.; DIEM, D.T.; BINH, D.H.; HUONG, D.T.; KIM, T.G.; YANG, M.S. Isolation and characterization of antioxidation enzymes from cells of zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe) cultured in a 5-l bioreactor. **Molecular Biotechnology**, v.38, n.1, p.81-87, 2008.

LOCHER, C.P.; BURCH, M.T.; MOWER, H.F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; VAN POEL, B.; LASURE, A.; VANDEN BERGHE, D.A.; VLIETINCK, A.J. Anti-microbial activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.49, p.23-32, 1995.

LOCHER CP, WITVROUW M, BÉTHUNE M, BURCH MT, MOWER HF, DAVIS H, LASURE A, PAUELS R, CLERQ E, VLIETINCK AJ, ISAAC O. Antiviral activity of Hawaiian medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). **Phytomedicine**, v.2, p. 259-264, 1996.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais do Brasil.** 4. ed. Nova Odessa: Instituto Platarum 2008, 1130p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002, 312p.

LUSA, M.G.; BONA, C. Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Acta Botanica Brasilica,** v.23, n.1, p.196-211, 2009.

MAKABE, H.; MARU, N.; KUWABARA, A.; KAMO, T.; HIROTA, M. Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Curcuma zedoaria.* **Natural Products Research**, v.20, n.7, p.680-685, 2006.

MALHEIROS, A. **Estudo químico e avaliação de atividade antibacteriana da *Allamanda cathartica* (Apocynaceae).** 1995. 98p. Dissertação (Mestrado) - Departamentto de Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

MALHEIROS, A.; SCHUQUEL, I.T.A.; VIDOTTI, G.J. Atribuição inequívuoca de deslocamentos de RMN ^{1}H e ^{13}C de plumierídeo isolado de *Allamanda cathartica*. **Química Nova**, v.20, n.5, p.457-459, 1997.

MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; SCHMITT, B.C.; SANTOS, S.R.A.; SCHEIDT, C.; CALIXTO, B.J.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, A.R.A. Sesquiterpene drimane with antinoceptive activity from *Drimys winteri* bark. **Phytochemistry**, v.57, p.103-107, 2001.

MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; SCHMITT, C.B.; YUNES, R.A.; ESCALANTE, A.; SVETAZ, L.; ZACCHINO, S.; MONACHE, F.D. Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassay-guided fractionation. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v.8, p.335-339, 2005.

MALHEIROS, A.; BITTENCOURT, C.M.S.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; Considerações gerais sobre aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais. In: BRESOLIN, T.M.B.; CECHINEL FILHO, V. (ORG.). **Fármacos e Medicamentos: Uma abordagem multidisciplinar.** São Paulo: Santos, 2009, p. 16-44..

MARTINI, L. H.; CERESER, L.; ZANONATO JUNIOR, I.; JARDIM, F.M.; ALVES, V.D.A.; FRIZZO, M.E.S; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B.; WOFCHUCK, S.; SOUZA, D.O. The sesquiterpenes polygodial and drimanial in vitro affect glutamatergic transport in rat brain**. Neurochemical Research**, n.3, p.431-438, 2006.

MARTINI, L. H; JUNG, F.; SOARES, F.A.; ROTTA, L.N.; VENDITE, D. A.; FRIZZO, M.E.S.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B; WOFCHUCK, S.; SOUZA, D.O. Naturally occurring compounds affect glutamatergic neurotransmission in rat brain, **Neurochemical Research**, v. 32, n.11, p.1950-1956, 2007.

MARTIN-NIZARD, F.; SAHPAZ, S.; FURMAN, C.; FRUCHART, J.C.; DURIEZ, P.; BAILLEUL, F. Natural phenylpropanoids protect endothelial cells against oxidized LDL-induced cytotoxicity. **Planta Medica**, v.69, n.3, p.207-211, 2003.

MARTUCCIELLO, S.; BALESTRIERI, M. L.; FELICE, F.; ESTEVAM, C.S.; SANT'ANA, A.E.G.; PIZZA, C.; PIACENTE, S. Effects of triterpene derivatives from *Maytenus rigida* on VEGF-induced Kaposi's sarcoma cell proliferation. **Chemico-Biological Interactions,** v.183, n.3, p.450-45412, 2010.

MASOODI, M.H.; BAHAR, A.;AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY VOL..;.;.;.;.;. ZARGAR, I.M.; KHAN, A.S.; KHAN, S.;SINGH, P. Antibacterial activities of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. **African Journal of Biotechnology**, v.7, n.2, p.86-87, 2008.

MATKOWSKI, A.; PIOTROWSKA, M. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. **Fitoterapia**, v.77, n. 5, p. 346-353, 2006.

MATOS, D.C.S.; MEYRE-SILVA, C.; SILVA, R.L.; CECHINEL-FILHO, V.; BRESOLIN, T.M.B. Assay of total flavonoids in dried extract of *Aleurites moluccana*. **Latin American of Pharmaceutical Journal,** *in press*, 2010.

MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; MORIKAWA, T.; YOSHIKAWA, M. Inhibitory effect and action mechanism of

sesquiterpenes from *Zedoariae Rhizoma* on D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver injury. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.8, n.4, p.339-344, 1998.

McKEE, T.C.; COVINGTON, C.D.; FULLER, R.W.; BOKESCH, H.R.; YOUNG, S.; CARDELLINA II, J.H.; KADUSCHIN, M.R.; SOEJARTO, D.D.; STEVENS, P.F.; CRAGG, G.M.; BOYD, M.R. Pyranocoumarins from tropical species of the genus *Calophyllum*: a chemotaxonomic study of extracts in the National Cancer Institute Collection. **Journal of Natural Products**, v.61, p.1252-1256, 1998.

MENDES, G.L.; SANTOS, A.R.S.; CAMPOS, M.M.; TRATSK, K.S.; YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V.; CALIXTO, J.B. Anti-hiperalgesic properties of the extract and the main sesquiterpene polygodial isolated from the barks *Drimys winteri*. **Life Sciences**, v.63, n.5, p. 69-381, 1998.

MENDES, G.L.; SANTOS, A.R.S.; MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, RA;. CALIXTO, J.B. Assessment of mechanisms ivolved in antinociception caused by sesquiterpene polygodial. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.292, n.1, p.164-172, 2000.

MENEZES, F. de S.; MINTO, A.B.M; RUELA, H.S. KUSTER, R.M.; SHERIDAN, H.; FRANKISH, N. Atividade hipoglicemiante de duas espécies de Bauhinia brasileira: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz.. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p. 8-13, 2007.

MEYRE-SILVA, C. **Determinação de princípios ativos presentes na *Aleurites moluccana L.* (Willd.) (Euphorbiaceae)**. 2000. 86f. Dissertação (Mestrado) – Química Orgânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

MEYRE-SILVA, C.; MORE, T.C.; YUNES, R.A.; SANTOS, A.R.S.; DAL MAGRO, J.; DELLE-MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V. A triterpene and a flavonoid C-glycoside from *Aleurites moluccana* L. Willd. (Euphorbiaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.16, n.3, p.169-172, 1997.

MEYRE-SILVA, C.; MORA, T. C.; SANTOS, A. R. S.; DAL MAGRO, J.; YUNES, R. A.; CECHINEL-FILHO, V. Preliminary phytochemical and pharmacological studies of Aleurites moluccana leaves (L.) Willd. **Phytomedicine,** v.5, n.2, p.109-113, 1998.

MEYRE-SILVA, C.; YUNES, R.A.; SANTOS, A.R.S.; DAL MAGRO, J.; DELLE-MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V. Isolation of a C-glycoside flavonoid with antinociceptive action from *Aleurites moluccana* leaves**. Panta Medica,** v.65, n.3, p.293-294, 1999.

MEYRE-SILVA, C.; YUNES, R.A.; SCHLEMPER, V.; CAMPOS-BUZZI, F.; CECHINEL-FILHO, V. Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene present in *Marrubium vulgare* (Lamiaceae). **Il Farmaco**., v.60, n .4, p.321-326, 2005.

MOLINA-SALINAS, G.M.; RAMOS GUERRA, M.C.; VARGAS VILLAREAL, J.; MATA CÁRDENAS, D.B.; BECERRIL-MONTES, P.; SAID-FERNÁNDEZ, S. Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. **Archives of Medical Research**, v.37, p.45-49, 2006.

MÜLLER, V.; CHÁVES, J.H.; REGINATTO, F.H.; ZUCOLOTTO, S.M.; NIERO, R.; NAVARRO, D.; YUNES, R.A.; SCHENKEL, E.P.; BARARDI, C.R.; ZANETTI, C.R.; SIMÕES, C. M. Evaluation of antiviral activity of South American plants extracts agaist herpes simplex virus type 1 and rabies virus. **Phytother Research**, v.21, p.970-974, 2007.

NAM, J.H.; JUNG, H.J.; CHOI, J.; LEE, K.T.; PARK, H.J. The anti-gastropathic and anti-rheumatic effect of niga-ichigoside F1 and 23-hydroxytormentic acid isolated from the unripe fruits of *Rubus coreanus* in a rat model. **Biological Pharmaceutical Bulletin,** v.29, p.967-970, 2006.

NAVARRO, D.D.E.F.; DE SOUZA, M.M.; NETO, R.A.; GOLIN, V.; NIERO, R.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical analysis and analgesic properties of *Curcuma zedoaria* grown in Brazil.**Phytomedicine**, v.9, n.5, p.427-432, 2002.

NAWWAR, M.A.M.; EL-MOUSALLAMY, A.M.D.; BARAKAT, H.H.; BUDDRUS, J.; LINSCHEID, M. Flavonoid lactates

from leaves of *Marrubium vulgare*. **Phytochemistry,** v.28, n.11, p.3201-3206, 1989.

NIERO, R.; MONTANARI, J. L.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; SOUZA, M. M.; YUNES, R. A. Antinociceptive activity of Niga-ichigosidef1 from *Rubus imperialis* (Rosaceae). **Journal of Natural Products**, v.62, n.8, p.1145-1146, 1999.

NIERO,R.; MOSER,R.; BUSATO, A.C.; YUNES, R.A.; REIS, A., FILHO, V. C. A comparative chemical study os *Maytenus ilicifolia* Mart. Reiss and *Maytenus robusta* Reiss (Celastraceae). **Zeitschrift für Naturforschung C A Journal of Biosciences,** v.56, p.158-161, 2001.

NIERO, R.; KANEGUSUKU, M.; SOUZA, M. M.; YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Antinociceptive action of extracts and fractions from *Rubus imperialis* (Rosaceae). **Thérapie**, v.57, n.3, p.242-245, 2002.

NIERO, R.; MAFRA, A. P.; LENZI, A. C. DELLE MONACHE F.; DELLE MONACHE G.; CECHINEL FILHO V. A new triterpene with antinociceptive activity from *Maytenus robusta*. **Natural Product Research**, v.20, n.14, p.1315-1320, 2006.

NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V. Therapeutic Potential and Chemical Composition of Plants from the Genus *Rubus*: A Mini Review of the Last 10 Years. **Natural Products Communications** (Online), v.3, p.437-444, 2008.

NIERO, R. Fármacos, fitofármacos e fitoterápicos: abordagem econômica e de mercado. In: BRESOLIN, T.M.B.; CECHINEL FILHO, V. (ORG.). **Fármacos e Medicamentos: Uma abordagem multidisciplinar.** São Paulo: Santos, 2009, p. 1-16.

NOLDIN, V. F., ISAIAS, D. B., CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Química Nova**, v.29, n.3, p.549-554, 2006.

NOVAES, A.P.; ROSSI, C.; POFFO, C.; PRETTI JÚNIOR, E.; OLIVEIRA, A.E.; SCHLEMPER, V.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; BÜRGER, C. Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. **Therapie**, v.56, n..4, p.427-430, 2001.

OH, O.J.; MIN, H.Y.; LEE, S.K. Inhibition of inducible prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 expression by curdione from *Curcuma zedoaria*. **Archives of Pharmacal Research**, v.30, n.10, p.1236-1239, 2007.

PAI, B. R.; SUBRAMANIAM, P. S.; RAO, U. R. Isolation of plumericin and isoplumericin from *Allamanda cathartica* Linn. **Indian Journal Chemical**,, v.9, p.851, 1970.

PAMPLONA, C.R.; DE SOUZA, M.M.; MACHADO, M.D.A.S.; CECHINEL FILHO, V.; NAVARRO, D.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F.; NIERO, R. Seasonal variation and analgesic properties of different parts from *Curcuma zedoaria* Roscoe (Zingiberaceae) grown in Brazil. **Zeitschrift für Naturforschung C A Journal of Biosciences**, v.61, n.1-2, p.6-10, 2006.

PATEL, A.V., ROJAS-VERA, J.; DACKE, C.G. Therapeutic constituents and actions of *Rubus species*. **Current Medicinal Chemistry**, v.11, p.1501-1512, 2004.

PEDROSA, R.C.; MEYRE-SILVA, C.; CECHINEL-FILHO, V.; BENASSI, J.C.; OLIVEIRA, L.F.S; ZANCANARO, V.; DAL MAGRO, J.; YUNES, R.A. Hypolipidaemic activity of methanol extract of *Aleurites moluccana*. **Phytotherapie Research**, v.16, p.1-4, 2002.

PENG, C.H.; CHIU, W.T.; JUAN, C.W.; MAU, J.L.; CHEN, C.C.; PENG, C.C.; LAI, E.Y.; CHYAU, C.C. Pivotal role of curcuminoids on the antimutagenic activity of *Curcuma zedoaria* extracts. **Drug and Chemical Toxicology**, v.33, n.1, p.64-76, 2010.

PEPATO, M.T.; KELLER, A.M.; BAVIERA, A.M.; KETTELHUT, I.C.; VENDRAMINI, R.C.; BRUNETTI, I.L. Anti-diabetic activity of *Baunhinia forficata* decoction in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.81, p.191-197, 2002.

PESSUTO, M.B.; COSTA, I.C.; SOUZA, A.B.; NICOLI, F.M.; MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; LUFTMANN, H. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova,** v.32, n.2, p.412-416, 2009.

PHILIPPI, M.E.; DUARTE, B.M.; DA SILVA, C.V.; DE SOUZA, M.T.; NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; BUENO, E.C. Immunostimulatory acivity of *Calophyllum brasiliense, Ipomoea pes-caprae* and *Matayba elaeagnoides* demonstrated by human peripheral blood mononuclear cells proliferation. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v.67, n.1, p.69-73, 2010.

PIO CORRÊA, P.M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.5, 1984, p.294-295.

PIZZOLATTI, M.G.; CUNHA JR., A.; SZPOGANICZ, B.; SOUSA, E. Flavonoids glycosides from leaves and flowers of *Bauhinia forficata* (Leguminosae). **Química Nova**, v.26, n.4, p.466-469, 2003.

PONGPRAYOON, U.; BOHLIN, L.; SANDBERG, F.; WASUWAT, S. Inhibitory effect of extract of *Ipomoea pes-caprae* on guinea-pig ileal smooth muscle. **Acta Pharmaceutica Nordica**, v.1, p. 41-44, 1989.

PONGPRAYOON, U.; BOHLIN, L.; WASUWAT, S. Neutralization of toxic effects of different crude jellyfish venoms by an extract of *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 65-69, 1991a.

PONGPRAYOON, U.; BAECKSTRÖM, P.; JACOBSSON, U.; LINDSTRÖM, M.; BOHLIN, L. Compounds inhibiting prostaglandin synthesis isolated from *Ipomoea pes-caprae.* **Planta Medica**, v. 57, n. 6, p. 515-518, 1991b.

PONGPRAYOON, U.; BAECKSTRÖM, P.; JACOBSSON, U.; LINDSTRÖM, M.; BOHLIN, L. Antispasmodic activity of beta-damascenone and E-phytol isolated from *Ipomoea pes-caprae.* **Planta Medica**, v. 58, n. 1, p. 19-21, 1992.

POPA, D.P.; PASECHNIK, G.S. Marrubiol, a new diterpenoid from *Marrubium vulgare*. **Him Prir Soedin**, v.4, n.6, p.345-8, 1968.

AVAILABLE ONLINE AT HTTP://WWW.ACADEMICJOURNALS.ORPOPA, D.P.; **, SHAMSHIR KH** SALEI, L.A. Diterpenoids of the genus *Marrubium* (horehound). **Rastitel'nye Resursy**, v.9, n.3, p.384-7, 1973.

POPA, D.P.; PASECHNIK, G.S. Structure of vulgarol – new diterpenoid from *Marrubium vulgare*. **Him Prir Soedin**, v.11, n.6, p.722-8, 1975.

PRETTO, J. B. **Potencial antimicrobiano de extratos, frações e compostos puros obtidos de algumas plantas da flora catarinense**. Dissertação do Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2004

PRETTO, J. B.; CECHINEL FILHO, V.; NOLDIN, V. F.; SARTORI, M. R. K.; ISAIAS, D. E. B.; BELLA CRUZ, A. Antimicrobial Activity of Fractions and Compounds from *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae/Guttiferae). **Zeitschrift für Naturforschung C A Journal of Biosciences**, v. 59c, p. 657-662, 2004.

QUINTÃO, N. L. M.; MEYRE-SILVA, C.; SILVA, G. F.; ANTONIALLI, C. S.; ROCHA, L. W.; LUCINDA-SILVA, R. M.; MALHEIROS, A.; SOUZA, M. M.; CECHINEL FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B. *Aleurites moluccana* leaves: a potential anti-hypernociceptive herbal medicinal product. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, *submitted*, 2010.

REYES, C. P.; NUNEZ M, J.; JIMENEZ, I. A.; BUSSEROLLES, J.; ALCARAZ, M. J.; BAZZOCCHI, I. L. Activity of lupane triterpenoids from *Maytenus* species as inhibitors of nitric oxide and prostaglandin E2. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v.14, n.5, p.1573-1579, 2006.

REYES-CHILPA, R., ESTRADA-MUÑIZ, E., VEGA-AVILA, E., ABE, F., KINJO, J., HERNÁNDEZ-ORTEGA, S. Trypanocidal constituents in plants. 7. Mammea-type coumarins. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.103, n.5, p.431-436, 2008.

REYES-CHILPA, R.; JIMENEZ-ESTRADA, M.; ESTRADA-MUÑIZ, E. Antifungal xanthones from *Calophyllum brasiliense*

heartwood. **Journal of Chemical Ecology**, v.23, p.1901-1911, 1997.

REYES-CHILPA, R.; BAGGIO, C.H.; ALAVEZ-SOLANO, D.; ESTRADA-MUÑIZ, E.; KAUFFMAN, F.C.; SANCHEZ, R.I.; MESIA-VELA, S. Inhibition of gastric H+,K+-ATPase activity by flavonoids, coumarins and xanthones isolated from Mexican medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.105, n.1-2, p.167-172, 2006.

RODRIGUES, C.A.; SAVI, A.O.S.; SCHLEMPER, V.; REYNAUD, F.; CECHINEL-FILHO, V. An improved extraction of marrubiin from *Marrubium vulgare*. **Chromatographia**, v.47, n.7/8, p.449-450, 1998.

ROGERS, K.L.; GRICE, I.D.; GRIFFITHS, L.R. Inhibition of platelet aggregation and 5-HT release by extracts of Australian plants used traditionally as headache treatments. **European Journal of Pharmaceutical Sciences,** v.9, n.4, p.355-363, 2000.

ROMÁN RAMOS, R.; ALARCÓN-AGUILAR, F.; LARA-LEMUS, A.; FLORES-SAENZ, J.L. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. **Archives of Medical Research,** v.23, n.1, p.59-64, 1992.

RUIZ-MARCIAL, C.; REYES CHILPA, R.; ESTRADA, E.; REYES-ESPARZA, J.; FARIÑA, G.G.; RODRÍGUEZ-FRAGOSO, L. Antiproliferative, cytotoxic and antitumour activity of coumarins isolated from *Calophyllum brasiliense*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.59, n.5, p.719-725, 2007.

RUSSO, E.M.; REICHELT, A.A.; DE-SÁ, J.R.; FURLANETTO, R.P.; MOISÉS, R.C.; KASAMATSU, T.S.; CHACRA, A.R. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. Brazilian. **Journal of Medical and Biological Research**, v.23, n.1, p.11-20, 1990.

SAHPAZ, S.; GARBACKI, N.; TITS, M.; BAILLEUL, F. Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, n.3, p.389-392, 2002.

SAID, T.; DUTOT, M.; CHRISTON, R.; BEAUDEUX, J.L.; MARTIN, C.; WARNET, J.M.; RAT, P. Benefits and side effects of different vegetable oil vectors on apoptosis, oxidative stress, and P2X7 cell death receptor activation. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.48, n.11, p.5000-5006, 2007.

SAID, T.; DUTOT, M.; LABBÉ, A.; WARNET, J.M.; RAT, P. Ocular burn: rinsing and healing with ionic marine solutions and vegetable oils. **Ophthalmologica**, v.223, n.1, p.52-59, 2009.

SARTORI, N.T.; CANEPELLE, D.; DE SOUSA, P.T. JR; MARTINS, D.T. Gastroprotective effect from *Calophyllum brasiliense* Camb. bark on experimental gastric lesions in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.67, n.2, p.149-156, 1999.

SATYANARAYANA, P.; KUMAR, K. A.; SINGH, S. K.; RAO, G. N. A new phorbol diester from *Aleurites moluccana*. **Fitoterapia**, v.72, p.304-306, 2001.

SCHAAB, E. H. **Estudos fitoquímicos e avaliação do potencial antileucêmico e antinociceptivo das raízes da *Allamanda schottii*.** 2005. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Curso de Farmácia, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí.

SCHEIDT, C.; SANTOS, S. R. A.; FERREIRA, J.; MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, A. R.; CALIXTO, B. J.; Evidence for the involvement of glutamatergic receptors in the antinociception caused in mice by the sesquiterpene drimanial. **Neuropharmacology**, v.43, p.340-347, 2002.

SCHLEMPER, V.; RIBAS, A., NICOLAU, M. CECHINEL-FILHO, V. Antiespasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues. **Phytomedicine**, v.3, p.211-16, 1996.

SCHMIDT, D. F. N.; YUNES, R. A.; SCHAAB, E. H., MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; FRANCHI Jr., G. C.; **NOWILL,** A. E.; CARDOSO, A. A.; YUNES, J. A. **Evaluation of the anti-proliferative effect the extracts of Allamanda blanchetti and A. schottii on the growth of leukemic and endothelial cells.** Journal of Pharmacy and Pharmacology Sciences, v.9, n.2, p.200-208, 2006.

SCHULTZ, A**. Introdução a Botânica Sistemática**. 4. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1984, 414p.

SEO, W.G.; HWANG, J.C.; KANG, S.K.; JIN, U.H.; SUH, S.J.; MOON, S.K.; KIM, C.H. Suppressive effect of *Zedoariae rhizoma* on pulmonary metastasis of B16 melanoma cells. **Journal of Ethnopharmacology,** v.101, n.1-3, p.249-257, 2005.

SHAMSUDDIN, T.; RAHMAN, W.; KHAN, A.S.; SHAMSUDDIN, K. M.; KINTZINGER, J. P. Moluccanin, a coumarinolignoid from *Aleurites moluccana*. **Phytochemistry**, v. 27, n.6, p.1908-1909, 1988.

SHARMA, P.; SINGH, G. A review of plant sepecies used to threat conjunctivitis**. Phytotherapie Research**, v.16, p.1-22, 2002.

SHIVANANDA, N.; POORNA, N.; STEVE, S.; VIDYASAGAR, B.; ANDREW, A. Evolution of wound healing activity of *Allamanda cathartica*. L.and *Laurus nobilis*.L.extracts on rats **BMC Complementry and Alternative Medicine**, v.5, n..6, p.12, 2006.

SILVA, C. M. ; YUNES, R.A. ; MONACHE, F.D. ; SANTOS, A.R.S. ; SCHMELING, LO; GADOTTI, VM ; LIZ, F ; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical and Pharmacological Analysis of *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr. (Leguminosae). **Zeitschrift für Naturforschung. C, A Journal of Biosciences**, v.56, p.939-942, 2001.

SILVA, F.R.; SZPOGANICZ, B.; PIZZOLATTI, M.G.; WILLRICH, M.A.; SOUSA, E. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.83, p.33-37, 2002.

SILVA, K.L.; CECHINEL-FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v. 25 (3), p. 449-454, 2002.

SIMÃO DA SILVA, K.A.B.**Caracterização dos efeitos do Plumierídeo, um iridóide isolado de *Allamanda cathartica L.* (Apocynaceae), em modelos de inflamação e dor**. 2007. 94 f. Trabalho de Conclusão de Curso (mestrado) – Mestrado em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B.E.; STHEHMANN, J. R. **Plantas Medicinais do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: UFRGS, 1986.

SISTI, M.; DE SANTI, M.; FRATERNALE, D.; NINFALI, P.; SCOCCIANTI, V.; BRANDI G. Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. **Food Science and Technology,** v.41, n.5, p.946-950, 2008.

SOUZA, M.M.; MADEIRA, A.; BERTI, C.; KROGH, R.; YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br.. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69; n.1, p. 85-90, 2000.

SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CRECZYNSKI-PASA, T.B.; PIZZOLATTI, M.G.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, F.R. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(alpha)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of Natural Products**, v. 67, n.5, p.829-32, 2004.

SOSA, S.; MORELLI, C. F.; TUBARO, A.; CAIROLI, P.; SPERANZA, G.; MANITTO, P. Anti-inflammatory activity of *Maytenus senegalensis* root extracts and of maytenoic acid. **Phytomedicine**, v.14, n.2-3, p.109-14, 2007.

SOUZA, M.M.; DE JESUS, R.A.P.; CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V. Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*. **Phytomedicine**, v.5, n.3, p.103-107, 1998.

SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P.Spouted bed drying of Bauhinia forficata link extract: the effects of feed atomizer position and operating conditions on equipment performance and product properties **Brazilian Journal of Chemical Engeneering**, v.22, n.2, p.239-247, 2005.

SOUZA, C.R.F.; GEORGETTI, S.R.; SALVADOR, M.J.; FONSECA, M. J. V.; OLIVEIRA, W.P. Antioxidant activity and physical-chemical properties of spray and spouted bed dried extracts of *Bauhinia forficata* . **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.45, n.2, p.209-218, 2009a.

SOUZA, M. D. O. C; BESERRA, A. M.; MARTINS, D. C.; REAL, V. V.; SANTOS, R. A.; RAO, V. S.; SILVA, R. M.; MARTINS,

D. T. *In vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* activity of *Calophyllum brasiliense* Camb. **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, p.452-458, 2009b.

STULZER, H.K.; TAGLIARI, M.P.; ZAMPIROLO, J.A.; CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.108, n.3, p.379-384, 2006.

SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. In vitro cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. **Fitoterapia**, v.78, n.3, p.223-226, 2007.

SYU, W.J.; SHEN, C.C.; DON, M.J.; OU, J.C.; LEE, G.H.; SUN, C.M. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. **Journal of Natural Products**, v.61, n.12, p.1531-1534, 1998.

TERAMACHI, F.; KOYANO, T.; KOWITHAYAKORN, T.; HAYASHI, M.; KOMIYAMA, K.; ISHIBASHI, M. Collagenase inhibitory quinic acid esters from *Ipomoea pes-caprae*. **Journal of Natural Products,** v.68, n.5, p.794-796, 2005.

TIWARI, T.N.; PANDEY, V.B.; DUBEY, N.K. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. **Phytotherapy**, v. 16, p. 393-394, 2002.

TOLARDO, R.; ZETTERMAN, L.; BITENCOURTT, D.R.; MORA, T.C.; DE OLIVEIRA, F.L; BIAVATTI, M.W.; AMOAH, S.K.; BÜRGER, C.; DE SOUZA, M.M. Evaluation of behavioral and pharmacological effects of *Hedyosmum brasiliense* and isolated sesquiterpene lactones in rodents. **Journal of Ethnopharmacology.** v.128, n.1, p.63-70, 2010.

TORPOCCO, V.; CHAVEZ. H.; ESTEVEZ-BRAUN, A.; RAVELO, A. G. New dammarane triterpenes from *Maytenus macrocarpa*. **Chemical Pharmaceutical Bulletin** v.55, n.5, p.812-814, 2007.

TRATSK, K. S.; CAMPOS, M. M.; VAZ, Z. R.; CECHINEL FILHO, V.; SCHLEMPER, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. Anti-allergic effects and edema inhibition caused by the extract of *Drimys Winteri*. **Inflammation Research,** n.46, p.509-514, 1997.

TRENTIN, A.P.; SANTOS, A.R.; GUEDES, A.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Antinociception caused by the extract of *Hedyosmum brasiliense* and its active principle, the sesquiterpene lactone 13-hydroxy-8,9-dehydroshizukanolide. **Planta Med.**n v.65, n.6, p.517-521, 1999.

TRINTA, E.F.; SANTOS, E. ***Winteráceas***. Flora ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1997, 19p.

TZENG, Y.-M.; CHEN, K.; RAO, Y.K.; LEE, M.-J. Kaempferitrin activates the insulin signaling pathway and stimulates secretion of adiponectin in 3T3-L1 adipocytes. **European Journal of Pharmacology**, v.607, p.27–34, 2009.

VELLOSA, J. C.; KHALIL, N. M.; FORMENTON, V. A. Antioxidant activity of *Maytenus ilicifolia* root bark. **Fitoterapia**, v.77, n.3, p.243-244, 2006.

VIEIRA, A. R.R., FEISTAUER, D., SILVA, V. P. Adaptação de espécies arbóreas nativas em um sistema agrossilvicultural, submetidas a extremos climáticos de geada na região de Florianópolis. **Revista Árvore**, v.27, n.5, p.627-634, 2003.

VOLPATO, G.T.; DAMASCENO, D.C.; RUDGE, M.V.; PADOVANI, C.R.; CALDERON, I.M. Effect of *Bauhinia forficata* aqueous extract on the maternal-fetal outcome and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.116, p.131-137, 2008.

WASUWAT, S. Extract of *Ipomoea pes-caprae* (Convolvulaceae) antagonistic to histamine and jelly-fish poison. **Nature**, v.225, n.5234, p.758-759, 1970.

WEEL, K.G.C.; VENSKUTONIS, P.R.; PUKALSKAS, A.; GRUZDIENE, D.; LINSSEN, J.P.H. Antioxidant activity of horehound (*Marrubium vulgare* L.) grown in Lithuania. **Fett-Lipid**, v.101, n.10, p.395-400, 1999.

WILSON, B.; ABRAHAM, G.; MANJU, V. S.; MATHEW, M.; VIMALA, B.; SUNDARESAN, S.; NAMBISAN, B. Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. **Journal of Ethnopharmacology**, v.99, p147-151, 2005.

XU, X.B.; QIN, X.M.; XU, J.D.; PANG, J.J. Effect of *Curcuma zedoaria* (Berg.) Bosc on the myoelectric activity of uterus in rats and study of its mechanisms. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.**, v.26, n.5, p. 34-337, 2001.

YOSHIOKA, T.; FUJII, E.; ENDO, M.; WADA, K.; TOKUNAGA, Y.; SHIBA, N.; HOHSHO, H.; SHIBUYA, H.; MURAKI, T. Antiinflammatory potency of dehydrocurdione, a zedoary-derived sesquiterpene. **Inflammation Research**, v.7, n.12, p.476-481, 1998.

ENSAIOS BIOLÓGICOS UTILIZADOS NA PESQUISA DE PRODUTOS NATURAIS

Cláudia Alexandra de Andrade
Josiane de Fátima Gaspari Dias
Marilis Dallarmi-Miguel
Michel Otuki
Obdulio Gomes Miguel
Paulo Roberto Wunder
Roberto Pontarolo
Sandra Maria Warumby Zanin
Silvana Krychak-Furtado

INTRODUÇÃO

A resistência dos agentes patogênicos aos fármacos convencionais tem levado pesquisadores a buscar novas substâncias de origem natural tanto para uso humano quanto veterinário. Os fármacos vegetais representam uma grande parcela nas descobertas de novos medicamentos, e a pesquisa desses medicamentos apresentam inúmeras limitações.

O isolamento de substâncias puras, identificação e avaliação da atividade biológica compõem aspectos fundamentais na cadeia de triagem de possíveis substâncias ativas de origem vegetal.

Considerando a variabilidade botânica e fitoquímica dessas espécies vegetais, convém investir esforços na fitoquímica aplicada aos ensaios *in vitro* com o objetivo de avaliar atividades biológicas de maneira mais econômica, rápida e ética.

A literatura especializada traz uma grande variedade de testes, o que pode dificultar a escolha do melhor método a ser seguido. A existência de diversos testes também dificulta a comparação de dados com a literatura disponível. É sabido que tanto a escolha do método de extração (fitoquímica) quanto o método de análise sobre o organismo-alvo podem determinar o sucesso ou o descarte de uma planta em questão, pois esses são fatores fundamentais para a evidenciação do potencial de atividade biológica da espécie vegetal.

Dentre as atividades existentes, inúmeros grupos de pesquisa buscam compostos com possível influência alelopática, ação sobre neutrófilos, ação antioxidante, efeitos na melanogênese e ação antiparasitária. Esses ensaios, os quais podem ser utilizados para extratos brutos, frações, substâncias isoladas e óleos fixos, encontram-se neste capítulo.

Tais ensaios podem auxiliar e conduzir o fracionamento e o isolamento de compostos com atividade biológica e direcionar a pesquisa de acordo com sua especificidade.

ATIVIDADE ALELOPÁTICA

O termo alelopatia foi criado em 1937 pelo alemão Hans Molish, por meio das palavras *allelon* (mútuo) e *pathos* (prejuízo), usando essa definição em seu trabalho "A influência de uma planta sobre a outra – Alelopatia". Posteriormente foi definida pela *International Allelopathy Society* como processos que envolvem a produção de metabólitos secundários por plantas e microrganismos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos com efeitos positivos e negativos. Diferentes funções podem ser alteradas pelos agentes aleloquímicos, pois eles podem influenciar várias reações bioquímicas (RICE, 1984; ALMEIDA, 1988; PINTO *et al.*, 2002; BOGATEK & GNIASDOWSKA, 2007).

Nessa perspectiva, a alelopatia pode ser utilizada no controle de doenças, insetos e plantas daninhas que acometem plantas medicinais, proporcionando matéria-prima com qualidade para a indústria de fitoterápicos. Ainda, a influência ocorrida em microrganismos e células por meio de metábolitos oriundos de vegetais pode ser considerada um processo alelopático.

MÉTODOS PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA

Ao influenciar diferentes funções, diversos testes para avaliar a atividade alelopática podem ser conduzidos. Esses testes podem ser utilizados para triagem da atividade alelopática e de outras atividades biológicas e/ou para avaliar a atividade enzimática da plântula em teste frente às amostras testadas. Adicionalmente oportuniza-se o fracionamento e acelera-se a pesquisa fitoquímica.

Atividade alelopática utilizando papel de filtro

A metodologia foi adaptada de Macías *et al.*, 2000; Chon *et al* , 2005 e Dias *et al.*, 2005; esse método utiliza sementes de *Lactuca sativa* L. por apresentar germinação rápida e uniforme (DIETZ & WINTERHALTER, 1996). As amostras são dissolvidas em solventes, os quais devem ser testados juntos para descartar a influência deles. O ensaio inicia-se com a diluição das amostras em solvente apropriado e preparo de uma solução-mãe na proporção de 1mg/ mL. Trabalhando em duplicata (avaliação da germinação e do crescimento), diferentes concentrações são colocadas em 3mL de solvente. Essas concentrações são colocadas em papel de filtro recortado do tamanho das caixas gerbox (caixas de poliestireno cristal, quadradas com 11cm e 3,5cm de altura, contendo tampas) e colocadas em estufa a 60 ºC por 24 horas. Os papéis de filtro secos são colocados nos gerbox e umedecidos com água destilada em quantidade de duas a três vezes o peso do papel (KRZYZANOWSKI *et al.*, 1999). Coloca-se 10 sementes de *Lactuca sativa* L. em cada caixa em quatro repetições, protege m-se os gerbox da luz com papel alumínio e coloca-os em germinador de câmara à temperatura de 20 ºC. Para controle, utiliza-se água destilada e o solvente utilizado nas diluições sob as mesmas condições do ensaio. Para o estudo da germinação, faz-se leitura diária até o sétimo dia. As sementes são consideradas germinadas, conforme descrito por De Feo *et al.* (2002) e Adegas *et al.* (2003), ou seja, quando se torna visível à protrusão da radícula por tegumento. Calcula-se o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962), para cada repetição de cada tratamento (KRZYZANOWSKI *et al*, 1999). A avaliação do crescimento é realizada apenas ao sétimo dia de experimento com abertura das caixas e retirada das plântulas uma a uma para medir o comprimento da radícula e do hipocótilo. Os resultados das leituras de crescimento e germinação são submetidos à avaliação estatística para comparação das médias.

Atividade alelopática utilizando cromatoplaca (Alelopatografia)

Metodologia aplicada de Dias (2005), a qual é empregada para testar a atividade alelopática de substâncias isoladas, puras ou em mistura, com rapidez e eficiência, utilizando como ferramenta a cromatografia em camada delgada (cromatofolha silicagel 60 F 254). Ao trabalhar com mistura de substâncias, obtém-se a separação para visualização da influência alelopática. A amostra a ser analisada é diluída em solvente apropriado (50μL) e distribuída uniformemente em cromatoplaca. Após eluição da fase móvel e secagem do solvente, visualizam-se os compostos sob luz visível e ultravioleta (UV) a 365nm e 254nm. O local dos compostos é demarcado e as placas são colocadas em estufa 60 ºC por 24 horas. São preparadas duas placas para o ensaio (avaliação da germinação e crescimento) e placas-controle são preparadas apenas com aplicação do solvente utilizado na diluição da amostra, sob as mesmas condições do ensaio. Após o período de secagem, as placas são umedecidas com água destilada e depositam-se sementes de *L. sativa* na região previamente demarcada. O preparo dos gerbox e leituras da germinação e crescimento seguem o já descrito do item anterior.

Atividades enzimáticas

Material vegetal: compreende 2,0g de material fresco, que consiste nas plântulas submetidas a extratos brutos etanólicos, diferentes frações, substâncias isoladas e óleos fixos em diferentes concentrações, e o tempo de contato entre plântula e amostra vegetal dependerá da espécie da plântula utilizada. Para atividade peroxidase, catalase, polifenoloxidase e á-amilase, esse material fresco é macerado em gral com nitrogênio liquido. O pó resultante é homogeneizado com tampão fosfato de sódio, pH 7,0 50mM, contendo EDTA 2mM e ácido ascórbico 5mM. O sobrenadante é recolhido e utilizado como amostra (extrato enzimático) para os testes descritos a seguir, sendo o precipitado descartado (MARQUES & XAVIER FILHO, 1991). As amostras são acondicionadas a -18 °C até o momento do ensaio. Para atividade desidrogenase, o preparo da plântula é diferenciado como descrito posteriormente.

Atividade da peroxidase

O ensaio para determinação da peroxidase segue metodologia segundo Pütter (1974). O sistema de reação consiste em 0,96mL de tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,0), 20 μL de pirogalol 0,1M como substrato e 20 μL de H_2O_2, 0,1M em 100 μL de extrato enzimático. Na sequência, é realizada a leitura da absorbância em 470nm. A atividade peroxidásica/μg proteína é expressa em unidades de atividade enzimática (UAE), em que uma unidade corresponde a uma diferença de 0,001 de absorbância/minuto/μg de proteína (GRAY *et al.*, 1996).

Atividade da catalase

O ensaio para a determinação da catalase consiste na adição de 60 μL de H_2O_2 1M em uma mistura de reação contendo 3mL de tampão fosfato de sódio 50mM (pH 6,0) e 100 μL do extrato enzimático. O decréscimo do H_2O_2 é monitorado pela absorbância em 240nm, em intervalos de 10 segundos por um período de um minuto. A diferença de absorbância (ΔA240 nm), obtida por meio de regressão linear, é dividida pelo coeficiente de extinção molar do H_2O_2, 39,4 M/cm (AEBI, 1984). A atividade é expressa em μmol de H_2O_2 min/g MF.

Atividade da polifenoloxidase

Para o ensaio da polifenoloxidase, 0,1mL de extrato obtido é adicionado a 2,9mL de solução contendo 0,5% de guaiacol (v/v), 0,008% de H_2O_2 em tampão fosfato 0,1mol L-1 pH 6,0. O ensaio inicia pela adição da amostra, procedida por um minuto, quando se processa a leitura em 470nm. A atividade é definida como aumento de 0,1 unidade de absorbância por minuto (HALPIN & LEE, 1987).

Atividade da α-amilase

Para a determinação da α-amilase, 0,1mL do extrato enzimático é colocado em banho-maria a 70 ºC durante 20 minutos, completando o volume de 1mL com tampão e adicionando 1mL de solução de amido, permanecendo incubado a 30 ºC por 5 minutos. Depois é adicionado 1mL de lugol e 9mL de água destilada. A leitura é realizada em espectrofotômetro a 620 nm (AOAC, 1965). Os resultados são expressos em μg de amido hidrolizado/min/g de sementes.

Atividade da desidrogenase

A respiração potencial das células radiculares das plântulas é estimada por meio da redução do cloridrato de trifenil tetrazólio (TTC) pela atividade da desidrogenase e do surgimento do formazan. Para a avaliação dessa característica, as raízes são cortadas e, tomadas as suas massas, são transferidas para tubos de ensaio de 17×120mm, onde é acrescentado cloridrato de trifenil tetrazólio (TTC) 0,6% (p/v) em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0). Os tubos de ensaio são mantidos sob vácuo em dessecadores, por 2 horas, e transferidos para banho-maria a 30 ºC por 15 horas. Ao final desse tempo, as raízes são lavadas em água destilada, transferidas para o banho-maria (±100 ºC) e adiciona-se 7mL de etanol 95% (v/v). Decorridos 10 minutos, as soluções etanólicas obtidas são transferidas para outros tubos de ensaio e após o resfriamento em temperatura ambiente, cada solução é acrescida de 10mL de etanol 95% (v/v). As absorbâncias dessas soluções são lidas em 530nm (STEPONKUS & LANPHEAR, 1967).

AÇÃO SOBRE NEUTRÓFILOS

Neutrófilos humanos, em seu estado de repouso, expressam receptores para o componente C3 do complemento, e para a porção carboxi-terminal de imunoglobulinas, denominada de porção Fc (ROSS, 1982; FRADE *et al.*,1985). Quando essas células são ativadas por substâncias do tipo *phorbol myristate acetate,* (PMA) o número desses receptores aumenta na membrana celular (FEARON & COLLINS, 1983).

Posteriormente ao aumento de receptores de membrana, a estimulação de neutrófilos com partículas insolúveis ou agentes químicos solúveis resulta na ativação da enzima oxidase associada à membrana celular, seguindo-se a liberação de radicais ativos de oxigênio, tais como ânions, superóxidos e peróxido de hidrogênio. A detecção desses produtos gerados intensamente pelos mecanismos bioquímicos respiratórios da célula são interpretados como indicação de neutrófilos ativados *in vivo* (KLEBANOFF & HARMON, 1972).

O ensaio descrito a seguir procura detectar os radicais ativos de oxigênio, os quais reduzem o NBT (azul *p*-Nitrotetrazólio), formando um produto de coloração azul.

MÉTODO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE SOBRE NEUTRÓFILOS – TESTE DO *NBT* COM *PMA*

Para esse ensaio, utiliza-se técnica adaptada de Park & Good (1970), Levinsky *et al.* (1983) e Abreu *et al.* (2009). As lâminas são preparadas com soluções aquosas das amostras em teste, secas a temperatura ambiente. Para controle positivo, utiliza-se PMA (*phorbol 12-miristato 13-acetato*) e, para controles negativos, utiliza-se sangue sem tratamento e tratado com NBT (azul *p*-Nitrotetrazólio). Ao sangue total, coletado no dia do ensaio com EDTA, são adicionados água destilada e PBS (salina tamponada com fosfatos - pH 7,2) concentrada 4 vezes. Após centrifugação por 10 minutos a 2000rpm, o sobrenadante é desprezado e o sedimento é ressuspendido em PBS normal. Em um tubo contendo Ficoll Hypaque®, o sedimento é adicionado e centrifuga-se por 25 minutos a 1500rpm. O sedimento é ressuspenso em PBS normal e centrifugado por 10 minutos a 2000rpm. Após ressuspender o sedimento em PBS, a concentração de neutrófilos deve ser superior a $3x10^6$/mL; adicionar a suspensão de células nas lâminas previamente preparadas e incubar a 37 ºC em câmara úmida. Após incubação, lavar a lâmina com PBS, adicionar 1 ou 2 gotas de NBT e incubar a 37 ºC em câmara úmida. Lavar com PBS e secar. Corar a lâmina com safranina, lavar com água e secar ao ar.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Radicais livres são espécies químicas, geralmente muito reativas, que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados. Podem ser gerados durante o metabolismo normal das células, como podem também advir de agentes externos como o tabaco, certos poluentes, solventes orgânicos, pesticidas, radiações ionizantes e luz ultravioleta. As espécies reativas ou ativas formadas nos sistemas biológicos incluem radicais do oxigênio (espécies reativas de oxigênio - ERO), radicais do nitrogênio (espécies reativas de nitrogênio - ERN), radicais derivados de tióis ($RS^{\cdot}$), espécies reativas de cloro e de carbono, complexos com metais de transição e outros íons metálicos, bem como espécies não radicalares que podem ser facilmente convertidas em radical (VASCONCELOS *et al.*, 2007). Para inibir ou reduzir os danos causados às células por essas espécies reativas, os organismos vivos possuem mecanismos de defesa próprios, envolvendo substâncias antioxidantes, como certas variedades de enzimas, dentre as quais a superóxido dismutase, catalase, glutationa peroxidase, glutationa redutase. Substâncias provenientes da dieta como o ácido ascórbico, α-tocoferol, β-caroteno, compostos fenólicos e flavonoides também contribuem para os mecanismos de defesa.

Antioxidantes são definidos como substâncias que em concentrações bem mais baixas que os substratos oxidáveis retardam ou previnem significativamente a oxidação destes, tornando-os indisponíveis para produzirem espécies oxidantes (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

Em condições fisiológicas normais, há um equilíbrio entre a geração das espécies reativas e a sua inativação pelos sistemas antioxidantes, protegendo o organismo dos efeitos deletérios destes. Defesas antioxidantes inadequadas ou excesso de produção dessas espécies reativas resultam no processo denominado de estresse oxidativo.

As espécies reativas podem causar um grande número de desordens celulares ao reagir com lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos. Consequentemente, o processo de estresse oxidativo está envolvido tanto no processo de envelhecimento, como também em muitas complicações biológicas, incluindo inflamação crônica, desordens respiratórias, doenças neurodegenerativas, diabetes mellitus, aterosclerose, doenças autoimunes das glândulas endócrinas, carcinogênese e mutagênese (ANDRADE *et al.*, 2007).

Nas últimas décadas, tem aumentado o interesse por antioxidantes naturais, obtidos a partir de plantas com aplicabilidade nas indústrias para fins farmacêuticos, alimentícios e cosméticos.

MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os trabalhos de revisão de Sánches-Moreno (2002), Huang *et al.* (2005) e Vasconcelos *et al.* (2006) apresentam a necessidade do emprego de métodos, com substratos e reagentes diferenciados, nos testes de triagem antioxidantes *in vitro*, para avaliar a efetividade de antioxidantes de amostras, por diferentes mecanismos de ação.

Dentre as metodologias mais usuais na pesquisa, destacam-se três métodos: capacidade antioxidante total pelo método do fosfomolibdênio, atividade captadora (sequestrante) do radical livre DPPH e teste TBARS.

Capacidade antioxidante total por meio do método do fosfomolibdênio

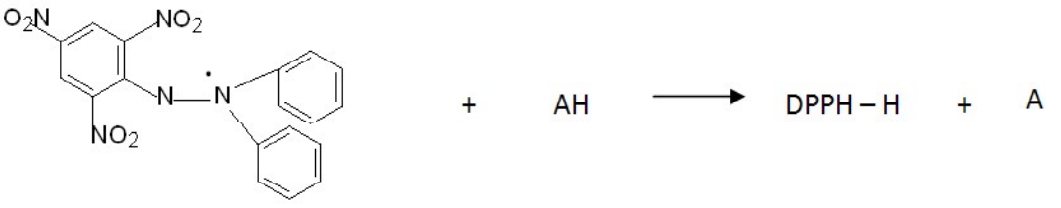
Metodologia adaptada de Prieto *et al.* (1999) baseia-se na redução do molibdênio VI a molibdênio V, pela amostra analisada, com obtenção de um complexo fosfato-molibdênio V, de coloração verde em pH ácido, o qual é determinado espectrometricamente a 695nm.

A solução reagente do complexo fosfomolibdênio é formada pela reação da solução de Na_3PO_4 (28 mL, 0,1mol.L^{-1}), com a solução de $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ (12mL, 0,03mol.L^{-1}) e a solução de H_2SO_4 (20mL, 3mol.L^{-1}), em meio aquoso, com volume final ajustado para 100mL com água destilada. A 1mL dessa solução reagente, adicionar 0,3mL das amostras a serem avaliadas, com concentração de 0,2mg/mL, 1mL de água destilada; essa mistura deverá ser incubada por 90 minutos a 95°C. Após o resfriamento, proceder à leitura das absorbâncias em espectrofotômetro a 695nm, usando a solução reagente como branco. A capacidade antioxidante total é expressa como equivalente de ácido ascórbico (utilizado como padrão).

Atividade captadora (sequestrante) de radical livre DPPH (2,2-difenil–1–picrilhidrazila)

O radical livre DPPH é um cromóforo relativamente estável, com pico de absorção no comprimento de onda de 517nm, em meio etanólico, apresentando solução de coloração vio-

leta intensa. À medida que as substâncias com características antioxidantes presentes na amostra transferem hidrogênio para o radical DPPH, este sofre redução, verificada pela alteração da coloração para amarelo, conforme está apresentado na Reação 1 (FIGURA 1). Duas técnicas são apresentadas para a verificação dessa ação antioxidante. Inicialmente, uma triagem é feita utilizando a aplicação da amostra em cromatografia de camada delgada nebulizada com solução de DPPH 0,2% (p/v); sendo a reação positiva, parte-se para a avaliação quantitativa (espectrofotométrica).



Radical livre DPPH (cor violeta) | antioxidante | DPPH reduzido (cor amarela)

FIGURA 1. Reação 1

Por cromatografia em camada delgada

Metodologia adaptada de Conforti e colaboradores (2002), utilizando placas de cromatografia em camada delgada (cromatofolha silicagel 60 F_{254}), nas quais são aplicados 10 μL de cada amostra (10mg/mL) e do padrão (1mg/mL), empregando uma fase móvel adequada para a amostra a ser avaliada. Em seguida, após a evaporação da fase móvel, as placas são reveladas com solução a 0,2% (p/v) de DPPH, em metanol, e, depois de 30 minutos, avaliadas e fotografadas. A obtenção de pontos amarelos ao longo da CCD indica a presença de substâncias com caráter antioxidante.

Por espectroscopia de UV-vis

A redução do radical DPPH pode ser verificada pela mudança da coloração da solução original de violeta intensa para amarela, acompanhada de decréscimo na absorbância da solução com o radical livre, proporcional à concentração da substância com potencial antioxidante presente, podendo ser medida espectrofotometricamente a 517nm. Segundo técnica descrita por Andrade *et al.* (2007), alíquotas das amostras e padrão são diluídas com etanol para se obter as concentrações de 0,5 a 400 μg/mL. A 3mL de cada amostra são acrescentados 0,1mL de solução etanólica do radical livre DPPH 1mM. Após 30 minutos de incubação em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, a redução do radical livre DPPH é mensurada pela leitura da

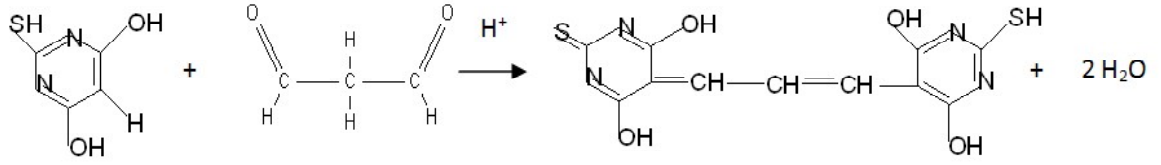
absorbância em espectrofotômetro a 517nm, contra um branco específico em cada avaliação, formado somente pelas amostras nas suas respectivas diluições. Como controle, é utilizado 0,1mL de solução etanólica de DPPH 1mM e 3mL de etanol. A atividade captadora (sequestrante) de radical é obtida pela porcentagem de atividade antioxidante, conforme a equação:

% de atividade antioxidante = [($Abs_{controle}$ – $Abs_{amostra}$) / $Abs_{controle}$] X 100, sendo $Abs_{amostra}$ a absorbância da amostra e $Abs_{controle}$ a absorbância do controle.

A EC50 (concentração efetiva), ou seja, concentração da amostra ou padrão necessário para reduzir 50% da concentração inicial do radical DPPH é determinada pela equação obtida por regressão linear. Para a plotagem dos pontos, são utilizados os valores das médias obtidas de triplicatas realizadas para cada um dos testes.

Captação de radicais peroxila pelo teste TBARS

Espécies reativas promovem uma cascata de reações que geram a peroxidação lipídica, resultando na produção de substâncias como o malonildialdeído (MDA). Os ensaios utilizando as espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) avaliam o ponto final do dano oxidativo, sendo úteis para determinar os efeitos do estresse oxidativo induzido e da proteção da lipoperoxidação pelas substâncias antioxidantes que possam estar presentes no material analisado. Esses testes permitem a mensuração da peroxidação lipídica de matrizes biológicas ao promover a reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com o MDA, em meio acidificado e sob condições de elevada temperatura, gerando um cromóforo róseo que pode ser medido espectrometricamente em 532nm (Osawa *et al.*, 2005) que está apresentado na Reação 2 (FIGURA 2).



TBA Maloniladeído (MDA) Cromogênio róseo

FIGURA 2. Reação 2

A metodologia, envolvendo a peroxidação lipídica da gema de ovo por meio da formação de substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS), adaptada de Morais e colaboradores (2006), utiliza as concentrações de 100, 500 e 1000ppm (partes por milhão) para as amostras e padrão. Todo o procedimento é realizado em triplicata. Em tubos de ensaio, são adicionados 0,5mL de solução de gema de ovo (10% p/v), 0,1mL de cada amostra ou padrão; completar o volume para 1 mL com água destilada. Em seguida, deve-se acrescentar a cada um

dos tubos de ensaio 0,05mL de solução de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)dihidrocloreto - ABAP (0,07mol/L), 1,5 mL de solução de ácido acético 20% (pH 3,5) e 1,5 mL de solução de ácido tiobarbitúrico – TBA (0,8% p/v) em solução de dodecil sulfato de sódio - SDS (1,1% p/v). O material assim preparado é então submetido ao banho-maria (95 °C) por 1 hora, sob agitação. Após resfriamento, é acrescentado a cada tubo 5mL de *n*-butanol, centrifugados por 10 minutos a 3000rpm e os sobrenadantes são mensurados em espectrofotômetro em 532nm. O mesmo processo é realizado com tubos controle que contêm todos os reagentes, exceto as amostras. A atividade antioxidante é determinada pelo Índice Antioxidante (IA), obtido em porcentagem, segundo a equação: IA (%)=1-($Abs_{amostra}$/$Abs_{controle}$)x100, sendo, $Abs_{amostra}$ a absorbância da amostra e $Abs_{controle}$ a absorbância do controle totalmente oxidado.

AVALIAÇÃO DA MELANOGÊNESE

Dois tipos de melanina são sintetizados dentro dos melanossomos: eumelanina e feomelanina. A eumelanina é um polímero com coloração que varia entre marrom e preto, enquanto a feomelanina varia entre vermelho e amarelo. Ambos são derivados da 3,4-diidroxifenilalanina (DOPA) e formados em melanossomos, a partir de uma série de etapas oxidativas. As sínteses dessas melaninas requerem a enzima tirosinase que catalisa a oxidação da tirosina à L-DOPA, o primeiro passo de uma série de reações conhecidas como via de Raper-Mason. Acredita-se que a conversão de tirosina à L-DOPA é a etapa crítica e limitante na biossíntese de melanina, ou seja, a inibição dessa reação inibe a síntese de melanina (PARK *et al.*, 2009). A síntese de melanina está esquematizada na FIGURA 3.

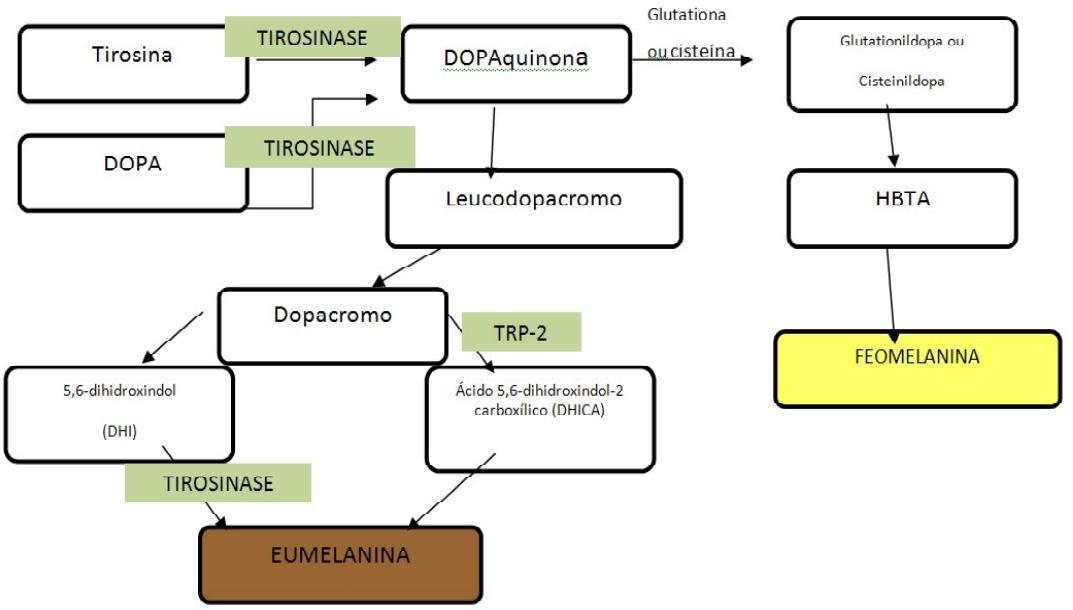


FIGURA 3. Síntese de melanina

A maior função conhecida da melanina é proteger o DNA de danos induzidos por radiação UV. Essa radiação promove o bronzeamento (cor da pele facultativa), influencia a proliferação e a sobrevivência dos melanócitos, tanto direta quanto indireta, por meio de seus efeitos nos queratinócitos, induzindo à síntese e à secreção de fatores parácrinos de queratinócitos (PARK *et a*l., 2009).

Os melanossomas maduros são transferidos do melanócito para queratinócitos vizinhos. Na realidade, as duas células formam uma unidade epidérmica, onde cada melanócito é rodeado por 36 queratinócitos (FITZPATRICK *et al.*, 1954). Estudos sugerem que eles são transferidos por uma variedade de vias incluindo exocitose, citofagocitose, fusão da membrana plasmática e transferência por vesículas da membrana (VAN DEN BOSSCHE *et al.*, 2006).

Existem diversas proteínas envolvidas nesse processo complexo: a tirosinase (enzima limitante na formação de melanina, localizada na membrana do melanossomo); proteína quinase C - PKC-β (essencial para a ativação da tirosinase); TRP-1 e TRP-2 (responsáveis, de uma forma geral, pela ativação e/ou estabilização da tirosinase, além de atuarem na biogênese do melanossomo); e, por último, o fator de transcrição MITF, o qual regula a transcrição de tirosinase, TRP-1, TRP-2 e PKC-β (PARK *et al.*, 2009).

O MC1R (receptor de melanocortina) é o receptor expresso nos melanócitos e que é ativado por α-MSH (hormônio melanócito estimulante) e ACTH (hormônio adrenocorticotrófico). A interação receptor-ligante leva à ativação dependente de proteína G da enzima adenilato ciclase, seguida por um aumento de níveis intracelulares de adenosina 3,5-monofosfato (cAMP), ativando a enzima proteína quinase dependente de cAMP (PKA). Esta induz a transcrição de MITF, promovendo *up regulation* de uma série de enzimas melanogênicas, incluindo tirosinase (PARK *et al.*, 2009).

Mudanças anormais da coloração da pele são observadas em um grande número de desordens, devido a distintos mecanismos envolvidos. A desordem de despigmentação mais comum é o vitiligo (FISTAROL & ETIN*,* 2010*),* uma discromia adquirida da pele, na qual existe a perda de melanócitos da epiderme. Vários tipos de vitiligo são distinguidos de acordo com a distribuição de lesões acrômicas. Não existe concordância sobre os mecanismos envolvidos no desaparecimento dos melanócitos, porém as três hipóteses mais aceitas são as hipóteses bioquímica, neural e autoimune, sendo esta última a mais popular (WESTERHOF & D' ISCHIA, 2007).

Dentre os representantes de hiperpigmentação, pode-se citar o melasma, uma hipermelanose adquirida, caracterizada por máculas irregulares com coloração entre o cinza e o marrom em áreas da pele expostas ao sol. Fatores etiológicos na patogênese do melasma incluem influências genéticas, exposição à radiação UV, gravidez, terapias hormonais, cosméticos, dentre outros. Os tratamentos usuais incluem agentes hipopigmentantes, *peeling* químico e *laser* (SMIT *et al.*, 2009).

MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA MELANOGÊNESE

CULTURA CELULAR (MELANÓCITOS)

As células $B_{16}F_{10}$ de melanoma de camundongo são cultivadas em meio Dulbecco Eagle's Modificado (DMEM), 10% de soro fetal bovino, 1% de penicilina/estreptomicina (10.000 U e 100 μg/ml, respectivamente), em atmosfera umidificada contendo 5% de CO_2 a 37ºC.

ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR (MTT)

Para verificar a viabilidade celular, as células são incubadas com meio livre de soro, complementado com (4,5 dimetiltiazol-2-il) -2,5 difeniltetrazolim brometo (MTT) 0,5mg/ml e são incubadas durante 3 horas a 37ºC. O meio é removido e os cristais formados são dissolvidos em DMSO com 1% (v/v) de NH_3. A absorbância é lida a 540nm.

MELANOGÊNESE ESPONTÂNEA

As células ($2x10^4$ células/poço) são semeadas em placas de 24 poços e os extratos (amostras a serem avaliadas) são adicionados em triplicata após 24 horas de incubação. Após 4 dias, as células são lisadas com 1ml NaOH 1N. O conteúdo de melanina relativa é medido a 405nm no leitor de microplacas. O ácido kójico (inibidor da melanogênese) é utilizado como controle positivo.

MELANOGÊNESE INDUZIDA POR UVB

Para verificação da capacidade dos tratamentos em reduzir a melanogênese, utiliza-se radiação ultravioleta (UV) como estímulo para o aumento da produção de melanina pelos melanócitos. As culturas de melanócitos são irradiadas com $50mJ/cm^2$ de radiação ultravioleta total (95% de UVB e 5% de UVC), utilizando-se lâmpadas TL01. A dose da radiação ultravioleta é monitorada por um radiômetro (VLX-3). A análise do teor de melanina produzida pelo melanócito é avaliada após 24 horas da aplicação de radiação UV.

QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO DE MELANINA

A quantificação do conteúdo de melanina, a partir da cultura de melanócitos, é realizada de acordo com o método descrito por Oka *et al.*, 1996. As células são solubilizadas em solução de NaOH 1N e incubadas a 80ºC por um período de 1 hora. A solução é analisada colorimetricamente num leitor de placa (comprimento de onda de 405nm).

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA TIROSINASE

A atividade da tirosinase, com L-tirosina como substrato, é determinada

espectrofotometricamente pelo método descrito por Hyun *et al.* (2008), com ligeira modificação. A cada 10µl de extrato, em diferentes concentrações, e 20 µl de tirosinase de cogumelo (500 U/ml) em tampão fosfato 50mM (pH 6,5) são adicionados 170 µl de uma mistura contendo a proporção 10:10:9 de 1mM L-tirosina solução, 50 mM tampão fosfato de potássio (pH 6,5) e água destilada em uma microplaca de 96 poços. Após a incubação da mistura a 37°C por 30 minutos, a absorbância é medida em 490nm, utilizando um leitor de microplacas. O grau de inibição das amostras é expresso como a concentração necessária para produzir inibição de 50%. Uma unidade (U) de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima necessária para aumentar a absorbância a 280nm de 0,001 por minuto, em uma mistura de reação de 3ml contendo L-tirosina, pH 6,5 e 25ºC.

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS POR RT-PCR

O RNA é extraído da cultura de melanócitos, utilizando o Kit QuickGene RNA para cultura celular HC, conforme descrito pelo fabricante. Para a reação de transcrição reversa, a partir do RNA total, é utilizado o Kit de síntese de cDNA de primeira fita para RT-PCR. Após a obtenção do cDNA, é realizada a reação de polimerase em cadeia (PCR). A expressão de MITF, tirosinase, TRP-1, TRP-2 e GAPDH humano (controle da reação e dos produtos do RT) é investigada, utilizando *primers* específicos. A amplificação do PCR é conduzida num volume de reação de 40 µL, consistindo em 10 x de tampão de reação, 2,5 mM $MgCl_2$, 250 µ

M de dNTPs, 100 ng da cada PCR primer, 0.5 U Taq DNA polimerase e 20-50 ng DNA, usando o DNA Thermal Cycler 9600 a 94°C por 1 minuto, 58 °C por 1 minuto e 72 °C por 1 minuto, em 30 ciclos. Posteriormente os fragmentos de DNA produzidos por PCR são separados por eletroforese em 2% de gel de agarose.

ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA

Doenças causadas por parasitas são conhecidas desde tempos remotos. Esses agentes patogênicos são representados pelos helmintos, pelos protozoários e pelos artrópodes. A distribuição geográfica, frequência e patogenicidade determinam a importância relativa de cada um desses agentes, seja no que se refere à infecção humana ou animal. No contexto da medicina veterinária, as perdas causadas por helmintos são determinadas não somente pelos efeitos agudos da doença que, em muitos casos**,** resultam em morte do animal afetado, mas, principalmente, pelos efeitos de infecções prolongadas que levam a um desenvolvimento corporal lento, perda de peso, redução na produção de carne e lã e custos monetários para o controle da verminose, incluindo o valor da aquisição do produto anti-helmíntico comercial e da mão de obra para a aplicação do medicamento. O controle desses parasitos é usualmente realizado com anti-helmínticos convencionais, visando reduzir os níveis de infecção dos animais e promover a descontaminação das pastagens (CHARLES, 1989).

Outro fator importante na produção pecuária e sanidade dos rebanhos é a formação de

resistência dos parasitas, em especial do *Haemonchus contortus*, a vários fármacos (VAN WYK & MALAN, 1988; ECHEVARRIA *et al.*, 1996). O problema da resistência dos nematoides aos antihelmínticos é uma preocupação de caráter mundial (Waller, 1994). Adicionalmente, parasitas pertencentes ao grupo dos artrópodes também manifestam esse fenômeno, como, por exemplo, carrapatos do gênero *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e moscas do gênero *Haematobia irritans*.

Diante da redução de eficácia dos produtos químicos comerciais**,** algumas ações vêm sendo tomadas tanto por médicos veterinários quanto por produtores rurais, objetivando-se melhor controle parasitário**.** Dentre essas ações, destacam-se o controle integrado das pastagens, a seleção de animais geneticamente resistentes aos parasitas gastrintestinais, a homeopatia, o controle biológico e, especialmente**,** a fitoterapia. Esta pode contribuir para aumentar os lucros da criação, uma vez que reduz o uso de anti-helmínticos convencionais, estendendo a vida útil dos produtos químicos disponíveis (VIEIRA *et al.*, 1999). Adicionalmente, Waller *et al.* (1995), Herd (1996) e Vieira (2004) advertem que os compostos químicos administrados aos animais podem ser eliminados nas excreções, contaminando o meio ambiente e permanecendo como resíduos nos produtos de origem animal. Os testes *in vitro* permitem uma avaliação da existência de propriedades anti-helmínticas nos extratos vegetais, constituindo, dessa maneira, uma etapa preliminar à caracterização dos possíveis compostos ativos presentes nos vegetais, possibilitando a criação de novas alternativas para o controle das parasitoses (COSTA *et al.*, 2002). No final do século passado, vários autores como Balandrin & Klocke (1985); Balandrin *et al.* (1985) e Balbach (1974) realizaram estudos científicos, buscando a validação laboratorial da ação de plantas reconhecidas, popularmente, como medicinais. A esses autores unem-se pesquisadores nacionais como Chagas (2007) e Krychak-Furtado (2006), dentre outros.

MÉTODOS PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA

Foram selecionadas algumas metodologias que podem ser usadas nas avaliações de atividades antiparasitárias. Os testes são de fácil execução, reprodutibilidade e eticamente aceitáveis, pois não são invasivos e tampouco necessitam da eutanásia de animal parasitado para obtenção de uma etapa ou de um resultado.

TESTES DE ATIVIDADE CONTRA HELMINTOS

Obtenção de ovos de nematoides gastrintestinais

Selecionam-se dois a três animais comprovadamente infectados pelos gêneros de parasitas que se deseja avaliar. Ressalta-se que, na maioria das pesquisas, estão elencados parasitas da família Trichostrongylidae. Em relação aos animais doadores de fezes, devem preferencialmente ter uma contagem de ovos superior a 2000 por grama de fezes (OPG) e não ter recebi-

do nenhuma medicação anti-helmíntica nos últimos 30 dias. Coletam-se fezes diretamente da ampola retal e homogeneiza-se o material em solução salina hipersaturada, filtrando a solução em tamises de malhas de 180mn/µm e 250 mn/µm. O material obtido é centrifugado e lavado com água destilada. O sedimento é ressuspendido de modo a compor uma suspensão com, no mínimo, 100 ovos de helmintos por tubo. Para confiabilidade das avaliações, esses ovos deverão permanecer sempre sob temperatura ambiente e utilizados em até 2 horas após a coleta.

Teste da eclodibilidade larvar (Egg Hatch Test- EHT)

Os ensaios sobre eclodibilidade larvar foram desenvolvidos originalmente por Cole *et al.* (1992), porém vários autores realizaram adaptações. Descreve-se, a seguir, a técnica proposta em Krychak-Furtado *et al.* (2005). A cada tubo de ensaio contendo 200µL da suspensão de ovos deve ser adicionado igual volume do extrato ou respectiva fração em estudo ou de substâncias usadas como controles. Como controle, estão incluídos água destilada, solventes utilizados na preparação dos extratos e frações, solubilizadores porventura usados, normalmente Tween 80®, estes dois diluídos na mesma concentração utilizada nos extratos e um controle químico como albendazole ou, segundo Chagas (2008), tiabendazole. São preparadas três repetições para cada tratamento. Os tubos são vedados e incubados em estufa B.O.D. sob umidade saturada e temperatura de 26±1ºC, por 72 horas. Após 48 horas, transfere-se o conteúdo dos tubos de ensaio para placas de Petri e procede-se à leitura em microscopia ótica com aumento de 100 vezes. São avaliados todos os ovos presentes na amostra, classificando-os de acordo com o estágio de desenvolvimento em que se encontram: ovo blastomerado, ovo larvado e larva eclodida. A leitura do material deve ser realizada rapidamente, pois, ao final da leitura, esse mesmo material é pipetado e recolocado no respectivo tubo de ensaio. Incuba-se por mais 24 horas e procede-se como já descrito acima. Em relação às condições e ao tempo de observação, a maioria dos pesquisadores adiciona lugol e interrompe a evolução após 48 horas de incubação. Nesse protocolo, nas observações em 48 e 72 horas, mantém-se a vitalidade dos organismos, permitindo quantificar melhor o potencial do extrato. Considera-se eficaz o extrato que foi capaz de alterar o desenvolvimento normal dos ovos. Quanto maior a porcentagem de ovos blastomerados, no período avaliado, maior será a efetividade do tratamento.

TESTES DE ATIVIDADE CONTRA ARTRÓPODES

Obtenção de larvas não ingurgitadas de carrapatos

Selecionam-se dois a três animais bovinos infestados por Rhipicephalus (Boophilus) microplus e que não tenham recebido medicação ectoparasiticida nos últimos 30 dias. Coleta-se manualmente, diretamente da pele do animal, várias fêmeas completamente ingurgitadas. Colocam-se as fêmeas em uma placa de Petri e mantém-se em estufa B.O.D. (26±1 ºC e URe $\geq$ 80%) até o final da postura de ovos. Para a incubação dos ovos, transferi-los delicadamente para

tubos de ensaio, vedando os tubos com algodão úmido prensado. Mantém-se o conjunto em estufa B.O.D. (26±1 ºC e URe ≥ 80%) até que as larvas completem 14 dias.

Teste larvar com papéis impregnados

Para esse teste, pode-se seguir as orientações propostas por Chagas *et al*. (2002). Preparam-se papéis-filtro impregnados com os extratos ou os controles imediatamente antes do uso. Coloca-se em torno de 100 larvas não ingurgitadas entre os papéis, que são então acondicionados em envelope também de papel-filtro,que deverá ser vedado com fita adesiva resistente à água ou a solventes. O conjunto é colocado em estufa B.O.D. (26±1 ºC e URe ≥ 80%) por 24 ou 48 horas. Decorrido o tempo previsto, abre-se cuidadosamente o envelope e conta-se o número de larvas vivas e mortas (com auxílio de uma bomba a vácuo). Os testes deverão ser realizados em três repetições. Se porventura a mortalidade do grupo- controle for superior a 10%, os resultados deverão ser descartados. Para o cálculo da mortalidade utiliza-se a seguinte equação:

Mortalidade=% mortalidade-controle-% mortalidade tratadox100/% mortalidade-controle

Teste de imersão de fêmeas ingurgitadas

Para esse teste, Chagas (2008) propõe que fêmeas completamente ingurgitadas sejam obtidas de bovinos infestados. Separam-se grupos homogêneos de 10 fêmeas e cada grupo é imerso nos extratos vegetais ou nos controles durante cinco minutos. Coloca-se cada grupo em placas de Petri e mantém-se o conjunto em estufa B.O.D. (26±1 ºC e URe ≥ 80%) até o final da postura de ovos. Após o término da postura, procede-se a pesagem dos ovos, seguida de incubação, conforme descrito no item 2.1. A eclodibilidade é verificada visualmente. A eficiência reprodutiva (ER) e o índice de eficácia do produto (EP) são calculados, segundo Drummond *et al*. (1973).

ER=peso dos ovosx% eclosãox20.000*/peso das teleóginas

EP=(ER controle-ER tratado)x100/ER controle

constante que indica o número de ovos presentes em 1 g de postura.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em virtude da complexidade da pesquisa fitoquímica que compõe desde os aspectos botânicos e etnofarmacológicos até o isolamento, a purificação e identificação de marcadores e compostos ativos, esta pesquisa torna-se onerosa devido à utilização de solventes, materiais e equipamentos de alto custo.

Ao realizar testes biológicos que não requerem laboratórios e equipamentos de custo elevado, a pesquisa fitoquímica pode ser mais bem viabilizada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Araucária, o CNPq, a CAPES e a UFPR pelo constante apoio financeiro às pesquisas.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology,** v.105, p.121-126,1984.

ABREU, J.S.; MARZOCCHI-MACHADO, C.M.; URBACZEK, A.C.; FONSECA, L.M.; URBINATI, E.C. Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). **Brazilian Journal of Biology**, v.69, n.4, p. 1133-1139, 2009.

ADEGAS, F.S.; VOLL, E.; PRETE, C.E.C. Embebição e germinação de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa*). **Planta Daninha**, v.21, n.1, p.21-25, 2003.

ALMEIDA, F.S. A **Alelopatia e as plantas**. Londrina: IAPAR, 1988. 60p. Circular, 53.

ANDRADE, C.A.; COSTA, C.K.; BORA, K.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex. G. Don Leguminosae-Mimosoidea. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 10. ed. Washington: Editorial Board, 1965. 909p.

BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A.; WURTELE, E. S.; BOLINGER, W. H. Plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. **Science**, Washington DC, v. 228, p. 1154-1160, 1985.

BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A. Medicinal Plants. **Science**, Washington DC, v. 229, p. 1036-1038, 1985.

BALBACH, A. **A flora nacional na medicina moderna**. 3ª ed. São Paulo: Ed. MVP, 1974.

BOGATEK, R.; GNIAZDOWSKA, A. ROS and phytohormones in plant-plant allelopayhic interaction. **Plant Signaling & Behavior**, v.2, p.317-318, 2007.

CHAGAS, A.C.S.; PASSOS, W.M.; PRATES, H.T.; LEITE, R.C.; FURLONG, J.; FORTES, I.C.P. Efeito acaricida de *Eucalyptus* em *Boophilus microplus*: óleos essenciais e concentrados emulsionáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 247-253, 2002.

CHAGAS, A. C. S., VIEIRA, L. S. Ação ovicida in vitro e in vivo de *Azadirachta indica* (Neem) em nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, p. 49-55, 2007.

CHAGAS, A. C. S. **Metodologias *in vitro* para avaliação de fitoterápicos sobre parasitas e resultados de testes a campo.** Disponível em: <http://cnia.inta.gov.ar/helminto/congresso brasil 2008/metodo>. Acesso em: 10 jul. 2010.

CHARLES, T. P. Seazonal prevalence of gastrointestinal nematodes of goats in Pernambuco State, Brazil.

Veterinary Parasitology, Netherlands, v. 30 p. 335-343, 1989.

CHON, S-U; JANG, H-G; KIM, D-K; KIM, Y-M; BOO, H-O; KIM, Y-J. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa*) plants**. Scientia Horticulturae**, v**.**106, p. 309-317, 2005.

COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M.A.; WALLER, P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 35-44, 1992.**

CONFORTI, F.; STATTI, G. A.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; HOUGHTON, P. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra aerial part. **Fitoterapia**, n. 73, p. 479-483, 2002.

COSTA, C. T. C.; MORAIS, S. M. DE; BEVILAQUA, C. M. L.; SOUZA, M. M. C. DE; LEITA, E. K. A. Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,** São Paulo, v. 11, n. 2, p. 57-60, 2002.

DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; SENATORE F. Pottential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v.61, n. 5, p.573-578, 2002.

DIAS, J.F.G. **Estudo alelopático aplicado de *Aster lanceolatus*, Willd**. 2005. 114p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

DIAS, J.F.G.; CÍRIO, G.M.;, MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v.15, p.220-223, 2005.

DIETZ, H.; WINTERHALTER, P. Phytotoxic constituents from *Bunias orientalis* leaves. **Phytochemistry**, v.42, n.4, p.1005-1010, 1996.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economics Entomology**, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.

ECHEVARRIA, F.A.M.; BORBA, M.S.F; PINHEIRO, A.C.;WALLER, P.J.; E HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites in sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Netherlands, v. 62, p. 199-206, 1996.

GRAY, T. M.; ARNOYS, E. J.; BLANKESPOOR, S.; BOM, T.; JAGAR, R.; EVERMAN, R.; PLOWMAN, D.; STAIR, A.; ZHANG, D. Destabilizing effect of proline substitutions in two helical regions of T4 lysozyme: leucine 66 to proline and leucine 91 to proline**. Protein Science**, v.5, n.4, p.742-751, 1996.

FEARON, D.T.; COLLINS L.A.; Increased expression of C3b receptors on polyrnophonuclear leukocytes induced by chemotactic factors and by purification procedures. The **Journal of Immunology,** v.130, p.370-375, 1983.

FRADE, R.; MYONES, B.L.; BAREL, M.; KIRKORIAN, L. GP140, a C3bbindingmembrane component of lymphocytes in the B-cell Csdg/C3dR (CR2) and isdistinct from the neutrophfl C3dg receptor CR4. **European Journal of Immunology,** v.15, p.1132,1985.

GRAY, T. M.; ARNOYS, E. J.; BLANKESPOOR, S.; BOM, T.; JAGAR, R.; EVERMAN, R.; PLOWMAN, D.; STAIR, A.; ZHANG, D. Destabilizing effect of proline substitutions in two helical regions of T4 lysozyme: leucine 66 to proline and leucine 91 to proline**. Protein Science**, v.5, n.4, p.742-751, 1996.

FISTAROL, S.K.; ITIN, P.H. Disorders of pigmentation. **Journal of the German Society of Dermatology**, v. 8, n.3, p. 187-202, 2010.

FITZPATRICK, T.B.; LERNER, A.B. Biochemical basis of human melanin pigmentation. **A.M.A. Archives Dermatology and Syphilology**, v. 69, p. 133-149, 1954.

HALPIN, B.E.; LEE, C.Y. Effect of blanching on enzyme acitivity and quality changes in green peas. **Journal of Food Science**, v. 52, p. 1002-1005, 1987.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 5 ed., Claredon Press: Oxford, 1999.

HERD, R. Impactos ambientais associados aos compostos endectocidas. In: TEREZINHA PADILHA (Ed.), **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes.** EMBRAPA – CNPGL, Coronel Pacheco, 1996. p. 95-111.

HIROBE, H. Role of keranocyte-derived factors involved in regulating the proliferation and differentiation of mammalian epidermal melanocytes. **Pigment Cell Research**, v. 18, p. 2-12, 2004.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food chemistry,** v. 53, p. 1841-1856, 2005.

KLEBANOFF S.J.; HAMON C.D.; Role of myeloperoxidase mediated antimicrobial systems in intact leukocytes. **Journal of the Reticulo-endothelial Society,** v.12, p.170-196, 1972.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

KRYCHAK-FURTADO, S.; NEGRELLE, R. B.; ZANIOLO, S. R.; KAPRONEZAI, J.; RAMOS, S. J.; SOTELLO, A. Efeito de *Carica papaya* L. (Caricaceae) e *Musa paradisiaca* (Musaceae) sobre o desenvolvimento de ovos de nematóides gastrintestinais de ovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 191-197, abr./jun., 2005.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no Estado do Paraná**: testes *in vitro* e *in vivo.* Curitiba, 2006. 127 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná.

LEVINSKY, R. J.; HARVEY, B. A. M.; RODECK, C.H.; SOOTHILL, J.F. Phorbol myristate acetate stimulated NBT test: a simple method suitable for antenatal diagnosis of chronic granulomatous disease. **Clinical & Experimental Immunology**, v.54, p.595-598, 1983.

MACÍAS, F.A.; GALINDO, J.G.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CASTELLANO, D. Dehydrozaluzanin C: a potent plant growth regulator with potential use as a natural herbicide template. **Phytochemistry**, v.54, p.165-171, 2000.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MARQUES, M. R.; XAVIER-FILHO, J. Enzymatic and inhibitory activities of cashew tree gum exudate. **Phytochemistry,** v.30, n.5, p. 1431-1433, 1991.

MORAIS, S.M.; CATUNDA-JUNIOR, F.E.A.; SILVA, A.R.A.; MARTINS-NETO, J.S.; RONDINA, D.; CARDOSO, J.H.L. Antioxidant activity of essential oils from Northeastern Brazilian *Croton* species. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.

OKA, M.; ICHIHASHI, M.; CHAKRABORTY, A. K. Enhanced expression of protein kinase C subspecies in melanogenic compartments in B16 melanoma cells by UVB or MSH. **Journal of Investigate Dermatology**, v. 106, p.377-8, 1996.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E. de; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PARK, B.H.; GOOD, R.A. N.B.T. test stimulated. **The Lancet**, p. 616, 1970.

PARK, H.Y.; KOSMADAKI, M.; YAAR, M.; GILCHREST, A. Cellular mechanisms regulating human melanogenesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 9, p. 1493-506, 2009.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v.25, n.1, p. 45-61, 2002.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the

formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, p. 337-341, 1999.

PUTTER, J.,1974. **Methods of Enzymatic Analysis.** Bergmeyer: Verlag Chemie, p.685-690, 1974.

RICE, E.L. **Allelopathy.** Orlando: Academic Press, 1984. p. 2-3; 267-291.

ROSS C. Identification of a C3b-specific membrane complementreceptor that is expressed on lymphocytes, monocytes, neutrophils anderythrocytes. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 155, p. 96, 1982.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, p. 121-137, 2002.

SMIT, S.; VICANOVA, J.; PAVEL, S. The Hunt for natural skin whitening agents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, p.5326-5349, 2009.

STEPONKUS, P.L.; LANPHEAR, F.O. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. **Journal of Plant**, v. 42, p.1b423-26, 1967.

VAN WYK, J. A.; MALAN, F. S. Resistance of field strains of *Haemonchus contortus* to ivermectin, closantel, rafoxanide and the benzimidazoles in sheep in South Africa. **The Veterinary Record**, London, v. 123, p. 226-228. 1988.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de nitrogênio, de oxigênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para a sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. F; DANTAS, L. B.; XIMENES, L. J. F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North – East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue de Medecine Veterinaire,** Toulouse, 1999, 150, 5, 447-452.

VIEIRA, L. S. **Produção orgânica de ovinos**: o controle de verminose. Disponível em: <http://www.accoba.com.br/ap_info_dc.asp?idInfo=384&idCategoria=5>. Acesso em: 25 out. 2004.

WALLER, P. J. The development of anthelmintic resistance in ruminant livestock. **Acta Tropica**, Ireland, v. 56, p. 233-243, 1994.

WALLER, P. J.; DASH, K. M.; BARGER, I. A. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from the Australian experience. **The Veterinary Record**, London, v. 136, p. 411-413, 1995.

WESTERHOF, W.; D´ISCHIA, M. Vitiligo puzzle: the pieces fall in place. **Pigment Cell Research**, v. 20, p. 345-359, 2007.

Avelã – *Corylus avellana*

FARMACOBOTÂNICA E ATIVIDADE ANTIÚLCERA DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS

Edna Tomiko Myiake Kato
Elfriede Marianne Bacchi
Leandro Santoro Hernandes

INTRODUÇÃO

A qualidade das drogas vegetais comercializadas está intimamente relacionada à qualidade do material de origem que deve ser assegurada por medidas tomadas desde a seleção da espécie, a coleta de material vegetal silvestre ou cultivado, o preparo e a conservação da droga vegetal (RDC 14, 2010; WHO, 2007). Sabe-se que grande parte da matéria-prima empregada no preparo de drogas vegetais provém da natureza, coletada por indivíduos sem a devida qualificação e conhecida por nomes vernaculares variáveis no território nacional. Assim, é imprescindível a identificação da planta por um taxonomista, as análises avaliando a sua identidade e pureza anteriormente ao uso como matéria-prima de fitoterápicos em estudos fitoquímicos e/ou farmacológicos.

Farmacopeias e compêndios (OLIVEIRA *et al.*, 1998; WHO, 1998, 2007) auxiliam no preparo adequado da droga vegetal para avaliação de sua qualidade, sob o aspecto macro/microscópico, fitoquímico e pureza.

Embora o problema da adulteração e substituição de drogas vegetais seja apontado desde tempos imemoriais (OLIVEIRA & AKISUE, 1973; MAZZANTI *et al.*, 2008), observa-se que a publicação de monografias oficiais para a verificação da sua qualidade não ocorre concomitantemente à necessidade do mercado consumidor. Na direção de suprir essa carência, o grupo constituído pelos professores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, Fernando de Oliveira, Gokithi Akisue e Maria Kubota Akisue (*in memoriam*), dedicou-se à elaboração de descrições de diversas drogas vegetais obtidas de plantas medicinais brasileiras. Uma das publicações redundou em livro (OLIVEIRA *et al.*, 1998) de referência na área de Farmacognosia, que inspirou as novas monografias da Farmacopeia Brasileira, acompanhadas de ilustrações.

Direcionando o estudo farmacobotânico às drogas vegetais com ação antiúlcera, algumas das que se destacaram nos últimos anos pertencem às famílias Asteraceae, Myrtaceae, Passifloraceae, Polygonaceae e Solanaceae, cujas características gerais serão apresentadas a seguir.

ASTERACEAE

Asteraceae, uma das maiores famílias vegetais em número e amplamente distribuída no mundo, com aproximadamente 1.700 gêneros e 30.000 espécies, inclui plantas ornamentais (*Chrysanthemum* spp.), úteis na alimentação (*Lactuca sativa* L., *Helianthus annuus* L.) e de uso farmacêutico [*Achillea millefolium* L.*, Calendula officinalis* L.*, Cynara scolymus* L.*, Matricaria recutita* L.*, Mikania glomerata* Spreng.*, Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, dentre outras]. No Brasil, ocorrem cerca de 250 gêneros e 2.000 espécies, principalmente em formações abertas (SOUZA & LORENZI, 2008).

Na família, descreve-se a presença de acetilenos, óleos voláteis, di- e triterpenos, alcaloides e flavonoides. Às lactonas sesquiterpênicas têm sido atribuídas diversas atividades, dentre as quais, a antiúlcera (FOGLIO *et al.*, 2002). Bem documentado é o desenvolvimento de dermatites, provocado por diversas espécies da família (PAULSEN *et al.*, 2010). Extratos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (TOLEDO DIAS *et al.*, 2009), *Melampodium camphoratum* (L. f.) Baker (SAITO *et al*, 2007) e de *Mikania* (BISHAYEE & CHATTERJEE, 1994) têm apresentado atividade antiúlcera.

A família é representada frequentemente por ervas, trepadeiras, subarbustos, arbustos, às vezes, produtoras de látex. As folhas são geralmente simples, opostas ou alternas, as flores pentâmeras reunidas em capítulos e os frutos provenientes de ovário ínfero. No campo, podem ser reconhecidas pela inflorescência em capítulo e cálice modificado em formas variadas, adaptado à função de disseminação dos frutos. As flores que compõem os capítulos, algumas vezes, diferenciam-se quanto à morfologia (BARROSO, 1991; SOUZA & LORENZI, 2008). Sob o ponto de vista anatômico, suas espécies, de modo geral, apresentam caules com estrutura eustélica, dutos secretores esquizógenos relacionados aos feixes vasculares, folhas dorsiventrais, geralmente hipoestomáticas, com estômatos anomocíticos, tricomas glandulares característicos, constituídos por 8 células secretoras, e tricoma tector com célula terminal proporcional-

mente alongada (METCALFE & CHALK, 1950; MOBOT, 2010). Na análise diferencial de espécies de *Mikania*, a observação de detalhes macro e microscópicos dos órgãos aéreos, como presença/ausência, tipo e distribuição dos vários elementos assinalados como característicos à família, é ressaltada por Oliveira (1983).

MYRTACEAE

Myrtaceae, com cerca de 4.000 espécies, subordinadas a aproximadamente 130 gêneros, encontra-se principalmente em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, são descritos 26 gêneros e cerca de 1.000 espécies (SOUZA, LORENZI, 2008).

Destaca-se, dentre seus representantes, o eucalipto (*Eucalyptus* spp.), de inegável importância econômica pela madeira empregada na produção de móveis e papel, além do óleo volátil das folhas, de aroma agradável, utilizado em produtos de limpeza e sauna (LORENZI *et al.*, 2003; MOBOT, 2010). Na culinária brasileira, os botões florais do cravo-da-índia [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry] encontram amplo emprego como especiaria. Seu óleo volátil, com elevado teor de eugenol e aroma característico, é usado em produtos de higiene oral e tem reconhecida atividade antimicrobiana (FU *et al.*, 2007) .

Dentre as espécies brasileiras que ocorrem na Mata Atlântica, restinga e cerrado, merecem destaque, como frutíferas, a goiabeira (*Psidium guajava* L.), a jabuticabeira [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg.], a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), a gabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.), o cambuci [*Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum] e o cambucá [*Plinia edulis* (Vell.) Sobral]. Os frutos de espécies exóticas, como o jambo [*Syzygium jambos* (L.) Alston] e o jambolão [*Syzygium cumini* (L.) Skeels], são também apreciados *in natura* ou em sobremesas.

Essa família, conhecida pelos óleos voláteis, flavonoides, taninos e triterpenos (YOSHIDA *et al.*, 2008; KESZEI *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010) encontra apoio do uso popular no tratamento de gota e diabetes em alguns estudos (NGUYEN *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2010). Com exceção da jabuticabeira, as demais espécies brasileiras e as duas exóticas já mencionadas, foram tema de estudo da atividade antiúlcera. Suas folhas foram empregadas no preparo dos extratos padronizados que mostraram atividade significativa (MARKMAN *et al*, 2004; AURICCHIO *et al.*, 2007; ISHIKAWA *et al.*, 2008; DONATITNI *et al.*, 2009).

A família é representada por subarbustos, arbustos ou árvores de tronco geralmente recoberto por ritidoma esfoliativo. Do ponto de vista taxonômico, é considerada uma das famílias mais complexas, mas, no campo, gêneros e algumas espécies podem ser reconhecidos pelo hábito, por suas folhas simples, geralmente opostas e coriáceas, translúcidas, devido à presença de cavidades secretoras e nervura marginal simples ou dupla. As inflorescências são terminais ou axilares, às vezes, reduzida à flor solitária, vistosa, bissexuada e actinomorfa, com corola provida de (3-)4-5(-6) pétalas, em geral brancas, livres ou unidas, e estames numerosos, raramente em número igual ao de pétalas. O ovário é ínfero e os frutos das espécies que ocorrem na América tropical e subtropical são carnosos; as espécies que ocorrem na Austrália e na Polinésia formam frutos secos. A presença, tipo e cor do indumento são caracteres auxiliares na

identificação. O tipo de embrião é considerado importante caráter taxonômico para a família (LANDRUM & KAWASAKI, 1997; SOUZA & LORENZI, 2008; MOBOT, 2010).

Sob o aspecto anatômico, a família apresenta cavidades secretoras, floema intraxilemático, tricomas unicelulares, algumas vezes em forma de T, folhas hipoestomáticas, estômatos paracíticos ou anomocíticos, taninos e cristais de oxalato de cálcio isolados ou agrupados (METCALFE & CHALK, 1950; LANDRUM & KAWASAKI, 1997). Nas folhas das espécies com ação antiúlcera, estudadas pelo grupo da farmacognosia da Universidade de São Paulo, verificam-se os caracteres marcantes da família, com elementos que norteiam a diagnose. A morfologia das células que recobrem as cavidades secretoras, normalmente subepidérmicas, presença ou ausência, distribuição e tipo de tricomas e cristais de oxalato de cálcio são itens importantes na diagnose. Em *Plinia edulis*, um caráter que chama a atenção é o conjunto de idioblastos arredondados em número de 2 a 4, contendo drusas ou cristais prismáticos, dispostos perpendicularmente à face adaxial (ISHIKAWA *et al.*, 2008). As folhas de *Psidium guajava*, por sua vez, evidenciaram, de modo geral, os caracteres publicados anteriormente (Farmacopeia Brasileira, 2002) para a droga vegetal. Diferiram, por exemplo, quanto ao tipo de estômatos, com 2 a 5 células envolvendo as células estomáticas (OKAMOTO *et al.*, 2009), que na literatura constam como anomocíticos. A documentação da descrição anatômica tornou-se fundamental para dirimirem-se dúvidas no tocante à forma dessas células, pois permite verificar a presença de células subsidiárias. As folhas de *Eugenia uniflora,* por sua vez, evidenciam, como características particulares, a parede comum entre as 2 células que recobrem as cavidades secretoras com contorno reto ou, por vezes, de aspecto denteado, na porção central, e idioblastos arredondados, contendo cristais prismáticos na região palissádica (JORGE *et al.*, 1994).

PASSIFLORACEAE

À Passifloraceae, família pantropical, são subordinados cerca de 20 gêneros e 600 espécies trepadeiras, com gavinhas axilares, menos frequentemente de porte arbustivo ou arbóreo. Nas Américas, ocorrem 5 gêneros e aproximadamente 400 espécies (SACCO, 1980; BERNACCI, 2003; SOUZA & LORENZI, 2008). No Brasil, o gênero *Passiflora* é o maior em número e importância econômica. Duas de suas espécies, conhecidas como maracujá, têm os frutos utilizados na alimentação (*P. alata* Curtis, *P. edulis* Sims.). As folhas de *P. alata*, adicionalmente, são inscritas na Farmacopéia Brasileira (1929; 1959; 1977) em razão de seu uso em extratos vegetais incorporados em medicamentos fitoterápicos.

A atividade antioxidante, sedativa, ansiolítica e antiinflamatória atribuída a folhas e frutos de *P. alata* e *P. edulis* tem sido relacionada à presença de flavonoides (VARGAS *et al.*, 2007; RIVELLI *et al.*, 2008). Na literatura, é descrita a ocorrência de saponinas e alcaloides β-carbolínicos, estes últimos, recentemente detectados apenas em quantidades traço (REGINATTO *et al.*, 2004).

O gênero *Passiflora* compreende cerca de 400 espécies, duas dezenas das quais restritas à Índia, China, Austrália e Oceania; as demais espécies ocorrem nas Américas (SACCO, 1980;

BERNACCI, 2003). O Brasil, com cerca de 120 espécies, é um dos países com maior número de representantes nativos. Em São Paulo, encontram-se aproximadamente 40 espécies (BERNACCI, 2003).

Os representantes do gênero evidenciam variação morfológica. As folhas apresentam-se alternas, simples, inteiras, lobadas ou partidas, com nervação trinérvea ou pentanérvea e margem inteira ou serreada, às vezes glandular (BERNACCI, 2003). Os pecíolos exibem, com frequência, glândulas variáveis na forma e em número. O caule é obtuso-quadrangular, cilíndrico ou subcilíndrico (FREITAS, 1985; BERNACCI, 2003). As flores, geralmente vistosas, propiciam o emprego na ornamentação, além de relacionadas a eventos da paixão de Cristo, fato a que se atribui a denominação flor-da-paixão (FALEIRO *et al.*, 2005).

Sob o aspecto anatômico, as folhas das passifloras apresentam mesofilo dorsiventral, estômatos geralmente anomocíticos, feixes vasculares colaterais, cristais de oxalato de cálcio, principalmente agrupados e indumento variável (METCALFE & CHALK, 1950; FREITAS, 1985; BERALDO & KATO, 2010).

POLYGONACEAE

Polygonaceae compreende cerca de 40 gêneros e 1.100 espécies de distribuição ampla, mas com maior número de representantes no hemisfério norte. No Brasil, ocorrem 7 gêneros e cerca de 100 espécies. As espécies de *Triplaris* Loefl., *Antigonum* Rchb., *Muehlenbeckia* Meisn. têm encontrado uso como ornamentais (SOUZA & LORENZI, 2008).

Nos gêneros *Rheum* e *Polygonum* principalmente, observam-se as espécies com importância na fitoterapia. No País, é comum encontrarem-se, em beiras de córregos e como invasoras de culturas, diversas espécies de *Polygonum* denominadas indistintamente como erva-de-bicho, em alusão ao uso tradicional em parasitoses e hemorroidas (YANO *et al.*, 2004; ZHAO *et al.*, 2009).

O uso terapêutico de Polygonaceae tem encontrado apoio em estudos farmacológicos, alguns dos quais detectam a presença de flavonoides, taninos e antraquinonas (DATTA *et al.*, 2000, 2002; YI *et al.*, 2007; MEI *et al.*, 2009). A estes últimos pode-se atribuir a atividade laxativa, hepatoprotetora e antiinflamatória (ZHAO *et al*, 2009). A tendência à ação antiúlcera observada nos ensaios com extratos preparados com os órgãos aéreos de *P. persicaria* pode ser relacionada à presença dos primeiros (YANO, H.M., 1999).

A família é representada por ervas, arbustos e árvores, de folhas inteiras, alternas, com ócrea, por vezes caduca. No campo, os membros de *Polygonum*, comuns em áreas alagadiças, são reconhecidos pelo porte herbáceo, de caule, por vezes prostrado, que deixa ver a formação de raízes nos nós que se encontram em contato com o solo. Acresce-se a ócrea no caule, resultante da concrescência de estípulas e a inflorescência terminal espiciforme (BARROSO, 1991; SOUZA & LORENZI, 2008).

Sob o aspecto anatômico, são descritos como caracteres gerais da família as folhas dorsiventrais, anfiestomáticas, com estômatos frequentemente paracíticos, presença de cristais de oxalato de cálcio isolados ou agrupados, tricomas tectores e glandulares, células ou

cavidades secretoras (METCALFE & CHALK, 1950). Nas folhas de *P. persicaria,* foram observadas características particulares, que, em conjunto, auxiliam na identificação e diferenciação de outras espécies, tais como a presença de tricomas glandulares com 4 a 8 células secretoras e tricomas tectores lignificados, plurisseriados na base e as células globosas na face adaxial, a que a literatura atribui a função de armazenamento de água (YANO *et al.*, 2004).

SOLANACEAE

Solanaceae, família de ampla distribuição, porém mais bem representada em regiões tropicais e subtropicais, inclui cerca de 150 gêneros e 3.000 espécies. O gênero *Solanum* compreende o maior número de representantes. No Brasil, constam 32 gêneros e 350 espécies (SOUZA & LORENZI, 2008).

Essa família, com grande número de espécies relevantes na terapêutica, na alimentação e como condimento, caracteriza-se pela ocorrência de alcaloides, esteroides e flavonoides (KOHARA *et al.*, 2007; SLIMESTAD *et al.*, 2008; BIASTOFF *et al.*, 2009). A indústria do fumo utiliza folhas de *Nicotiana* spp. Na alimentação, destacam-se a batata (*Solanum tuberosum* L.), a berinjela (*Solanum* spp.), as pimentas (*Capsicum* spp.) e o tomate (*Lycopersicum* spp.). A beladona (*Atropa belladonna* L.), trombeteira [*Brugmansia suaveolens* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Bercht. & J. Presl], o meimendro (*Hyoscyamus niger* L.), o estramônio (*Datura stramonium* L.) e a jurubeba (*Solanum* spp.) são algumas das espécies de importância farmacêutica.

Os alcaloides tropânicos, os componentes de maior interesse terapêutico na família devido à sua atividade anticolinérgica, são empregados como antiespasmódicos, no tratamento de úlceras, em procedimentos pré-anestésicos, dentre outros. E os glicoalcaloides, encontrados em Solanaceae, mostram uso na semissíntese de hormônios esteroidais, além de limites máximos em alimentos devido à toxicidade variável a mamíferos (MATSUSHITA *et al.*, 2005).

A família é representada por ervas, arbustos e árvores, geralmente de folhas simples, inteiras ou de margens providas de recortes, de flores pentâmeras, diclamídeas e bissexuadas, anteras de deiscência rimosa ou poricida, ovário súpero, geralmente bilocular e pluriovulado, de fruto baga ou cápsula. Nas características anatômicas de folhas, encontram-se dados conflitantes na literatura, mas, de modo geral, convergem para o mesofilo dorsiventral, folhas hipoestomáticas com estômatos anomocíticos ou anisocíticos em *Solanum*, tricomas tectores ramificados e glandulares, presença de cristais de oxalato de cálcio de forma variada e floema intraxilemático (METCALFE & CHALK, 1950; MORRETES, 1969; BARROSO, 1991; MOBOT, 2010).

Espécies de *Solanum*, como *S. paniculatum* L. e *S. variabile* Mart., conhecidas como jurubeba, encontram suporte no uso em úlceras (MESIA-VELA *et al.*, 2002; ANTONIO *et al.*, 2004). O polimorfismo dificulta a análise macroscópica, mas caracteres anatômicos nas folhas auxiliam na sua diferenciação. *S. variabile,* comparativamente à espécie farmacopeica (*S. paniculatum)*, mostra detalhes que permitem sua distinção. Em ambas as faces, seus tricomas tectores cônicos e tricomas tectores de pedicelo longo, pluricelular, na parte terminal dos quais se encontram ramificações estreladas, evidenciam as paredes notadamente espessadas por lignina (FURLAN *et al.*, 1999).

ÚLCERAS PÉPTICAS

São lesões crônicas, geralmente aparecem isoladas e com menos de 4cm de diâmetro. Embora possam ocorrer em qualquer porção do trato gastrintestinal, a grande maioria se localiza no duodeno e estômago. As úlceras são caracterizadas histologicamente como uma descontinuidade na mucosa que se estende através da camada muscular da mucosa até dentro da submucosa, ou mais profundamente. Diferenciam-se das gastrites, que são, de forma genérica, inflamações na mucosa gástrica, podendo ser acompanhadas por hemorragias e erosão da mucosa (destruição dos tecidos que não chega a atingir a camada muscular).

Essas lesões são geradas por um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa da mucosa gástrica e forças lesivas (FIGURA 1), particularmente a secreção ácida e a pepsina. Entretanto, hiperacidez não é um requisito, já que apenas uma minoria dos pacientes com úlcera gástrica apresenta essa característica (embora quando presente é um fator fortemente ulcerogênico). Preferencialmente, as úlceras ocorrem quando as defesas da mucosa colapsam, o fluxo sanguíneo da mucosa se reduz, o esvaziamento gástrico é retardado ou a restituição epitelial está debilitada. A Figura 2 mostra a fisiologia da mucosa gástrica em condições normais.

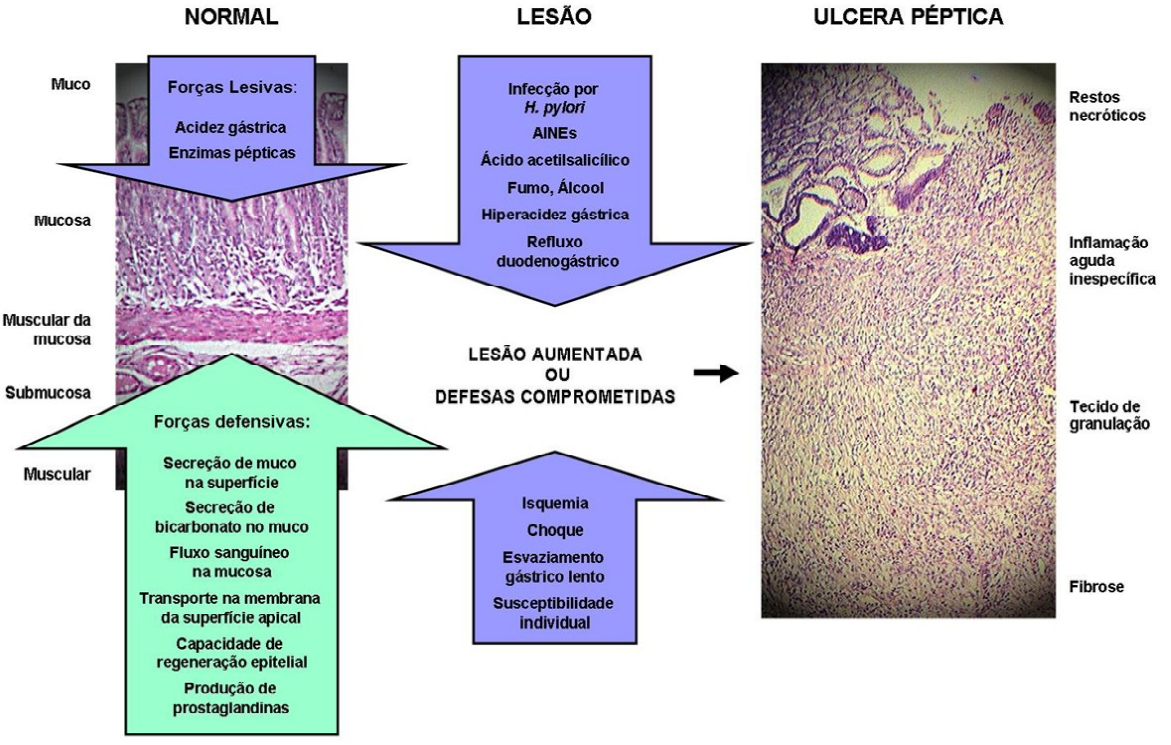


FIGURA 1. Esquema da fisiopatologia da úlcera péptica. Adaptado de KUMAR (2005)

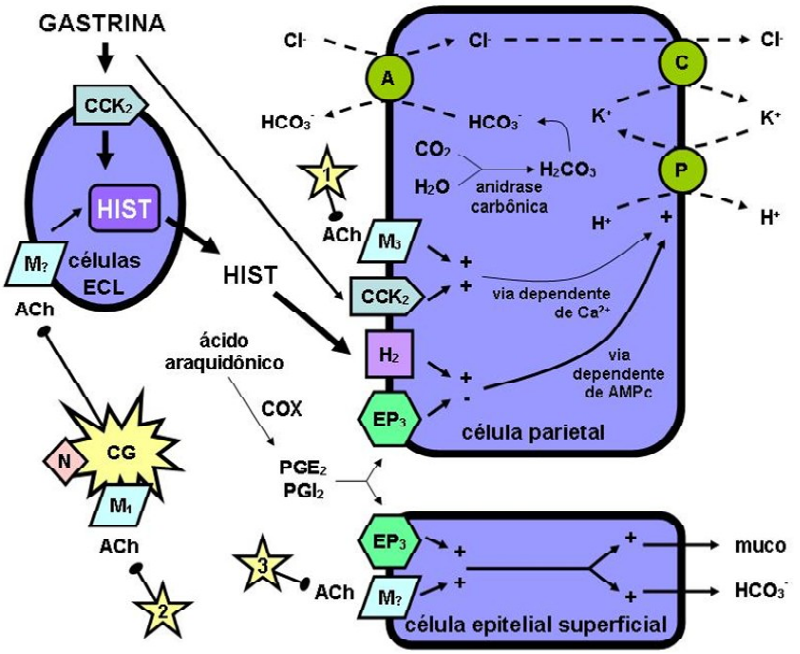


FIGURA 2. Regulação fisiológica da secreção gástrica. A figura mostra interações entre uma célula semelhante às células enterocromafins (**ECL**) que libera histamina, uma célula parietal (que secreta ácido) e uma célula epitelial superficial secretora de muco e bicarbonato. As vias fisiológicas (setas em negrito) podem ser estimuladoras (+) ou inibidoras (-). **1** e **3** indicam possíveis influxos de fibras colinérgicas pós-ganglionares, enquanto **2** mostra o influxo neural do nervo vago sobre uma célula ganglionar (**CG**) do sistema nervoso entérico. Os agonistas fisiológicos e seus respectivos receptores incluem receptores de acetilcolina (**ACh**), muscarínicos (**M**) e nicotínicos (**N**); gastrina, receptor de colecistocinina 2 (**CCK_2**); histamina (**HIST**), receptor **H_2**, e prostaglandinas E_2 e I_2 (**PGE_2**, **PGI_2**), receptor **EP_3**. A secreção ácida envolve uma bomba de prótons (**P**), que é uma H^+/K^+ATPase, um cotransportador (**C**) de K^+ e Cl^- e um antitransportador (**A**) que troca Cl^- e HCO_3^-. Adaptado de BRUNTON (2006).

A infecção por *Helicobacter pylori* é um fator preponderante na patogênese de úlcera péptica. Está presente em praticamente todos os pacientes com úlcera duodenal e em aproximadamente 70% dos que apresentam úlcera gástrica. Outros fatores, como anti-inflamatórios não esteroidais – AINEs (impedem a produção de prostaglandinas), cigarro (compromete o fluxo sanguíneo e a cicatrização) e estresse psicológico, também contribuem para a formação de úlceras (KUMAR, 2005).

Segundo Glavin & Szabo (1992), os mecanismos de defesa da mucosa são representados por fatores clássicos, como muco e secreção de bicarbonato, bem como prostaglandinas, sulfidrilas, poliaminas e os gastroprotetores, caracterizados mais recentemente, incluindo fator relaxante do endotélio/óxido nítrico e dopamina. Quanto à dopamina, verificou-se que seu efeito protetor no trato gastrointestinal é mediado por um receptor DA_1 periférico; o estudo desse mecanismo ainda deve ser aprofundado.

Mecanismos de defesa extraepiteliais, epiteliais e subepiteliais protegem a mucosa gastroduodenal contra ácido e pepsina. Os mecanismos epiteliais incluem o fator de crescimento epidérmico, fosfolipídios ativos na superfície da membrana luminal de células epiteliais, compostos sulfidrila e rápida reconstituição epidérmica após dano. Os mecanismos subepiteliais incluem fluxo sanguíneo da mucosa, fornecendo bicarbonato à mucosa, necessário para a neutralização do ácido que penetra no epitélio e efeito protetor do processo de secreção ácida (AINSWORTH & KJELDSEN, 1990).

Entre os agentes que podem lesionar as mucosas, destacam-se o álcool e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), substâncias presentes no cotidiano da população. Em ensaios com animais, foi observado que a administração oral de prostaglandinas exógenas anterior ao etanol previne o dano à mucosa em curva dose-resposta. Por meio de estudos histológicos, percebeu-se que o comprometimento do fluxo sanguíneo tem um papel na etiologia da úlcera induzida por esse modelo, devido às lesões vasculares provocadas pelo etanol (GLAVIN & SZABO, 1992). Mecanismos envolvidos nesse modelo podem ser encontrados na Tabela 1.

TABELA 1. Fatores envolvidos na lesão da mucosa gástrica induzida por etanol (Adaptado de GLAVIN & SZABO, 1992)

Aumento	Diminuição
Geração de radicais livres	Produção de muco
Refluxo na difusão de ácido	Motilidade gástrica
Liberação de serotonina	Diferença de potencial transmucosa
Liberação de histamina	Produção endógena de GSH (glutationa)
Efluxo de sódio e potássio	Produção de prostaglandinas
Influxo de cálcio	Fluxo sanguíneo na mucosa gástrica
Produção de leucotrienos	
Isquemia	
Permeabilidade vascular gástrica	

Kawano (2000) realizou um trabalho de revisão em que destaca o papel da endotelina-1 (ET-1) e do óxido nítrico (NO) na úlcera gástrica, inclusive em lesões causadas por etanol. A administração de etanol ou outro estímulo (como, por exemplo, hipóxia) aumenta a liberação de ET-1 pelos vasos, sanguíneos no estômago. A endotelina-1, por sua vez, interage com receptores ET_A na musculatura dos vasos promovendo vasoconstrição, que leva a distúrbios na microcirculação gástrica, o que contribui para a formação das lesões. Já o óxido nítrico endógeno ajuda a reduzir as lesões gástricas hemorrágicas provocadas pelo etanol por causa de sua ação vasodilatadora, que ajuda a regular a microcirculação.

As espécies reativas de oxigênio têm participação na patogênese da úlcera gástrica, inclusive quando essas lesões são ocasionadas por etanol. Atribui-se ao álcool o aumento de ânions superóxido, radicais hidroxila e peroxidação lipídica na mucosa gástrica, induzindo estresse oxidativo intracelular (REPETTO, 2002 E KWIECIEÑ, 2002). Um mecanismo proposto que relaciona etanol, radicais livres e lesão gástrica sugere o envolvimento de canais receptores de potencial transiente vaniloides do tipo 1 (TRPV-1), que, ao serem ativados por etanol, resultam na liberação de substância P que estimula receptores de neurocinina-1 a gerar espécies reativas de oxigênio (GAZZIERI, 2007).

Em relação aos AINEs, seu efeito colateral mais conhecido é o dano provocado à mucosa gástrica. Esse dano pode ocorrer por dois mecanismos distintos. O primeiro é a conhecida inibição das enzimas ciclo-oxigenases, diminuindo assim a produção de prostaglandinas endógenas. O segundo consiste na formação de um gradiente de íons que favorece o influxo de H^+ para dentro das células da mucosa gástrica, com efluxo de K^+ e Na^+ para o lúmen, resultando em mudanças na permeabilidade celular e consequente lesão celular (GLAVIN & SZABO, 1992).

Há outros mecanismos pelos quais essas substâncias podem induzir lesão. Alguns AINEs, particularmente os que apresentam caráter ácido, promovem diretamente a morte de células epiteliais. Podem também destruir a camada de fosfolipídeos tensoativos na superfície da mucosa (que ajudam na proteção), independentemente de seu efeito sobre a síntese de prostaglandinas. Ainda são capazes de reduzir a capacidade regenerativa promovida pelo EGF – fator de crescimento epitelial (WALLACE, 2008).

Mais detalhes sobre o mecanismo de formação de lesões gástricas por meio da influência dos AINEs sobre as ciclo-oxigenases estão na Figura 3.

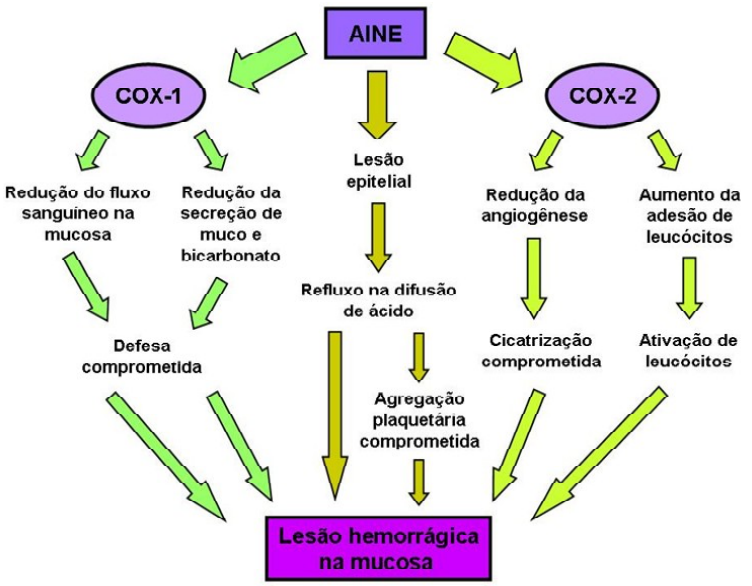


FIGURA 3. Mecanismos e fatores envolvidos na lesão da mucosa gástrica induzida por anti-inflamatórios não esteroidais (**AINEs**). **COX-1** e **2** : ciclo-oxigenases. Adaptado de WALLACE, 2008.

Modelos *in vivo* empregados na avaliação da atividade antiúlcera

A atividade antiúlcera de uma substância desconhecida ou de um extrato vegetal pode ser medida em animais de experimentação frente a quatro modelos distintos:

- indução de úlceras por álcool.
- indução de úlceras por medicamentos (ácido acetilsalicílico, indometacina);
- indução de úlceras por estresse (cirúrgico ou contenção);
- indução por ácido acético (úlcera subcrônica).

Tais modelos são os mais utilizados; os 3 primeiros, porque representam os agentes etiológicos mais comuns envolvidos na patologia da úlcera gástrica humana, e o último, por promover uma lesão mais parecida com a que ocorre no homem. Como os agentes indutores de úlceras exercem ação lesiva por diferentes mecanismos, é conveniente estudar a ação antiúlcera da substância teste ou do extrato vegetal, em todos esses modelos.

O álcool, nas concentrações utilizadas, é um conhecido agente necrotizante, que lesa a mucosa gástrica por esse mecanismo. A aspirina ou a indometacina, anti-inflamatórios não esteroidais, induzem a lesões gástricas ao inibirem a biossíntese de prostaglandinas (PGE2). O modelo de úlcera por estresse envolve mecanismos centrais, principalmente, hipotalâmicos (GLAVIN & SZABO, 1992). O ácido acético promove lesão vascular e necrose local; seus mecanismos serão discutidos mais detalhadamente adiante.

Modelo de indução por etanol acidificado

A metodologia de indução de lesões na mucosa gástrica, induzidas por etanol e ácido clorídrico, é normalmente utilizada para a triagem de agentes citoprotetores e antiúlcera.

O uso de etanol na indução de úlceras é realizado por procedimentos simples e reprodutíveis, com a administração de diferentes quantidades (0,5 a 2mL) de etanol 50-100%. Dependendo da quantidade de etanol administrada, entre 10 e 40% da porção glandular dos estômagos de ratos e camundongos se tornam cobertas por lesões hemorrágicas e úlceras, que são observadas entre 1 e 2 horas após a administração. Estudos feitos com base no tempo do modelo demonstram que a maior parte das lesões se forma dentro de 1 a 3 minutos do contato do etanol com a mucosa. Por esse modelo, foi observado que a administração de prostaglandinas exógenas antes da dose de etanol previne o dano à mucosa em curva dose-resposta (GLAVIN & SZABOL, 1992).

Alguns estudos demonstraram que radicais livres de oxigênio e peroxidação lipídica têm importante papel na formação de lesões gástricas agudas, induzidas por etanol. O etanol induz uma venoconstrição rápida e intensa, acompanhada por uma rápida e intensa dilatação arteriolar. Os oxirradicais gerados provocam profundas mudanças no ambiente celular, levando à morte das células. Em razão de sua alta reatividade, atacam constituintes essenciais, como ácidos nucleicos, proteínas ou lipídeos, induzindo também à peroxidação dos lipídios de membrana, levando à formação de compostos tóxicos, como epóxidos e aldeídos, e gerando novos radicais livres. A peroxidação lipídica resulta na produção e na liberação de substâncias que

ativam leucócitos polimorfonucleares. O grau de infiltração de neutrófilos na mucosa gástrica foi relacionado à gênese da lesão. Neutrófilos contêm a enzima NADPH oxidase, que reduz o oxigênio molecular ao radical ânion superóxido. Esses leucócitos também são os mediadores primários do aumento da permeabilidade vascular (LA CASA *et al*, 2000).

Modelo de indução por anti-inflamatórios não esteroidais

A teoria relacionada a esse modelo de indução é muito importante para o entendimento do mecanismo da ulceração gástrica envolvido nesse processo.

A literatura indica que os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) induzem danos gástricos por, pelo menos, dois mecanismos. O primeiro consiste no bem caracterizado efeito do bloqueio das ciclo-oxigenases pelos AINEs, inibindo, assim, as prostaglandinas endógenas. O segundo mecanismo é denominado "armadilha de íons" e resulta da dissociação ácida de AINEs (pKa = 3,5 - 4,0), no ambiente intracelular comparativamente neutro (pH = 7,0) das células da mucosa. No estado ionizado, AINEs são solúveis em água e ficam "presos" dentro da célula, criando um gradiente de concentração que favorece o movimento de íons dissociados de ácidos orgânicos fracos (AINEs) para a mucosa gástrica. Alterações da permeabilidade celular e injúrias resultam do influxo de íons hidrogênio, enquanto íons de sódio e potássio movem-se para dentro do lúmen gástrico. O tamponamento do pH intraluminal para 6,0-7,0 diminui o dano gástrico induzido por AINEs, sendo que esta propriedade foi explorada na produção de vários AINEs tamponados (GLAVIN & SZABO, 1992).

Modelos de indução por estresse

Ligadura do piloro - estresse cirúrgico

A ligadura do piloro estimula a liberação de ácido por um período de quatro a seis horas. Há indicações que essa resposta se dá por reflexos do nervo vago, através de sensores de pressão localizados na região do piloro (ALUMETS, 1982). Esse modelo é utilizado para a avaliação das propriedades antissecretoras de compostos, porque foi demonstrado que a hipersecreção, após ligadura pilórica, é mediada predominantemente por ativação dos reflexos vagovagais (THOMPSON, 1990). Segundo Loscalzo (1981) e Parmar (1984), essa resposta é inibida (entre outros modos) por antagonistas de receptores H2 como a cimetidina, já que há outros mecanismos envolvidos nesse processo. No entanto, outros autores relataram que a cimetidina não tem efeito pronunciado nesse modelo (OKABE, 1977; SALIM, 1988).

Contenção - Imersão em água

Após administração dos extratos, os animais são imobilizados por introdução em tubos de PVC, com 4cm de diâmetro e 8cm de altura, fechados na parte anterior por uma tela e, na parte posterior, por tampa de rosca. Os animais permanecem imersos em água, até a altura do

xifoide, a 25°C, durante 17 horas, sob iluminação direta e constante. Após esse período, os animais são sacrificados e medidos os tamanhos das ulcerações. As ulcerações são classificadas em determinados níveis, sendo leve (I): com presença de edema, hiperemia e hemorragia puntiforme na submucosa; moderada (II): presença de lesões hemorrágicas na submucosa, com pequenas erosões; severa (III): presença de hemorragia, com erosões severas e algumas lesões invasivas.

Das *et al.*(1998) demonstraram que a ulceração gástrica aguda, induzida por estresse com frio e contenção em ratos, é causada pela geração de radicais hidroxila dependente de íon metálico e por inativação oxidativa da peroxidase gástrica, uma importante enzima sequestradora de peróxido de hidrogênio.

Com base em resultados obtidos em ratos, Yu *et al.* (1997) sugerem que óxido nítrico (NO), derivado de óxido nítrico sintase induzida (iNOS), pode ter função importante na supressão de danos à mucosa do estômago, induzidos por estresse. Nishida *et al.* (1997), utilizando esse modelo de indução de úlcera gástrica, verificaram que uma diminuição da atividade de óxido nítrico sintase constitutiva (cNOS) e um aumento de iNOS da mucosa gástrica estão relacionados ao desenvolvimento de lesões da mucosa gástrica. O mesmo foi verificado por Nishida *et al.* (1998), em que animais submetidos a um período de estresse de seis horas, sob contenção e imersão em água, mostraram um aumento de nitrito/nitrato, que são produtos de decomposição de óxido nítrico. De maneira concomitante, foi verificado o aumento de atividade de NO sintase induzida (iNOS). Pré-tratamento com aminoguanidina, um inibidor seletivo da iNOS, reduziu tanto o número de ulcerações, como nitrito/nitrato.

NO, além de estimular a secreção de muco e bicarbonato, e manter o fluxo sanguíneo gástrico, promove a angiogênese *in vivo* e *in vitro*. Como já citado anteriormente, a biossíntese de NO é conduzida por uma família de isozimas, incluindo NOS neuronal (nNOS), NOS endotelial (eNOS) e NOS induzida (iNOS). Como os nomes sugerem, nNOS e eNOS são constitutivas (existem originalmente) em neurônios e células endoteliais, respectivamente. Em contraste, iNOS não existe normalmente nos tecidos, mas pode ser induzida por várias condições patológicas (MA & WALLACE, 2000).

Modelo de indução por ácido acético

De acordo com um completo trabalho de revisão, realizado por Okabe & Amagase (2005), as principais razões do uso desse modelo consistem primordialmente de três fatores: primeiro na sua relativa simplicidade de execução, com a formação de úlceras de tamanho e severidade constantes com incidência de 100%; depois, esse modelo é o que mais se aproxima da úlcera humana, tanto em termos patológicos quanto de cicatrização; por fim, as úlceras formadas respondem bem a vários agentes antiúlcera, como inibidores da bomba de próton, sucralfato e diversos fatores de crescimento. Após estudos histopatológicos, concluiu-se que o mecanismo de formação de úlceras por esse modelo começa por lesão vascular, que resulta em necrose isquêmica, provocando a ulceração. Por fim, a fase crônica muito se assemelha às úlceras humanas. Quanto ao processo de cicatrização, foi observado que fármacos anti H2 não têm um

efeito pronunciado sobre as úlceras formadas pelo ácido acético, fato que pode ser explicado pela inibição da angiogênese no tecido de granulação pelo bloqueio dos receptores H2, resultando em um fator desfavorável à cicatrização. Já os inibidores da bomba de prótons aceleram de forma significante a cicatrização quando utilizados nesse modelo, assim como prostaglandinas e seus análogos.

Pesquisas de espécies vegetais com atividade antiúlcera, realizadas no laboratório de Farmacognosia da FCF-USP

A seleção das espécies estudadas foi baseada no uso popular, com o objetivo de sua comprovação. Suffredini *et al.* em 1999, testaram os extratos e frações de caules de *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) de la Sota (Polypodiaceae) em ratos frente indução por etanol acidificado, estresse (imersão em água) e ácido acético (modelo subcrônico), obtendo indicação de atividade antiúlcera (por resultados positivos frente aos dois últimos modelos), atribuída à ação local de taninos e sistêmica de flavonoides glicosilados presentes no extrato elaborado. Guaraldo *et al.* em 2001, utilizando os mesmos métodos, também obtiveram indicação dessa atividade para os caules de *Davilla rugosa* Poir. (Dilleniaceae), onde foi constatada a presença de saponinas e flavonoides, possivelmente correlacionados à ação antiúlcera.

Utilizando o modelo de ligadura do piloro, constatou-se que extratos de folhas e frutos de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae) reduzem o volume de secreção gástrica, bem como o tamanho de lesões induzidas por estresse (Albiero *et al.*, 2002).

O extrato hidroetanólico de folhas de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (Myrtaceae), assim como o extrato e frações de folhas de caju (*Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae), demonstraram atividade citoprotetora frente ao modelo de indução por etanol acidificado. Foram encontrados e identificados flavonoides no extrato de caju, como a quercetina e alguns de seus glicosídeos, substâncias que podem estar relacionadas à ação encontrada (MARKMAN, 2004; KONAN, 2007). Utilizando a mesma metodologia para atividade antiúlcera, verificou-se que o extrato hidroalcoólico das partes aéreas de *Melampodium camphoratum* (L. f.) Baker (Asteraceae), quando administrado a ratos em dose de 400mg/kg, apresenta desempenho semelhante ao do misoprostol a 100 µg/kg (SAITO *et al,* 2007); Ishikawa *et al* (2008) observaram que o extrato em etanol 70% de folhas de *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae), em doses de 100 e 200mg/kg, apresenta ação antiúlcera semelhante a lansoprazol em dose de 30mg/kg, enquanto a dose de 400mg/kg demonstrou atividade mais potente. Possivelmente correlacionados à ação citoprotetora, foram identificados triterpenos como a â-amirina e o ácido oleanólico. Donatini *et al* (2009) encontraram também atividade citoprotetora para o extrato em etanol/água de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae), no entanto o mesmo não foi capaz de promover cicatrização em lesões induzidas por ácido acético. Em 2009, Toledo-Dias *et al.* observaram também ação antiúlcera em modelo de indução por etanol/HCl, utilizando extratos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae), obtendo redução de 90% no tamanho das lesões com dose de 200mg/kg.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação da qualidade de drogas vegetais implica a análise de conjuntos de caracteres. Como observado anteriormente, o conhecimento de caracteres de níveis hierárquicos superiores ao da espécie em questão é um facilitador, principalmente quando o material vegetal encontra-se fragmentado ou mesmo pulverizado. Por vezes, em casos de adulteração ou substituição de drogas vegetais por espécies do mesmo gênero, sem valor terapêutico, evidencia-se como fundamental a complementação da análise através do perfil fitoquímico. O estudo morfoanatômico de espécies medicinais inegavelmente promove o conhecimento tanto sob o aspecto analítico, como para o aprofundamento de discussões sobre a variação morfológica e anatômica em resposta à multiplicidade de fatores externos exercida nas plantas. Embora incipiente e representada por algumas publicações, a análise que emprega técnicas moleculares pode, em futuro próximo, auxiliar a diagnose de formulações contendo associações de drogas vegetais.

Drogas vegetais padronizadas, utilizadas pela população para problemas gastrointestinais, foram estudadas em alguns modelos *in vivo*. Comprovada a atividade, há necessidade de verificação da segurança, elaboração de formulações e realização de ensaios clínicos, para que os produtos possam ser registrados e, finalmente, comercializados. Dessa maneira, através de pesquisas interdisciplinares, será obtido um produto final de qualidade.

REFERÊNCIAS

AINSWORTH, M.A.; KJELDSEN, J. Defense mechanisms of the gastroduodenal mucosa. The significance of epithelial and subepithelial factors for the development of acute and chronic ulceration. **Ugeskr Laeger**, v.152, p.2542-2546, 1990.

ALBIERO, A.L.M.; SERTIÉ, J.A.A.; BACCHI, E.M. Antiulcer activity and toxicity of *Sapindus saponaria* L. in the rat. **Journal of Ethnopharmacology**,v.82, p.41-44, 2002.

ALUMETS, J.; EKELUND, M.; HAKANSON, R.; HEDENBRO, J.; REHFELD, J.F.; SUNDLER, F.; VALLGREN S. Gastric acid response to pylorus ligation in rats: is gastrin or histamine involved? **The Journal of Physiology**, v.323, p.145-156, 1982.

ANTONIO, J.M.; GRACIOSO, J.S.; TOMA, W.L.; LOPEZ, C.; OLIVEIRA, F.; SOUZA BRITO, A.R.M. Antiulcerogenic activity of ethanol extract of *Solanum variabile* (false "jurubeba"). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n.1, p.83-88, 2004.

AURICCHIO, M. T. ; BUGNO, A. ; BARROS, S. B. M. ; BACCHI, E. M. . Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxcidade de *Eugenia uniflora***. Latin American Journal of Pharmacy, v**. 26, p. 76-81, 2007.

BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: EDUSP (v.1, 1978). Viçosa: UFV (v.2, v.3, 1991).

BERALDO, J.; KATO, E.T.M. Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, *Passifloraceae*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.2, p.233-239, 2010.

BERNACCI, L.C. *Passifloraceae.* In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Giulietti, A.M.; Melhem, T.S. cords. **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, RIMA, 2003. p.247.

BIASTOFF, S.; BRANDT, W.; DRÄGER, B. Putrescine N-methyltransferase – The start for alkaloids. **Phytochemistry**, v. 70, p. 1708–1718, 2009.

BISHAYEE, A.; CHATTERJEE, M. **Protective effects of** *Mikania cordata* **root extract against physical and chemical factors-induced gastric erosions in experimental animals. Planta Medica**, v.60, n.2, p.110-113, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. **Registro de medicamentos fitoterápicos**. DOU nº 63, 5 de abril de 2010.

DAS, D.; BANDYOPADHYAY, D.; BANERJEE, R.K. Oxidative inactivation of gastric peroxidase by site-specific generation of hydroxyl radical and its role in stress-induced gastric ulceration. **Free Radical Biology & Medicine**, v.24, p.460-469, 1998.

DATTA, B.K.; DATTA, S.K., RASHID, M.A.; SARKER, S.D. Flavonoids from *Polygonum stagninum* (Polygonaceae). **Biochemical systematic and ecology, v.30**, n. **7, p. 693-696, 2002.**

DATTA, B.K.; DATTA, S.K.; RASHID, M.A.; NASH, R.J.; SARKER, S.D. A sesquiterpene acid and flavonoids from *Polygonum viscosum*. **Phytochemistry**, v. 54, n.2, p. 201-205, 2000.

DONATINI,R.S.; ISHIKAWA, T; BARROS, S.B.M; BACCHI, E.M. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.1A, p.89-94, 2009.

FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro. In: Idem (eds.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, 670 p.

FARMACOPÉIA Brasileira. 1977. 3. ed. São Paulo: Andrei.

FARMACOPÉIA Brasileira. 2002. 4. ed. São Paulo: Atheneu.

FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 1959. 2. ed. São Paulo: Siqueira.

FOGLIO, M.A.; DIAS, P.C.; ANTÔNIO, M.A.; POSSENTI, A.; RODRIGUES, R.A.F.; SILVA, E.F.; REHDER, V.L.G.; CARVALHO, J.E. **Antiulcerogenic activity of some sesquiterpene lactones isolated from** *Artemisia annua.* **Planta Medica**, v.68, n.6, p.515-518, 2002.

FREITAS, P.C.D. **Estudo farmacognóstico comparativo de espécies brasileiras do gênero *Passiflora***. 1985. 133 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FU, Y.; ZU, Y.; CHEN, L.; SHI, X.; WANG, Z.; SUN, S.; EFFERTH, T. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 10, p. 989–994, 2007**.**

FURLAN, C.M.; KATO, E.T.M.; OLIVEIRA, F. Caracterização farmacognóstica da droga e do extrato fluido de *Solanum variabile* Mart. **LECTA – USF**, v. 17, n. 2, p. 9-35, 1999.

GAZZIERI, D.; TREVISANI, M.; SPRINGER, J.; HARRISON, S.; COTTREL, G.S.; ANDRE, E.; NICOLETTI, P.; MASSI, D.; ZECCHI, S.; NOSI, D.; SANTUCCI, M.; GERARD, N.P.; LUCATTELLI, M.; LUNGARELLA, G.; FISCHER, A.; GRADY, E.F.; BUNNETT, N.W.; GEPPETTI, P. Substance P released by TRPV1-expressing neurons produces reactive oxygen species that mediate ethanol-induced gastric injury. **Free Radical Biology & Medicine**, v.43, p.581-589, 2007.

GLAVIN, G.B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **The FASEB Journal**, v.6, p.825-831, 1992.

GUARALDO, L.; SERTIÉ, J.A.A.; BACCHI, E.M. Antiulcer action of the hydroalcoholic extract and fractions of

Davilla rugosa Poiret in the rat. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, p.191-195, 2001.

ISHIKAWA, T.; DONATINI, R.; DIAZ, I.; YOSHIDA, M.; BACCHI, E.; KATO, E.T.M. Evaluation of gastroprotective activity of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae) leaves in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 527-529, 2008.

ISHIKAWA, T.; KATO, E. T. M.; YOSHIDA, M.; KANEKO, T. M. Morphoanatomic aspects and phytochemical screening of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae). **RBCF. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 515-520, 2008.

JORGE, L.I.F.; OLIVEIRA, F.; KATO, E.T.M.; OLIVEIRA, I. Caracterização farmacognóstica das folhas e dos frutos de *Eugenia uniflora* L. – Myrtaceae. **LECTA – USF**, v.12, n. 2, p. 103-120, 1994.

KAWANO, S.; TSUJI, S. Gastric mucosal protection and cell proliferation. Role of mucosal blood flow: A conceptional review in gastric mucosal injury and protection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.15. supl.D1-D6, 2000.

KESZEI, A.; HASSAN, Y.; FOLEY, W.J. A biochemical interpretation of terpene chemotypes in *Melaleuca alternifolia.* **Journal of Chemical Ecology** , v. 36, n. 6, p. 652-661, 2010.

KOHARA, A.; NAKAJIMA, C.; YOSHIDA, S.; MURANAKA, T. Characterization and engineering of glycosyltransferases responsible for steroid saponin biosynthesis in Solanaceous plants. **Phytochemistry**, v. 68, n. 4, p. 478-486, 2007.

KONAN, A.N.; BACCHI, E.M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves**. Journal of Ethnopharmacology**, v.112, p.237-242, 2007.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease**. 7.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.

KWIECIEÑ, S.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, S.J. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.53, n.1, p.39-50, 2002.

LA CASA, C. VILLEGAS, I.; ALARCON DE LA LASTRA, C.; MOTILVA, V.; CALERO, M.J.M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **J. Ethnopharmacol.**, v.71, n.1/2, p.45-53, 2000.

LANDRUM, L.R., KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n.4, p.508-536, 1997.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M.; TORRES, M.A.V.; BACHER, L.B. **Árvores exóticas no Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2003. p. 271-290.

LOSCALZO, B.; AGRUSTA, A.; AGRUSTA, M.; CERCIELLO, A.; CRISCI, A.; TROVATO, C. Cimetidine in experimental gastric ulcers induced by pyloric ligation. **Bollettino della Societa Italiana di Biologia Sperimentale**, v.57, n.1, p.80-85, 1981.

MA, L.; WALLACE, J.L. Endothelial nitric oxide synthase modulates gastric ulcer healing in rats. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal Liver Physiology**, v.279, p.G341-G346, 2000.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 55-57, 2004.

MATSUSHITA, S.; YOSHIZAKI, M.; FUJIWARA, Y.; IKEDA, T.; ONO, M.; OKAWARA, T.; NOHARA, T. Facile conversion of 23-hydroxyspirosolane into pregnane. **Tetrahedron Letters,** v. 46, n. 20, p. 3549-3551, 2005.

MAZZANTI, G.; BATTINELLI, L.; DANIELE, C.; COSTANTINI, S.; CIARALLI, L.; EVANDRI, M.G. Purity control of some Chinese crude herbal drugs marketed in Italy. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p. 3043–3047, 2008.

MEI, R.; LIANG, H.; WANG, J.; ZENG, L.; LU, Q.; CHENG, Y. **New Seco-anthraquinone glucosides from** *Rumex nepalensis.* **Planta Medica**, v.75, n.10, p. 1162-1164, 2009.

MESIA-VELA, S., SANTOS M.T., SOUCCAR C., LIMA-LANDMAN M.T.R., LAPA A.J. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): Potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**, v.9 , n. 6, p.508-514, 2002.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1950.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. Research. Disponível em: http://www.mobot.org/mobot/research. Acesso em setembro de 2010.

MORRETES, B.L. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas de cerrado III. **Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras**, v. 24, p. 9-32, 1969.

NGUYEN, M.T.T.; SURESH AWALE, S.; TEZUKA, Y.; TRAN, Q.; WATANABE, H.; KADOTA, S. Xanthine oxidase inhibitory activity of Vietnamese medicinal plants. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n.9, p. 1414-1421, 2004.

NISHIDA, K., OHTA, Y., ISHIGURO, I. Changes in nitric oxide production with lesion development in the gastric mucosa of rats with water immersion restraint stress. **Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology**, v.100, p.201-212, 1998.

NISHIDA, K., OHTA, Y., ISHIGURO, I. Role of gastric mucosal constitutive and inducible nitric oxide synthases in the development of stress induced-gastric mucosal lesions in rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.236, p.275-279, 1997.

OKABE, S.; AMAGASE, K. An overview of acetic acid ulcer models - The history and state of the art of peptic ulcer research. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.28, n.8, p.1321-1341, 2005.

OKABE, S.; TAKEUCHI, K.; URUSHIDANI, T.; TAKAGI, K. Effects of cimetidine, a histamine H_2-receptor antagonist, on various experimental gastric and duodenal ulcers. **Digestive Diseases and Sciences**, v.22, n.8, 1977.

OKAMOTO, M.K.H.; KATO, E. T. M.; BACCHI, E. M. Morfoanatomia de folhas de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy,** v. 28, p. 599-603, 2009.

OLIVEIRA, F. **Biofarmacognosia das espécies brasileiras da seção Globosae Robinson do gênero *Mikania* Willdenow**. 1983. 249 p. Tese (Livre Docência). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. O problema da adulteração de drogas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.54, n.2, p. 71-83, 1973.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu,1998. 419p.

PARMAR, N.S.; HENNINGS, G. The gastric antisecretory activity of 3-methoxy-5,7,32 42 -tetrahydroxyflavan (ME) - a specific histidine decarboxylase inhibitor in rats. **Inflammation Research**, v.15, n.3-4, 1984.

PAULSEN, E.; OTKJÆR, A.; ANDERSEN, K.E. The coumarin herniarin as a sensitizer in German chamomile [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert, Compositae]. **Contact Dermatitis**, v. 62, n. 6, p. 338–342, 2010.

REGINATTO, F.H.; GOSMANN, G.; SCHRIPSEMA, J.; SCHENKEL, E.P. Assay of quadranguloside, the major saponin of leaves of *Passiflora alata*, by HPLC-UV. **Phytochemical Analyses, v.** 15, p.195–197, 2004.

REPETTO, M.G.; LLESUY, S.F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, p.523-534, 2002.

RIVELLI, D.P. ; ROPKE, C. D. ; ALMEIDA R.L. ; SILVA, V.V. ; SAWADA, T.C.H. ; WASICKY, A. ; KATO, E. T. M.; BACCHI, E. M.; BARROS, S. B. M. Atividade antioxidante *in vitro* de extratos de *Passiflora* sp (maracujá) avaliada por ORAC. **Allured's Cosmetics & Toiletries,** v. 20, p. 54-59, 2008.

SACCO, J.C. *Passifloráceas*. In: Reitz, R. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodriguez, 1980. 132p.

SAITO, S.M.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M.; BARROS, S. B. M.; ASAZU, S.N.; BUGNO, A.; BERNUSSO, L. Antiulcerogenic, antimicrobial and antioxidant effects of *Melampodium camphoratum*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, p. 96-99, 2007.

SALIM, A.S. Gastric diversion or pylorus ligation for gastric mucosal integrity and acid secretion studies in the rat? **Digestive Diseases and Sciences**, v.33, n.11, p.1441-1444, 1988.

SILVA, R.A.D. FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 1929. 1ª ed. São Paulo: Nacional.

SLIMESTAD, R.; FOSSEN, T.; VERHEUL, M.J. The flavonoids of tomatoes. **Journal of Agricultural of Food Chemitry**, v. 56, p. 2436–2441, 2008.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática.** Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

SUFFREDINI, I.B., BACCHI, E.M., SERTIÉ, J.A.A. Antiulcer action of *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) Sota. **Journal of Ethnopharmacology**, v.65, p.217-223, 1999.

THOMPSON, E.B. **Drug bioscreening: drug evaluation techniques in pharmacology**. New York: VHC, 1990. 366p.

TOLEDO DIAS, L.F.; MELO, E. S.; Hernandes, L.S.; BACCHI, E. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 309-314, 2009.

TOLEDO-DIAS, L.F.; MELO, E.S.; HERNANDES, L.S.; BACCHI, E.M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.1B, p.309-314, 2009.

VARGAS, A.J.;. GEREMIAS, D.S.; PROVENSI, G.; FORNARI, P.E.; REGINATTO, F.H.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P.; FRÖDE, T.S. *Passiflora alata* and *P. edulis* spray-dried aqueous extracts inhibit inflammation in mouse model of pleurisy. **Fitoterapia**, v. 78, p.112–119, 2007.

WALLACE, J.L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? **Physiological Reviews**, v.88, p.1547-1565, 2008.

WANG, H.; DUB, Y.; SONG, H. á-Glucosidase and á -amylase inhibitory activities of guava leaves. **Food Chemistry**, v. 123, p. 6–13, 2010.

WORLD Health Organization. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: World Health Organization, 1998. 123p.

WORLD Health Organization. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to

contaminants and residues. Geneva: WHO Press, 2007.

YANO, H.M. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Polygonum persicaria* L. 1999, Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

YANO, H. M.; KATO, E. T. M.; BACCHI, E. M. Caracterização farmacognóstica de *Polygonum persicaria* L. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 63, n. 2, p. 143-148, 2004.

YI, T.; LEUNG, K.S.Y.; LU, G.; ZHANG, H.; CHAN, K. Identification and determination of the major constituents in traditional Chinese medicinal plant *Polygonum multiflorum* thunb by HPLC coupled with PAD and ESI/MS. **Phytochemical Analysis**, v.18, n. 3, p.181–187, 2007.

YOSHIDA, T.; ITO, H.; YOSHIMURA, M.; MIYASHITA, K.; HATANO, T. C-Glucosidic ellagitannin oligomers from *Melaleuca squarrosa* Donn ex Sm., Myrtaceae. **Phytochemistry**, v.69, p. 3070–3079, 2008.

YU, H., SATO, E.F., MINAMIYAMA, Y., ARAKAWA, T., KOBAYASHI, K., INOUE, M. Effect of nitric oxide on stress-induced gastric mucosal injury in the rat. **Digestion**, v.58, p.311-318, 1997.

ZHAO, Y.; WANG, J.; ZHOU, G.; SHAN, L.; XIAO, X. Investigations of free anthraquinones from rhubarb against á-naphthylisothiocyanate-induced cholestatic liver injury in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology,** v.104, p.463–469, 2009.

Kratom – *Mitragyna speciosa*

LEGISLAÇÃO QUE INCIDE SOBRE COLETA, ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO E AOS CONHECIMENTOS TRADICIONAIS ASSOCIADOS

Fernanda Alvares da Silva

INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior cobertura de florestas tropicais do mundo e a mais rica biodiversidade do planeta. Quase 65% da região amazônica está localizada em terras brasileiras. Só a Amazônia abriga cerca de um terço das florestas tropicais do mundo e a maior bacia de água doce do planeta. Assim, a biodiversidade torna-se um recurso estratégico para o país.

O Brasil é um país megadiverso, com uma riqueza de flora e fauna invejável a qualquer país desenvolvido, uma vez que esse patrimônio poderá ser utilizado para diversas finalidades, especialmente no setor químico e farmacêutico (HERINGER, 2007).

Até 1992, os recursos genéticos eram considerados patrimônio da humanidade. A justificativa social era bastante aceitável e se suportava na garantia de que, dentre os seres vivos, ainda desconhecidos, poderia estar presente uma série de princípios ativos potencialmente capazes de trazer a cura para as mais diversas mazelas de preocupação mundial, como

o câncer e a AIDS, bem como a base para o desenvolvimento de produtos inovadores na área cosmética e alimentícia (CUNHA, 2006).

O Brasil, "com seus 8,5 milhões de quilômetros quadrados, dono de sete zonas geográficas distintas, entre elas a maior planície inundável, o Pantanal, e a maior floresta tropical úmida, a Amazônia, é o país mais megadiverso do planeta". Essa megadiversidade, além de possuir o maior banco genético e a maior bacia hidrográfica (um terço da água doce disponível em todos os continentes) do mundo, é potencializada por um fator ainda maior: a existência de populações nativas, indígenas, ribeirinhas, caboclas, remanescentes quilombolas e outras, dotadas de conhecimento por vezes milenares, que desenvolvem práticas tradicionais de uso sustentável desses recursos naturais, aplicando os princípios ativos de certas substâncias para diversos fins, tais como o medicinal (DIAS, 2010).

A contribuição dessas é fundamental para a conservação do patrimônio biológico e genético de nosso país. Assim, é compreensível que o somatório dessa riqueza biológica com o conhecimento tradicional desperte a cobiça por parte de indústrias madeireiras, farmacêuticas, de cosméticos e outras, além de colecionadores de animais. Partindo desse pressuposto, a biodiversidade deve ser considerada um bem jurídico relevante, e diante das agressões humanas a esse bem jurídico, cabe ao Direito ocupar-se da interdição das condutas lesivas a esse patrimônio da humanidade (DIAS, 2010).

O uso de plantas da biodiversidade brasileira em conjunto com os conhecimentos tradicionais dos povos indígenas e comunidades tradicionais constitui uma ferramenta potencial para a descoberta de novos fármacos.

Os princípios ativos são de inestimável interesse econômico e social e, há muito tempo, ocuparam seu espaço no mercado mundial. Os produtos e serviços provenientes da biodiversidade amazônica estão em contínuo crescimento. O mercado dos produtos naturais não-madereiros, por exemplo, foi estimado em US$ 60 bilhões anuais, o de extratos vegetais medicinais em US$ 16,5 bilhões e as drogas fitoterápicas em US$ 30 milhões (CÁUPER, 2006).

Cerca de 80% da população mundial trata-se com remédios a base de plantas medicinais, que fazem parte da farmacopeia popular. O mercado mundial de medicamentos movimenta de US$ 75 a US$ 150 bilhões por ano e aproximadamente 25% dos remédios receitados nos EUA contêm extratos de plantas que contêm atributos funcionais.

É importante a adoção de um marco legal que atenda aos anseios da sociedade civil, da comunidade científica e das empresas, com mecanismos eficientes de repartição de benefícios, revertendo os lucros para projetos que visem a conservação e o uso sustentável dos recursos genéticos.

COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

No Brasil, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA estabeleceu em 2007, por meio da Instrução Normativa (IN) nº 154, a regulamentação da coleta e do transporte de material biológico, dentre outras atividades, para fins científicos e didáticos. A IN 154 faz parte do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO),

que é um sistema automatizado, interativo e simplificado de atendimento à distância e de informação, que visa melhorar o atendimento e a prestação de serviços junto aos pesquisadores.

A partir da implementação do SISBIO, os pesquisadores solicitam ao ICMBIO autorizações e licenças para atividades com finalidade científica ou didática que envolvam o uso de recursos genéticos, por meio do preenchimento e envio de formulários eletrônicos pela Internet.

O SISBIO trouxe avanços em relação aos procedimentos anteriores à sua implementação, conforme disponível no *site* http://www4.icmbio.gov.br/sisbio: unificação das normas que tratavam do uso de recursos naturais e do acesso a unidades de conservação federal para fins científicos e didáticos; uniformização de procedimentos administrativos e otimização de recursos humanos; celeridade e transparência do processo de concessão de autorizações; regulamentação da licença permanente para coleta de material zoológico ou de recursos pesqueiros; implementação do registro voluntário para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico; anotação da coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença; recolhimento de animais mortos para aproveitamento científico ou didático; sistematização de informações sobre a diversidade biológica brasileira a partir dos registros de coleta e de pesquisas executadas em unidades de conservação; estabelecimento de parcerias entre o IBAMA e os órgãos estaduais do meio ambiente.

A IN 154 dispõe sobre a realização de atividades, com finalidade científica ou didática no território nacional, na plataforma continental, no mar territorial e na zona econômica exclusiva, tais como:

I - coleta de material biológico;

II - captura ou marcação de animais silvestres *in situ*;

III - manutenção temporária de espécimes de fauna silvestre em cativeiro;

IV - transporte de material biológico;

V - recebimento e envio de material biológico ao exterior;

VI - realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em cavidade natural subterrânea.

No caso da coleta e do transporte de material botânico, fúngico e microbiológico, exceto quando se tratar de vegetais hidróbios ou espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção, o interessado poderá, voluntariamente, registrar-se junto ao SISBIO para obtenção de comprovante para efeito de fiscalização.

O registro voluntário não exime o pesquisador da necessidade de obtenção de autorizações previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será executada a atividade, por exemplo, a obtenção de Termo de Anuência Prévia (TAP) está prevista na legislação de acesso ao patrimônio genético, dependendo da área onde o material será obtido.

O conjunto de informações disponíveis na base de dados do SISBIO será útil na

implementação de políticas públicas voltadas à gestão ambiental, ao fomento de pesquisas em determinadas áreas de interesse estratégico para colocar o Brasil em posição favorável em relação aos países que são desprovidos da megabiodiversidade.

ANTECEDENTES INTERNACIONAIS DA LEGISLAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO

Até a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) entrar em vigor, os recursos genéticos foram considerados como patrimônio da humanidade, tendo acesso livremente.

A CDB foi um dos principais resultados da Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e o Desenvolvimento - CNUMAD (Rio 92), realizada no Rio de Janeiro, em junho de 1992.

Essa Convenção é o mais importante acordo internacional sobre diversidade biológica que tem, como objetivos, a conservação da diversidade biológica, a utilização sustentável de seus componentes e a repartição justa e equitativa dos benefícios derivados do uso dos recursos genéticos.

A inclusão da repartição de benefícios como objetivo estratégico desse tratado internacional de direito ambiental pelos países megabiodiversos representou um avanço na norma, uma vez que ocorria livre acesso aos recursos genéticos dos países ricos em biodiversidade, sem retorno dos benefícios gerados a partir dos produtos desenvolvidos e apropriados por meio de patentes por empresas estrangeiras e localizadas principalmente em países desenvolvidos.

É um dos mais importantes instrumentos internacionais relacionados ao meio ambiente e funciona como um guarda-chuva legal/político para diversas convenções e acordos ambientais mais específicos. A CDB é o principal fórum mundial na definição do marco legal e político para temas e questões relacionados à biodiversidade (193 países Parte da Convenção) (http://www.cbd.int/convention/parties/list/, acesso em 7 de setembro de 2010).

O Brasil foi o primeiro país a assinar a Convenção sobre Diversidade Biológica, tendo como ponto focal técnico a Secretaria de Biodiversidade e Florestas (SBF), por meio da Diretoria de Conservação da Biodiversidade (DCBio). Ao assinarem a CDB, o reconhecimento da soberania impôs uma responsabilidade aos países em desenvolvimento: a de regulamentar o acesso a esses recursos. A CDB também obriga os países membros a respeitar os direitos dos povos indígenas e comunidades tradicionais quanto ao uso de seus conhecimentos tradicionais associados.

O Brasil tem, portanto, uma responsabilidade especial em relação à Convenção, já que é portador da maior biodiversidade do mundo e experimenta diariamente o desafio da conservação e do uso sustentável desse legado. Essa não é uma tarefa fácil. Envolve grandes dificuldades em termos de desenvolvimento científico e tecnológico e recursos financeiros (http://www.cdb.gov.br/impl CDB, acesso em 31 de agosto de 2010).

A CDB trata por meio dos artigos 8(j) e 15 da proteção dos conhecimentos tradicionais

associados e do acesso aos recursos genéticos e repartição dos benefícios.

O artigo 8(j) estabelece que cada parte contratante deve, na medida do possível e *em conformidade com sua legislação nacional, respeitar, preservar e manter o conhecimento, inovações e práticas das comunidades locais e populações indígenas com estilo de vida tradicionais relevantes à conservação e à utilização sustentável da diversidade biológica e incentivar sua mais ampla aplicação com a aprovação e a participação dos detentores desse conhecimento, inovações e práticas; e encorajar a repartição equitativa dos benefícios oriundos da utilização desse conhecimento, inovações e práticas.*

Por meio do artigo 15 da CDB, *"Em reconhecimento dos direitos soberanos dos Estados sobre seus recursos naturais, a autoridade para determinar o acesso a recursos genéticos, pertence aos governos nacionais e está sujeita à legislação nacional"*. O artigo estabelece ainda que o acesso aos recursos genéticos deve estar sujeito ao consentimento prévio fundamentado da parte contratante provedora desses recursos.

A CDB reconheceu a importância dos conhecimentos tradicionais associados para a conservação da biodiversidade, estabelecendo a necessidade de consentimento dos detentores desses saberes, assim como a repartição dos benefícios advindos de seu uso.

ANTECEDENTES NACIONAIS DA LEGISLAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO

No Brasil, por meio do Decreto Legislativo nº 2, de 1994, aprovou-se o texto da Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada na cidade do Rio de Janeiro, no período de 5 a 14 de junho de 1992.

País membro da CDB desde 1994, o Brasil teve a primeira proposta para regulamentar o acesso aos recursos genéticos em 1995, iniciativa que partiu da então senadora Marina Silva por meio de um projeto de lei. Esse projeto foi debatido em vários foros e subsidiou a regulamentação da matéria, nacional e internacionalmente. Em 1998, o Projeto de Lei foi aprovado no Senado, na forma do substitutivo do senador Osmar Dias.

Em 1998, dois outros Projetos de Lei foram apresentados: o projeto do então deputado Jacques Wagner, do PT da Bahia, e outro de autoria do Executivo Federal, acompanhado por uma Proposta de Emenda Constitucional (PEC) 618 - A/98, que inclui, no rol de bens da União, o Patrimônio Genético Brasileiro. Em decorrência, a exploração do patrimônio genético passou a depender, como os recursos minerais, de concessão da União.

Com o processo legislativo em discussão, em maio de 2000, foi assinado um contrato entre a multinacional Novartis, empresa de biotecnologia e a BioAmazônia, uma organização social cujo contrato de gestão assinado com o Poder Público previa a articulação de oportunidades e parcerias que viessem a proporcionar desenvolvimento do potencial bioindustrial do Brasil (CUNHA, 2006).

Esse contrato, entretanto, foi, na época, alvo de grande polêmica e crítica por parte da

comunidade acadêmica, organizações não-governamentais, dentre outros representantes e simpatizantes da causa ambiental.

"As cláusulas e condições impostas pela Novartis tornariam a BioAmazônia apenas uma assistente de transferência física de material genético brasileiro para o aproveitamento comercial exclusivo de seus parceiros, não havendo transferência de tecnologia, nem investimento de recursos suficientes para desenvolver no Brasil uma base laboratorial, como previsto no Probem – Programa Brasileiro de Ecologia Molecular para o Uso Sustentável da Biodiversidade da Amazônia. Ademais, a Novartis passaria a ser proprietária de todas as invenções que resultassem de seu trabalho com as cepas escolhidas, inclusive os compostos diretos e derivados, com direito exclusivo e perpétuo a requerer e manter proteção patentária para fazer, produzir, usar e vender compostos diretos e derivados perpetuamente." (SANT'ANA, 2004)

A ausência de uma norma jurídica que regulamentasse o assunto e as críticas por parte da sociedade levaram o Governo a editar a Medida Provisória – MP nº 2.052 em 29 de junho de 2000. Essa Medida Provisória foi sendo reeditada e modificada até a Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, quando foi aprovada a Emenda Constitucional alterando o regime das Medidas Provisórias.

A partir da última versão da Medida Provisória (nº 2.186-16 de 2001), regulamentada pelo Decreto nº 3.945 de 2001, alterado pelos Decretos nº 4.946/03, 5.439/05 e 6.159/07, o acesso e a remessa do patrimônio genético, bem como o acesso ao conhecimento tradicional associado existente no País para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico, passaram a depender de autorização do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético - CGEN, ficando sujeito à repartição de benefícios, nos termos e nas condições legalmente estabelecidos.

CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

A Medida Provisória previu, como autoridade competente para autorizar as atividades de acesso e remessa, o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético - CGEN, vinculado ao Ministério do Meio Ambiente. As atividades de Secretaria Executiva do CGEN são exercidas pelo Departamento do Patrimônio Genético, integrante da estrutura do Ministério do Meio Ambiente.

O CGEN, órgão de caráter deliberativo e normativo criado pela Medida Provisória no âmbito do Ministério do Meio Ambiente, é integrado por representantes de 19 órgãos e entidades da Administração Pública Federal Ministério do Meio Ambiente - MMA; Ministério da Ciência e Tecnologia - MCT; Ministério da Saúde - MS; Ministério da Justiça - MJ; Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA; Ministério da Defesa - MD; Ministério da Cultura - MinC; Ministério das Relações Exteriores - MRE; Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - MDIC; Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA; Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro - JBRJ; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq; Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA; Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG; Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária - Embrapa; Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz; Fundação Nacional do Índio - Funai; Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI; Fundação Cultural Palmares - FCP com direito a voto. São eles:

Por iniciativa da Gestão da ministra Marina Silva, instituiu-se a figura dos convidados permanentes, que são representantes da sociedade civil, com direito a voz. Atualmente, fazem parte do CGEN como convidados permanentes: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC, Associação Brasileira das Empresas de Biotecnologia – ABRABI, Conselho Empresarial Brasileiro para o Desenvolvimento Sustentável – CEBDS, Comissão Nacional de Articulação das Comunidades Negras Rurais e Quilombolas - CONAQ, Conselho Nacional de Seringueiros – CNS, Coordenação das Organizações Indígenas da Amazônia – COIAB, Ministério Público Federal, Federação Brasileira da Indústria Farmacêutica – FEBRAFARMA, Associação Brasileira de Entidades Estaduais de Meio Ambiente – ABEMA e Fórum Brasileiro de Ongs e Movimentos Sociais para o Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável – FBOMS.

O CGEN é presidido pelo Ministério do Meio Ambiente, atualmente representado pelo secretário de Biodiversidade e Florestas, Dr. Bráulio Dias, e reúne-se, ordinariamente, uma vez por mês, preferencialmente em Brasília, DF. O Departamento de Patrimônio Genético – DPG, da Secretaria de Biodiversidade e Florestas – SBF/MMA, exerce a função de Secretaria-Executiva do CGEN.

O CGEN possui cinco câmaras temáticas, de caráter técnico, que subsidiam as discussões do Conselho. São elas: Procedimentos Administrativos, Conhecimento Tradicional Associado, Repartição de Benefícios, Patrimônio Genético Mantido em Condições *ex situ* e Acesso à Tecnologia e Transferência de Tecnologia.

Em 2002, após a entrada em funcionamento do CGEN, algumas solicitações de autorização de acesso ao patrimônio genético e/ou aos conhecimentos tradicionais associados tramitavam na Secretaria Executiva do CGEN.

A primeira reunião mensal do CGEN ocorreu em 25 de abril de 2002. O senhor ministro de Estado do Meio Ambiente, José Carlos Carvalho, deu inicio à Primeira Reunião Ordinária do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético. Inicialmente deu posse aos senhores conselheiros e em seguida proferiu discurso, passando a palavra e condução dos trabalhos ao senhor Braulio Ferreira de Souza Dias, representante suplente do Ministério do Meio Ambiente, em substituição ao Senhor Ministro de Estado do Meio Ambiente juntamente com o secretário - executivo senhor Rinaldo César Mancin, na qualidade de secretário – executivo interino.

CGEN, IBAMA, CNPQ

Em 2003, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA foi credenciado pelo CGEN, por meio da Deliberação nº 40, para autorizar as atividades de acesso ao patrimônio genético com a finalidade de pesquisa científica. Dessa maneira, pretendeu-se agilizar esse procedimento, buscando facilitar a realização da pesquisa científica, em virtude de se concentrar num único órgão as autorizações de acesso ao patrimônio genéti-

co e de coleta de material biológico.

Assim, uma pesquisa que envolve coleta e acesso recebe ao mesmo tempo, respectivamente, a licença e a autorização do IBAMA. Não sendo mais necessário submeter esse tipo de solicitação à apreciação do CGEN, essa deve ser encaminhada diretamente ao IBAMA – sede.

Em 2009, o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq foi credenciado pelo CGEN, à semelhança do credenciamento do IBAMA, para autorizar acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq cabe autorizar a participação de instituição estrangeira em atividades de coleta e acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado para fins de pesquisa científica, realizada no território nacional, conforme disposto na Orientação Técnica nº 03/2003 do CGEN.

Ao CGEN cabe autorizar todas as atividades de acesso ao patrimônio genético e/ou conhecimento tradicional associado para fins de bioprospecção e desenvolvimento tecnológico e acesso ao conhecimento tradicional associado para a finalidade de pesquisa científica.

MEDIDA PROVISÓRIA Nº 2.186-16/2001

A Medida Provisória estabelece normas legais para regular o acesso ao patrimônio genético e conhecimento tradicional associado no território brasileiro.

A Medida Provisória não adotou a terminologia utilizada pela Convenção sobre Diversidade Biológica, qual seja, material genético ou recursos genéticos. A denominação adotada na legislação interna foi a mesma dada pela Constituição Federal: patrimônio genético.

O patrimônio genético é definido pela Medida Provisória em seu artigo 7º, I-patrimônio genético como *"informação de origem genética, contida em amostras do todo ou de parte de espécime vegetal, fúngico, microbiano ou animal, na forma de moléculas e substâncias provenientes do metabolismo destes seres vivos e de extratos obtidos destes organismos vivos ou mortos, encontrados em condições in situ, inclusive domesticados, ou mantidos em coleções ex situ, desde que coletados em condições in situ no território nacional, na plataforma continental ou na zona econômica exclusiva".*

Inicialmente, o termo patrimônio genético levou a um entendimento equivocado de que somente seria necessária autorização de acesso para os projetos de pesquisa que envolviam DNA como objeto de estudo.

A Medida Provisória define o conhecimento tradicional associado como a *"informação ou prática individual ou coletiva de comunidade indígena ou de comunidade local, com valor real ou potencial, associada ao patrimônio genético"*. A Medida Provisória abrange todo conhecimento tradicional, somente quando estiver associado ao patrimônio genético, ou seja, o conhecimento tradicional que facilita o acesso ao patrimônio genético. Uma informação obtida a partir de conhecimento de povos indígenas e comunidades tradicionais poderá reduzir o tempo da pesquisa, pois o pesquisador não precisará escolher aleatoriamente a planta a ser pesquisada.

O conhecimento tradicional associado pode ser acessado em diversos contextos, em fontes primárias nas próprias comunidades, disponível em publicações, bases de dados, feiras tradicionais, dentre outros. O CGEN, por meio da Câmara Temática de Conhecimentos Tradicionais Associados, tem discutido quando se dá o acesso ao conhecimento tradicional associado a partir de fontes secundárias; como deve ser feita a repartição de benefícios quando não for possível identificar o detentor do conhecimento tradicional ou quando esse conhecimento for compartilhado por diversas comunidades, ou seja, for coletivo.

Trata-se de um tema complexo e entre as questões mais frequentemente colocadas, destacam-se: o que é comunidade local e como identificar o seu conhecimento tradicional? Como identificar a legitimidade do representante de uma comunidade local ou povo indígena? Como retribuir a uma ou várias comunidades o conhecimento partilhado por elas? Como evitar que os efeitos negativos do sistema de propriedade intelectual que são contrários à proteção da diversidade biológica afetem a proteção dos recursos genéticos? (VARELLA, 2006)

A legislação protege o conhecimento tradicional contra qualquer utilização ou exploração ilícita, bem como contra qualquer ação lesiva ou não autorizada pelo CGEN. Cabe aos detentores os direitos de:

a) decidir sobre o uso de seus conhecimentos, podendo impedir terceiros de utilizar, realizar pesquisas ou exploração relacionadas ao conhecimento tradicional, ou de divulgar, transmitir ou retransmitir informações que integram ou constituem conhecimento tradicional;

b) ter indicada a origem do acesso em todas as publicações, divulgações, utilizações, dentre outras;

c) receber benefícios pela exploração econômica feita por terceiros, quando envolver conhecimento tradicional associado.

Preservou-se o intercâmbio e a difusão de componente do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado praticado entre as comunidades indígenas e entre as comunidades locais, desde que em seu próprio benefício e baseados na prática costumeira. Essa legislação não se aplica ao patrimônio genético humano.

A Medida Provisória define acesso ao patrimônio genético como obtenção de amostra de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica, desenvolvimento tecnológico ou bioprospecção, visando a sua aplicação industrial ou de outra natureza.

Em 24 de setembro de 2003, o CGEN aprovou a Orientação Técnica (OT) nº 1, esclarecendo os conceitos de acesso e de remessa de amostras de componentes do patrimônio genético. Dessa forma, acesso se caracteriza pela atividade realizada sobre o patrimônio genético, posterior à coleta, com o objetivo de isolar, identificar ou utilizar informação de origem genética ou moléculas e substâncias provenientes do metabolismo dos seres vivos e de extratos obtidos destes organismos. A intenção do CGEN foi esclarecer a diferença entre coleta de material biológico e acesso ao patrimônio genético, facilitando, assim, a aplicação da Medida Provisória.

O acesso se dá a partir de material biológico coletado em condições *in situ* ou mantido em coleções *ex situ,* desde que coletado em condição *in situ* no território nacional, na platafor-

ma continental ou na zona econômica exclusiva. Assim, acessar patrimônio genético representa uma atividade posterior à coleta do material.

A OT nº 1 também estabeleceu a diferença entre "remessa" (quando a responsabilidade sobre a amostra é transferida para a instituição destinatária) e "transporte" (quando há envio de amostra sem transferência de responsabilidade para a instituição destinatária).

Em 24 de setembro de 2003, por meio da Deliberação nº 40, o CGEN credenciou o IBAMA, conforme estabelece a Medida Provisória, em seu artigo 11, inciso IV, alínea "e", *credenciamento de instituição pública nacional de pesquisa e desenvolvimento ou de instituição pública federal de gestão para autorizar outra instituição nacional, pública ou privada, que exerça atividade de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins.*

Em 31 de agosto de 2006, após apresentação pelo IBAMA do levantamento de todos os projetos de pesquisa autorizados por aquele órgão, o CGEN aprovou a Resolução nº 21, que retirou do escopo da Medida Provisória determinados tipos de pesquisas e atividades científicas que se enquadravam sob o conceito de acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica, pelo fato de utilizarem ferramentas metodológicas moleculares para a execução do projeto de modo circunstancial e não por ter objetivo relacionado ao acesso ao patrimônio genético.

O efeito prático disso é que essas atividades não dependem mais de autorização de acesso ao patrimônio genético. A exclusão dessas linhas de pesquisa científica do escopo da legislação de acesso deve-se ao fato de que o isolamento, identificação ou uso de genes, biomoléculas ou extratos (ação que caracteriza o acesso ao patrimônio genético) nessas atividades é realizada de modo circunstancial, como ferramenta metodológica, e não por que seus objetivos estejam diretamente relacionados ao acesso ao patrimônio genético.

Após minimizado o impacto da legislação de acesso pela aplicação da Resolução 21, o CGEN se deparou com uma demanda da sociedade civil, principalmente da comunidade científica, do impacto da legislação sobre os projetos que envolvem bioprospecção. A Medida Provisória define bioprospecção em seu artigo 7º, VII-*atividade exploratória que visa identificar componente do patrimônio genético e informação sobre conhecimento tradicional associado, com potencial de uso comercial.*

O CGEN, em sua 61ª Reunião Ordinária, realizada em 28/08/2008, aprovou a Orientação Técnica - OT nº 06, publicada no Diário Oficial da União, em 29 de setembro de 2008. A OT nº 6 foi construída em uma Câmara Temática do CGEN, da qual participaram representantes de diversos setores do governo e da sociedade civil, inclusive do setor empresarial e de ONGs.

Para fins de aplicação do disposto no artigo 7º, inciso VII da Medida Provisória, considera-se identificado o "potencial de uso comercial" de determinado componente do patrimônio genético no momento em que a atividade exploratória confirme a viabilidade de produção industrial ou comercial de um produto ou processo a partir de um atributo funcional desse componente.

Com a edição da OT nº 06, os projetos que envolvam acesso ao patrimônio genético só

serão enquadrados como bioprospecção a partir do momento em que as atividades que visam avaliar a viabilidade de produção industrial ou comercial de um produto ou processo a partir de um atributo funcional desse componente se iniciem, por exemplo, os casos em que testes que até então realizados em escala de bancada passam a ser realizados em escala industrial. Nessa etapa de avaliação da produção em escala industrial, é bem possível que se chegue a algum produto ou processo passível de exploração comercial, ou seja, é bem possível que se chegue ao desenvolvimento tecnológico (www.mma.gov.br/cgen, acesso disponível em 03 de outubro de 2010).

Dessa forma, a etapa de desenvolvimento tecnológico em sequência à bioprospecção se inicia após a confirmação de viabilidade de produção industrial ou comercial de um produto ou processo a partir de um atributo funcional desse componente. Nesse caso, ocorre o desenvolvimento do produto.

CONTRATO DE UTILIZAÇÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E REPARTIÇÃO DE BENEFÍCIOS

Um dos requisitos para obtenção da autorização de acesso para fins de bioprospecção é a assinatura prévia de Contrato de Utilização do Patrimônio Genético e Repartição de Benefícios, entre as partes envolvidas. Por um lado, a instituição nacional pública ou privada está autorizada a efetuar o acesso ao patrimônio genético e/ou conhecimento tradicional associado e, por outro, está o proprietário da área pública ou privada, ou o representante da comunidade indígena e do órgão indigenista oficial, ou o representante da comunidade local. O contrato representa um dos requisitos para o qual as instituições de pesquisa encontravam dificuldades em cumprir. Como firmar um contrato quando não se sabe ao certo se os resultados da pesquisa serão satisfatórios, e mesmo que sejam, muitas vezes as instituições de pesquisa não conseguem fomento ou não conseguem estabelecer parcerias para dar prosseguimento na pesquisa.

Os Contratos de Utilização do Patrimônio Genético e de Repartição de Benefícios só terão eficácia após sua anuência pelo CGEN. Os contratos firmados em desacordo com os dispositivos dessa Medida Provisória e de seu regulamento serão nulos, não gerando qualquer efeito jurídico. Quando o patrimônio genético objeto do acesso autorizado não for obtido a partir de áreas da União, o CGEN não entra no mérito da repartição de benefícios, apenas avalia o cumprimento dos requisitos formais. Assim, a repartição de benefícios deverá sempre se reverter para a conservação e uso sustentável da biodiversidade, conforme preconiza a CDB e, a partir da qual, se fundamenta a legislação nacional.

Por meio da Resolução nº 7 do CGEN, de 2003, estabeleceram-se as diretrizes para a elaboração e análise dos Contratos de Utilização do Patrimônio Genético e Repartição de Benefícios firmados entre particulares e que não envolvam conhecimento tradicional associado ou componente da fauna silvestre. Ao deferir os pedidos de anuência que lhe forem submetidos, o CGEN advertirá ao titular da área onde se encontra o componente do patrimônio genético

que, ao ter ciência da exploração indevida do patrimônio genético, deverá comunicar imediatamente os órgãos competentes para que sejam adotadas as medidas cabíveis.

Já a Resolução nº 11 do CGEN, de 2004, discorre sobre as diretrizes a serem observadas para a elaboração e análise dos Contratos de Utilização do Patrimônio Genético e de Repartição de Benefícios que envolvam acesso a componente do patrimônio genético ou a conhecimento tradicional associado providos por comunidades indígenas ou locais.

Qualquer alteração relativa ao uso de componente do patrimônio genético ou de conhecimento tradicional associado acessado deverá ser objeto de nova anuência prévia entre as partes, as quais deverão estabelecer termo aditivo ao contrato original ou celebrar novo Contrato de Utilização do Patrimônio Genético e Repartição de Benefícios, devendo eles, em qualquer hipótese, serem apresentados ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, observado o disposto no artigo 29 da Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001.

Nos casos em que o patrimônio genético acessado apresenta a União como provedora, segue-se o disposto na Resolução nº 27 do CGEN, de 2007. Se houver solicitação de direitos patentários no exterior que tenham por objeto quaisquer produtos ou processos desenvolvidos por força do projeto para o qual foi concedida a autorização, é necessário informar ao órgão de concessão dos referidos direitos, no relatório descritivo do pedido, que cumpriu com as regras constantes da legislação brasileira, apresentando o número e a data da autorização de acesso correspondente no Brasil ou o número do protocolo da solicitação de autorização junto ao CGEN.

Uma situação que causa desconforto por parte das instituições de pesquisa trata-se dos casos de repartição de benefícios a partir do acesso ao conhecimento tradicional associado de natureza coletiva. Tal situação cria uma incerteza jurídica por parte das instituições, que poderão ser questionadas por representantes de povos indígenas ou comunidades locais que detêm o mesmo conhecimento. Esse assunto foi tratado na Câmara Temática de Conhecimentos Tradicionais, o que gerou a Consulta Pública nº 2, de 2008.

O objetivo central dessa consulta pública foi reunir opiniões e sugestões dos vários setores envolvidos na questão, para auxiliar no estabelecimento de regras gerais de acesso e uso dos conhecimentos tradicionais associados e de repartição de benefícios com as comunidades tradicionais detentoras desses conhecimentos.

Os benefícios gerados pela exploração econômica dos conhecimentos tradicionais devem ser repartidos com a(s) comunidade(s) indígena(s) ou local(is) detentoras de tal conhecimento. As bases da repartição devem ser regradas por meio de um Contrato de Repartição de Benefícios. Ocorre que diversas comunidades indígenas e locais podem compartilhar conhecimentos tradicionais e tal fato suscita a questão sobre como deve ocorrer a repartição de benefícios nessas situações.

Como não há uma regra definida da MP nº 2.186-16/2001 para tais casos, os membros do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN) aprovaram, na sua 46ª Reunião ordinária, ocorrida em 14 de dezembro de 2006, a implementação da Consulta Pública nº 02 (CP nº

02), com prazo inicial de vigência de três meses, prorrogado em duas ocasiões, a pedido de representantes de comunidades tradicionais, quilombolas e indígenas, totalizando um ano de vigência.

Como considerações finais sobre a Consulta Pública destacam-se: necessidade de consulta e obtenção de anuências prévias de todas as comunidades que possuem o mesmo conhecimento tradicional associado antes de realizar o acesso, ou, pelo menos, àquelas que produzem e/ou cultivam os recursos genéticos relacionados ao conhecimento tradicional associado utilizado; todas as comunidades devem receber os benefícios gerados; a divisão dos benefícios, para a maioria, deve ser equânime; quanto à identificação das comunidades que detém o conhecimento existe convergência de propostas visando à criação de cadastro voluntário e/ou banco de dados, sob a responsabilidade da União, Associações e Cooperativas ligadas às comunidades, ONGs ou das próprias instituições que realizam o acesso; deve haver laudo antropológico que confirme que a comunidade detém o conhecimento; os contratos de repartição de benefícios devem ser assinados com todas as comunidades detentoras ou, pelo menos, com aquelas que compartilham a mesma área geográfica.

TERMO DE ANUÊNCIA PRÉVIA

O Termo de Anuência Prévia – TAP representa outro requisito da norma a ser cumprido para que a instituição de pesquisa ou empresa obtenha a autorização de acesso seja ao patrimônio genético, seja ao conhecimento tradicional associado. A Medida Provisória estabeleceu que a Autorização de Acesso e de Remessa dar-se-á após a anuência prévia:

I - da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando o acesso ocorrer em terra indígena;

II - do órgão competente, quando o acesso ocorrer em área protegida;

III - do titular de área privada, quando o acesso nela ocorrer;

IV - do Conselho de Defesa Nacional, quando o acesso se der em área indispensável à segurança nacional;

V - da autoridade marítima, quando o acesso se der em águas jurisdicionais brasileiras, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva.

Uma dificuldade de se estabelecer claramente qual é o provedor do recurso genético leva a uma incerteza das instituições em realizar a pesquisa, tendo em vista a necessidade de apresentar a anuência prévia do titular da área e de indicar antecipadamente os locais de coleta como requisitos à obtenção de autorização de acesso. Assim, a Medida Provisória, ao não detalhar um mecanismo específico para tratar casos como estes, também não assinalou que tais situações estariam excetuadas da aplicação da norma. Não deixou claro, por exemplo, quando não se identifica o provedor da amostra obtida no comércio e material acessado a partir de coleções *ex situ*.

O patrimônio genético objeto do acesso pode estar disponível em condições *ex situ*,

tais como coleções biológicas e bancos de germoplasma. A Resolução nº 32 do CGEN, de 2008, dispõe sobre o acesso a amostras de componentes do patrimônio genético coletado em condição *in situ* e mantido em coleções *ex situ* e resolveu os casos em que não seja possível identificar ou localizar o provedor da amostra a ser utilizada na pesquisa. A anuência prévia e a repartição de benefícios referentes a atividade de acesso ao patrimônio genético realizada em data posterior à entrada em vigor da primeira edição da Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001, a partir de amostra coletada em data anterior a esta, e mantida em coleção *ex situ*, deverão ser realizadas junto à instituição que mantém a coleção em que a amostra foi obtida. Porém, não se aplica às amostras coletadas em Unidades de Conservação, terras indígenas, mar territorial, zona econômica exclusiva ou plataforma continental, hipóteses em que o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético avaliará caso a caso a necessidade de anuência prévia e o destino dos benefícios a serem repartidos.

Para os demais casos, a anuência prévia e a repartição de benefícios referentes à atividade de acesso, realizada após a primeira edição da Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, a partir de amostra coletada em data posterior a esta, e mantida em coleção *ex situ*, deverão ser realizadas junto ao provedor identificado pela coleção.

O uso de amostras provenientes de áreas privadas que, por ocasião da coleta, não tenham sido consideradas como ocupadas por comunidades locais e, no decorrer das atividades, sejam identificadas como tais, fica condicionado à adequação dos procedimentos de acordo com as definições dessa Orientação Técnica.

Um avanço na aplicação da legislação foi a publicação da Resolução aprovada pelo CGEN, a de nº 8, de 2003. O CGEN, considerando que o avanço do conhecimento e o desenvolvimento da pesquisa científica que contribua para a conservação e a utilização sustentável da biodiversidade nacional são atividades de interesse estratégico para o País; e considerando a necessidade de proteger a integridade e a diversidade do patrimônio genético do País, bem como os direitos a ele inerentes, sem obstar o avanço do conhecimento e o desenvolvimento da pesquisa científica, caracterizou como caso de relevante interesse público o acesso a componente do patrimônio genético existente em área privada para pesquisa científica que contribua para o avanço do conhecimento e não apresente potencial de uso econômico previamente identificado.

O disposto nessa Resolução não exime o pesquisador de obter, junto ao titular da área privada, onde será realizada a coleta ou, ao seu representante, o consentimento para ingresso e coleta na respectiva área, sujeitando-se às penalidades previstas na legislação vigente e à reparação de eventuais danos causados à propriedade alheia.

A apresentação da anuência prévia do proprietário privado continua como pré-requisito para a obtenção de autorização de acesso a patrimônio genético para fins de bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Para os casos de autorização de acesso a patrimônio genético e/ou a conhecimento tradicional, quando os provedores forem povos indígenas ou comunidades locais, para pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico, também é mantida a obrigatoriedade.

As resoluções aprovadas pelo CGEN de nº 005/2003, 006/2003, 009/2003 e 12/2004

tratam do estabelecimento de diretrizes para obtenção de anuência prévia para os seguintes casos, respectivamente: anuência prévia para o acesso a conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica sem potencial ou perspectiva de uso comercial; anuência prévia para o acesso ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, com potencial ou perspectiva de uso comercial; anuência prévia junto a comunidades indígenas e locais, a fim de acessar componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica, sem potencial ou perspectiva de uso comercial; anuência prévia para acesso a componente do patrimônio genético com finalidade de bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico. De posse das diretrizes, a instituição que solicita a autorização tem mais segurança na formulação dos termos de anuência prévia a serem apresentados ao CGEN ou instituição credenciada para obtenção de autorização de acesso.

REMESSA DE PATRIMÔNIO GENÉTICO

Por meio da Orientação Técnica nº 1 do CGEN, de 2003, para fins de aplicação do disposto na Medida Provisória nº 2.186-16, e demais atos normativos dela decorrentes, entende-se por "remessa":

I– a remessa propriamente dita: envio, permanente ou temporário, de amostra de componente do patrimônio genético, com a finalidade de acesso para pesquisa científica, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico, no qual a responsabilidade pela amostra transfira-se da instituição remetente para a instituição destinatária;

II – o transporte: envio de amostra de componente do patrimônio genético com a finalidade de acesso para pesquisa científica, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico, no qual a responsabilidade pela amostra não se transfira da instituição remetente para a instituição destinatária.

Quando se tratar de remessa de patrimônio genético, a regulamentação dada pela MP é apenas o envio, permanente ou temporário, de amostra de componente do patrimônio genético com a finalidade de acesso para pesquisa científica, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico. Assim, por exemplo, o envio de exsicatas para análises morfológicas não necessita seguir os regramentos estabelecidos pela MP.

Nos casos de envio de material para ser submetido a atividades de acesso ao patrimônio genético, o CGEN vem estabelecendo Resoluções que instituem modelos de "Termos de Transferência de Material". A assinatura desses Termos pelas instituições destinatárias visa dar segurança não só ao Estado, mas às instituições remetentes. Esse requisito ainda gera reclamações por partes das instituições de pesquisa que tradicionalmente utilizavam apenas guias de remessa para gerenciar o intercâmbio de material biológico. Algumas críticas recebidas têm propiciado modificações que já foram incorporadas pelo CGEN na revisão dessas Resoluções (AZEVEDO, 2005).

A Resolução nº 15 do CGEN, de 2004**,** estabeleceu procedimentos para o transporte de amostra de componente do patrimônio genético existente em condição *in situ*, no território nacional, plataforma continental e zona econômica exclusiva, mantida em condição *ex situ*, exclusivamente para desenvolvimento de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, que não requeira depósito definitivo na instituição onde será realizada a pesquisa. O instru-

mento a ser firmado para fins de transporte do material de uma instituição a outra é o Termo de Responsabilidade para Transporte de Material – TRTM.

O transporte de amostra de componente do patrimônio genético classificada como material de risco biológico obedecerá à legislação específica vigente. O transporte de amostra do patrimônio genético de espécies ameaçadas que constem das listas oficiais e dos Anexos I, II e III da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção – CITES, promulgada pelo Decreto nº 76.623, de 17 de novembro de 1975, deverá ter autorização prévia e específica do órgão ambiental competente.

Os procedimentos referentes à remessa de amostra de componente do patrimônio genético coletada em condições *in situ* no território nacional, na plataforma continental ou na zona econômica exclusiva, e mantida em condições *ex situ*, para o desenvolvimento de pesquisa científica sem potencial de uso econômico foram estabelecidos por meio da Resolução nº 20 do CGEN, de 2006.

A Resolução nº 20 trouxe também a definição de microrganismo no escopo da norma:

I- os microrganismos ou material de origem microbiana (inclusive vírus e material genético replicável, como, por exemplo, plasmídeos, profagos, transposons, e outros), contendo unidades funcionais de hereditariedade, que apresentem capacidade de multiplicação, regeneração ou reprodução natural;

II - amostras de substrato contendo microrganismos viáveis, porém não isolados em cultivo *in vitro* ou *ex situ*, destinadas a estudos que visem ao acesso a componentes de origem microbiana;

III - material genético isolado de microrganismos previamente associados a um substrato ou a outros organismos (metagenoma), clonados em vetores que permitam sua manutenção ou replicação em uma célula hospedeira, seja na forma de material genético isolado (por exemplo, em plasmídeos purificados), seja constituindo bibliotecas de fragmentos clonados em células hospedeiras;

IV - culturas de células de animais e de plantas;

V - algas e fungos microscópicos.

Apesar de definir o conceito de microrganismos, o CGEN vem deliberando caso a caso o enquadramento de microrganismos na legislação de acesso. O CGEN tem recebido algumas consultas sobre a aplicação da Medida Provisória a atividades que envolvem o uso de material genético de microrganismos. A questão comum em todas as consultas é o enquadramento de determinadas espécies no conceito de patrimônio genético nacional. Várias são as situações envolvidas: microrganismos encontrados em animais domésticos (que não são considerados patrimônio genético nacional); linhagens comerciais obtidas do exterior; microrganismos coletados no organismo humano (lembrando que a legislação de acesso não se aplica ao patrimônio genético humano); microrganismo endógeno em espécie vegetal exótica. Para os especialistas ouvidos pelo CGEN, os microrganismos são cosmopolitas, sendo quase impossível ter a sua origem determinada e, assim, muito mais lógico, seria considerá-los, como regra geral, patrimônio genético nacional, listando-se as exceções.

Foram estabelecidos os procedimentos para a remessa de amostra de componente do

patrimônio genético existente em condição *in situ*, no território nacional, plataforma continental e zona econômica exclusiva, mantida em condição *ex situ*, para fins de bioprospecção pela Resolução nº 25 do CGEN, de 2005.

Caso haja interesse em iniciar uma atividade de desenvolvimento tecnológico, ou solicitar patente, a partir de amostra de componente do patrimônio genético anteriormente remetida para a finalidade de bioprospecção, a instituição destinatária obriga-se a comunicar o fato à instituição remetente e esta ao Conselho de Gestão ou à instituição por este credenciada nos termos do artigo 11, inciso IV, alínea "e" da Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001. O Termo de Transferência de Material – TTM é o instrumento a ser firmado entre as instituições remetente e destinatária, previamente à remessa do material.

EXTRATOS E MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL

Quando se tratar da elaboração de óleos fixos, de óleos essenciais ou de extratos quando esses resultarem de isolamento, extração ou purificação, nos quais as características do produto final sejam substancialmente equivalentes à matéria-prima original, o CGEN entendeu que não se enquadra no conceito de acesso ao patrimônio genético, embora envolva atividades de isolamento de componentes do patrimônio genético. Tal entendimento está estabelecido na Resolução nº 29 do CGEN, de 2007.

Para os casos de atividades de melhoramento genético vegetal, cujos projetos apresentam naturezas, objetivos e metodologias distintas e que os projetos que envolvam perspectivas de melhoramento genético vegetal não necessariamente equivalem a projetos de desenvolvimento tecnológico de novos cultivares, o CGEN editou o entendimento por meio da Orientação Técnica nº 7, de 2009, que estabeleceu:

I - Pesquisa científica: conjunto de atividades visando à seleção de genótipos promissores para início das atividades de bioprospecção;

II - Bioprospecção: etapa na qual os genótipos promissores, selecionados na fase da pesquisa científica, são submetidos a testes de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade-DHE e de Valor de Cultivo e Uso-VCU, ou ensaios equivalentes;

III - Desenvolvimento tecnológico: etapa final do programa de melhoramento envolvendo a obtenção de sementes genéticas ou plantas básicas, no caso de espécies de propagação vegetativa.

AUTORIZAÇÕES CONCEDIDAS PELO CGEN

Conforme Boletim apresentado na 74ª Reunião Ordinária do CGEN, realizada no dia 08 de março de 2010, de 2002 até março de 2010 foram protocoladas 458 solicitações junto à Secretaria Executiva do CGEN, entre solicitações de autorização de acesso ao patrimônio genético e/ou conhecimentos tradicionais associados, inclusão de projetos em portfólio de autorização especial de acesso para fins de bioprospecção e solicitações de credenciamento de

instituição fiel depositária.

Entre 2002-2009, foi autorizado um total de 79 solicitações, dentre as quais destacam-se 37 autorizações para acesso ao conhecimento tradicional associado para fins de pesquisa científica.

Até o presente somente foram autorizadas duas solicitações de autorização de acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado.

De 2002 a 2010, foram credenciadas 120 coleções biológicas como fiéis depositárias de amostras de componentes do patrimônio genético. A legislação prevê que a instituição que solicita autorização de acesso ao patrimônio genético deverá indicar qual a coleção credenciada pelo CGEN que receberá a subamostra a ser acessada. Após autorizado o acesso, a autorizada deverá confirmar o depósito. A partir do final de 2003, as autorizações de acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica passaram à competência do Ibama.

DIREITOS DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL

A Medida Provisória dispõe em seu artigo 31 que *"a concessão de propriedade industrial pelos órgãos competentes, sobre processo ou produto obtido a partir de amostra de componente do patrimônio genético, fica condicionada à observância desta Medida Provisória, devendo o requerente informar a origem do material genético e do conhecimento tradicional associado, quando for o caso".*

O objetivo desse dispositivo é condicionar a concessão dos direitos de propriedade industrial à observância da Medida Provisória, ou seja, ao cumprimento dos requisitos da legislação de acesso. Assim, trouxe a dificuldade no fato de que a exigência de qualquer novo requisito à concessão de patentes (no caso, a comprovação de observância à Medida Provisória) resultaria no descumprimento, por parte do Brasil, do Acordo TRIPs.

O INPI alterou as regras para facilitar pedidos de patentes ligados à biodiversidade. Em 30 de abril de 2009, foram publicadas, no Diário Oficial da União, as novas resoluções do INPI sobre pedidos de patentes derivados da biodiversidade brasileira. A principal novidade é que os solicitantes não precisam mais informar, no ato do depósito, a data e o número da autorização de acesso a componente do patrimônio genético nacional, concedida pelo CGEN. A informação poderá ser enviada ao INPI até o exame da patente, quando poderá ocorrer uma exigência para regularizar a situação (www.inpi.gov.br, acesso disponível em 31 de agosto de 2010).

A mudança mantém a segurança nos processos envolvendo a biodiversidade, mas procura resolver um problema que estava atrasando e dificultando alguns pedidos de patentes: a exigência de número e data do acesso no ato do pedido. Muitos interessados estavam com solicitações pendentes no CGEN e entraram com pedido de patente no INPI, mesmo sem o número, por medo de perderem a prioridade sobre a invenção. Em outros casos, a falta desse número adiava o pedido ao Instituto.

Além disso, as novas instruções também resolvem a situação dos pedidos que haviam sido depositados entre 2000 (quando entrou em vigor a Medida Provisória 2.186, que obriga o

depositante a informar o número de autorização de acesso) e 2006, quando o INPI e o CGEN editaram as normas que regulamentavam até agora essa exigência e criavam os formulários específicos. Muitas dessas solicitações estão no INPI sem o respectivo número de acesso.

As normas de propriedade intelectual em vigor no direito nacional e internacional não são apropriadas para a implementação dos princípios da Convenção da Diversidade Biológica, sobretudo no tocante à proteção do conhecimento tradicional associado.

Anteprojetos de Lei de Acesso para substituição da Medida Provisória nº 2.186-16/2001

Dois Anteprojetos de Lei - APLs foram encaminhados à Casa Civil da Presidência da República, por meio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, pelo Ministério do Meio Ambiente – MMA e Ministério da Ciência e Tecnologia – MCT.

O APL/MAPA regula direitos e obrigações sobre:

I - Acesso à amostra de recursos genéticos ou de seus derivados ou ao conhecimento tradicional associado, para alimentação e agricultura;

II - Recursos genéticos ou derivados existentes no Território Nacional, Plataforma Continental e Zona Econômica Exclusiva, em condição *in situ* ou mantidos em coleções;

III - Finalidade de pesquisa para o desenvolvimento de processo ou produto;

IV- Remessa de amostra de recursos genéticos ou derivados e de conhecimentos tradicionais associados a esses recursos genéticos;

V- Repartição de Benefícios advindos da exploração econômica de produto ou processo obtido de pesquisa e desenvolvimento envolvendo acesso à amostra de recursos genéticos ou seus derivados ou conhecimentos tradicionais associados;

VI - Implementação do Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para Alimentação e Agricultura – TIRFAA.

O APL MMA/MCT trata de:

I - Coleta, transporte e remessa de material biológico para fins de pesquisa científica e tecnológica ou desenvolvimento de produtos ou processos para fins comerciais ou industriais;

II - Acesso aos recursos genéticos e seus derivados para pesquisa científica e tecnológica ou desenvolvimento de produtos ou processos para fins comerciais ou industriais;

III - Acesso e a proteção aos conhecimentos tradicionais associados aos recursos genéticos e seus derivados, conforme as finalidades estabelecidas nesta lei;

IV - Repartição justa e equitativa dos benefícios derivados do acesso aos recursos genéticos, seus derivados e aos conhecimentos tradicionais associados, de acordo com as finalidades estabelecidas nesta lei;

V - Incentivo e a promoção da pesquisa científica e tecnológica no País com recursos genéticos, seus derivados e com conhecimentos tradicionais associados.

Regime Internacional de Acesso e Repartição de Benefícios (*Access and Benefit Sharing)*

O estabelecimento de regras internacionais para disciplinar o acesso e repartição de benefícios é de vital importância para um país megadiverso como o Brasil, detentor de cerca de 15% a 20% de todas as espécies existentes no planeta.

Das 150 drogas mais indicadas nos Estados Unidos, 57% contêm ao menos um componente derivado de recursos genéticos, sem que nenhum retorno significativo tenha sido observado aos países provedores.

A Conferência das Partes (COP, da sigla em inglês *Conference of the Parties*) é o órgão gestor da Convenção sobre Diversidade Biológica. Os avanços na implementação da CDB ocorrem por meio das decisões da COP, que se reúne periodicamente, a cada dois anos. Até o momento, foram realizados nove encontros comuns da COP e um extraordinário (para adoção do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança) (http://www.anbio.org.br/pdf/cdb.pdf, acesso disponível em 03 de outubro de 2010)

A Décima Conferência das Partes na Convenção sobre Diversidade Biológica (COP-10) será realizada entre os dias 18 e 29 de outubro, em Nagoia, Japão. A COP-10 foi antecedida pela Nona Conferência das Partes (COP-9), realizada em Bonn, na Alemanha, em 2008.

O Brasil sediou, em 2006, em Curitiba, a COP-8. A principal discussão na COP-10 está relacionada à adoção do Regime Internacional de Acesso e Repartição Justa e Equitativa de Benefícios (RI-ABS).

Conforme descrito na ata da 75ª Reunião Ordinária do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, realizada em março de 2010, e disponível no *link:* http://www.mma.gov.br/estruturas/222/_arquivos/ata75_222_1.pdf, (acesso disponível em 03 de outubro de 2010), foi apresentado o Relato sobre a 9ª Reunião do Grupo de Trabalho Aberto Ad Hoc sobre Acesso e Repartição de Benefícios da Convenção sobre Diversidade Biológica, realizada em março, em Cali, Colômbia, sob relatoria do Ministério das Relações Exteriores – MRE, o Sr. Paulino Franco de Carvalho Neto, que se segue:

"A negociação do regime internacional de acesso e repartição de benefícios representa para o Brasil e para os países em desenvolvimento, de modo geral, o principal processo político em curso na CDB. O Brasil espera que o regime auxilie na valorização dos recursos genéticos e dos conhecimentos tradicionais associados de grupos indígenas e comunidades locais, bem como no combate à biopirataria.

O Brasil, com esse propósito, tem defendido o acesso a recursos genéticos vinculado à concessão de conhecimento prévio informado do País de origem e/ ou das comunidades indígenas ou locais detentoras de tais recursos e a repartição justa e equitativa de benefícios, firmada em termos mutuamente acordados com o País de origem, e/ou as comunidades indígenas ou locais.

O Brasil tem sido, desde o início das negociações, em 2004, um dos principais protagonistas dos trabalhos de negociação de conclusão de um Regimento Internacional de ABS. Não só pela razão óbvia de deter parcela expressiva da biodiversidade do planeta, mas também por presidir no biênio 2008 a 2010, que vai se encerrar em Nagoia, no Japão, na COP, em outubro de

2010. O grupo de países mega diversos, que é uma instância de coordenação política, integrada por 17 países em desenvolvimento, que abrigam mais de 70% da biodiversidade do planeta. O Brasil sendo tanto um provedor quanto usuário de recursos genéticos e por abrigar instituições de pesquisa, relativamente avançadas se comparado a outros países em desenvolvimento, é natural que as posições brasileiras sejam observadas com muita atenção pelos demais países e grupos de interesse.

O foro central para negociação de recursos genéticos e para que as comunidades tradicionais possam se beneficiar desse conhecimento derivado da utilização de recursos genéticos é realizado justamente no âmbito da convenção de biodiversidade, mais especificamente nas negociações desse chamado Protocolo de ABS (*Access and Benefit Sharing)*, Acesso e Repartição de Benefícios.

Então, nós, do Brasil, entendemos que a negociação deve estar concentrada nesse foro. As empresas dos países desenvolvidos farão todo o possível para evitar que elas tenham que, compulsoriamente, repartir benefícios com os chamados detentores dos conhecimentos tradicionais associados a recursos genéticos. Mas o Brasil, na medida da sua integridade como País e como soberania, defende a própria Constituição e os interesses das comunidades indígenas tradicionais. O Brasil quer que haja essa repartição de benefícios e tem feito um esforço muito grande nesse sentido nas negociações internacionais. Mas negociação internacional é sempre algo muito complexo e toda negociação internacional, por definição, exige o consenso e não o voto da maioria. Então, um protocolo, para ser aceito, adotado, ele tem que contar com a aprovação de todos os países que negociam".

AGRADECIMENTO

Agradeço especialmente ao Dr. João Carlos Palazzo de Mello pelo convite para confecção do Capítulo de Legislação de Coleta e Acesso ao Patrimônio Genético.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, Cristina Maria do Amaral Azevedo. **A regulamentação do acesso aos recursos genéticos e aos conhecimentos tradicionais associados no Brasil.** Biota Neotropica, vol. 5, n. 1, Campinas, 2005.

CÁUPER, Gení Conceição de Barros. **Biodiversidade Amazônica, Flora Amazônica**. Centro Cultural dos Povos da Amazônia (CCPA), Manaus, v.3, 2006.

CUNHA, Francine Soares. **A titularidade do patrimônio genético no ordenamento pátrio e a natureza jurídica da repartição de benefícios devida à união**. 2006. 61p. Monografia de (Especialização) –Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília.

DIAS, Eliotério Fachin. **A tutela dos conhecimentos tradicionais associados e a biodiversidade.** A

repartição de benefícios às comunidades locais, quilombolas e indígenas. Jus Navigandi, Teresina, ano 15, n. 2619, 2 set. 2010. Disponível em: <http://jus.uol.com.br/revista/texto/17318>. Acesso em: 6 set. 2010.

HERINGER, Astrid. Os conhecimentos tradicionais associados e o acesso aos recursos genéticos: um estudo sobre a regulamentação da medida provisória nº 2.186-16/01. **Revista Amazônia Legal de estudos sócio-jurídico-ambientais**, Ano 1, n. 2, p.131-148, 2007.

SANT´ANA, Paulo José Péret. **A bioprospecção e a legislação de acesso aos recursos genéticos no Brasil**. Diversidade Biológica e Conhecimentos Tradicionais. Coleção Direito Ambiental. Belo Horizonte: Editora Del Rey., 369 p, 2004.

SBARDELOTTO, Aline Borba. **Bioprospecção de Recursos Genéticos da Amazônia:** alguns aspectos jurídicos e suas implicações. 2008. 87p. Monografia (Especialização) –Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília.

VARELLA, Marcelo Dias. Algumas ponderações sobre as normas de controle do acesso aos recursos genéticos. Disponível em: http://www.esmpu.gov.br/publicacoes/meioambiente/pdf/Marcelo_Dias_Varella_MPU_recursos geneticos.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2006.

Galega, Erva-professor – *Galega officinalis*

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DE MONOTERPENOS

Adriana Gibara Guimarães
Aldeidia Pereira de Oliveira
Eurica Adélia Nogueira Ribeiro
Fladmir de Sousa Claudino
Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Julianeli Tolentino de Lima
Leonardo Rigoldi Bonjardim
Luciano Augusto de Araujo Ribeiro
Lucindo José Quintans-Júnior
Márcio Roberto Viana Santos
Xirley Pereira Nunes

INTRODUÇÃO

Os terpenoides formam uma grande e estruturalmente diversa família de produtos naturais derivados de unidades isoprenoides C_5. Esses compostos possuem esqueletos de carbono, representados por $(C_5)_n$, e são classificados como hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (DEWICK, 2002). Este capítulo apresenta algumas atividades farmacológicas dos monoterpenos, importantes constituintes químicos dos óleos essenciais de muitas espécies de plantas. Não pretendemos aqui fazer uma

ampla revisão de literatura sobre o tema, mas mostrar algumas atividades de moléculas pertencentes a essa classe química. A estrutura química de alguns monoterpenos representativos da classe é mostrada na Figura 1.

Os óleos essenciais são compostos voláteis caracterizados por um forte odor que são formados por plantas aromáticas como metabólitos secundários. Conhecidos por suas propriedades antissépticas, medicinais e pela sua fragrância, eles são usados na conservação de alimentos e também como agentes antimicrobianos, analgésicos, sedativos, anti-inflamatórios, espasmolíticos e anestésicos locais (BAKKALI *et al.*, 2008).

Na natureza, os óleos essenciais possuem um importante papel na proteção de plantas como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra a ação de herbívoros sobre as plantas. Eles também podem atrair insetos para favorecer a dispersão do pólen ou repelir outros insetos indesejáveis. São líquidos, voláteis, límpidos e raramente coloridos, solúveis em solventes orgânicos e com densidade menor que a água. Podem ser sintetizados por todos os órgãos da planta, como, por exemplo, botões florais, flores, folhas, caule, galhos finos, sementes, frutos, raízes e cascas, e são estocados em células secretórias, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BAKKALI *et al.*, 2008).

Em relação à composição química, os óleos essenciais são misturas muito complexas que podem conter de 20-60 componentes em diferentes concentrações, sendo caracterizados por dois ou três componentes principais com concentrações em torno de 20-70% comparados aos outros componentes presentes em concentrações menores. Por exemplo, carvacrol (1) (30%) e timol (2) (27%) são os principais componentes do óleo essencial de *Origanum compactum* Benth.; linalol (3) (68%) do óleo essencial de *Coriandrum sativum* L.; mentol (4) (59%) e mentona (5) (19%) do óleo de *Mentha* x *piperita* L.; rotundifolona (6) (63%) do óleo essencial de *Mentha* x *villosa* Huds. Geralmente, esses constituintes químicos majoritários determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais.

Os monoterpenos são formados a partir do acoplamento de duas unidades isoprenoides (C_{10}). São as moléculas mais encontradas nos óleos voláteis (constituem cerca de 90% dos óleos) e possuem uma grande variedade de estruturas químicas.

Muitos óleos voláteis possuem atividades farmacológicas, tais como ansiolítica, anticonvulsivante e antinociceptiva. Compostos como linalol, limoneno (7) e citronelol (8) possuem ação sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), enquanto mentol e mirceno (9), atividade analgésica (PASSOS *et al.*, 2009).

Diante do exposto, o presente capítulo faz uma abordagem atualizada sobre algumas das mais importantes propriedades farmacológicas dos principais monoterpenos. Para nosso levantamento bibliográfico foi utilizado os bancos de dados *ScienceDirect*, *Chemical Abstracts, PUBMED (US National Library of Medicine), SCOPUS* e *NAPRALERT* (*NAtural PRoducts ALERT*).

MONOTERPENOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Carvacrol e Timol

Estudos mostraram que os monoterpenos carvacrol e timol estão presentes como os principais componentes dos óleos essenciais das espécies *Satureja montana* L., *Satureja spicigera* Boiss., *Satureja odora* (Griseb.) Epling e *Saturejae parvifolia* (Phil.) Epling , espécies pertencentes à família Lamiaceae encontradas na Bulgária (MUSCHIETTI *et al.*, 1996; TUMEN & BASER, 1996). Em plantas pertencentes a essa família, o timol está sempre presente acompanhado do seu isômero, o carvacrol (TSIMIDOU & BOSKOU, 1994). Ambos os compostos são biologicamente ativos, o timol possui atividade antisséptica e o carvacrol possui propriedades antifúngicas. Eles também inibiram a peroxidação de fosfolipídios de lipossomos de maneira dependente de concentração (AESCHBACH *et al.*, 1994). A inibição da oxidação pelos óleos essenciais de várias espécies de orégano depende do conteúdo de carvacrol e timol (LAGOURI & BOSKOU, 1995).

Outro estudo realizado por Yanishlieva *et al.* (1999) investigou a atividade antioxidante e o mecanismo de ação de timol e carvacrol em dois sistemas lipídicos. Os autores investigaram se, devido ao fato de essas duas substâncias serem isômeros de posição, elas poderiam produzir diferentes atividades antioxidantes sobre diferentes substratos lipídicos. A auto-oxidação de triacilgliceróis purificados de banha de porco (TGL) e óleo de girassol (TGSO) contendo concentrações crescentes de timol e carvacrol foi estudada em temperatura ambiente. Os resultados obtidos com os sistemas lipídicos mostraram que o timol teve a eficácia e a atividade antioxidante mais elevada durante a oxidação do óleo de girassol. Durante a auto-oxidação dos lipídios em temperatura ambiente, o timol foi mais efetivo e mais ativo antioxidante do que o carvacrol. Ambos diferem no mecanismo de sua ação inibitória, que depende do caráter do meio lipídico. Timol é melhor antioxidante sobre TGSO do que sobre TGL, enquanto as atividades do carvacrol nos dois sistemas lipídicos não diferem significantemente. Os efeitos do timol em reações que geram espécies reativas de oxigênio (EROs) tais como o ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ($OH^{\cdot}$) e oxigênio singlete ($^1O_2$) foram investigados usando quimiluminescência e métodos espectrofotométricos. Esse composto atua como sequestrador de várias dessas espécies reativas de oxigênio (KRUK *et al.*, 2000). Por outro lado, estudos mostram que o carvacrol pode impedir a formação de peroxinitrito pela sua capacidade de sequestrar EROS e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), indicando que esse monoterpeno, além de antioxidante, é capaz de proteger biomoléculas bem como membranas lipídicas de danos induzidos por radicais livres (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

A composição química dos óleos essenciais de *Origanum dictamnus* L. (planta selvagem e orgânica cultivada) foi analisada por CG-MS. Carvacrol, timol, *p*-cimeno (10) e γ-terpineno

(11) foram identificados como constituintes majoritários, sendo isolados das duas amostras de espécies. Esses constituintes foram encapsulados em lipossomos à base de fosfatidilcolina e tiveram sua atividade antioxidante e antimicrobiana testadas. A atividade antioxidante foi estudada utilizando calorimetria diferencial de varredura (DSC), a fim de adquirir conhecimento sobre a sua estabilidade à oxidação. As mudanças observadas nas propriedades termodinâmicas dos lipossomas contendo carvacrol, timol e uma mistura de carvacrol:timol (6:1) foram determinadas. Na avaliação da atividade antioxidante do carvacrol e do timol antes e após o seu encapsulamento em lipossomos, as análises por DSC mostraram que os compostos apresentaram melhor ação antioxidante quando encapsulados do que no estado puro (LIOLIOS *et al.*, 2009).

Carvacrol foi identificado como sendo o principal constituinte químico do óleo essencial de *Thymus carmanicus* Jalas. O óleo essencial extraído das partes aéreas por hidrodestilação e analisado por CG-MS revelou a presença de 15 constituintes químicos, dos quais os principais são: carvacrol (85,9%), timol (3,3%), *p*-cimeno (3,2%), γ-terpineno (1,8%) e borneol (12) (1,3%), representando 95,6% do óleo. A atividade antioxidante do óleo essencial, das subfrações obtidas a partir do extrato metanólico de *T. carmanicus* e do carvacrol foi avaliada para posterior comparação. Foram utilizados o método do sequestro do radical livre DPPH e o método do â-caroteno/ácido linoléico. As atividades antioxidantes foram comparadas com o butil-hidroxitolueno (BHT), um antioxidante sintético comercial padrão. No método do sequestro do DPPH, o BHT apresentou valor de IC_{50}=19,72±0,80 μg/mL, enquanto o carvacrol apresentou valor de IC_{50}=448,05±3,62 μg/mL. A subfração polar do extrato apresentou valor de IC_{50}=43,17±0,65 μg/mL, com atividade equivalente a cerca da metade do BHT. No sistema do β-caroteno/ácido linoleico, o carvacrol apresentou moderada atividade antioxidante (50,18±0,34) quando comparado com o BHT (98,26±0,80) (SAFAEI-GHOMI *et al.*, 2009).

γ-Terpineno e Terpinoleno

Foi investigada a associação da rutina com um antioxidante hidrofílico (ácido ascórbico) e um antioxidante lipofílico (γ-terpineno) na oxidação da LDL mediada pelo cobre. Em ambos os casos, foi encontrado um efeito sinérgico (MILDE *et al.*, 2004). Os autores sugerem que a ação sinérgica entre a rutina e o γ-terpineno pode ser explicada pela diferente distribuição da rutina e do γ-terpineno ao redor da partícula de LDL e que, não se deve investigar apenas um antioxidante isoladamente, mas também uma combinação de diferentes antioxidantes. Assim, abrem-se novas perspectivas para o tratamento da aterosclerose, doença cardiovascular e inflamatória.

Dando continuidade aos estudos de associações de substâncias antioxidantes sobre a

inibição da oxidação do LDL, Grassmann et al. (2005) mostraram que a associação do terpinoleno (13) obtido do óleo de *Pinus mugo* Turra, juntamente com o α-tocoferol e com o β-caroteno, inibem a oxidação da LDL.

Linalol

O linalol (3) é um composto monoterpênico que é reportado como o principal componente do óleo essencial de várias espécies aromáticas, as quais são usadas na medicina tradicional. Diversos estudos mostraram que o linalol possui atividade anti-inflamatória e antinociceptiva em vários modelos experimentais, atividade anestésica local e propriedades antioxidantes (PEANA *et al.*, 2006). Celik & Ozkaya (2002) investigaram o efeito da administração intraperitoneal do ácido lipoico, vitamina E e linalol sobre o nível de lipídios totais e ácidos graxos no cérebro de cobaias com estresse oxidativo induzido por H_2O_2. Os resultados mostraram que o linalol possui propriedades antioxidantes, da mesma forma que a vitamina E e o ácido lipoico em impedir a peroxidação lipídica. Além disso, os autores sugerem que a vitamina E, ácido lipoico e linalol podem levar a novas abordagens terapêuticas para limitar os danos da oxidação de ácidos graxos insaturados, bem como para complementar as terapias existentes para o tratamento de complicações do dano oxidativo.

A atividade antioxidante do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. foi comparada em relação a três dos seus principais componentes: 1,8-cineol (14), α-pineno (15) e β-pineno (16). A análise do óleo essencial por CG-MS resultou na identificação de 19 compostos, o que representa 97,97% da sua composição. Os principais constituintes do óleo foram descritos como 1,8-cineol (27,23%), α-pineno (19,43%), cânfora (17) (14,26%), canfeno (18) (11,52%) e β-pineno (6,71%). O óleo e os componentes foram submetidos a uma triagem para avaliar a sua possível atividade antioxidante por meio do teste do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e do teste do β-caroteno. No ensaio do DPPH, as atividades sequestradoras de radicais livres do óleo de *R. officinalis*, 1,8-cineol, á-pineno e â-pineno foram de 62,45±3,42%, 42,7±2,5%, 45,61±4,23% e 46,21±2,24% (v/v), respectivamente. No sistema do β-caroteno, testou-se uma série de amostras em diferentes concentrações para avaliar a capacidade antioxidante do óleo e seus componentes principais. Os valores de IC_{50} para o óleo essencial de *R. officinalis*, 1,8-cineol, α-pineno e β-pineno foram de 2,04±0,42%, 4,05±0,65%, 2,28±0,23% e 2,56±0,16% (v/v), respectivamente. Em geral, o óleo essencial de *R. officinalis* mostrou uma maior atividade do que os seus componentes em ambos os sistemas, e as atividades antioxidantes de todas as amostras testadas foram majoritariamente relacionadas com as respectivas concentrações (WANG *et al.*, 2008).

Limoneno

A atividade antioxidante de um extrato da biotransformação do limoneno de óleos es-

senciais de laranja e de alguns monoterpenos padrão presentes no extrato foi avaliada através de cinco ensaios: capacidade antioxidante total, sequestro do radical livre DPPH, peroxidação lipídica pelo ácido tiobarbitúrico (TBA), liberação de ânion superóxido por cultura de células leucêmicas e atividade da glutationa S-transferase (GSTs). A biotransformação do extrato de limoneno teve atividade sequestradora de radicais livres (EC_{50}=2,09%, v/v) e inibiu a peroxidação lipídica (IC_{50}=0,13%, v/v). O extrato, álcool perílico e o α-terpineol (19) inibiram a peroxidação lipídica em aproximadamente 80% na concentração de 0,02% (v/v). Álcool perílico e α-terpineol também reduziram a liberação de ânions superóxido por cultura de células leucêmicas, em 3 e 10 vezes, respectivamente, em concentrações inferiores a 0,02% (v/v). A biotransformação do extrato inibiu a conversão de acetato de nitrofenil para *p*-nitrofenol no ensaio da glutationa em 50%. Esses resultados indicaram que, além de monoterpenos, outros compostos não-voláteis podem contribuir para a atividade antioxidante do extrato de biotransformação (MARÓSTICA-JÚNIOR *et al.*, 2009).

Borneol

O (+)-borneol é um monoterpeno bicíclico presente no óleo volátil de muitas plantas medicinais, incluindo *Valeriana officinalis* L. (Valerianaceae), *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae) e *Lavandula officinalis* Chaix (Lamiaceae).

A atividade antioxidante de soluções aquosa e etanólica do borneol foi determinada pelo método espectrofotométrico do radical livre estável DPPH. Esse monoterpeno, testado nas concentrações de 100, 500, 1000 e 2500 mM não apresentou qualquer atividade antioxidante, permaneceu inativo e não reduziu a intensidade da coloração do DPPH, quando solubilizado em água ou etanol (SLAMENOVÁ *et al.*, 2009).

Isopulegol

O isopulegol (**20**) é um álcool monoterpênico da família do *p*-mentano, intermediário na preparação do mentol (SERRA *et al.*, 2004) e está presente no óleo essencial de várias espécies de plantas, tais como *Eucalyptus citriodora* Hook., *Zanthoxylum schinifolium* Siebold & Zucc. Tem sido utilizado na fabricação de fragrâncias, mas poucos relatos são descritos a respeito das suas propriedades terapêuticas (SILVA *et al.*, 2009).

O isopulegol apresentou atividade antioxidante em modelo de úlcera gástrica induzida por etanol em roedores. Com base nesses dados, foi investigado se os efeitos antioxidantes do isopulegol poderiam estar envolvidos com o seu efeito anticonvulsivante no modelo do pentilenotetrazol (PTZ). Para isso, a atividade da enzima antioxidante catalase bem como os níveis de glutationa (GSH) e lipoperoxidação foram medidos no hipocampo do cérebro dos

animais. O isopulegol preveniu significativamente o aumento da peroxidação lipídica induzida pelo PTZ, manteve a atividade da catalase em níveis normais e impediu a perda de GSH induzida pelo PTZ no hipocampo. Os resultados obtidos sugeriram que os efeitos anticonvulsivantes e bioprotetores do isopulegol contra convulsões induzidas pelo PTZ estão possivelmente relacionados à modulação positiva dos receptores benzodiazepínicos $GABA_A$ e às suas propriedades antioxidantes (SILVA *et al.*, 2009).

MONOTERPENOS COM ATIVIDADE CITOTÓXICA E ANTITUMORAL

Devido à sua lipofilicidade, os monoterpenos podem passar através da parede celular e da membrana plasmática, rompendo a estrutura de suas diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios. A citotoxicidade pode estar envolvida com o dano à membrana. Nas bactérias, a permeabilidade da membrana está associada com a perda de íons e redução do potencial de membrana, colapso na bomba de prótons e depleção de ATP (TURINA *et al.*, 2006).

Limoneno

Compostos monoterpênicos presentes nos óleos essenciais são antioxidantes naturais que são efetivos contra certos tipos de câncer (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002). De fato, um grande número de monoterpenos da dieta possui atividade antitumoral que pode prevenir a formação ou o progresso do câncer, bem como provocar a regressão do tumor. O limoneno possui uma atividade protetora bem estabelecida contra muitos tipos de câncer (CROWELL, 1999).

O limoneno, principal constituinte químico dos óleos essenciais de *Citrus maxima* (Burm.) Merr. e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, inibiu a produção da aflatoxina B1 na concentração de 250 ppm, enquanto o óleo essencial das duas espécies inibiu na concentração de 500 ppm. No óleo essencial de *C. sinensis*, esse monoterpeno responde por 90,66% da sua composição, enquanto no óleo de *C. maxima* ele responde por 31,83% da composição química do óleo (SINGH *et al.*, 2010).

Borneol

O borneol é um composto orgânico bicíclico encontrado em várias espécies de *Artemisia* L. Ele ajuda a promover a agilidade mental, sendo, portanto, usado na prática da meditação e na medicina tradicional chinesa e japonesa. Diferentemente do seu isômero isoborneol, o borneol não apresenta propriedades antivirais. Da mesma maneira que o timol e a cânfora, esse composto inibe a reabsorção óssea. A citotoxicidade do borneol, bem como seus efeitos danosos ao DNA e sua influência sobre a sensibilidade das células contra os efeitos

prejudiciais do H_2O_2 ao DNA foi investigada em três linhagens de células diferentes: células malignas de hepatoma (HepG2), células malignas do cólon (Caco-2) e fibroblastos humanos não malignos (VH10). Eletroforese em gel revelou que o borneol não causou qualquer dano ao DNA nas concentrações estudadas. Borneol também apresentou efeito protetor ao DNA de células HepG2 e, em menor extensão, às células VH10 (mas não em células Caco-2) contra danos no DNA induzidos por H_2O_2. A redução de lesões ao DNA induzidas por H_2O_2 em células HepG2 e VH10 pré-incubadas com borneol pode estar ligada à estimulação do reparo do DNA nessas células (SLAMENOVÁ *et al.*, 2009). Outro estudo investigou a capacidade do borneol em alterar os efeitos nocivos ao DNA induzidos pelo peróxido de hidrogênio em hepatócitos de ratos e células testiculares (HORVATHOVÁ *et al.*, 2009), mostrando os efeitos citotóxicos e protetores do borneol nessas células.

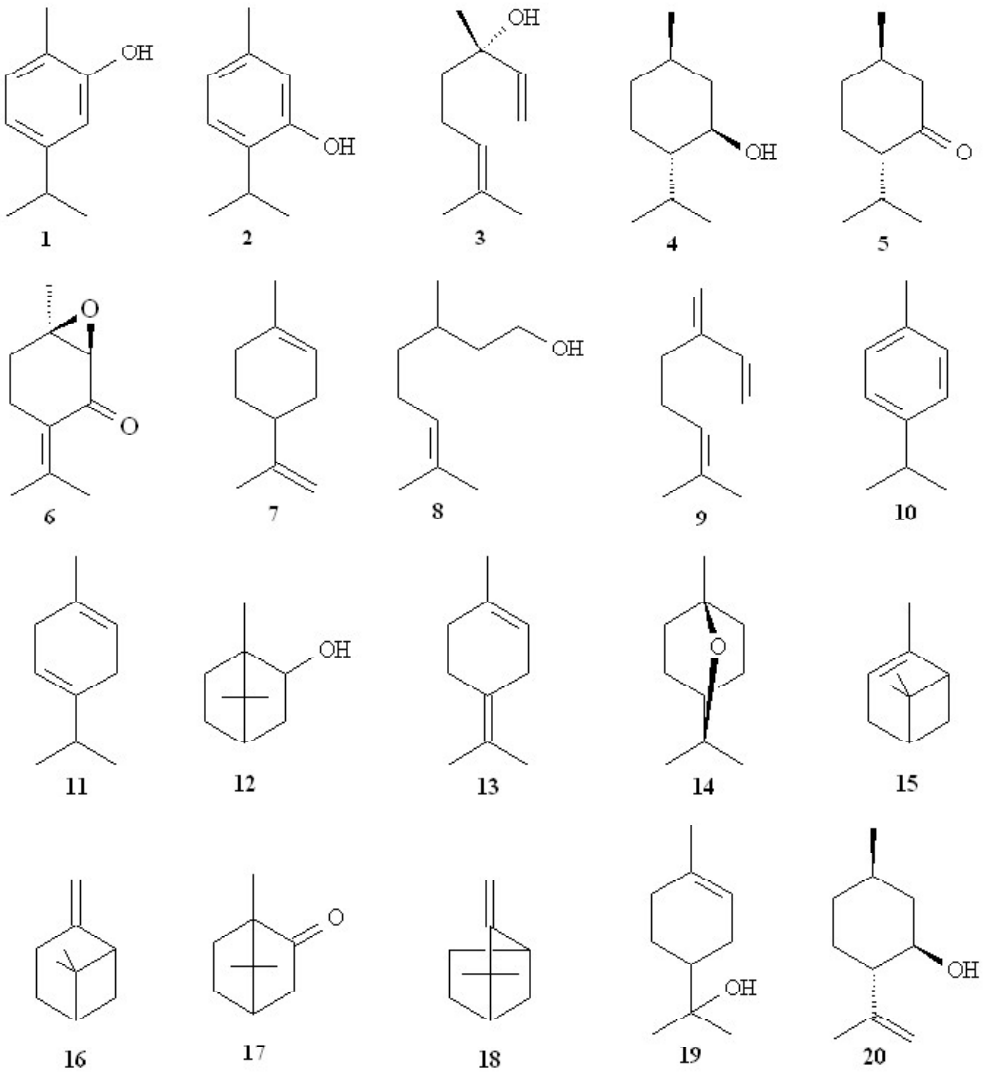


FIGURA 1. Estruturas químicas de alguns monoterpenos

MONOTERPENOS COM ATIVIDADE NO SISTEMA RESPIRATÓRIO

Dentre as várias atividades farmacológicas atribuídas aos monoterpenos, destacam-se aquelas direcionadas para patologias do sistema respiratório (CACERES ET AL., 1991; 1993; RAKOVER *et al.*, 2008).

Timol e Mentol

Dois importantes monoterpenos que foram alvo de pesquisas relacionadas à sua atividade farmacológica sobre o sistema respiratório foram o timol (**2**) (BARDESONO, 1949; BOYD & SHEPPARD, 1969) e o mentol (4) (RAKIETEN *et al.*, 1952; 1954). Esses dois monoterpenos foram amplamente usados, na forma de aerossóis ou em vaporizadores, para o tratamento dos sintomas relacionados a doenças do sistema respiratório (GROLL, 1967; BOYD & SHEPPARD, 1969; BOHLAU & SCHILDWACHTER, 1977). Além disso, com a explosão industrial após a segunda guerra mundial, o mentol e outros monoterpenos começaram a ser usados para os mais variados fins, por exemplo, como agentes flavorizantes e aromatizantes em cigarros (FERRIS WAYNE & CONNOLLY, 2004), na indústria de cosméticos (BHATIA *et al.*, 2008) e de alimentos (CORBO *et al.*, 2008).

Preparações farmacêuticas, usando uma mistura de penicilina e mentol, destinadas à inalação para o tratamento de amigdalite crônica, foram avaliadas quanto a sua eficácia (SURKIN & POPOVA, 1953) e mais tarde a inalação do próprio mentol, sem associações e como auxílio de vaporizadores térmicos, foi usada para o tratamento de várias afecções do trato respiratório, em crianças e adultos, para o alívio dos sintomas da bronquite e da asma (FREYER, 1955). Apesar dos bons resultados terapêuticos obtidos na época, alguns indivíduos apresentavam hipersensibilidade e alguns efeitos adversos relacionados ao uso de preparações contendo mentol e timol (LESOINE, 1965). Após alguns anos, pesquisas alertavam sobre a utilização indiscriminada ou abusiva desses monoterpenos e sobre seus efeitos tóxicos (BERNSON & PETTERSSON, 1983; SCHUTZER *et al.*, 2000) o que, juntamente com o surgimento de novas alternativas terapêuticas, levou ao declínio do uso desses monoterpenos. Entretanto, a empresa Procter & Gamble, lançou uma mistura de mentol, cânfora e óleo de eucalipto, na forma de um unguento, que foi, e continua sendo, amplamente usado para o tratamento de congestões nasais e que ficou famoso sob o nome de fantasia de *Vick Vaporup*® (NOILES & PRATT, 2010).

Cânfora

A cânfora (17), outro monoterpeno comum em plantas aromáticas, é um dos constituintes de outra preparação farmacêutica comercialmente disponível ainda hoje, usada para o alívio de sintomas de doenças relacionadas às vias respiratórias, bem como das dores nas articulações relacionadas ao reumatismo, conhecida como *Rheubalmin Bath*®. Esse medicamento era misturado na água e usado na preparação de banhos mornos, comumente em banheiras,

onde o indivíduo pode sorver o ar contendo vapores de cânfora para o alívio dos sintomas da asma e bronquite, que principalmente acometem crianças (ECKARDT, 1956), ou ainda esse monoterpeno poderia ser absorvido pela pele e agir nas articulações doloridas em adultos (FREYER, 1955). Também era comum o uso de bandagens embebidas com uma solução de cânfora ou bálsamo contendo cânfora para o tratamento de dores musculares e nas articulações (FREYER, 1955) já demonstrando uma aplicação de monoterpenos para problemas relacionados a processos inflamatórios (GREBNER, 1958).

Com o desenvolvimento de modelos animais para o estudo de substâncias com atividade sobre o sistema respiratório, muitos avanços foram possíveis na determinação dos efeitos de alguns monoterpenos, bem como de sua segurança, ou não, em relação à toxicidade e de seu mecanismo de ação (FEDAN *et al.*, 2001). Temos, por exemplo, o fato de que, apesar de o mentol ser utilizado durante muitos anos no tratamento de distúrbios respiratórios, um efeito broncodilatador direto deste monoterpeno só foi descrito muitos anos depois do início de seu uso na terapêutica. Nesse sentido, estudos experimentais em animais foram realizados com pomadas a base de mentol e canfeno (18) para comprovar os seus efeitos farmacológicos no sistema respiratório, em que foi demonstrado que o broncoespasmo em cobaias, produzido pela acetilcolina, foi reduzido em aproximadamente 50%, revelando assim a efetividade no uso terapêutico da pomada em questão para o tratamento dos sintomas da bronquite crônica obstrutiva (SCHAFER & SCHAFER, 1981), demonstrando um potencial broncorelaxante para o mentol.

Em estudos *in vivo* usando a capsaicina e a neurocinina A para aumentar a resistência à passagem do ar pelas vias aéreas de cobaias, foi mostrado que o mentol reduziu o broncoespasmo produzido por ambos os broncoconstritores aumentando a capacidade expiratória dos animais testados. Nesse mesmo estudo, em experimentos *in vitro*, após os anéis da árvore bronquiolar de cobaias serem pré-contraídos com acetilcolina, KCl ou capsaicina, eles foram expostos ao ar impregnado de vapor de mentol e o resultado foi que uma redução dramática nesse broncoespasmo pôde ser observada, demonstrando que o mentol possui uma ação relaxante direta no músculo liso brônquico (WRIGHT *et al.*, 1997).

Foi mostrado que o mentol possui efeito relaxante em traqueia isolada de cobaia (KAWASUJI *et al.*, 2005), sendo capaz de reduzir a hiperresponsividade desse órgão em modelos de asma, bem como promover o relaxamento de anéis de traqueia de cobaia pré-contraídos com metacolina, um análogo da acetilcolina e agonista muscarínico, ou altas concentrações de KCl (20-60 mM), um agente capaz de despolarizar a membrana plasmática permitindo a entrada do íon Ca^{2+} do meio extracelular, íon chave no processo de excitação-contração do músculo liso (WATANABE *et al.*, 2008). De fato, nesse mesmo estudo, foi demonstrado através de protocolos em nível celular, em que se pôde mensurar as concentrações intracelulares de Ca^{2+} em miócitos isolados de traqueia através de um sonda óptica fluorescente, o fura-2, que o mentol foi capaz de reduzir as concentrações intracelulares de Ca^{2+} nesses miócitos, fato esse que elucida parte de seu mecanismo de ação no músculo liso respiratório (WATANABE *et al.*, 2008).

Essa ação em reduzir concentrações intracelulares de Ca^{2+} também foi demonstrada em cultura celular de epitélio da traqueia de cães, onde o mentol também foi efetivo nesse efeito (TAKEUCHI *et al.*, 2005).

Apesar desses relatos da ação do mentol sobre a musculatura lisa das vias aéreas, há poucos estudos farmacológicos demonstrando os possíveis efeitos de monoterpenos sobre o sistema respiratório, sobretudo sobre o músculo liso das vias aéreas. Dos estudos farmacológicos realizados *in vitro* e *in vivo* no sistema respiratório, podemos destacar o efeito da cânfora e alguns de seus derivados na redução da tosse (HOMMA & ONO, 1969) e como expectorante (INOUE & TAKEUCHI, 1969; NAKHOSTEEN & VIEIRA, 1983), o aumento da secreção epitelial induzida pelo mentol (CHIYOTANI *et al.*, 1994), o efeito relaxante de carvacrol (1) (BOSKABADY & JANDAGHI, 2003), do 1,8-cineol (14) (COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 2005; BASTOS *et al.,* 2009) e do bisabolol (Kawasuji *et al.*, 2005) sobre a traqueia isolada de cobaia, a redução da secreção de muco nas vias aéreas induzida por timol, mentol, 1,8-cineol (BOYD & SHEPPARD, 1969; HAMILL *et al.*, 1981; RIECHELMANN *et al.*, 1997; RACKE *et al.*, 2006), redução dos movimentos ciliares no epitélio das vias aéreas induzido por mentol (DAS *et al.*, 1970; RIECHELMANN *et al.*, 1997) e aumento do fluxo de ar respirado induzido por (+)-a-pineno, (-)-a-pineno e mentol (NISHINO e*t al.*, 1997; ECCLES, 2003).

MONOTERPENOS COM AÇÃO SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR

As doenças do sistema cardiovascular (DSCV) são a principal causa de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (*American Heart Association,* 2008; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2007), causando grandes impactos não só na saúde humana, mas também no campo social e econômico (LEFKOWITS & WILLERSON, 2001). Na tentativa de reduzir esses impactos, nas últimas décadas, diversos grupos de pesquisa têm trabalhado exaustivamente no sentido de avançar no tratamento das DSCVs, entre eles a descoberta de novas alternativas terapêuticas (LEFKOWITS & WILLERSON 2001).

Nesse contexto, o estudo com plantas medicinais tem demonstrado resultados promissores, principalmente envolvendo óleos essenciais. Estudos como os de Lahlou *et al.* (2005), Edris (2007) e Menezes *et al.* (2010) têm demonstrado propriedades benéficas dos óleos essenciais, tais como antitrombótica, antiplaquetária, protetora do endotélio, vasorrelaxante e hipotensora. Recentes estudos têm demonstrado que esses efeitos também são observados em humanos, como melhora no fluxo coronário (SHIINA *et al.*, 2008) e efeitos hipotensores e bradicárdicos (DAYAWANSA, 2003). Entretanto, outros estudos têm demonstrado que os óleos essenciais podem ser prejudiciais ao sistema cardiovascular e, por conseguinte, à saúde humana (SZENTANDRÁSSY *et al.*, 2004).

Baseados nessas atividades e sabendo-se que os óleos essenciais são constituídos principalmente por monoterpenos, mais recentemente, estudos farmacológicos têm focado esforços objetivando investigar os efeitos do grupo de substâncias sobre o sistema cardiovascular.

Dentre os mais estudados, podemos citar o timol, carvacrol, eucaliptol (1,8-cineol), rotundifolona (óxido de piperitenona), α-terpineol, α–terpin-4–ol, linalol e citronelol. A seguir descreveremos alguns efeitos cardiovasculares de cada um desses monoterpenos.

Timol

Por ser bastante utilizado com um antisséptico geral e na prática médica, os efeitos cardiovasculares do timol (**2**) têm sido bastante estudados. Magyar *et al*. (2002) demonstraram que o timol induziu arritmias cardíacas em miócitos ventriculares isolados de cães. Esses efeitos foram mediados pela inibição das correntes para K^+ e Ca^{2+}. Mais recente, o mesmo grupo (MAGYAR *et al*., 2004), estudando os efeitos do timol em cardiomiócitos isolados de ventrículos humanos e caninos, utilizando a técnica de *patch clamp* na configuração *whole-cell*, demonstrou que o timol foi capaz de inibir as correntes para Ca^{2+} tipo L. Além disso, os efeitos do timol também foram investigados em coração de cobaio perfundido, utilizando a técnica de Langendorff, e trabécula ventricular canina (SZENTANDRÁSSY *et al*., 2004). Esses estudos demonstraram que o timol induziu um efeito cardiodepressor causado por uma redução do conteúdo de cálcio do retículo sarcoplasmático, em função, principalmente, da inibição da bomba de cálcio (SZENTANDRÁSSY *et al*., 2004).

Efeitos vasorrelaxantes do timol também foram observados. Em aorta isolada de rato, Peixoto-Neves *et al. (*2010) demonstraram que o timol induziu um relaxamento independente do endotélio, possivelmente envolvendo a inibição da liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, redução da sensibilidade dos elementos contráteis ao Ca^{2+} e bloqueio do influxo de Ca^{2+} através da membrana.

Carvacrol

Os efeitos cardiovasculares do carvacrol (1) foram estudados tanto em *in vivo* quanto *in vitro*. Em ratos normotensos, carvacrol na dose de 100 ug/kg (i.p.) reduziu a pressão arterial e frequência cardíaca, e inibiu a hipertensão induzida por *L*-NAME (*L*-nitro arginina metil-éster), um inibidor da enzima óxido nítrico sintase (NOS) (AYDIN *et al*., 2007). Já em aorta isolada de rato, embora Aydin *et al*. (2007) não tenha observado nenhum efeito significativo do carvacrol, Peixoto-Neves *et al.* (2010) demonstraram que esse monoterpeno induziu um relaxamento independente do endotélio, possivelmente envolvendo a inibição do influxo de Ca^{2+} através da membrana. Em artéria cerebral de ratos, o carvacrol também causou potente vasodilatação, porém, esse efeito foi dependente do endotélio (EARLEY *et al*., 2010). De acordo com Earley et al. (2010), esse efeito foi atribuído à ação do carvacrol sobre canais TRPV3 (*Transient Receptor Potential Vanilloid*), causado um influxo de Ca^{2+} nas células endoteliais, aumentando as concentrações intracelulares Ca^{2+} e levando a uma ativação dos canais de K^+ sensíveis a Ca^{2+} de média

(IK_{Ca}) e baixa (SK_{Ca}) condutância. Essa ativação produz hiperpolarização da membrana plasmática das células endoteliais e musculares lisas vasculares, resultando assim na vasodilatação.

Em cardiomiócitos isolados de ventrículos humanos e caninos, utilizando a técnica de *patch clamp* na configuração *whole-cell*, estes estudos demonstraram que, assim como o timol, o carvacrol também foi capaz de inibir as correntes para Ca^{2+} tipo L (Magyar et al., 2004).

1,8-cineol

Devido ao seu aroma agradável e gosto picante, o 1,8-cineol (eucaliptol) (14) é bastante usado na indústria alimentícia como aromatizante e realçador de sabor. Seus efeitos cardiovasculares foram estudados por Lahlou *et al.* (2002), usando uma abordagem combinada *in vivo* e *in vitro*. Nesse estudo, os autores demonstraram que a administração de 1,8-cineol endovenosamente reduziu de maneira significativa a pressão arterial tanto de ratos conscientes quanto de anestesiados. Nesse mesmo estudo, um ensaio realizado com aorta isolada de rato demonstrou que o 1,8-cineol possui atividade vasorrelaxante, o que levou os autores a sugerir que o efeito hipotensor provavelmente seria devido a uma redução da resistência vascular periférica causado pelo relaxamento direto da musculatura lisa vascular. Mais recentemente, Pinto *et al.* (2009) demonstraram que esse vasorrelaxamento parece depender, em parte, da integridade do endotélio vascular e da liberação do óxido nítrico.

Além disso, Soares *et al.* (2005) investigaram os efeitos do 1,8-cineol em preparações de músculo papilar de ventrículo de ratos. Nessas preparações, o 1,8-cineol produziu um relaxamento, possivelmente causado pela inibição do influxo de Ca^{2+} através da membrana.

Rotundifolona

Os efeitos cardiovasculares da rotundifolona (6), principal constituinte do óleo essencial *Mentha x villosa* Huds. ("hortelã-da-folha-miúda"), foram inicialmente descritos por Guedes *et al.* (2002) mostrando que a administração intravenosa de rotundifolona em ratos conscientes reduziu de maneira significativa a pressão arterial e a frequência cardíaca. Na investigação dos mecanismos de ação envolvidos nessas respostas, Guedes *et al.* (2002) realizaram experimentos *in vitro* utilizando preparações isoladas de átrio e anéis de aorta, ambos de ratos. Esses experimentos demonstraram que a rotundifolona foi capaz de induzir efeitos cronotrópicos e inotrópicos negativos em átrio (GUEDES *et al.*, 2002) e vasorrelaxamento em aorta (GUEDES *et al.*, 2004). O vasorrelaxamento foi devido à inibição do influxo de Ca^{2+} através da membrana e da liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares (GUEDES *et al.*, 2004). Diante desses resultados, os autores concluíram que o efeito hipotensor ocorre, possivelmente, devido a uma redução da

frequência cardíaca somada a uma redução da resistência periférica vascular, ambos decorrentes de uma ativação muscarínica.

α-terpineol

Os primeiros relatos dos efeitos cardiovasculares do α-terpineol (19) foram feitos por Saito et al. em 1996. Nesse estudo, os autores demonstraram que o α-terpineol apresentou efeito hipotensor em ratos na dose de 5mg/kg administrado pela via endovenosa. Mais recentemente, Magalhães *et al.* (2008), usando leito mesentério perfundido de rato, demonstraram que o α-terpineol induz também vasorrelaxamento, que foi abolido na presença de *L*-NAME, o que sugere o envolvimento de NO nesse vasorrelaxamento. Possivelmente o efeito hipotensor relatado por Saito *et al.* (1996) pode ter sido causado por uma redução na resistência periférica vascular como consequência de um vasorrelaxamento (MAGALHÃES *et al.*, 2008).

α–terpin-4–ol

O α-terpinen-4-ol é o maior constituinte do óleo essencial da espécie *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. ou *Alpinia speciosa* (Blume) D. Dietr. (Zingiberaceae). Essa planta medicinal é conhecida popularmente como Colônia e é bastante utilizada pela população na forma de chá no tratamento da hipertensão arterial. Estudos têm demonstrado que a administração endovenosa de α–terpinen-4-ol induziu imediata redução da pressão arterial de maneira dependente da dose tanto em ratos normotensos (LAHLOU *et al.*, 2002) quanto em hipertensos (LAHLOU *et al.*, 2003). Em preparações de aorta isoladas de ratos pré-contraídas com solução despolarizante de K^+, o α terpinen-4-ol foi capaz de induzir um vasorrelaxamento dependente da concentração (LAHLOU *et al.*, 2003).

Linalol

O linalol (3) é encontrado na natureza normalmente sob a forma de uma mistura racêmica em diversas plantas aromáticas. Seu uso é comum na indústria cosmética e alimentícia como aromatizante de perfumes e alimentos. Estudos realizados por Höferl, Krist e Buchbauer (2006), que investigaram os efeitos do linalol sobre o estresse, demonstraram que esse monoterpeno apresenta efeitos significativos sobre o sistema cardiovascular de humanos. Nesse estudo, os efeitos dos isômeros óticos (+) e (-) linalol administrados pela via inalatória sobre a pressão arterial e frequência cardíaca foram isoladamente avaliados em 24 sujeitos. Interessantemente, os resultados demonstraram que os isômeros óticos apresentaram efeitos inversos. Enquanto o

(+)-linalol apresentou efeito estimulante sobre o sistema cardiovascular, o (-)-linalol apresentou efeito depressor.

Citronelol

Citronelol (8) é um dos monoterpenos constituintes de algumas plantas usadas na medicina popular como agente anti-hipertensivo, entre elas *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (ABEGAZ *et al*., 1983), *Cymbopogon winterianus* (QUINTANS-JÚNIOR *et al*., 2008) e *Lippia alba* (TAVARES *et al*., 2005). Em estudos realizados por Bastos *et al.* (2010), o citronelol, administrado endovenosamente, apresentou efeito hipotensor e taquicárdico em ratos conscientes. Na investigação dos mecanismos de ação envolvidos nessas respostas, Bastos *et al*. (2010) realizaram experimentos *in vitro* utilizando preparações isoladas de anéis de artéria mesentérica superior de ratos. Nesses experimentos, foi demonstrado que o citronelol foi capaz de induzir vasorrelaxamento, devido à inibição do influxo de Ca^{2+} através da membrana e da liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares (BASTOS *et al*., 2010). Diante desses resultados, os autores concluíram que o efeito hipotensor ocorre devido a uma redução da resistência periférica vascular decorrente de um efeito direto sobre a musculatura lisa vascular.

MONOTERPENOS COM ATIVIDADE SOBRE SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC)

Distúrbios neurológicos como a ansiedade ou a epilepsia, de acordo com dados recentes da Organização Mundial da Saúde, são extremamente comuns na sociedade atual, bem como condições que causem dor e processos inflamatórios. Todas essas nosologias ainda são desafiantes para a medicina moderna, pois o arsenal terapêutico utilizado na clínica não trata de forma apropriada uma parcela considerável de pacientes, apresentando um largo espectro de reações adversas ou efeitos indesejáveis, bem como interações medicamentosas. Todos esses aspectos dificultam a adesão terapêutica. Portanto, novas biomoléculas com potencial terapêutico são constantemente estudadas pelos grandes laboratórios, sendo que alguns monoterpenos, destacados a seguir, se mostram promissores.

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

Linalol

Dentre os monoterpenos com atividade antinociceptiva, provavelmente o linalol (**3**)

seja o mais estudado. O linalol é um monoterpeno alcoólico encontrado na natureza na sua forma racêmica e que ocorre como composto majoritário no óleo essencial de espécies aromáticas, tais como *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. e *Salvia sclarea* L., que são utilizadas na medicina tradicional como analgésica e anti-inflamatória (ALMEIDA *et al.*, 2001).

Esse monoterpeno tem no seu enantiômero, (–)-linalol, suas principais propriedades farmacológicas no SNC, inclusive sua atividade antinociceptiva. Vários estudos demonstraram que o (–)-linalol possui atividade antinociceptiva mediada por mecanismos centrais, tais como o envolvimento do sistema opioide, dopaminérgico e colinérgico, e periférico (PEANA & MORETTI, 2002; PEANA *et al.,* 2006; BATISTA *et al.*, 2010). Esses efeitos são corroborados pela atividade anti-inflamatória desse enantiômero através da inibição de mediadores envolvidos na via dos prostanoides, do óxido nítrico (NO) e de citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-1b, IL-1a e IFN-γ) (BATISTA *et al.*, 2010).

Adicionalmente, alguns estudos demonstram que o (–)-linalol modula a neurotransmissão glutamatérgica possivelmente através da interação com os receptores ionotrópicos para o glutamato (iGluR), aparentemente sem o envolvimento dos receptores metabotrópicos (mGluR). A participação do sistema glutamatérgico no possível mecanismo de ação do (–)-linalol foi caracterizada pela administração sistêmica e local desse composto em roedores, sendo seus efeitos revertidos por antagonistas farmacológicos específicos dos receptores *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA), α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpro-prionato (AMPA) e cainato (BATISTA *et al.*, 2008). Os receptores NMDA são particularmente importantes na modulação da dor e são fortemente antagonizados pelo (–)-linalol (BATISTA *et al.*, 2008; 2010).

O envolvimento dos iGluR na resposta antinociceptiva do (–)-linalol demonstra que seu efeito analgésico central é particularmente importante, pois sugere seu possível uso no tratamento clínico de dores neuropáticas, tais como na neuralgia trigeminal e/ou na pós-herpética, dores de difícil tratamento com os fármacos analgésicos atualmente utilizados.

Mentol

O mentol (4) é um monoterpeno alcoólico presente em plantas do gênero *Mentha* L. e que dá o típico cheiro e sabor mentolado. O mentol é um dos compostos majoritários (50-70%) do óleo essencial da *Mentha x piperita* L. e *Mentha arvensis* L. (ECCLES, 1994), mas pode ser sintetizado a partir do mirceno, processo conhecido como *Takasago menthol synthesis* (Processo Takasago).

A aplicação tópica do mentol provoca uma sensação de formigamento e sensação de frescor, devido à ativação de receptores de membrana da família TRP (*Transient Receptor Potential*), em especial os receptores TRPM8 (MACPHERSON *et al.*, 2006). O efeito analgésico do mentol parece estar relacionado, quando administrado sistemicamente, com a participação do sistema opioide, em particular pela ativação dos receptores *k*-opioides (GALEOTTI *et al.*, 2002).

1,8-Cineol

O 1,8-cineol (14) (eucaliptol ou óxido terpênico) é um dos monoterpenos majoritários do óleo essencial de *Eucalyptus* L'Hér. (≅75%), *Rosmarinus* L. (≅ 40%) e *Psidium* L. (40–60%). Em estudo pré-clínico, o tratamento com 1,8-cineol apresentou efeito antinociceptivo mediado por mecanismos centrais, sem o envolvimento do sistema opioide (LIAPI *et al.*, 2007), e periféricos, além de efeito anti-inflamatório (SANTOS & RAO, 2000). No mesmo estudo, o composto produziu uma inibição significativa na produção de citocinas (TNF, IL1-b), leucotrieno B4, tromboxano B2 e prostaglandina E2. Essa diminuição na formação de mediadores inflamatórios explica, pelo menos em parte, o efeito anti-inflamatório e analgésico mediado por mecanismos periféricos.

Citronelal

O citronelal é um monoterpeno que pode ser extraído do óleo essencial da *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle e *C. winterianus* Jowitt ex Bor, sendo encontrado na natureza na sua forma racêmica ((*RS*)-(±)-citronelal) (LENARDÃO *et al.*, 2007). Melo *et al.* (2010) demonstraram que a administração desse composto, na forma racêmica, produz depressão do SNC e reduz a nocicepção em roedores, através de mecanismos centrais e periféricos. Dessa forma, seus efeitos analgésicos estão provavelmente envolvidos na ativação do sistema opioide e na modulação de mediadores inflamatórios, tais como os prostanoides e as cininas. O (*RS*)-(±)-citronelal foi o primeiro monoterpeno descrito na literatura que produziu intenso efeito analgésico com a participação do sistema opioide em modelos de dor orofacial em roedores, sem alterar a coordenação motora e inibindo a excitabilidade neuronal através do bloqueio parcial de canais para Na^+ controlados por voltagem (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2010).

Outros Monoterpenos

A hidroxidihidrocarvona produz efeito antinociceptivo mediado por mecanismos centrais em camundongos, aparentemente sem o envolvimento do sistema opioide (OLIVEIRA *et al.,* 2008).

A rotundifolona (6) possui atividade antinociceptiva e está presente no óleo essencial de várias espécies de *Mentha* L.*,* como um dos monoterpenos majoritários. Estudo que avaliou a relação estrutura/atividade de vários análogos da rotundifolona (epoxi-carvona, (+)-pulegona, (+)-carvona e (–)-carvona) mostrou que a presença do grupo epóxi pode potencializar o efeito antinociceptivo desses compostos (DE SOUSA *et al.*, 2007a).

Atribui-se ao carvacrol (1) as propriedades terapêuticas do orégano, que incluem antimicrobiana, antitumoral, antimutagênica, antigenotóxica, antiespasmódico, analgésico, anti-inflamatório, dentre outras (BASER, 2008). Os efeitos antinociceptivos do carvacrol foram descritos recentemente através de modelos pré-clínicos, em que sua administração por via intraperitoneal (i.p.), nas doses 25-100 mg/kg, produziu uma redução da resposta álgica em

camundongos induzidos por meios químicos (ácido acético, formalina, glutamato e capsaicina) e térmicos (placa quente) (GUIMARÃES *et al.*, 2010). Os efeitos antinociceptivos, centrais e periféricos, do carvacrol parecem estar relacionados com sua ação sobre os receptores glutamatérgicos (NMDA e não-NMDA), com a ativação de receptores TRP (*Transient Receptor Potential*), em especial os receptores TRPV3, e com suas propriedades antioxidantes (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Na Tabela 1 estão sumarizados os principais monoterpenos descritos com propriedades analgésicas/antinociceptivas e seus possíveis mecanismos farmacológicos.

Tabela 1 – Principais monoterpenos com atividade antinociceptiva e/ou analgésica

Monoterpeno	Métodos usados	Dose	Via	Animais utilizados	Mecanismo de ação proposto
Acíclico					
Citronelal[b,c]	AA, TF, PQ, NOF, NOC, NOGlu	50-200 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	Participação do sistema opióide e bloqueio parcial de canais para Na_+ controlados por voltagem
(-)-Linalol[a,d-j]	AA, PQ, TF, HTC, HGlu, $HTPGE_2$, NGlu, DLPNC , HMCFA, HTCFA, DLNE , NIL-1β, NTNF-α	33-300 mg/kg 200 µl 10-300 ng/paw 0,1-3 µg/site	v.o., i.p., s.c. inalat i.pl. i.t.	Camundongos /machos Camundongos /fêmeas Ratos/machos	Participação dos sistemas opióide, colinérgico (receptor M2), glutamatérgicos (receptor NMDA, AMPA e cainato), dopaminérgico (receptor D2), purenérgico (A1 e A2). Modulação da produção de citocinas pró-inflamatória
Mirceno[k-m]	AA, PQ, HTC, $HMPGE_2$	5-450 mg/kg	v.o., i.p., s.c.	Camundongos /machos Ratos/machos	Analgesia mediada por mecanismos periféricos e modulação da via arginina-NO-GMPc. Participação dos sistemas opioide e adrenérgico (receptores α_2)

(Continua)

Monoterpeno	Métodos usados	Dose	Via	Animais utilizados	Mecanismo de ação proposto
Monocíclico					
Carvacrol[n]	AA, TF, NIC, NGlu, PQ	25-100 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	Participação de mecanismos centrais, sem a participação do sistema opioide. Inibição da produção de mediadores inflamatórios
(–)-Carvona[o,p]	AA, TF, SSG	50-250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos Ratos/machos	Bloqueio parcial de canais para Na^+ controlados por voltagem
(+)-Carvona[p]	AA	250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	–
Hidroxidiidro-carvona[p,q]	AA, IC, PQ, TF	12,5-400 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	Atividade antinociceptiva mediada por mecanismos centrais, sem a participação do sistema opióide
R-(+)-limoneno[r]	AA, TF, PQ	25-50mg/-kg	i.p.	Camundongos /machos	Inibição da produção de mediadores inflamatórios e não participação do sistema opióide
(-)-Mentol[s]	AA, PQ	1-10 mg/kg 5-10 µg/site	v.o. i.c.v.	Camundongos /machos	–
(+)-Mentol[s]	AA, PQ	10-50 mg/kg 10-50 µg/site	v.o. i.c.v.	Camundongos /machos	Participação do sistema opióide (receptores k)
(+)-pulegona[p]	AA	250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	–
Bicíclico					
1,8-Cineol[t,u]	AA, TF, PQ	100-400 mg/kg 0,2-0,5 mg/kg	v.o. i.p.	Camundongos /machos Ratos/machos	Não participação do sistema opióide

(Continua)

Monoterpeno	Métodos usados	Dose	Via	Animais utilizados	Mecanismo de ação proposto
Epoxi-carvona[p]	AA	250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	–
Óxido de limoneno[p]	AA	250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	–
Óxido de pulegona[p]	AA	250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	–
β-Pineno[p]	PQ, TF	0,3 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos	Agonista parcial dos receptores opióides μ
α-Pineno[w]	TCBQ	500 mg/kg	v.o.	Camundongos /machos	–
Rotundifolona[p,x]	AA, TF, IC	125-250 mg/kg	i.p.	Camundongos /machos Ratos/machos	Participação do sistema opióide

ATIVIDADE ANSIOLÍTICA

Existem vários trabalhos descritos na literatura sobre as propriedades ansiolíticas de óleos essenciais ricos em monoterpenos, contudo, poucos estudos realizaram protocolos experimentais (pré-clínicos e/ou clínicos) com esses compostos isolados.

Isopulegol

O isopulegol (20) (25-50mg/kg) em protocolos pré-clínicos apresentou efeito ansiolítico, promovendo aumento no número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos dos animais no teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), além de aumentar o número de mergulhos de cabeça dos animais no teste da placa perfurada (SILVA *et al.*, 2007). Como descrito anteriormente, os efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes do isopulegol estão possivelmente relacionados à modulação positiva dos receptores benzodiazepínicos $GABA_A$ (SILVA *et al.*, 2009).

1,8-cineol e Carvacrol

Um estudo pré-clínico realizado por Gomes *et al.* (2010) mostrou que o tratamento agudo com 1,8-cineol, por via intraperitoneal, produziu efeito ansiolítico em camundongos nos animais submetidos ao teste do LCE.

Melo *et al.* (2009) demonstraram a atividade ansiolítica do carvacrol, administrado-o oralmente em camundongos, utilizando o teste do LCE, no qual esse efeito ansiolítico foi revertido na presença do flumazenil, antagonista do sítio dos benzodiazepínicos no receptor $GABA_A$, sugerindo assim o envolvimento da transmissão GABAérgica no mecanismo de ação do monoterpeno. Os efeitos antioxidantes do carvacrol podem estar contribuindo com seus efeitos centrais, visto que esse monoterpeno inibe a produção de NO (GUIMARÃES *et al.,* 2010), o que pode estar associado com efeitos ansiolítico e depressor do SNC apresentado pelo carvacrol.

Linalol, Mentol e Borneol

O tratamento agudo com linalol induziu alterações comportamentais sugestivas de atividade ansiolítica em camundongos, no teste da caixa claro-escuro, quando administrado por via inalatória (LINK *et al.*, 2009).

Em estudos eletrofisiológicos, utilizando a técnica de *voltage-clamp*, os monoterpenos mentol (HALL *et al.*, 2004), (+)-borneol e (–)-borneol (GRANGERA *et al.*, 2005) apresentaram-se como sendo potentes moduladores alostéricos positivos dos receptores $GABA_A$, sugerindo, assim, que eles podem possuir efeito ansiolítico devido ao aumento das correntes de cloreto e, consequentemente, redução da atividade do Sistema Nervoso Central, como o que ocorre com os benzodiazepínicos, fármacos padrão de atividade ansiolítica.

ATIVIDADE ANTICONVULSIVANTE

Descreveremos nesta parte do capítulo apenas os estudos de investigação de atividade anticonvulsivante dos monoterpenos isolados. Contudo, outros importantes trabalhos utilizando óleos essenciais ricos em monoterpenos estão descritos na literatura.

α, β-epóxi-carvona, (S)-(+)-carvona, e hidroxidihidrocarvona

Almeida *et al.* (2008) investigaram o efeito anticonvulsivante em camundongos da α, β-epóxi-carvona, monoterpeno monocíclico obtido por síntese a partir da *R*-(–)-carvona, nos testes das convulsões induzidas quimicamente pelo pentilenotetrazol (PTZ) e picrotoxina (PIC) e no teste do Eletrochoque Auricular (ELA), sendo registrado que a administração aguda desse composto promoveu proteção contra o aparecimento das convulsões e, ainda, produziu um aumento significante na latência para o desenvolvimento das convulsões nos animais.

Num estudo comparativo entre os enantiômeros (*R*)-(–)-carvona e (*S*)-(+)-carvona apenas a segunda apresentou efeito anticonvulsivante quando administrado por via i.p. em camundongos, aumentando a latência das convulsões induzidas por PTZ e PIC (DE SOUSA *et al.*, 2007b). Já a hidroxidihidrocarvona, outro monoterpeno obtido por síntese a partir da hidratação da *R*-(–)-carvona, apresentou efeito anticonvulsivante no teste do PTZ protegendo os camundongos do desenvolvimento das convulsões (DE SOUSA *et al.*, 2006a).

Citronelol e Isopulegol

O citronelol, um monoterpeno alcoólico, apresentou efeito anticonvulsivante em camundongos prevenindo o desenvolvimento das convulsões e aumentando a latência das convulsões induzidas pelo PTZ e PIC, e eliminando em 80% o reflexo extensor no teste ELA nos animais. Esses efeitos foram mediados pelos receptores $GABA_A$ e pelo bloqueio parcial dos canais para Na^+ operados por voltagem (DE SOUSA *et al.*, 2006b).

Como descrito anteriormente neste capítulo, o isopulegol apresentou efeito anticonvulsivante no modelo do pentilenotetrazol (PTZ) em camundongos. De acordo com Silva *et al.* (2009), essa atividade está diretamente relacionada com a atividade da enzima antioxidante catalase bem como os níveis de glutationa (GSH) e lipoperoxidação, quando medidos em hipocampo do cérebro de roedores, sendo um bioprotetor em crises induzidas quimicamente pelo PTZ. Adicionalmente, os efeitos depressores do SNC atribuídos ao isopulegol estão possivelmente relacionados à modulação positiva dos receptores $GABA_A$ (SILVA *et al.*, 2009).

Linalol

A atividade anticonvulsivante do linalol foi inicialmente proposta por Elizabetsky *et al.* (1999) que avaliou, em camundongos por via i.p., que a administração do linalol produziu uma proteção estatisticamente significante contra as convulsões induzidas por PTZ e ELA. Adicionalmente, o linalol apresentou efeito anticonvulsivante frente às convulsões induzidas pelo glutamato, dado corroborado por Batista *et al.* (2008; 2010) que mostrou o envolvimento do sistema glutamatérgico ao demonstrar que o linalol, administrado sistemicamente e por via intratecal, produziu seus efeitos ao atuar, antagonizando os receptores glutamatérgicos NMDA e não-NMDA.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando-se o grande número de atividades farmacológicas dos monoterpenos em diferentes sistemas (oxidações biológicas, sistema respiratório, cardiovascular, SNC, etc.), ainda se sabe muito pouco sobre seus mecanismos farmacológicos, efeitos tóxicos e sobre suas aplicações terapêuticas. Apesar dos inúmeros estudos realizados com óleos essenciais de diversas espécies de plantas, os quais apontam os seus constituintes majoritários, devem ser realizados estudos para a verificação da atividade farmacológica desses constituintes, para que eles possam servir tanto para a identificação de marcadores químicos para as espécies, quanto para a comprovação de que a atividade farmacológica dos óleos essenciais está diretamente relacionada à presença deles.

Os trabalhos sumarizados no presente capítulo mostraram o potencial terapêutico dos monoterpenos na prevenção e/ou tratamento das doenças cardiovasculares, do trato respiratório, dos diversos tipos de nosologias que causam dor, distúrbios do SNC, dentre outras, despertando assim o interesse pela busca, nesse grupo de substâncias, por novas biomoléculas com potencial farmacoterapêutico.

Os monoterpenos chamam a atenção pela sua diversidade estrutural aliada a atividades farmacológicas importantes. Por serem moléculas pequenas, possuem um grande potencial de aplicação terapêutico, visto que moléculas mais complexas são isentas de efeitos farmacológicos em diversos modelos experimentais. Há também uma facilidade de obtenção e identificação estrutural dos monoterpenos, o que estimula a realização de estudos químicos e farmacológicos.

Além disso, esses trabalhos fornecem uma base científica para seu uso, não só como objeto de estudos pré-clínicos e clínicos, mas também para a própria indústria farmacêutica, podendo ser utilizados como adjuvantes em medicamentos e como biomarcadores de matéria-prima vegetal.

Muitos monoterpenos encontrados em plantas nativas do Brasil ainda não foram estudados farmacologicamente ou mesmo quimicamente identificados, assim, esperamos que este trabalho possa despertar o interesse dos pesquisadores por essa classe de produtos naturais, para que possam ser empregados no futuro, como fármacos ou protótipos de fármacos, com potencial aplicação no tratamento de diversas patologias que atualmente não possuem tratamento adequado.

AGRADECIMENTO

Nossos agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnológica do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro; e à Universidade de Illinois, Chicago-USA., pela utilização do banco de dados *NAPRALERT* nesse estudo.

REFERÊNCIAS

ABEGAZ, B.; YOHANNES, P.G.; DIETER, R.K. Constituents of the essential oil of Ethiopian *Cymbopogon citratus* Stapf. **Journal of Natural Product**, v.46, p.424–426, 1983.

AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; SCOTT, B.C.; MURCIA, A.; BUTLER, J.; HALLIWELL, B.; ARUOMA, O.T. Antioxidant action of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 32, p. 31-36, 1994.

ALMEIDA, R. N.; DE SOUSA, D. P.; NÓBREGA, F. F. F.; CLAUDINO, F. S.; ARAÚJO, D. A. M.; LEITE, J. R.; MATTEI, R.

Anticonvulsant effect of a natural compound á,â-epoxy-carvone and its action on the nerve excitability. **Neuroscience Letters**, v. 443, p. 51-55, 2008.

ALMEIDA, R.N.; NAVARRO, D.S.; BARBOSA-FILHO, J.M. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, V.8, p.310–322, 2001.

ALMEIDA, R.N.; HIRUMA, C.A.; BARBOSA-FILHO, J.M. Analgesic effect of rotundifolone in rodents. **Fitoterapia**, v. 67, n.4, p. 334-338, 1996.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Heart Disease and Stroke Statistics - 2008 Update. **Circulation**, v.117, p.e25-e146, 2008.

AYDIN Y, KUTLAY O, ARI S, DUMAN S, UZUNER K, AYDIN S. Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. **Planta Medica**, v.73, n.13, p.1365-1371, 2007.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology,** v. 46, p. 446-475, 2008.

BARDESONO, G. L'azione del soltimol nelle malattie dell'apparato respiratorio. **Minerva Medica**, v. 40, n. 62 Pt. 2, p. 956-958, 1949.

BAROCELLI, E.; CALCINA, F.; CHIAVARINI, M.; IMPICCIATORE, M.; BRUNI, R.; BIANCHI, A.; BALLABENI, V. Antinociceptive and gastroprotective effects of inhaled and orally administered *Lavandula hybrida Reverchon "Grosso"* essential oil. **Life Sciences,** v.76, n.2, p.213-223, 2004.

BASER, K.H. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. **Current Pharmaceutical Design**, v.14, p.3106–19, 2008.

BASTOS, V.P.; BRITO, T.S.; LIMA, F.J.; PINHO, J. P.; LAHLOU, S.; ABREU MATOS, F.J.; SANTOS, A.A.;CALDAS MAGALHAES, P.J. Inhibitory effect of 1,8-cineole on guinea-pig airway challenged with ovalbumin involves a preferential action on electromechanical coupling. **Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 36, n. 11, p. 1120-1126, 2009.

BASTOS, J.F.; MOREIRA, I.J.; RIBEIRO, T.P.; MEDEIROS, I.A.; ANTONIOLLI, A.R.; DE SOUSA, D.P.; SANTOS, M.R. Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v.106, n.4, p.331-337, 2010.

BATISTA, P. A.; WERNER, M. F P.; OLIVEIRA E. C., BURGOS, L.; PEREIRA, P; BRUM, L. F. DA SILVA; STORY, G. M.; SANTOS, A. R. S. The antinociceptive effect of (-)-Linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. **The Journal of Pain**, *in press*, 2010.

BATISTA, P.A.; WERNER, M.F.P.; OLIVEIRA, E.C.; BURGOS, L.; PEREIRA, P.; SILVA-BRUM, L.F.; SANTOS, A.R.S. Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (-)-linalool in mice. **Neuroscience Letters**, v. 440, p.299-303, 2008.

BERLIOCCHI, L.; RUSSO, R.; LEVATO, A.; FRATTO, V.; BAGETTA, G.; SAKURADA, S.; SAKURADA, T.; MERCURI, N. B.; CORASANITI, M.T. (-)-Linalool attenuates allodynia in neuropathic pain induced by spinal nerve ligation in c57/bl6 mice. **International review of neurobiology,** v.85, p.221-235, 2009.

BERNSON, V. S.;PETTERSSON, B. The toxicity of menthol in short-term bioassays. **Chemico-Biological Interactions**, v. 46, n. 2, p. 233-246, 1983.

BHATIA, S. P.; MCGINTY, D.; LETIZIA, C. S.;API, A. M. Fragrance material review on menthol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46 Suppl 11, p. S209-214, 2008.

BOHLAU, V.;SCHILDWACHTER, G. Aerosol treatment of bronchitis. **ZFA (Stuttgart)**, v. 53, n. 30, p. 1885-1887, 1977.

BOSKABADY, M. H.;JANDAGHI, P. Relaxant effects of carvacrol on guinea pig tracheal chains and its possible

mechanisms. **Pharmazie**, v. 58, n. 9, p. 661-663, 2003.

BOYD, E. M.;SHEPPARD, E. P. A bronchomucotropic action in rabbits from inhaled menthol and thymol. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie**, v. 182, n. 1, p. 206-214, 1969.

CACERES, A.; ALVAREZ, A. V.; OVANDO, A. E.;SAMAYOA, B. E. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram-positive bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 31, n. 2, p. 193-208, 1991.

CACERES, A.; FIGUEROA, L.; TARACENA, A. M.; SAMAYOA, B. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 2: Evaluation of activity of 16 plants against gram-positive bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, n. 1, p. 77-82, 1993.

CELIK, S.; ÖZKAYA, A. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H_2O_2. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, p. 547-552, 2002.

CHIYOTANI, A.; TAMAOKI, J.; TAKEUCHI, S.; KONDO, M.; ISONO, K.;KONNO, K. Stimulation by menthol of Cl secretion via a $Ca^{(2+)}$-dependent mechanism in canine airway epithelium. **British Journal of Pharmacology**, v. 112, n. 2, p. 571-575, 1994.

COELHO-DE-SOUZA, L. N.; LEAL-CARDOSO, J. H.; DE ABREU MATOS, F. J.; LAHLOU, S.;MAGALHAES, P. J. Relaxant effects of the essential oil of *Eucalyptus tereticornis* and its main constituent 1,8-cineole on guinea-pig tracheal smooth muscle. **Planta Medica**, v. 71, n. 12, p. 1173-1175, 2005.

CORBO, M. R.; SPERANZA, B.; FILIPPONE, A.; GRANATIERO, S.; CONTE, A.; SINIGAGLIA, M.;DEL NOBILE, M. A. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127, n. 3, p. 261-267, 2008.

CROWELL, P. L. Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. **Journal of Nutrition,** v. 129, p. 775–778, 1999.

DAS, P. K.; RATHOR, R. S.; SINHA, P. S.;SANYAL, A. K. Effect on ciliary movements of some agents which come in contact with the respiratory tract. **Indian Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 14, n. 4, p. 297-303, 1970.

DAYAWANSA, S.; UMENO, K.; TAKAKURA, H.; HORI, E.; TABUCHI, E.; NAGASHIMA, Y.; OOSU, H.; YADA, Y.; SUZUKI, T.; ONO, T.; NISHIJO, H. Autonomic responses during inhalation of natural fragrance of Cedrol in humans. **Autonomic Neuroscience.**, v.108, p.79-86, 2003.

DE SOUSA, D.P.; OLIVEIRA, F.S.; ALMEIDA, R.N. Evaluation of the central activity of hydroxydihydrocarvone. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, p. 811-812, 2006a.

DE SOUSA, D. P; GONÇALVES, J. C. R.; QUINTANS-JÚNIOR, L.; CRUZ, J. S.; ARAÚJO, D. A. M.; ALMEIDA, R. N. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. **Neuroscience Letters,** v. 401, p. 231-235, 2006b.

DE SOUSA, D.P.; JUNIOR, E.V.M.; OLIVEIRA, F.S.; ALMEIDA, R.N.; NUNES, X.P.; BARBOSA-FILHO, J.M. Antinociceptive activity of structural analogues of Rotundifolone: structure-activity relationship. **Zeitschrift für Naturforschung. C, A Journal of Biosciences**, v. 62c, p. 39-42, 2007a.

DE SOUSA, D. P.; NÓBREGA, F. F. F.; ALMEIDA, R. N. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study. **Chirality**, v.19, p. 264-268, 2007b.

DEWICK, P.M. The mevalonate pathway: terpenoids and steroids. In: DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach.** Jonh Wiley & Sons, 2nd edition, 2002.

DO AMARAL, J.F.; SILVA, M.I.G.; NETO, M.R.D.A.; NETO, P.F.T.; MOURA, B.A.; DE MELO, C.T.V.; DE ARAÚJO, F.L.O.; DE SOUSA, F.C.F. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. **Biological and**

Pharmaceutical Bulletin, v.30, n.7, p. 1217-1220, 2007.

DUARTE, I.D.; DOS SANTOS, I.R.; LORENZETTI, B.B.; FERREIRA, S.H. Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide-cGMP pathway. **European Journal of Pharmacology,** v.217, p.225-227, 1992.

EARLEY, S.; GONZALES, A.L.; GARCIA, Z.I. A dietary agonist of transient receptor potential cation channel V3 elicits endothelium-dependent vasodilation. **Molecular Pharmacology**, v.77, n.4, p.612-620, 2010.

ECCLES, R. Menthol and related cooling compounds. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. V. 46, p.18–630, 1994.

ECCLES, R. Menthol: effects on nasal sensation of airflow and the drive to breathe. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 3, n. 3, p. 210-214, 2003.

ECKARDT, F. Rheubalmin bath, an effective aid in management of diseases of the respiratory tract in childhood. **Dtsch Gesundheitsw**, v. 11, n. 45, p. 1527-1529, 1956.

EDRIS, A.E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v.21, p.308-323, 2007.

ELISABETSKY, E.; BRUM, L. F.; SOUZA, D.O. Anticonvulsant properties of linalool in glutamate-related seizure models. **Phytomedicine**, v. 6, p. 107–113, 1999.

FEDAN, J. S.; VAN SCOTT, M. R.;JOHNSTON, R. A. Pharmacological techniques for the in vitro study of airways. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 45, n. 2, p. 159-174, 2001.

FERRIS WAYNE, G.;CONNOLLY, G. N. Application, function, and effects of menthol in cigarettes: a survey of tobacco industry documents. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 6 Suppl 1, p. S43-54, 2004.

FREYER, B. Percutaneous therapy of respiratory diseases. **Hippokrates**, v. 26, n. 18, p. 561-562, 1955.

GALEOTTI, N.; MANNELLI, L.C.; MAZZANTI, G., BARTOLINI, A., GHELARDINI, C. Menthol: a natural analgesic compound. **Neuroscience Letters**, v.322, p.145–148, 2002.

GOMES, P. B.; FEITOSA, M. L.; SILVA, M. I. G.; A, NORONHA, E. C.; MOURA, B. A.; VENÂNCIO, E. T.; RIOS, E. R. V.; DE SOUSA, D. P.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; SOUSA, F. C. F. Anxiolytic-like effect of the monoterpene 1,8-cineole in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. *In Press*, 2010.

GONÇALVES, J.C.; OLIVEIRA, F.S.; BENEDITO, R.B.; DE SOUSA, D.P.; DE ALMEIDA, R.N.; DE ARAÚJO, D.A. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.31, n.5, p.1017-1020, 2008.

GRANGERA, R. E.; CAMPBELL, E. L.; JOHNSTON, G. A. R. (+)- and (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $á_1â_2ã_{2L}$ $GABA_A$ receptors. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, p. 1101-1111, 2005.

GRASSMANN, J.; HIPPELI, S.; SPITZENBERGER, R.; ELSTNER, E.F. The monoterpene terpinolene from the oil of *Pinus mugo* L. in concert with á-tocopherol and â-carotene effectively prevents oxidation of LDL. **Phytomedicine,** v. 12, p. 416-423, 2005.

GREBNER, G. Prevention and therapy of inflammatory diseases of the respiratory tract in operative surgery. **Dtsch Med Wochenschr Journal**, v. 9, n. 8, p. 433-434, 1958.

GROLL, H. Therapeutic possibilities of spastic bronchitis in infancy and early childhood in general practice. **Landarzt**, v. 43, n. 36, p. 1794-1796, 1967.

GUEDES, D.N.; SILVA, D.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; MEDEIROS, I.A. Calcium antagonism and the vasorelaxation of the rat aorta induced by rotundifolone. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.12, p.1881-1887, 2004.

GUEDES, D.N.; SILVA, D.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; MEDEIROS, I.A. Muscarinic agonist properties involved in the hypotensive and vasorelaxant responses of rotundifolone in rats. **Planta Medica**, v.68, n.8, p.700-704, 2002.

GUIMARÃES, A.G.; OLIVEIRA, G.F.; MELO, M.S., CAVALCANTI, S.C.H.; ANTONIOLLI, A.R.; BONJARDIM, L.R.; SILVA, F.A.; SANTOS, J.P.A.; ROCHA, R.F.; MOREIRA, J.C.F.; ARAÚJO, A.A.S.; GELAIN, D.P.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, *in press*, 2010.

HALL, A.C.; TURCOTTE, C.M.; BETTS, B.A.; YEUNG, W-Y.; AGYEMAN, A.S.; BURK, L.A. Modulation of human $GABA_A$ and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. **European Journal of Pharmacology**, v. 506, p. 9-16, 2004.

HAMILL, O.P.; MARTY, A.; NEHER, E.; SAKMANN, B.;SIGWORTH, F. J. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. **Pflügers Archiv**, v. 391, n. 2, p. 85-100, 1981.

HÖFERL, M.; KRIST, S.; BUCHBAUER, G. Chirality influences the effects of linalool on physiological parameters of stress. **Planta Medica**, v.72, n.13, p.1188-1192, 2006.

HOMMA, H.;ONO, H. Effect of trans-pi-oxocamphor on cough, and respiratory rales and its action mechanism. **Nippon Shonika Gakkai Zasshi**, v. 73, n. 3, p. 364-373, 1969.

HORVÁTHOVÁ, E.; SLAMENOVÁ, D.; MARŠÁLKOVÁ, L.; ŠRAMKOVÁ, M.; WSÓLOVÁ, L. Effects of borneol on the level of DNA damage induced in primary rat hepatocytes and testicular cells by hydrogen peroxide. **Food and Chemical Toxicology,** v. 47, p. 1318-1323, 2009.

INOUE, Y.;TAKEUCHI, S. Expectorant-like action of camphor derivatives. **Nippon Ika Daigaku Zasshi**, v. 36, n. 4, p. 351-354, 1969.

KAWASUJI, T.; MATSUBARA, T.;SUZUKI, H. Effects of terpene alcohols, bisabolol and menthol, on the tracheal smooth muscle. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 97, p. 226P-226P, 2005.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine,** v. 113, p. 71–88, 2002.

KRUK, I.; MICHALSKA, T.; LICHSZTELD, K.; KLADNA, A.; ABOUL-ENEIN, H.Y. The effect of thymol and its derivatives on reactions generating reactive oxygen species. **Chemosphere,** v. 41, p. 1059-1064, 2000.

LAGOURI, V.; BOSKOU, D. Screening for antioxidant activity of essential oils obtained from spices. In: **Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence**, Ed. G. Charalambous, pp. 869-879, Elsevier, Amsterdam, 1995.

LAHLOU, S.; FIGUEIREDO, A.F; MAGALHÃES, P.J.; LEAL-CARDOSO, J.H. Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.80, n.12, p.1125-1131, 2002.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, L.F.; LEAL-CARDOSO, J.H.; DUARTE, G.P. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. **Fundamental & Clinical Pharmacology.**, v.17, n.3, p.323-330, 2003.

LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P.J.; DE SIQUEIRA, R.J.; FIGUEIREDO, A.F.; INTERAMINENSE, L.F.; MAIA, J.G.; SOUSA, P.J. Cardiovascular effects of the essential oil of *Aniba canelilla* bark in normotensive rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.46, p.412-421, 2005.

LEFKOWITS, R.J.; WILLERSON, J. Prospects for Cardiovascular Research. **JAMA**; v.285, p.581-587, 2001.

LENARDÃO, E.J.; BOTTESELLE, G.V.; AZAMBUJA, F.; PERIN, G.; JACOB, R.G. Citronellal as key compound in organic synthesis. **Tetrahedron**, v.63, p.6671–6712, 2007.

LESOINE, W. Dangers and complications in the administration of menthol containing preparations in otorhinolaryngology. **Hno**, v. 13, n. 8, p. 238-239, 1965.

LI, W.; FENG, J. T.; XIAO, Y. S.; WANG, Y. Q.; XUE, X. Y.;LIANG, X. M. Three novel terpenoids from the rhizomes of Curcuma longa. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 11, n. 6, p. 569-575, 2009.

LIAPI, C.; ANIFANTIS, G.; CHINOU, I.; KOUROUNAKIS, A.P.; THEODOSOPOULOS, S.; GALANOPOULOU, P. Antinociceptive properties of 1,8-cineole and â- pinene, from the essential oil of Eucalyptus camaldu lensis leaves, in rodents. **Planta Medica**, v.73, n.12, p.1247-1254, 2007.

LINCK, V. M.; SILVA, A. L.; MICHELI FIGUEIRÓ, M.; PIATO, A. L.; HERRMANNA, A. P.; BIRCKA, F. D.; CARAMÃO, E. B.; NUNES, D. S.; MORENO, P. R. H.; ELISABETSKY, E. Inhaled linalool-induced sedation in mice. **Phytomedicine**,16: 303–307, 2009.

LIOLIOS, C.C.; GORTZI, O.; LALAS, S.; TSAKNIS, J.; CHINOU, I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. **Food Chemistry,** v. 112, p. 77-83, 2009.

LORENZETTI, B. B.; SOUZA, G. E. P.; SARTIC, S. J.; FILHO, D. S.; FERREIRA, S. H. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. **Journal of Ethnopharmacology**, v.34, p.43-48, 1991.

MACPHERSON, L.J.; HWANG, .S.W.; MIYAMOTO, T.; DUBIN, A.E.; PATAPOUTIAN, A.; STORY, G.M. More than cool: promiscuous relationships of menthol and other sensory compounds. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v.32, p. 335-43, 2006.

MAGALHÃES, P.J.; LAHLOU, S.; JUCÁ, D.M.; COELHO-DE-SOUZA, L.N.; DA FROTA, P.T.; DA COSTA A.M.; LEAL-CARDOSO, J.H. Vasorelaxation induced by the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents in rat aorta are partially mediated by the endothelium. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.22, n.2, p.169-177, 2008.

MAGYAR J, SZENTANDRÁSSY, N.; BÁNYÁSZ, T.; FÜLÖP, L.; VARRÓ, A.; NÁNÁSI, P.P. Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes. **European Journal of Pharmacology**, v.487, n.1-3, p.29-36, 2004.

MAGYAR, J.; SZENTANDRÁSSY, N.; BÁNYÁSZ, T.; FÜLÖP, L.; VARRÓ, A.; NÁNÁSI, P.P. Effects of thymol on calcium and potassium currents in canine and human ventricular cardiomyocytes. **British Journal of Pharmacology.**, v.136, n.2, p.330-338, 2002.

MAHMOUD, A. A. New monoterpenes from Mentha microphylla. **Planta Medica**, v. 71, n. 8, p. 782-784, 2005.

MARÓSTICA-JÚNIOR, M.R.; SILVA, T.A.A.R.; FRANCHI, G.C.; NOWILL, A.; PASTORE, G.M.; HYSLOP, H. Antioxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil. **Food Chemistry,** v. 116, p. 8-12, 2009.

MCCHESNEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.;HENRI, J. T. Plant natural products: back to the future or into extinction? **Phytochemistry**, v. 68, n. 14, p. 2015-2022, 2007.

MELO, M.S.; SENA, L. C. S.; BARRETO, F. J. N.; BONJARDIM, L. R.; ALMEIDA, J. R. G. S.; LIMA, J. T.; DE SOUSA, D. P.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Antinociceptive effect of citronellal in mice. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, p. 411-416, 2010.

MELO, F. H. C.; VENÂNCIO, E. T.; DE SOUSA, D. P.; FRANÇA FONTELES, M. M.; VASCONCELOS, S. M. M.; VIANA, G. S. B.; SOUSA, F. C. F. Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, 2009.

MENEZES, I.A.; MOREIRA, I.J.; DE PAULA, J.W.; BLANK, A.F.; ANTONIOLLI, A.R.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; SANTOS, M.R. Cardiovascular effects induced by Cymbopogon winterianus essential oil in rats: involvement of calcium channels and vagal pathway. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.62, n.2, p.215-221, 2010.

MILDE, J.; ELSTNER, E.F.; GRASSMANN, J. Synergistic inhibition of low-density lipoprotein oxidation by rutin, ã-terpinene and ascorbic acid. **Phytomedicine,** v. 11, p. 105-113, 2004.

MUSCHIETTI, L.; VAN BAREN, C.; COUSSIO, J.; VILA, R.; CLOS, M.; CANIGUERAL, S.; ADZET, T. Chemical composition of the leaf oil of *Saturejae odora* and *Saturejae parvifolia*. **The Journal of Essential Oil Research,** v. 8, p. 681-684, 1996.

NAKAMURA, A.; XIE, C.; ZHANG, Y.; GAO, Y.; WANG, H. H.; YE, L. H.; KISHI, H.; OKAGAKI, T.; YOSHIYAMA, S.; HAYAKAWA, K.; ISHIKAWA, R.;KOHAMA, K. Role of non-kinase activity of myosin light-chain kinase in regulating smooth muscle contraction, a review dedicated to Dr. Setsuro Ebashi. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 369, n. 1, p. 135-143, 2008.

NAKHOSTEEN, J. A.;VIEIRA, J. The expectorant Solucampher: effect on the tracheal clearing velocity in chronic bronchitis. **ZFA (Stuttgart)**, v. 59, n. 9, p. 36-38, 1983.

NISHINO, T.; TAGAITO, Y.;SAKURAI, Y. Nasal inhalation of l-menthol reduces respiratory discomfort associated with loaded breathing. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 156, n. 1, p. 309-313, 1997.

NOILES, K.; PRATT, M. Contact dermatitis to Vicks VapoRub. **Dermatitis**, v. 21, n. 3, p. 167-169, 2010.

OLIVEIRA, F.S.; DE SOUSA, D.P.; ALMEIDA, R.N. Antinociceptive effect of hydroxydihydrocarvone. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p. 588-591, 2008.

ORHAN, I.; KÜPELI, E.; ASLAN, M.; KARTAL, M.; YESILADA, E. Bioassay-guided evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of pistachio, *Pistacia vera* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v.105, p.235-240, 2006.

PASSOS, C.S.; ARBO, M.D.; RATES, S.M.K; POSER, G.L.V. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v. 19 (1A), p. 140-149, 2009.

PEANA, A.T.; MORETTI, M.D.L. Pharmacological activities and applications of *Salvia sclarea* and *Salvia desoleana* essential oils. In: Ur-Rahman, A. (Ed.), **Studies in Natural Product Chemistry**, v. 26, part G. Elsevier, UK, pp. 391– 425. 2002.

PEANA, A. T.; D'AQUILA, P. S.; CHESSA, M. L.; MORETTI, M. D.; SERRA, G.; PIPPIA, P. (-)-Linalool produces antinociception in two experimental models of pain. **European Journal of Pharmacology,** v.460, p.37-41, 2003.

PEANA, A. T.; DE MONTIS, M. G.; NIEDDU, E.; SPANO, M. T.; D'AQUILA, P. S.; PIPPIA, P.. Profile of spinal and supraspinal antinociception of (-)-linalool. **European Journal of Pharmacology**, v.485, p.165–174, 2004a.

PEANA, A. T.; DE MONTIS, M. G.; SECHI, S.; SIRCANA, G.; D'AQUILA, P. S.; PIPPIA, P.. Effects of (-)-linalool in the acute hyperalgesia induced by carrageenan, L-glutamate and prostaglandin E2. **European Journal of Pharmacology,** v.497, p.279–284, 2004b.

PEANA, A.T.; MARZOCCO, S.; POPOLO, A.; PINTO, A. (-)-Linalool inhibits in vitro NO formation: probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. **Life Sciences,** v. 78, p. 719-723, 2006.

PEIXOTO-NEVES, D.; SILVA-ALVES, K.S.; GOMES, M.D.; LIMA, F.C.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P.J.; CECCATTO, V.M.; COELHO-DE-SOUZA, A.N.; LEAL-CARDOSO, J.H. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.24, n.3, p.341-350, 2010.

PINTO, N.V.; ASSREUY, A.M.; COELHO-DE-SOUZA, A.N.; CECCATTO, V.M.; MAGALHÃES, P.J.; LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J.H. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Alpinia*

zerumbet and its main constituent 1,8-cineole in rats. **Phytomedicine**, v.16, n.12, p.1151-1155, 2009.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; MELO, M.S.; DE SOUSA, D.P.; ARAUJO, A. A. S.; ONOFRE, A. S. C.; Gelain, D.P.; GONCALVES, J. C. R.; Araújo, D.A.M.; ALMEIDA, J. R. G. S.; BONJARDIM, L. R. Antinociceptive activity of citronellal in formalin-, capsaicin- and glutamate-induced orofacial nociception in rodents and its action on nerve excitability. **Journal of Orofacial Pain**, *in press*, 2010.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; SOUZA, T.T.; LEITE, B.S.; LESSA, N.M.N.; BONJARDIM, L.R.; SANTOS, M.R.V. Phythochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, v.15, p.619–624, 2008.

RACKE, K.; JUERGENS, U. R.;MATTHIESEN, S. Control by cholinergic mechanisms. **European Journal of Pharmacology**, v. 533, n. 1-3, p. 57-68, 2006.

RAKIETEN, N.; RAKIETEN, M. L.;BOYKIN, M. Effects of menthol vapor on the intact animal with special reference to the upper respiratory tract. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 43, n. 7, p. 390-392, 1954.

RAKIETEN, N.; RAKIETEN, M. L.; FELDMAN, D.;BOYKIN, M. J., JR. Mammalian ciliated respiratory epithelium; studies with particular reference to effects of menthol, nicotine, and smoke of mentholated and nonmentholated cigarettes. **Archives of Otolaryngology**, v. 56, n. 5, p. 494-503, 1952.

RAKOVER, Y.; BEN-ARYE, E.;GOLDSTEIN, L. H. The treatment of respiratory ailments with essential oils of some aromatic medicinal plants. **Harefuah**, v. 147, n. 10, p. 783-788, 838, 2008.

RAO, V.S.N.; MENEZES, A.M.S.; VIANA, G.S.B. Effect of myrcene on nociception in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology,** v.42, n.12, p. 877-878, 1990.

REN, M. L.; ZHANG, X.; DING, R.; DAI, Y.; TU, F. J.; CHENG, Y. Y.;YAO, X. S. Two new monoterpene glucosides from *Paeonia lactiflora* Pall. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 11, n. 7, p. 670-674, 2009.

RIECHELMANN, H.; BROMMER, C.; HINNI, M.;MARTIN, C. Response of human ciliated respiratory cells to a mixture of menthol, eucalyptus oil and pine needle oil. **Arzneimittelforschung**, v. 47, n. 9, p. 1035-1039, 1997.

SAFAEI-GHOMI, J.; EBRAHIMABADI, A.H.; DJAFARI-BIDGOLI, Z.; BATOOLI, H. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. **Food Chemistry,** v. 115, p. 1524–1528, 2009.

SAITO, K.; OKABE, T.; INAMORI, Y.; TSUJIBO, H.; MIYAKE, Y.; HIRAOKA, K.; ISHIDA, N. The biological properties of monoterpenes - Hypotensive effects on rats and antifungal activities on plant pathogenic fungi of monoterpenes. **Mokuzai Gakkaishi**, v 42, n.7, p.677 680, 1996.

SANTOS, F.A.; RAO, V.S.N. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 240–244, 2000.

SCHAFER, D.;SCHAFER, W. Pharmacological studies with an ointment containing menthol, camphene and essential oils for broncholytic and secretolytic effects. **Arzneimittelforschung**, v. 31, n. 1, p. 82-86, 1981.

SCHUTZER, W. E.; XUE, H.; REED, J. F.; ROULLET, J. B.; ANDERSON, S.;MADER, S. L. Angiotensin II enhances beta-adrenergic receptor-mediated vasorelaxation in aortas from young but not old rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 279, p. 2807-2814, 2000.

SERRA, S.; BRENNA, E.; FUGANTI, C.; MAGGIONI, F. Lipase-catalyzed resolution of *p*-menthan-3-ols monoterpenes: preparation of the enantiomerenriched forms of menthol, isopulegol, *trans*- and *cis*-piperitol, and *cis*-isopiperitenol. **Tetrahedron: Asymmetry,** v. 14, p. 3313–3319, 2004.

SHIINA, Y.; FUNABASHI, N.; LEE, K.; TOYODA, T.; SEKINE, T.; HONJO, S.; HASEGAWA, R.; KAWATA, T.; WAKATSUKI, Y.;

HAYASHI, S.; MURAKAMI, S.; KOIKE, K.; DAIMON, M.; KOMURO, I. Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. **International Journal of Cardiology**, v. 129 ,p. 193-197, 2008.

SILVA, M.I.G.; SILVA, M.A.G.; AQUINO-NETO, M.R.; MOURA, B.A.; SOUSA, H.L.; LAVOR, E.P.H.; VASCONCELOS, P.F.; MACÊDO, D.S.; SOUSA, D.P.; VASCONCELOS, S.M.M.; SOUSA, F.C.F. Effects of isopulegol on pentylenetetrazol-induced convulsions in mice: Possible involvement of GABAergic system and antioxidant activity. **Fitoterapia,** v. 80, p. 506–513, 2009.

SILVA, M. I. G.; AQUINO NETO, M. R.; TEIXEIRA NETO, P. F.; MOURA, B. A.; AMARAL, J. F.; DE SOUSA, D. P.; VASCONCELOS, S. M. M.; SOUSA, F. C. F. Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 88, p.141–147, 2007.

SINGH, P.; SHUKLA, R.; PRAKASH, B.; KUMAR, A.; SINGH, S.; MISHRA, P.K.; DUBEY, N.K. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. **Food and Chemical Toxicology,** v. 48, p. 1734-1740, 2010.

SLAMENOVÁ, D.; HORVÁTHOVÁ, E.; WSÓLOVÁC, L.; SRAMKOVÁ, M.; NAVAROVÁ, J. Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNA-protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines. **Mutation Research,** v. 677, p. 46–52, 2009.

SOARES, M.C.; DAMIANI, C.E.; MOREIRA, C.M.; STEFANON, I.; VASSALLO, D.V. Eucalyptol, na essential oil, reduces contractile activity in rat cardiac muscle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, n.3, p.453-461, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.89: p.e24-e79, 2007.

SURKIN, D. P.;POPOVA, T. K. Effectiveness of therapy of chronic tonsillitis of oil menthol-penicillin inhalation. **Pediatriia**, v. 5, p. 63-65, 1953.

SZENTANDRÁSSY, N.; SZIGETI, G.; SZEGEDI, C.; SÁRKÖZI, S.; MAGYAR, J.; BÁNYÁSZ, T.; CSERNOCH, L.; KOVÁCS, L.; NÁNÁSI, P.P.; JÓNA, I. Effect of thymol on calcium handling in mammalian ventricular myocardium. **Life Science**, v.74, n.7, p.909-921, 2004.

TAKEUCHI, K.; IDEISHI, M.; TASHIRO, T.; MORISHIGE, N.; YAMADA, T.; SAKU, K.;URATA, H. Higher small arterial elasticity in hypertensive patients treated with angiotensin II receptor blockers. **Hypertension Research**, v. 28, n. 8, p. 639-644, 2005.

TAVARES, E.S.; JULIÃO, L.S.; LOPES, D.; BIZZO, H.R.; LAGE, C.L.S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.1–5, 2005.

TSIMIDOU, M.; BOSKOU, D. Antioxidant activity of essential oils from the plants of the Lamiaceae family. In: **Spices, Herbs and Edible Fungi**, Ed. G. Charalambous, p. 273-284. Elsevier, Amsterdam. 1994.

TUMEN, G.; BASER, K.H.C. Essential oil of *Saturejae spicigera* (C. Koch) from Turkey. **The Journal of Essential Oil Research,** v. 8, p. 57-58, 1996.

TURINA, A.V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry,** v. 122, p. 101-113, 2006.

WANG, H.; YE, W. C.; JIANG, R. W.; WU, J. J.; MAK, T. C.; ZHAO, S. X.;YAO, X. S. Three new cyclopentanoid monoterpenes from *Picrorhiza scrophulariiflora*. **Planta Medica** v. 70, n. 4, p. 382-384, 2004.

WANG, W.; WU, N.; ZU, Y.G.; FU, Y.J. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. **Food Chemistry,** v. 108, p. 1019-1022, 2008.

WATANABE, H.; MURAKAMI, M.; OHBA, T.; TAKAHASHI, Y.; ITO, H. TRP channel and cardiovascular disease. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 118, n. 3, p. 337-351, 2008.

WRIGHT, C.E.; LAUDE, E.A.; GRATTAN, T. J.; MORICE, A.H. Capsaicin and neurokinin A-induced bronchoconstriction in the anaesthetized guinea-pig: Evidence for a direct action of menthol on isolated bronchial smooth muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 121, p. 1645–1650, 1997.

Yanishlieva, N.V.; Marinova, E.M.; Gordon, M.H.; Raneva, V.G. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems**. Food Chemistry**, v. 64, p. 59-66, 1999.

Amajouva – *Aionea brasiliensis Meissn*

PLANTAS MEDICINAIS DA FLORA BRASILEIRA UTILIZADAS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Aldeidia Pereira de Oliveira
Eurica Adélia Nogueira Ribeiro
Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Lucindo José Quintans-Júnior
Márcio Roberto Viana Santos

INTRODUÇÃO

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) demonstram que cerca de 80% da população mundial recorre ao uso de plantas medicinais e/ou seus subprodutos para satisfazer suas necessidades básicas de saúde, entretanto, apenas 1% da flora de tradição medicinal é química e farmacologicamente conhecida. O Brasil apresenta um papel de destaque, uma vez que detém aproximadamente 20% da biodiversidade mundial de espécies vegetais (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2000).

Mesmo com a globalização da indústria química e a utilização de medicamentos sintéticos, os produtos deriva-

dos de plantas medicinais ainda detêm uma importante fatia do mercado mundial. Aproximadamente 48% dos medicamentos empregados na terapêutica advêm, direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais (BALUNAS & KINGHORN, 2005).

Assim, é inquestionável que as plantas medicinais ainda constituam não só uma importante fonte para descoberta de novas substâncias biologicamente ativas, como também uma alternativa terapêutica para o tratamento de diversas doenças, dentre elas as doenças do sistema cardiovascular (DSCs).

PLANTAS MEDICINAIS E AS DSCs

As DSCs são a principal causa de morte nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (*AMERICAN HEART ASSOCIATION* 2008; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007), causando grandes impactos não só na saúde humana, mas também no campo social e econômico (LEFKOWITS & WILLERSON, 2001). Muitos remédios à base de plantas medicinais têm sido popularmente usados para o tratamento das DSCs, porém poucas delas têm seus efeitos e mecanismos de ação estudados e comprovados.

Dentre as mais importantes DSCs, está a hipertensão arterial sistêmica (HAS) que constitui uma das principais causas de morte entre adultos, respondendo por aproximadamente 40% dos óbitos no Brasil (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007). O estado de hipertensão está associado a alterações não só vasculares, a exemplo do aumento na resistência periférica vascular, mas também cardíacas e renais (COLEMAM *et al.*, 1975). A HAS é caracterizada por uma elevação da pressão sanguínea associada a vários fatores de risco, como obesidade, consumo elevado de álcool, inatividade física, idade, sexo e etnia, fatores socioeconômicos e sal (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007). Das doenças associadas à HAS, a arteriosclerose está entre as mais importantes (FONSECA *et al.*, 2002). De maneira geral, a arteriosclerose é caracterizada pelo depósito de gordura e outros elementos na parede das artérias, associado ao seu espessamento e endurecimento, dificultando ou obstruindo totalmente o fluxo sanguíneo local. É uma doença que acomete diversas artérias, dentre elas as artérias coronarianas. Entre os fatores que podem acelerar o aparecimento da arteriosclerose, a dislipidemia aparece como o principal deles. Essa alteração pode ser definida como a presença de altos níveis de gorduras circulantes no sangue, principalmente o colesterol (FONSECA *et al.*, 2002).

Atualmente existem diversos medicamentos amplamente utilizados no tratamento da hipertensão, os quais incluem vários grupos de drogas, tais como: diuréticos, betabloqueadores, inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), bloqueadores dos canais para Ca^{2+}, antagonistas dos receptores da angiotensina II e inibidores da renina. No entanto, algumas das substâncias desses grupos de drogas apresentam significativos efeitos colaterais, principalmente sobre o sistema nervoso central (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007). Os

efeitos colaterais somados à dificuldade de acesso a medicamentos anti-hipertensivos, principalmente em países em desenvolvimento, têm justificado a crescente busca por novos agentes anti-hipertensivos de origem natural. Isso é mais evidente no Brasil, que tem a maior biodiversidade de espécies vegetais e onde há um grande potencial para o desenvolvimento de preparações a base de plantas medicinais (CALIXTO, 2000).

Portanto, este capítulo traz informações atualizadas dos aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e informações populares de 29 espécies de plantas medicinais da flora brasileira indicadas e utilizadas para o tratamento das doenças cardiovasculares, principalmente da HAS. Estas informações servirão como fonte de consulta para pesquisadores, profissionais da área de saúde e população em geral.

***Allium sativum* L.** (Alho)

Essa espécie, pertencente à família Alliaceae, é nativa da Europa, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Ela é uma erva bulbosa, pequena de cheiro forte e característico. Seus bulbos são formados pelo agrupamento de 8 a 12 unidades (dentes). Suas folhas são retas e longas e apresentam flores brancas ou avermelhadas. É popularmente conhecida como alho, alho-bravo, alho-comum ou alho-do-reino (LORENZI & MATOS, 2008). Embora utilizada na medicina popular para outros fins terapêuticos, o chá de seu bulbo é muito utilizado no tratamento da hipertensão arterial e contra arteriosclerose (RIBEIRO *et al.*, 1986; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007). Diversos estudos farmacológicos têm comprovado seus efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular, principalmente na hipertensão arterial (RIBEIRO *et al.*, 1986). Singi *et al.* (2005) demonstraram que o alho produz efeito hipotensor em ratos. Esses efeitos podem ser atribuídos à ação sinérgica de três mecanismos distintos: inibição da Enzima Conversora da Angiotensina (ECA), redução da produção de tromboxano B2 e ativação da produção de óxido nítrico (CHEN *et al.*, 2009). Estudos fitoquímicos com essa espécie demonstraram a presença de óleos essenciais quase todos derivados orgânicos do enxofre, dentre eles o ajoeno, alicina e aliina (AMAGASE, 2006).

Alpinia speciosa (Blume) D. Dietr. (Colônia)

É uma espécie pertencente à família Zingiberaceae e nativa da Ásia. Por se adaptar às condições climáticas brasileiras, ela tem sido também muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm., *Alpinia fluviatilis* Hayata, *Zerumbet speciosum* J.C. Wendl, *Costus zerumbet* Pers., *Alpinia nutans* (L.) Roscoe. Ela é uma erva aromática, rizomatosa com folhas longas e largas. Suas inflorescências apresentam flores coloridas como róseo, marrom e branca. É popularmente conhecida como colônia, espriteira, alpinia ou pacova (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas, flores e

raízes é bastante utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007; LORENZI & MATOS, 2008). Alguns estudos farmacológicos têm demonstrado que essa espécie apresenta efeitos sobre o sistema cardiovascular. Por exemplo, Lahlou *et al.* (2003) e Pinto *et al.* (2009) demonstraram que o óleo essencial dessa planta possui atividade anti-hipertensiva possivelmente causada por ação relaxante da musculatura lisa vascular. Laranja *et al.* (1992), em estudos com humanos, também demonstraram que o extrato aquoso de *Alpinia speciosa* (Blume) D. Dietr. também apresentou atividade hipotensora. Estudos fitoquímicos com essa espécie demonstraram a presença de óleos essenciais, compostos principalmente de 1,8-cineol e terpineno-4-ol (LAHLOU *et al.*, (2003), flavonoides e kava-pironas (DA COSTA *et al.*, 1998).

***Cecropia pachystachya* Mart** (Umbaúba)

Pertencente à família Cecropiaceae (Moraceae), essa espécie é nativa do Brasil. Pode ser encontrada com outros nomes científicos, tais como: *Cecropia adenopus* Mart. ex Miq., *Ambaiba adenopus* (Mart. ex Miq.) Kuntze, *Cecropia cinerea* Miq., *Cecropia cyrtostachya* Miq. Ela é uma árvore de até 15m de altura com tronco embranquiçado. Suas folhas são multilobadas com 8 a 9 lobos, com pecíolo longo (LORENZI & MATOS, 2008). É popularmente conhecida como umbaúba-do-brejo, árvore-da-preguiça, embaúba, torém ou ambaíba. O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (LORENZI & MATOS, 2008). Alguns estudos farmacológicos têm demonstrado que essa espécie apresenta efeitos sobre o sistema cardiovascular, dentre eles hipotensor e cardiotônico (CONSOLINI & MIGLIORI, 2005; CONSOLINI *et al.*, 2006). Estudos fitoquímicos com espécies do mesmo gênero demonstraram a presença de beta-sitosterol, alfa-amirina e isovitexina (LORENZI & MATOS, 2008).

***Citrus aurantium L.* var amara** (Laranja-Azeda)

Essa espécie, pertencente à família Rutaceae, é nativa do sudeste asiático, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com a sinonímia *Citrus vulgaris* Risso. Ela é uma árvore de porte médio e copa densa, arredondada e perene. Seu tronco e ramos apresentam casca castanho-acinzentada e são um tanto tortuosos. As folhas são verdes, coriáceas, brilhantes e muito aromáticas. As flores da laranjeira são brancas, pequenas e muito perfumadas. É popularmente conhecida como laranja-azeda, laranja-amarga ou laranja-da-terra (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas e frutos é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (LORENZI & MATOS, 2008). Seu uso é baseado no conhecimento popular, uma vez que seus efeitos farmacológicos ainda não foram cientificamente comprovados.

***Citrus sinensis* (L) Osbeck** (Laranja-Pera)

Essa espécie é nativa do sudeste asiático e tem sido muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Aurantium sinensis* Mill., *Citrus aurantium* L. var. sinensis. Pertencente à família Rutaceae, ela é uma árvore perene, de copa arredondada e que cresce até 10m de altura. Suas flores são brancas e apresenta odor forte e característico. É popularmente conhecida como laranja-pera, laranja-doce ou laranja-de-umbigo (SALIBE *et al.*, 2002). O chá de suas folhas e frutos é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial e contra arteriosclerose (OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007). Seus efeitos sobre o sistema cardiovascular ainda não foram cientificamente comprovados e seu uso é baseado no conhecimento popular. Entretanto, um estudo desenvolvido por Oliveira *et al.* (2005) demonstrou que o extrato acetônico dessa planta produziu efeito inotrópico negativo em átrio isolado de cobaia, possivelmente por inibição da entrada de cálcio. Seu óleo essencial é constituído principalmente de limoneno (90%), e alguns outros terpenos, dentre eles o mirceno, acetato de linalil (SINGH, 2010).

Croton zehntneri Pax & K. Hoffm. (Canela-de-Cunhã)

Essa espécie, pertencente à família Euphorbiaceae, é nativa do Brasil. Ela é um arbusto de porte variável cujas folhas e talos são dotados de um aroma que lembra uma mistura de anis e cravo-da-índia. Suas flores são bem pequenas. É popularmente conhecida como canela-de-cunhã, canela-do-mato ou canelinha (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial. Estudos farmacológicos desenvolvidos por De Siqueira *et al.* (2006) têm demonstrado que o óleo essencial dessa planta apresenta efeito bifásico sobre a pressão arterial, caracterizado por hipotensão e bradicardia, possivelmente causado pela ativação colinérgica, seguido de hipertensão, provavelmente causado por uma vasoconstrição indireta induzida pela inibição da síntese de óxido nítrico. Segundo os autores, esses efeitos podem ser atribuídos à presença dos principais constituintes do óleo essencial, o estragol e anetol (CRAVEIRO *et al.*, 1978; DE SIQUEIRA *et al.*, 2006).

***Curcuma longa* L.** (Açafrão)

Essa espécie, pertencente à família Zingiberaceae, é nativa da Índia, mas tem sido muito cultivada no Brasil. É uma planta herbácea, perene, aromática, de folhas grandes e com pecíolos longos. Suas raízes são formadas por rizomas com polpa alaranjada. Por apresentar aroma agradável e sabor picante, seus rizomas são muito utilizados na culinária para temperar alimentos. É popularmente conhecida como açafrão, açafrão-da-índia ou gengibre-amarelo (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular por sua ação antiagregante (LARKINS *et al.*, 2004). Recente estudo tem demonstrado ação hipotensora e

vasorrelaxante dessa planta (ADARAMOYE *et al.*, 2009). A curcumina é seu principal constituinte químico ativo (LORENZI & MATOS, 2008).

***Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr.** (Sete-Sangrias)

Essa espécie, pertencente à família Lythraceae, é nativa da América do Sul e Brasil. Pode ser encontrada com outros nomes científicos, tais como: *Cuphea balsamona* Cham. & Schltdl. , *Lythrum carthagenense* Jacq. e *Cuphea elliptica* Koehne. Ela é uma planta herbácea de caule avermelhado com pilosidades e áspero. Cresce até 50cm de altura e suas folhas apresentam cor lilás disposta em grupos de 2 a 4 nas axilas foliares. É popularmente conhecida como sete-sangrias, pé-de-pinto, erva-de-sangue ou guaxuma-vermelha (LORENZI & MATOS, 2008). Embora utilizada na medicina popular para outros fins terapêuticos, o chá de toda a planta é muito utilizado também no tratamento da hipertensão arterial e para arteriosclerose (Lorenzi & Matos, 2008). Estudos realizados por Schuldt *et al.* (2000) demonstraram que essa planta apresenta atividade relaxante em aorta de rato. Fitoquimicamente, estudos têm mostrado que essa planta possui flavonoides, triterpenoides, esteróis e compostos polifenólicos (GONZALEZ *et al.*, 1994).

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf (Capim-Santo)

Essa espécie, pertencente à família Poaceae (Gramineae), é nativa da Índia, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Andropogon cerifer* Hack., *Andropogon citratus* DC., *Andropogon citriodorum* hort. ex Desf., *Andropogon nardus ceriferus* (Hack.) Hack., *Andropogon roxburghii* Nees ex Steud., *Andropogon schoenanthus* L.. Ela cresce em moitas de até 1,5m de altura. As folhas são alongadas, estreitas nas pontas, com até 50cm de comprimento e áspera nas duas faces. Suas folhas exalam forte aroma de limão, muito agradável. Suas inflorescências são amareladas. É popularmente conhecida como capim-santo, capim-cidreira ou capim-limão (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas é muito utilizado na medicina popular tanto para o tratamento de doenças do sistema nervoso como também no tratamento da hipertensão arterial (PILLA *et al.*, 2006; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007). Várias ações dessa planta sobre o sistema cardiovascular já foram comprovadas, dentre elas: anti-hipertensiva e diurética (CARBAJAL *et al.*, 1989), hipotensora (SINGI *et al.*, 2005; MOREIRA et al., 2010) e cronotrópica negativa (GAZOLA *et al.,* 2004).

***Digitalis purpurea* L.** (Dedaleira)

Essa espécie, pertencente à família Schrophulariaceae, é nativa da Europa e norte da África, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Ela é uma planta herbácea pouco ramificada que

cresce entre 60 e 90cm de altura. Suas flores podem apresentar-se nas cores rosa, vermelha, púrpurea ou branca, com a forma de um dedal. É popularmente conhecida como dedaleira, digital ou dedo-de-dama. O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da insuficiência cardíaca (LORENZI & MATOS, 2008). Diversos estudos farmacológicos têm demonstrado que essa espécie apresenta significativos efeitos sobre o sistema cardiovascular, principalmente efeitos inotrópicos positivos sobre o coração (POOLE-WILSON, 1988; NAVARRO *et al.*, 2000). Estudos fitoquímicos com essa espécie demonstraram a presença de digitoxina, digoxina e outros glicosídios cardioativos (LORENZI & MATOS, 2008).

Echinodorus grandiflorus (Cham. & Schltdl.) Micheli (Chapéu-de-Couro)

Essa espécie nativa do Brasil pertence à família Alismataceae. Pode ser encontrada também com outros nomes científicos, tais como *Alisma grandiflorum* Cham. & Schlecht., *Alisma floribundum* Seub., *Echinodorus argentinensis* Rataj, *Echinodorus sellowianus* Buchenau, *Echinodorus floribundus* (Seub.) Seub., *Echinodorus grandiflorus* var. aureus Fassett, *Echinodorus muricatus* Griseb. Ela é uma planta aquática, rizomatosa, herbácea, que cresce até 1,5m de altura. Apresenta folhas simples, coriáceas, com nervuras salientes e bordas maiores curvadas em forma de chapéu. As flores são brancas, hermafroditas e dispostas em panícula verticilada (LORENZI & MATOS, 2008). É popularmente conhecida como chapéu-de-couro. O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial e arteriosclerose (LORENZI & MATOS, 2008). Estudos farmacológicos têm demonstrado que esta espécie apresenta atividades vasodilatadora, em aorta isolada de coelho (TIBIRICA *et al.,* 2007), e anti-hipertensiva em ratos (LESSA *et al.*, 2008). A presença de alcaloides, saponinas, taninos e terpenos tem sido identificada nessa espécie (LESSA *et al.*, 2008; LORENZI & MATOS, 2008).

Erythrina velutina Willd. (Mulungu)

Essa espécie, da família Fabaceae, é nativa do Brasil, principalmente na região Nordeste. Dentre suas sinonímias podem ser citadas a *Erythrina culeatissima* Desf. e *Erythryna splendida* Diels. Ela é uma árvore de copa arredondada e muito florida. Cresce entre 6 e 12m de altura. Suas flores são na cor vermelho-coral e seus frutos são do tipo legume. É popularmente conhecida como mulungu (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas e casca do caule é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial. Embora tenha sido bastante estudada por suas ações sobre o sistema nervoso central (SANTOS *et al.*, 2007), seus efeitos sobre o sistema cardiovascular ainda não foram cientificamente comprovados. Devido a isso, seu uso é baseado no conhecimento popular. Estudos fitoquímicos têm revelado a presença de flavonoides, homohesperetina, 4'-O-metil-sigmoidina, erivelutinona, faseolidina e os alcaloides erithravina e 11-hidroxi-erithravina nas folhas e cascas do caule (CUNHA *et al.*, 1996; RABELO *et al.*, 2001).

***Eugenia uniflora* L.** (Pitanga)

Essa espécie nativa do Brasil, pertencente à família Myrtaceae., pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Eugenia brasiliana* (L.) Aubl., *Eugenia costata* Cambess., *Eugenia indica* Nicheli., *Eugenia lacustris* Barb. Rodr. Ela é um arbusto que cresce de 4 a 10m de altura. Apresenta tronco liso e de cor pardo-clara. As flores são de cor branca. Frutos são suculentos e globosos do tipo drupa. É popularmente conhecida como pitanga, pitanga-branca, ibipitanga ou jinja (LORENZI & MATOS, 2008). O extrato alcoólico de suas folhas é indicado na medicina popular, dentre outras atribuições, para a hipertensão arterial (LORENZI & MATOS, 2008). Estudos realizados demonstraram que o extrato bruto dessa planta apresenta efeito vasorrelaxante em aorta de rato, possivelmente envolvendo a via do óxido nítrico (WAZLAWIK *et al.*, 1997), hipotensor (CONSOLINI *et al.*, 1999) e efeito depressor sobre o coração (CONSOLINI *et al.*, 2002). Entre os constituintes isolados dessa planta, podemos citar o flavonoide, tanino, óleos essenciais e saponina (LORENZI & MATOS, 2008).

***Euterpe oleracea* Mart.** (Açaí)

Pertencente à família Arecaceae, essa é uma espécie de palmeira nativa do Brasil, especialmente da Amazônia e Pará. Seu fruto é denominado de açaí e possui uma grande importância econômica por ser fonte de alimento para a população local e matéria-prima para a indústria alimentícia. É popularmente conhecida como açaí ou açaizeiro (EMBRAPA, 2007). Estudos têm sugerido que o consumo do açaí pode ser útil contra os fatores de risco cardiovascular (ROCHA *et al.*, 2007), principalmente arteriosclerose (EMBRAPA, 2007). Estudo realizado por Rocha *et al.* (2007) tem demonstrado que o extrato hidroalcoólico do açaí induz efeito vasorrelaxante possivelmente envolvendo o óxido nítrico. Já estudos fitoquímicos têm demonstrado que o acaí é rico em antocianinas e outros polifenóis como epicatequina, catequina homoorientina, orientina, isovitexina, deoxihexose, taxifolina (BOBBIO *et al.*, 2000; POZO-ISFRAN *et al.*, 2004; GALLORI *et al.*, 2004).

***Guazuma ulmifolia* Lam.** (Guacimo)

Essa espécie, pertencente à família Sterculiaceae (Ulmaceae), é nativa do Brasil, mas também encontrada na América do Norte. Ela é uma árvore de médio porte (8 a 16m de altura) com folhagem caduca (que caem no inverno). O tronco é reto e tem casca acinzentada com fissuras no sentido vertical. As folhas são simples e pubescentes. A inflorescência apresenta flores amarelas (LORENZI & MATOS, 2008). É popularmente conhecida como guacimo ou mutamba (MAGOS *et al.*, 2008). O chá do seu caule é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (MAGOS *et al.*, 2008). Estudo farmacológico utilizando a casca desta planta tem demonstrado que ela apresenta efeito hipotensor e vasorrelaxante (MAGOS *et al.*, 2008). Estudos fitoquímicos realizados com essa planta demonstraram a presença de epicatequina e catequina (HÖR *et al.,* 1996; MAGOS *et al.*, 2008).

***Jacaranda mimosifolia* D. Don** (Jacarandá-Mimoso)

Essa espécie, pertencente à família Bignoniaceae, é nativa do Brasil e encontrada principalmente na região Sul do país. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Jacaranda acutifolia* Bonpl., *Jacaranda ovalifolia* R. Br.*, Jacaranda chelonia* Griseb.*, Jacaranda heterophylla* Bureau & K. Schum.*, Jacaranda filicifolia* D. Don*.* Ela é uma árvore de porte médio, crescendo até 15m de altura. As folhas, que medem 40cm de comprimento, são compostas por folíolos miúdos e delicados e concentram-se nas pontas dos ramos, flores arroxeadas e perfumadas (MOREIRA, 2010). É popularmente conhecida como jacarandá-mimoso (MOREIRA, 2010). O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (OSUNA & LOZOYA, 1989; MONROY-ORTÍS & CASTILLO-ESPAÑA, 2000). De acordo com Nicasio & Meckes (2000), o extrato hidroalcoólico das folhas dessa espécie apresenta propriedades hipotensoras em ratos. Estudos fitoquímicos com essa espécie têm constatado a presença de jacaranona (FARNSWORTH *et al.,*1970), scutelareina-7-glucuronida, um fenilpropanoide com propriedades hipotensoras (SANKARA *et al.,* 1972), verbascosídeos, glicosídeos fenilacéticos, jacaranose (GAMBARO *et al.*, 1988), ácidos jacourâmico, jacarádico, jacarândico e o ácido 2α-hidroxiursólico (OGURA *et al.*, 1977).

***Jatropha gossypiifolia* L.** (Pinhão-Roxo)

Essa espécie, pertencente à família Euphorbiaceae, é nativa das Antilhas, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Ela se apresenta ora como um arbusto ora como uma árvore de até 5m de altura com ramos e folhas arroxeadas e pilosas, e flores arroxeadas. É popularmente conhecida como pinhão-roxo (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (ABREU *et al.*, 2003). Estudos farmacológicos têm demonstrado que o extrato metanólico do caule e folhas dessa espécie apresenta efeitos hipotensor e vasorrelaxante em ratos (ABREU *et al.*, 2003).

Lippia alba (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson (Erva-Cidreira Brasileira)

Essa espécie é nativa do Brasil e pertence à família Verbenaceae. Ela é uma planta rústica, de porte arbustivo e que cresce até, no máximo, 2m de altura. Suas folhas são simples, inteiras, serrilhadas, oblongas agudas, opostas, ocorrendo geralmente em número de duas folhas por nó (HENNEBELLE *et al.*, 2008). É popularmente conhecida como cidreira, melissa, erva-cidreira ou erva-cidreira brasileira (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; HENNEBELLE *et al.*, 2008). O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007; HENNEBELLE *et al.*, 2008). Diversos estudos farmacológicos têm demonstrado seus efeitos cardiovasculares, dentre eles efeitos cronotrópicos negativos sobre o coração (GAZOLA *et al.*, 2004) e hipotensor (HENNEBELLE *et al.*,

2008). Estudos fitoquímicos com essa espécie demonstraram a presença de compostos voláteis (óleos essenciais), principalmente monoterpenos (citral, linalool, β-caryophyllene, limonene, carvona e mirceno), e diversos compostos não-voláteis (alcaloides, taninos e flavonoides) (GAZOLA *et al.*, 2004; HENNEBELLE *et al.*, 2008).

Maytenus ilicifolia (Schrad.) Planch. (Espinheira-Santa)

Essa espécie, pertencente à família Celasteraceae, é nativa do Brasil, ocorrendo desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. Dentre as sinonímias, podem ser encontradas *Maytenus officinalis* Mabb., *Maytenus ilicifolia* var. *boliviana* Loes., *Maytenus officinalis* Mabb. Ela é um subarbusto ou árvore, ramificada, com 5m de altura. Suas folhas são de forma elíptica, congestas, coriáceas, glabras com nervuras proeminentes na face abaxial. Suas flores são pequenas e amareladas (LORENZI & MATOS, 2008). É popularmente conhecida como espinheira-santa (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular principalmente para tratar gastrite, mas alguns relatos indicam seu uso também para a hipertensão arterial (MARIOT & BARBIERI, 2007). De acordo com Crestani *et al.* (2009), extratos dessa planta possuem atividade hipotensora principalmente causada pelo estímulo da produção de óxido nítrico. Vários estudos fitoquímicos com esta espécie demonstraram a presença de uma grande variedade de compostos, entre eles, ácidos tânico, clorogênico, maitenoico, salasperônico, salicílico, *d*-amirina, taninos, ansamacrólidos, glucosídeos, triterpenos quinoides e dímeros (CRESTANI *et al.,* 2009).

***Melissa officinalis* L.** (Erva-Cidreira)

Essa espécie, pertencente à família Lamiaceae (Labiateae), é nativa da Europa e Ásia, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Ela é uma planta subarbustiva, rizomatosa e vivaz, com até 80 cm de altura. O caule dispõe-se em tufo, ramificado a partir da base, de seção triangular, ereto. Suas folhas são grandes, opostas, ovais, lanceoladas, pecioladas, verde-claras, carenado-serreadas, nervuras salientes, reticulada dorsalmente. Suas flores são brancas. É popularmente conhecida como erva-cidreira verdadeira ou apenas como erva-cidreira. O chá de suas folhas, embora seja bastante utilizado na medicina popular principalmente pelos seus efeitos calmantes, tem sido usado também para o tratamento da hipertensão arterial (PILLA *et al.*, 2006). Algumas ações dessa planta sobre o sistema cardiovascular já foram comprovadas, dentre elas: vasorrelaxante em aorta de rato (ERSOY *et al.*, 2008) e cronotrópica negativa em coração isolado de rato (GAZOLA *et al.,* 2004).

Pfaffia paniculata **(Mart.) Kuntze** (Ginseng-Brasileiro)

Essa espécie, pertencente à família Amaranthaceae, é nativa do Brasil, principalmente das regiões tropicais. Ela é um subarbusto de 2 a 3m de altura com raízes tuberosas, folhas

simples e mambranáceas de cor verde clara na face inferior. Suas flores são esbranquiçadas e muito pequenas. Dentre suas sinonímias, podem ser citadas *Hebanthe paniculata* Mart., *Gomphrena paniculata* (Mart.) Moq. e *Pfaffia eriantha* Kuntze (LORENZI & MATOS, 2008). É popularmente conhecida como ginseng-brasileiro, fáfia, paratudo ou suma (OLIVEIRA, 1986; LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas raízes é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (LORENZI & MATOS, 2008). Seus efeitos sobre o sistema cardiovascular ainda não foram cientificamente comprovados e seu uso é baseado no conhecimento popular. Fitoquimicamente foram identificados os constituintes: ácido fáfico, alantoína, sitosterol, estigmasterol, fafosídeos A, B, C, D, E, F (RATES & GOSMANN, 2002).

***Psidium guajava* L.** (Goiaba)

Essa espécie, pertencente à família Myrtaceae, é nativa da América Central, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Psidium pumilum* Vahl, *Guajava pyrifera* (L.) Kuntze. Ela é uma árvore de pequeno porte, frutífera e de copa aberta. Cresce até 7m de altura. Suas folhas são coriáceas e odoríferas e suas flores são brancas. Seu fruto é do tipo baga, com polpa doce com sementes muito pequenas e duras. É popularmente conhecida como goiaba ou goiabeira (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas é bastante conhecido na medicina popular por suas ações antidiarreicas, porém estudos têm demonstrado que ela também tem sido usada para o tratamento da hipertensão arterial (CHIWORORO & OJEWOLE, 2008). Estudos farmacológicos têm demonstrado que extratos dessa espécie apresentam efeitos cardioprotetor (YAMASHIRO *et al.*, 2003), depressor do miocárdio atrial (CONDE-GARCIA *et al.*, 2003; GONDIM, 2008), hipotensor (OJEWOLE *et al.*, 2005), vasorrelaxante em aorta isolada de rato (CHIWORORO & OJEWOLE, 2008) e hipolipemiante (RAI *et al.*, 2010). Estudos fitoquímicos com essa espécie demonstraram a presença de alcaloides, flavonoides, ácido gálico, óleo essencial, óleo fixo, saponinas, resinas, taninos e triterpenoides (CHIWORORO & OJEWOLE, 2008; LORENZI & MATOS, 2008).

***Saccharum officinarum* L.** (Cana-de-Açúcar)

Essa espécie, pertencente à família Poaceae, é nativa da África e Ásia, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Ela é uma planta perene, seus colmos são cilíndricos, ereto, fibroso e rico em açúcar. As folhas saem da base dos nós, são alternas e apresentam coloração verde. É popularmente conhecida como cana, cana-caiana ou cana-doce. O chá de suas folhas é utilizado na medicina popular, além de outros fins, para o tratamento da hipertensão arterial (OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007; MOREIRA *et al.*, 2002). Seus efeitos sobre o sistema cardiovascular ainda não foram cientificamente comprovados e seu uso é baseado no conhecimento popular. Estudos fitoquímicos com essa espécie demonstraram a presença de diversos compostos fenólicos principalmente flavonoides (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

***Sechium edule* (Jac.q) Sw.** (Chuchu)

Essa espécie, pertencente à família Curcubitaceae, é nativa da América Central e México, mas tem sido muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Sicyos edulis* Jacq. e *Sechium americanum* Poir. Ela é uma trepadeira com tubérculos subterrâneos grandes e ricos em carboidratos, com ramos providos de gravinhas. Suas flores são amarelas e os frutos suculentos e de casca rugosa. É popularmente conhecida como chuchu, machucho ou pepinela (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de suas folhas e casca do fruto é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial (PILLA *et al.*, 2006; OLIVEIRA & ARAÚJO, 2007; LORENZI & MATOS, 2008). Estudo farmacológico tem demonstrado que essa espécie apresenta efeitos anti-hipertensivos em ratos (GORDON *et al.*, 2000). Estudos fitoquímicos com esta espécie têm demonstrado a presença de flavonoides, principalmente flavonol (ORDONEZ *et al.*, 2006).

***Sida rhomboidea* Roxb. ex Fleming (Vassoura)**

Essa espécie, pertencente à família Malvaceae, é nativa do Brasil. Pode ser encontrada também com as seguintes sinonímias: *Malva rhombifolia* (L.) E.H.L. Krause, *Sida adusta* Marais, *Sida compressa* Wall., *Sida hondensis* Kunth., *Sida pringlei* Gand., *Sida retusa* L., *Sida ruderata* Macfad., *Sida unicornis* Marais. Ela é uma planta anual, ereta, ramosa e pubescente, com até 80 cm de altura; dotada de raízes profundas e resistentes; folhas curto-pecioladas, oval-rômbicas ou lanceoladas, alternas, pubescentes na face superior e tomentosas na inferior; flores solitárias, efêmeras, axilares, róseas, dispostas em racemos; carpídio isolado com sementes trígono-achatadas. É popularmente conhecida como vassoura ou relógio. O chá de suas folhas e raízes é utilizado na medicina popular, além de outros fins, para o tratamento de diversas doenças do sistema cardiovascular (VENKATESH *et al.*, 1999). Estudos farmacológicos têm demonstrado que essa espécie apresenta efeito cardioprotetor (THOUNAOJAM *et al.*, 2010).

Solanum lycopersicum L. (Tomate)

Popularmente conhecida como tomate, essa espécie, pertencente à família Solonaceae, é nativa da zona Andina da América do Sul. Devido à sua importância comercial, tem sido muito cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com a sinonímia *Solanum pomiferum* Cav. Ela é um arbusto anual, ereto, que cresce de 2 a 4m de altura. Apresenta ramos herbáceos e bem ramificados. Suas flores são amarelas e os frutos globosos de pele lisa e vermelha contendo muitas sementes (LORENZI & MATOS, 2008). O chá de seus frutos é utilizado na medicina popular, além de outros fins, para o tratamento da hipertensão arterial (LORENZI & MATOS, 2008). Embora não tenham sido encontrados estudos que evidenciam de maneira clara sua eficácia,

estudos realizados por Engelhard *et al.* (2006) e Paran *et al.* (2008) têm demonstrado benefícios do consumo de suplementação à base de extrato de tomate em pacientes hipertensos. Esses efeitos tiveram uma correlação positiva com o conteúdo de carotenoides presentes no extrato de tomate. Dentre seus constituintes, podem ser encontrados carotenoides do tipo licopeno, β-caroteno e vitamina E (ENGELHARD *et al.*, 2006).

***Solanum melongena* L.** (Berinjela)

Essa espécie, pertencente à família Solonaceae, é nativa da Índia, porém, pelo seu valor alimentar é cultivada em todo o mundo, inclusive no Brasil. Ela é uma planta arbustiva, perene, com caule do tipo semilenhoso, ereto ou prostrado, podendo atingir 0,5 a 1,8m de altura. As folhas são alternas, simples e as flores são solitárias ou distribuídas em inflorescência. Os frutos são grandes, pendentes, do tipo baga, brilhantes, de formato e cor variável, sendo mais comum no Brasil a forma oblongo de coloração roxa-escura. É popularmente conhecida como berinjela (EMBRAPA, 2007). O chá de seu fruto é utilizado na medicina popular para o tratamento da hipertensão arterial e para o controle do colesterol (PILLA *et al.*, 2006). Embora não tenham sido encontrados trabalhos relatando sua ação anti-hipertensiva, estudos já demonstraram suas ações hipolipemiantes em coelhos. Jorge *et al.* (1998) demonstraram que o suco da berinjela com casca foi capaz de reduzir significativamente o colesterol total, LDL e triglicerídios, porém em humanos, os estudos ainda são controversos (GONÇALVES *et al.*, 2006). Entre seus constituintes, encontram-se principalmente alcaloides a exemplo da solamargina, solanina e solasodina, e a antociana nasunina e sua aglicona, a delfinidina (GONÇALVES *et al.*, 2006).

***Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni** (Capim-Doce)

Essa espécie, pertencente à família Asteraceae, é nativa da América do Sul e cultivada no Brasil. Pode ser encontrada também com a sinonímia *Eupatorium rebaudianum* Bertoni. Ela é uma planta herbácea de 40-80cm de altura. Suas flores são esbranquiçadas. É popularmente conhecida como azuca-caá, capim-doce, erva-adocicada, stévia ou planta-doce (LORENZI & MATOS, 2008). Ela é usada na medicina popular como adoçante natural e na forma de chá das folhas como hipotensora e cardiotônico (LORENZI & MATOS, 2008). Seus efeitos sobre o sistema cardiovascular ainda não foram cientificamente comprovados e seu uso é baseado no conhecimento popular. Dentres seus constituintes, encontramos terpenos, flavonoides e glicosídeos (steviol) (LORENZI & MATOS, 2008).

***Vitis vinifera* L.** (Uva)

Popularmente conhecida como uva, essa espécie, pertencente à família Vitaceae, é

nativa da Europa. Devido à sua importância comercial, principalmente na produção de vinhos, tem sido muito cultivada na região Sul do Brasil. Ela é um arbusto perene de tronco lenhoso com ramos escandentes e trepadores através de gavinhas. Seu fruto é uma uva bastante utilizada na fabricação de vinhos, doces, sucos ou consumidos *in natura*. O chá, ou suco de seu fruto, é utilizado na medicina popular como hipolipemiante e para o tratamento da hipertensão arterial (LORENZI & MATOS, 2007, NASSIRI ASL & HOSSEINZADEH, 2009). Numa recente revisão realizada por Nassiri Asl & Hosseinzadeh (2009) são demonstrados inúmeros estudos, tanto em animais como em humanos, que comprovam seu efeito cardioprotetor, hipolipemiante e diurético. Dentre os seus constituintes, encontram-se flavonoides, polifenóis, antocianinas e derivados de estilbeno (Trans-resveratrol) (NASSIRI ASL & HOSSEINZADEH, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora esse capítulo tenha apresentado inúmeros estudos farmacológicos na tentativa de comprovar a eficácia terapêutica de seu uso nas doenças cardiovasculares, os resultados devem ser interpretados com cautela. Muitos dos estudos demonstrados aqui foram realizados em animais de experimentação e utilizaram formas de extração que não são comuns ao uso popular. Ademais, vale ressaltar que em um país com dimensões continentais e com a diversidade cultural e de espécies vegetais como o Brasil, é possível que existam diferenças botânicas, químicas e de efeitos farmacológicos de uma mesma espécie em diversas regiões do país. Além do mais, os nomes populares aqui apresentados podem também não corresponder à mesma espécie descrita em uma localidade ou região específica do país.

Mas apesar disso, as descrições apresentadas neste capítulo trouxeram importantes informações que despertam e aguçam os interesses de pesquisadores na realização de estudos mais aprofundados com algumas das plantas apresentadas. Essas informações, além de servir como suporte técnico para agências de fomento, auxiliarão os órgãos governamentais de saúde, no desenvolvimento de programas de saúde na atenção básica.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer às agências de fomento: Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC/SE) e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnológica do Estado de Pernambuco (FACEPE), CAPES, CNPq, Ministério da Saúde, Secretaria de Estado da Saúde de Sergipe (SES/SE) e as instituições de ensino superior Universidade Federal de Sergipe, Universidade Federal do Piauí, Universidade Federal de Alagoas e Universidade Federal do Vale do São Francisco pelo apoio na realização deste capítulo.

REFERÊNCIAS

ABREU, I.C.; ARINHO, A.S.S.; PAES, A.M.A.; FREIRE, S.M.F.; OLEA, R.S.G.; BORGES, MARILENE O.R.; BORGES, A.C.R. Hypotensive and vasorelaxant effects of ethanolic extract from *Jatropha gossypiifolia L.* in rats. **Fitoterapia**, v.74, n.7-8, p.650-657, 2003.

ADARAMOYE, O.A; ANJOS, R.M;ALMEIDA, M.M; VERAS, R.C; SILVIA, D.F.; OLIVEIRA, F.A; CAVALCANTE, K.V; ARAÚJO, I.G; OLIVEIRA, A.P; MEDEIROS, I.A. Hypotensive and endothelium-independent vasorelaxant effects of methanolic extract from *Curcuma longa* L. in rats. **J Ethnopharmacol**., v.124, n.3, p.457-462, 2009.

ALBUQUERQUE, U.P.; MUNIZ DE MEDEIROS, P.; ALMEIDA, A.L.; MONTEIRO, J.M.; MACHADO DE FREITAS LINS NETO, E.; GOMES DE MELO, J.; DOS SANTOS, J.P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **J Ethnopharmacol.**, v.114, n.3, p.325-354, 2007.

AMAGASE, H. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. **J. Nutr**., v.136, n.3(Suppl), p.716S-725S, 2006.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. Heart Disease and Stroke Statistics - 2008 Update. **Circulation**, v.117, p.e25-e146, 2008.

ARCANJO, D.D.R. **Estudo do efeito vasorelaxante do extrato etanólico das partes áreas de Sida santereminensis H. Monteiro (Malvaceae) em anéis de artéria mesentérica em ratos.** Dissertação (Mestrado em Farmacologia) NPPM/UFPI, p.105 p.:il. 2009.

BALUNAS, M. J., KINGHORN, D. Drug Discovery from medicinal plants. **Life Sci**. v.78, p.431-41, 2005.

BOBBIO, F.O.; DRUZIAN, J.I.; ABRÃO, P.A.; BOBBIO, P.A. FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaízeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.20, p.388–390, 2000.

BRASIL. Presidência da República. Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006. **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências**. D.O.U. Poder Executivo, Brasília, 23 jun. 2006.

CALIXTO J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.,** v.33, p.179–189, 2000.

CARBAJAL, D.; CASACO, A.; ARRUZAZABALA, L.; GONZALEZ, R.; TOLON, Z. Pharmacological study of *Cymbopogon citratus* leaves. **J Ethnopharmacol.**, v.25, n.1, p.103-107, 1989.

CHEN, Z.Y.; PENG, C.; JIAO, R.; WONG, Y.M.; YANG, N.; HUANG, Y. Anti-hypertensive nutraceuticals and functional foods. **J Agric Food Chem**., v.57, n.11, p.4485-4499, 2009.

CHIWORORO, W.D.; OJEWOLE, J.A. Biphasic effect of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract on rat isolated vascular smooth muscles. **J. Smooth Muscle Res.**, v.44, n.6, p.217-229, 2008.

CIRIGLIANO, M; SUN, A. Advising patients about herbal therapies. **JAMA,** v.280, n.18, p.1565-1566, 1998.

CONDE-GARCIA, E.A.; NASCIMENTO, V.T.; SANTIAGO SANTOS, A.B. Inotropic effects of extracts of *Psidium guajava* L. (guava) leaves on the guinea pig atrium. **Braz. J. Med. Bio. Res.**, v.36, n.5, p.661-668, 2003.

CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **J. Ethnopharmacol.,** v.66, p.33-39, 1999.

CONSOLINI, A.E.; MIGLIORI, G.N. Cardiovascular effects of the South American medicinal plant *Cecropia pachystachya* (ambay) on rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.96, n.3, p.417-422, 2005.

CONSOLINI, A.E.; RAGONE, M.I.; MIGLIORI, G.N.; CONFORTI, P.; VOLONTÉ, M.G. Cardiotonic and sedative effects of *Cecropia pachystachya* Mart. (ambay) on isolated rat hearts and conscious mice. **J. Ethnopharmacol.,** v.106, n.1, p.90-96, 2006.

CONSOLINI, A.E.; SARUBBIO, M.G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rats heart. **J. Ethnopharmacol**., v.81, p.57-63, 2002.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2. ed. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 2000, 151p.

CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W. Anise-like flavour of Croton aff zehntneri Pax. Et Hoffm, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, p.772–773, 1978.

CRESTANI, S.; RATTMANN, Y.D.; CIPRIANI, T.R.; DE SOUZA,L.M.; IACOMINI, M.; KASSUYA, C.A.L.; MARQUES, M.C.A.; DA SILVA-SANTOS, J. E. A potent and nitric oxide-dependent hypotensive effect induced in rats by semi-purified fractions from *Maytenus ilicifolia*. **Vascular Pharmacology**, 51(1);57-63,2009.

CUNHA, E.V.L.; DIAS, C.; BARBOSA-FILHO, J.M.; GRAY, A.I. Eryvellutinone, an isoflavone from the stem bark of *Erythrina vellutina*. **Phytochemistry**, v.43, p.1371-1373, 1996.

DA COSTA, L.A.M.A.; MORAIS, S.M.; DANTAS, M.C.B.R.; LOBO, R.A.C.M.; FONTELES, M.C. Flavonóides com atividade hipotensora de Alpinia zerumbet (Pers.) Burt et Smith (colônia). **Rev. Bras. Farmacol.**, v.79, n.3/4, p.96-98, 1998.

DE SIQUEIRA RJ, MAGALHÃES PJ, LEAL-CARDOSO JH, DUARTE GP, LAHLOU S. Cardiovascular effects of the essential oil of Croton zehntneri leaves and its main constituents, anethole and estragole, in normotensive conscious rats. **Life Sci.** v.78, n.20, p.2365-2372, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; NOVOA, A.V.; LINARES, A.F.; LAJOLO, F.M.; INÉS GENOVESE, M. Antioxidant activity of phenolics compounds from sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) juice. **Plant Foods Hum Nutr.**, v.61, n.4, p.187-192, 2006.

EMBRAPA. **Berinjela (Solanum melongena L.)**, Embrapa Hortaliças, Sistemas de Produção, 3, Versão Eletrônica, 2007.(http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/ FontesHTML /Berinjela/ Beringela_Solanum_melongena_L/botanica.html, acessada em 28/07/2010).

ENGELHARD, Y.N.; GAZER, B.; PARAN, E. Natural antioxidants from tomato extract reduce blood pressure in patients with grade-1 hypertension: a double-blind, placebo-controlled pilot study. **Am Heart J.**, v.151, n.1, p100e1-100e6, 2006.

ERSOY, S.; ORHAN, I.; TURAN, N.N.; SAHAN, G.; ARK, M.; TOSUN, F. Endothelium-dependent induction of vasorelaxation by *Melissa officinalis* L. ssp. officinalis in rat isolated thoracic aorta. **Phytomedicine.**, v.15, n.12, p.1087-1092, 2008.

FONSECA, F.A.H.; KUYMIJIAN, W.; IZAR, M.C.O.; IHARA, S.S.M. Hipertensão e dislipidemias. **Ver. Bras. Hipertens.,** v.9, p.268-272, 2002.

GALLORI, S.; BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; BARBOSA, W.L.R.; VINCIERI, F.F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí palm). **Cromatographia**, v.59, p.739–743, 2004.

GAMBARO, V.; GARBARINO, J.A.; GALEFFI, C.; NICOLETTI, M.; MESSANA, I.; MARINI-BETTOLO, G.B. Constituents of Jacaranda mimosaefolia. Revista Latinoamericana de Química (México), v.19, p.17–19, 1988.

GAZOLA, R.; MACHADO, D.; RUGGIERO, C.; SINGI, G.; MACEDO, A.M. *Lippia alba*, *Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats. **Pharmacol Res.**, v.50, n.5, p.477-480, 2004.

GONÇALVES, M.C.R. DINIZ, M.F.F.M.; BORBA, J.D.C.; NUNES, X.P.; BARBOSA-FILHO, J.M. Berinjela (*Solanum melongena* L.): mito ou realidade no combate as dislipidemias? **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.16, n.2, p.252-257, 2006.

GONDIM, A.N.S. **Fração aquosa do extrato acético da goiabeira (*Psidium guajava* L.):** efeitos sobre os eventos contráteis e elétricos do coração de cobaia. EDUNEB, Salvador, BA, 2008, 90p.

GONZALEZ, A.G.; VALENCIA, E.; EXPÓSITO, T.S.; BARRERA, J.B.; GUPTA, M.P. **Planta Méd**., v.60, p.593-596, 1994.

GORDON, E.A.; GUPPY, L.J.; NELSON, M. The antihypertensive effects of the Jamaican Cho-Cho (*Sechium edule*). **West Indian Méd. J.,** v.49, n.1, p.27-31, 2000.

HENNEBELLE, T.; SAHPAZ, S.; JOSEPH, H.; BAILLEUL, F. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **J Ethnopharmacol.**, v.116, n.2, p.211-122, 2008.

HÖR, M.; HEINRICH, M.; RIMPLER, H. Proanthocyanidin polymers with antisecretory activity and proanthocyanidin oligomers from *Guazuma ulmifolia* bark, **Phytochemistry**, v.42, n.1, p. 109–119, 1996.

JORGE, P.A.R.; NEYRA, L.C.; OSAKI, R.M.; ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N. Efeito da berinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.70, n.2, 87-91, 1998.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, L.F; LEAL-CARDOSO, J.H.; DUARTE, G.P. Antihypertensive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* and its main constituent, terpinen-4-ol, in DOCA-salt hypertensive conscious rats. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v.17, n.3, p.323-230, 2003.

LARANJA, S.M.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Evaluation of three plants with potential diuretic effect, **Rev. Assoc. Méd. Bras.,** v.38, n.1, p.13-16, 1992.

LARKINS N., WYNN S., Pharmacognosy: phytomedicines and their mechanisms. Vet Clin Small Anim (34) 291–327. 2004.

LESSA, M.A.; ARAUJO, C.V.; KAPLANC, M.A.; PIMENTA, D.; FIGUEIREDO, M.R.; TIBIRICA, E. Antihypertensive effects of crude extracts from leaves of *Echinodorus grandiflorus*. **Fund. Clin. Pharmacol.,** v.22, p.161–168, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP, Instituto Plantarum, 2008, 544p.

MAGOS, G.A.; MATEOS, J.C.; P'AEZ, E.; FERNANDEZ, G.; LOBATO, C.; MARQUEZ, C.; ENRIQUEZ, R.G. Hypotensive and vasorelaxant effects of the procyanidin fraction from *Guazuma ulmifolia* bark in normotensive and hypertensive rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.117, p.58–68, 2008.

MARIOT, M.P., BARBIERI, R.L. O conhecimento popular associado ao uso da Espinheirasanta(Maytenus ilicifolia e M. aquifolium). **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p.666–668, 2007.

MONROY-ORTÍS, C.; CASTILLO-ESPAÑA, P. **Plantas medicinales utilizadas en el Estado de Morelos.** Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2000, 87p.

MOREIRA, F.V.; BASTOS, J.F.A.; BLANK, A.F.; ALVES, P.B.; SANTOS, M.R.V. Chemical composition and cardiovascular effects induced by the essential oil of *Cymbopogon citratus* DC. Stapf, Poaceae, in rats. **Rev. Bras. Farmacg.**, in press, 2010.

MOREIRA, R.C.T.; COSTA, L.C.B., COSTA, R.C.S.; ROCHA, E.A. Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm. Bonaerense**, v.21, n.3, p.205-211, 2002.

NASSIRI-ASL, M.; HOSSEINZADEH, H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds. **Phytother. Res**., v.23, n.9, p.1197-1204, 2009.

NAVARRO, E.; ALONSO, P.J.; ALONSO, S.J..; TRUJILLO, J.; PE´REZ, C.; TORO, M.V; AYUSO, M.J. Cardiovascular activity of a methanolic extract of *Digitalis purpurea* spp. *Heywoodii.* **J. Ethnopharmacol.**, v.71, p.437–442, 2000.

NICASIO, P.; MECKES, M. Hypotensive effect of the hydroalcoholic extract from *Jacaranda mimosaefolia* leaves in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.97, n.2, p.301-304, 2005.

NICASIO, P.; MECKES, M. Hypotensive effect of the hydroalcoholic extract from *Jacaranda mimosaefolia* leaves in rats. **J. Ethnopharmacol.** v.97, p.301-304, 2005.

OGURA, M.; CORDELL, G.A.; FARNSWORTH, N.R. Jacouramic acid, a new triterpene ester from Jacaranda caucana. **Phytochemistry**, v.16, p.286-287, 1977.

OJEWOLE, J.A.O. Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Psidium gajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract. **Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol**., v.27, n.10, p.689-671, 2005.

OLIVEIRA, C.J.; ARAUJO, T.L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v.9, n.1, p.93-105, 2007. Disponível em <http://www.fen.ufg.br/revista/v9/n1/v9n1a07.htm>.

OLIVEIRA, F. *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze: o Ginseng-Brasileiro. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.1, n.1, p.86-92, 1986.

ORDONEZ, A.A.L.; GOMEZ, J.D.; VATTUONE, M.A.; LSLA, M.I. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. **Food Chemistry,** v.97, n.3, p.452-458, 2006.

OSUNA, L.; LOZOYA, X. Plantas medicinales usadas por la medicina tradicional para el tratamiento de padecimientos gastrointestinales infecciosos. Revista Medica del IMSS (México), v.27, p.305–311, 1989.

PARAN, E.; NOVACK, V.; ENGELHARD, Y.N.; HAZAN-HALEVY, I. The effects of natural antioxidants from tomato extract in treated but uncontrolled hypertensive patients. **Cardiovasc Drugs Ther.**, v.23, n.2, p.145-151, 2009.

PILLA, M.A.C.; AMOROZO, M.C.M.; FURLAN, A. Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v.20, n.4, p.789-802, 2006.

PINTO, N.V.; ASSREUY, A.M.; COELHO-DE-SOUZA, A.N.; CECCATTO, V.M.; MAGALHÃES, P.J.; LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J.H. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Alpinia zerumbet* and its main constituent 1,8-cineole in rats. **Phytomedicine,** v.16, n.12, p.1151-1155, 2009.

POOLE-WILSON, P.A. Digitalis: dead or alive? **Cardiology**, v.75, n.1(Suppl), p.103-109, 1988.

POZO-ISFRAN, D.D.; BRENES, C.H.; TALCOOT, S.T. Phytochemical composition and pigmente stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), **J. Agric. Food Chem.** v.52, p.1539–1545, 2004.

RABELO, L.A.; AGRA, M.F.; CUNHA, E.V.L.; SILVA, M.S.; BARBOSA-FILHO, J.M. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. **Biochem. Syst. Ecol.,** v.29, p.543-544, 2001.

RAI, P.K.; MEHTA, S.; WATAL, G. Hypolipidaemic & hepatoprotective effects of *Psidium guajava* raw fruit peel in experimental diabetes. **Indian J. Med. Res.,** v.131, p.820-824, 2010.

RATES, S.M.K.; GOSMANN, G. Gênero Pfaffia: aspectos químicos, farmacológicos e implicações para o seu emprego terapêutico. **Rev. Bras. Farmacogn**., v.12, n.2, p.85-93, 2002.

RIBEIRO, R.A; MELO, M.M.F.; BARROS, F., GOMES, C.; TROLIN, G. Acute antihypertensive effect in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of São Paulo. **Journal of Ethnopharmacology**. 15(3); 261-269.1986.

ROCHA, A.P.M.; CARVALHO, L.C.R.M.; SOUSA, M.A.V.; MADEIRA, S.V.F.; SOUSA, P.J.C; TANO, T.; SCHINI-KERTH, V.B.; RESENDE, A.C.; SOARES DE MOURA, R. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascular Pharmacology**, v.46, p.97–104. 2007.

SALIBE, A.A.; SOBRINHO, J.T.; MÜLLER, G.W. Sinopse de conhecimentos e pesquisas sobre a laranja "pêra". **Laranja**, v.23, n.1, p.231-245, 2002.

SANKARA-SUBRAMIAN, S.; NAGARAJAN, S.; SULOCHANA, N. Flavonoids of eight Bignoniaceous Plants. **Phytochemistry**, v.11, p.1499-1505, 1972.

SANKARA-SUBRAMIAN, S.; NAGARAJAN, S.; SULOCHANA, N. Hydroquinone from the leaves of Jacaranda mimosaefolia (Bignoniaceae). **Phytochemistry**, v.12, p.220–221, 1973.

SANTOS, M.R.V.; ALVES, P.B.; ANTONIOLLI, A.R., MARCHIORO, M. Relaxant effect of the aqueous extract of

Erythrina vellutina leaves on rat vas deferens. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.17, n.3, p.343-348, 2007.

SCHULDT, E.Z.; CKLESS, K.; SIMAS, M.E.; FARIAS, M.R.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M. Butanolic fraction from *Cuphea carthagenensis* Jacq McBride relaxes rat thoracic aorta through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** v.35, n.2, p.234-239, 2000.

SINGH, P.; SHUKLA, R.; PRAKASH, B.; KUMAR, A.; SINGH, S.; MISHRA, P.K.; DUBEY, N.K. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of Citrus maxima Burm. and Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. **Food Chem Toxicol.**, v.48, n.6, p.1734-1740, 2010.

SINGI, G.; DAMASCENO, D.D.; D'ANDREA, E.D. and SILVA, G.A. Efeitos agudos dos extratos hidroalcoólicos do alho (*Allium sativum* L.) e do capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre a pressão arterial média de ratos anestesiados. **Rev. Bras. Farmacogn.,** v.15, n.2, p.94-97, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arq. Bras. Cardio**., v.89: p.e24-e79, 2007.

THOUNAOJAM, M.C.; JADEJA, R.N.; ANSARULLAH, KARN, S.S.; SHAH, J.D.; PATEL, D.K.; SALUNKE, S.P.; PADATE, G.S.; DEVKAR, R.V.; RAMACHANDRAN, A.V. Cardioprotective effect of *Sida rhomboidea* Roxb extract against isoproterenol induced myocardial necrosis in rats. **Exp Toxicol Pathol**. In press; 2010.

TIBIRICA, E.; ALMEIDA, A.; CAILLLEAUX, S.; PIMENTA, D.; KAPLAN, M.A.; LESSA, M.A.; FIGUEIREDO, M.R. Pharmacological mechanisms involved in the vasodilator effects of extracts from *Echinodorus grandiflorus*. **J. Ethnopharmacol.**, v.111, p.50–55, 2007.

VENKATESH, S.; REDDY, S. R.; SURESH, B.; RESSY, B. M.; RAMESH, M.; J. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhombo*idea leaves. **J. Ethnopharmacol.**, v.67, p.229-232, 1999.

VORA, C.K.; MANSOOR, G. A. Herbs and alternative therapies: relevance to hypertension and cardiovascular diseases. Cur**r. Hypertens. Rep**., v.7, n.4, p.275-280. 2005.

WAZLAWIK, E.; DA SILVA, M.A.; PETERS R.R.; CORREIA, J.F.; FARIAS, M.R.; CALIXTO, J.B.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M. Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.49, n.4, p.433-437, 1997.

YAMASHIRO, S.; NOGUCHI, K.; MATSUZAKI, T.; MIYAGI, K.; NAKASONE, J.; SAKANASHI, M.; SAKANASHI, M.; KUKITA, I.; ANIYA, Y.; SAKANASHI, M. Cardioprotective Effects of Extracts from *Psidium guajava* L. and *Limonium wrightii*, Okinawan Medicinal Plants, against Ischemia-Reperfusion Injury in Perfused Rat Hearts. **Pharmacology**, v.67, p.128-135, 2003.

VALIDAÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

Maria Cristina Marcucci

INTRODUÇÃO

Desde a década de 1970, houve um grande movimento em relação à padronização de metodologias analíticas confiáveis e reprodutíveis. Com base nisso, foi criado um grupo de trabalho responsável por essa padronização, que posteriormente deu origem, nos EUA, ao ICH (*International Conference on Harmonization*). Em seguida, vários países adotaram o mesmo conjunto de metodologias. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por volta do ano 2000, começou a elaborar as mesmas regras que resultaram no Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos em 2003. Esse guia da ANVISA serve de referência para a padronização dos métodos analíticos para registro de medicamentos. Para o registro de fitoterápicos, também é necessária a validação dos métodos analíticos. Nem

sempre todos os procedimentos descritos ne legislação da ANVISA são aplicáveis a fitoterápicos. Neste capítulo são abordados os tópicos sobre a validação de métodos analíticos aplicados a extratos vegetais e fitoterápicos.

VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Nos dias atuais, a fitoterapia ganha destaque e várias indústrias farmacêuticas começaram a produzir medicamentos fitoterápicos. Para o registro de tais medicamentos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária determina que os métodos analíticos sejam validados. Entretanto, a validação de um método analítico aplicado a um fitoterápico requer alguns procedimentos distintos dos preconizados para medicamentos convencionais. Para que se possa compreender como funciona a validação de um método analítico, é necessário entender alguns conceitos.

Segundo informações do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), é fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida. Se um método analítico já existente for modificado para atender a requisitos específicos, ou um método totalmente novo for desenvolvido para um fim específico, o laboratório deve assegurar de que as características de desempenho do método atendam aos requisitos para as operações analíticas pretendidas (INMETRO, 2003).

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou a implementação de método conhecido envolve um processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Esse processo costuma ser denominado de validação. A validação é definida como: ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido, tornar legítimo ou legal (visa diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado) (LANÇAS, 2004). Segundo as normas ISO (*International Organization for Standardization*), a validação é a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específico pretendido foram atendidos. (NBR ISO 9000).

A validação de métodos analíticos começou a ganhar importância na década de 1970, pois na época havia uma enorme variabilidade de resultados obtidos em análises toxicológicas em estudos interlaboratoriais nos Estados Unidos da América. Então, o *Food and Drug Administration* (FDA, 2008) e a *Environmental Protection Agency* (EPA, 2000) criaram o sistema ISO/IEC-25 (International Organization for Standardization) o qual passou posteriormente a ser conhecido como ISO 17025 (2001). A partir dessa data, muitos compêndios sobre validação de métodos foram elaborados em várias partes do mundo (SHAW, 1987; CHASIN *et al.*, 1994; CURIE & SVEHLA,1994; BRESSOLE *et al.*, 1996; WIELING *et al.*, 1996; CAUSON, 1997; FRANCOTTE *et al.*, 1996; MC DONALD, 1999; FEINBERG & RAGUÈNÈS, 1999; WALSH, 1999, ANVISA, 2002).

A documentação da validação de métodos é obrigatória na solicitação de registro de produtos farmacêuticos. A validação do método é feita para garantir que a metodologia analítica seja exata, reprodutível e flexível sobre uma faixa específica em que uma substância será analisada. É uma avaliação que garante a conformidade com as exigências legais ou fim proposto (interesse de terceiros) do método analítico. É o processo que provê evidência documentada de que se realiza aquilo para o qual está indicado para fazer. Segundo a International Conference on Harmonization (ICH), "O objetivo da validação de um método analítico é demonstrar que é adequado para o seu propósito" (ICH, 1994; 1995; 1996). A Farmacopeia Americana (USP) define a validação de um método analítico como sendo um processo que fornece uma evidência documentada através de estudos de laboratório, de que se realiza aquilo para o qual é indicado para fazer (USP, 1999).

O que deve ser validado: *Instrumentos*: devem ser validados antes do uso em rotina, após a manutenção e em intervalos de tempo regulares. *Métodos*: devem ser validados antes do uso em rotina e após mudanças nos parâmetros do método. *Sistemas analítico*: (instrumentos e metodologia): devem ser testados para se verificar a adequação do sistema (*system suitability*) antes e durante a rotina, praticamente todos os dias (MERCK, 2003; BRANDÃO, 2010; SABINO, 2010; SILVA & ALVES, 2010).

As características de desempenho do método (ou parâmetros de validação) devem estar claramente descritas no procedimento documentado e incluir (quando aplicável): Especificidade e Seletividade, Precisão, Linearidade, Faixa de trabalho e Faixa linear de trabalho, Sensibilidade, Limite de detecção, Limite de quantificação, Exatidão e tendência (*bias*), Robustez e Incerteza de medição (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003).

A necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Um processo de validação bem definido e documentado oferece às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e os sistemas são adequados para o uso desejado (MERCK, 2003).

PLANEJAMENTO DA VALIDAÇÃO

Segundo o INMETRO (2003), no planejamento e execução da validação, sugere-se uma sequência de trabalho como a que se segue: definir a aplicação, o objetivo e o escopo do método, definir os parâmetros de desempenho e os critérios de aceitação, desenvolver um procedimento operacional para validação, definir os experimentos de validação, verificar se as características de desempenho do equipamento estão compatíveis com o exigido pelo método em estudo, qualificar os materiais, por exemplo, padrões e reagentes, executar os experimentos preliminares de validação, ajustar os parâmetros do método e/ou critérios de aceitação, se necessário, executar experimentos completos de validação, preparar um procedimen-

to operacional para execução do método, na rotina, definir critérios de revalidação (por exemplo, mudanças de pessoal, condições ambientais, equipamentos, periodicidade, dentre outros) e definir o tipo e a frequência de verificações de controle da qualidade analítica para a rotina. Os experimentos e os resultados devem ser documentados e registrados.

DEFINIÇÕES

Para se executar os procedimentos de validação, os seguintes conceitos devem ser levados em consideração: *Método Normalizado* é aquele desenvolvido por um organismo de normalização ou outras organizações, cujos métodos são aceitos pelo setor técnico em questão (INMETRO, 2003). Por exemplo, um método farmacopeico não necessita ser validado. *Método não Normalizado*: é aquele desenvolvido pelo próprio laboratório ou outras partes (por exemplo: pelo laboratório produtor do medicamento) ou adaptados a partir de métodos normalizados e validados (INMETRO, 2003). O método não normalizado necessita ser validado.

PROCEDIMENTOS EXECUTADOS

a) Especificidade e Seletividade

A especificidade é a habilidade do método para distinguir com certeza os compostos de interesse entre outros que podem estar presentes na amostra (como impurezas conhecidas, excipientes e produtos de degradação). É a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto específico independente da matriz da amostra e de suas impurezas. É a prova de que o valor está livre de interferências de outros componentes da amostra (matriz, solvente, dentre outros). Por exemplo, em métodos cromatográficos, podem-se adotar os seguintes procedimentos: sobreposição de cromatogramas e inspeção visual, checagem de pureza de pico com o detector de rede de diodos e checagem de pureza de pico com o detector de espectrometria de massas (INMETRO, 2003, ANVISA, 2003). Para uma análise qualitativa (teste de identificação), é necessário demonstrar a capacidade de seleção do método entre compostos com estruturas relacionadas que podem estar presentes. Isso deve ser confirmado pela obtenção de resultados positivos em amostras contendo o analito, comparativamente com resultados negativos obtidos com amostras que não contêm o analito, mas contendo estruturas semelhantes (MERCK, 2003).

A especificidade e a seletividade estão relacionadas ao evento da detecção. A especificidade refere-se a um método específico para um único analito e a seletividade refere-se a um método utilizado para vários analitos com capacidade de distinção entre eles (MERCK, 2003).

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de

forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas. Um método instrumental de separação que produz resposta para uma única substância de interesse, normalmente um dado elemento, pode ser chamado de específico, e um método que produz resposta para vários compostos químicos, com uma característica em comum, pode ser chamado de seletivo (USP, 1999; RIBANI *et al.*, 2004).

A seletividade pode ser obtida de várias maneiras. A primeira forma de avaliá-la a mesma é comparando-se a matriz isenta da substância de interesse e a matriz adicionada com essa substância (padrão), sendo que, nesse caso, nenhum interferente deve eluir ou ser detectado no tempo de retenção da substância de interesse, que deve estar bem separada dos demais compostos presentes na amostra (USP, 1999; RIBANI *et al.*, 2004). Uma segunda maneira é através da avaliação com detectores apropriados (arranjo de diodos, espectrômetro de massas), que comparam o espectro do pico obtido na separação com o de um padrão e utiliza-se isso como uma indicação da presença do composto puro. Essas duas maneiras são as mais utilizadas. O método de adição padrão também pode ser aplicado para os estudos de seletividade, porém esse método é utilizado quando não é possível obter a matriz isenta da substância de interesse, como no caso de extratos vegetais e fitoterápicos (USP, 1999; MERCK, 2003; RIBANI *et al.*, 2004). Com respeito a um extrato vegetal ou um fitoterápico, a seletividade é um parâmetro muito importante, pois se consegue mostrar que o marcador ou marcadores pode(m) ser(em) detectado(s) inequivocamente. Como se trata de matrizes complexas e não é possível obter o placebo (todos os ingredientes da formulação menos o princípio ativo), esse parâmetro se torna imprescindível.

Para o caso de análises de extratos vegetais e fitoterápicos por espectrofotometria UV-Vis (Tabela 1) e cromatografia líquida e gasosa, pode-se adotar os mesmos procedimentos: análise e quantificação do padrão, análise e quantificação do marcador na amostra e, finalmente, a análise e quantificação do marcador na amostra acrescida do padrão sendo que ele deverá ser acrescido de uma concentração que esteja na faixa de linearidade (Figura 1). Em caso de efetuar a validação de métodos gravimétricos e titulométricos, deve-se considerar a recomendação da literatura: não há sentido em determinar seletividade/especificidade em processos já conhecidos. Lembrar que a titulação é aplicada para concentrações elevadas como a determinação de pureza ou, ainda, quando são conhecidos os sistemas e eliminados, por conhecimento, possíveis interações com o titulante, ou seja, pode-se eliminar esse quesito por conhecimento prévio (LEITE, 2004). No caso da utilização da cromatografia em camada delgada, esse parâmetro não se aplica, por se tratar de metodologia qualitativa (DE AZEREDO *et al.*, 2004).

TABELA 1 Concentração média experimental (Amostra sozinha + Padrão)/ Concentração Teórica (Amostra + Padrão) em porcentagem m/V para a validação de fenóis totais em extratos de plantas

A* (Amostra)	Fenóis (Amostra) (%)	A* (Padrão fenol)	Fenóis (Padrão) (%)	A* (Amostra+ padrão)	Fenóis Amostra + Padrão (%)
0,488	2,32	0,550	2,39	0,968	4,59
0,474	2,25	0,567	2,47	0,958	4,55
0,480	2,28	0,565	2,45	0,961	4,56
0,471	2,24	0,563	2,45	0,971	4,61
0,480	2,28	0,566	2,46	0,968	4,59
0,486	2,31	0,570	2,48	0,970	4,60
Média	**2,28**	**Média**	**2,45**	**Média**	**4,58**
DP	**0,03**	**DP**	**0,03**	**DP**	**0,02**

* A é a absorbância medida em 760nm, utilizando-se o reagente de Foil-Ciocalteau em meio tamponado. Onde DP é o desvio padrão.

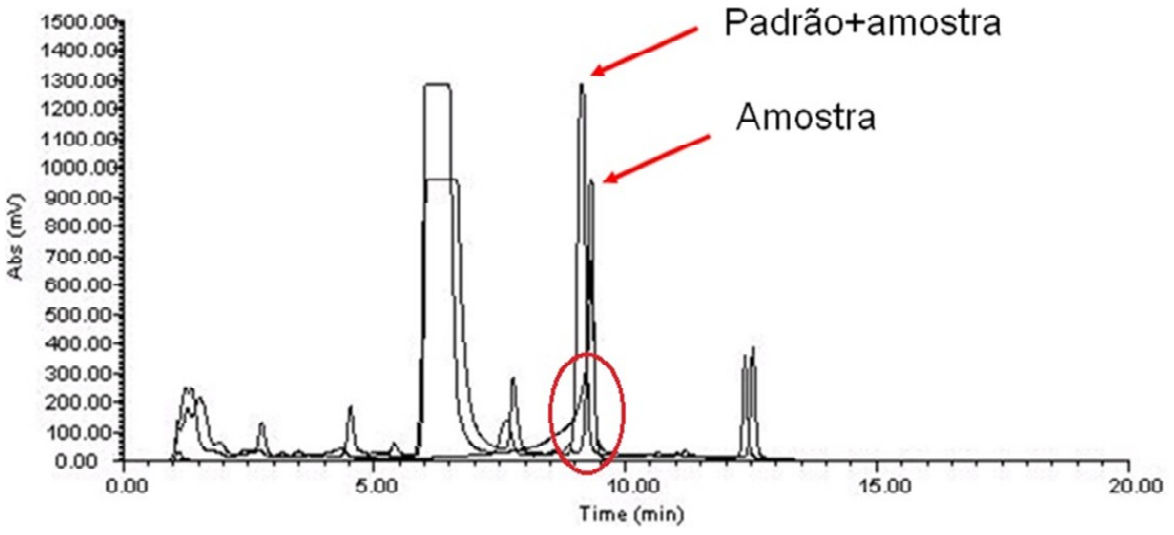


FIGURA 1. Cromatogramas em HPLC indicando a seletividade de um método analítico para um fitoterápico. A área circundada se refere somente à injeção do padrão.

b) Precisão

Essa característica expressa o grau de dispersão, ou de similaridade que se obtém quando uma amostra homogênea é analisada repetidamente, empregando um mesmo método. Expressa a concordância dos valores obtidos de múltiplas medições da mesma amostra sob condições predefinidas. Quanto mais próximos estiverem os valores entre si, maior será a precisão (MERCK, 2003). A precisão é definida segundo estes quesitos: *Repetibilidade* (condições iguais): expressa a precisão sob as mesmas condições de operação em um curto intervalo de tempo. *Precisão intermediária* (precisão intralaboratorial): expressa as variações no mesmo laboratório em dias diferentes, com analistas diferentes, equipamentos diferentes, dentre outros. *Reprodutibilidade* (experimentação interlaboratorial): expressa a precisão entre laboratórios (estudos colaborativos, normalmente aplicados em padronização de metodologia).

Os diferentes níveis de precisão são executados da seguinte forma: Repetibilidade ⇒ 1 analista (no mínimo 6 medidas), Precisão intermediária ⇒ 2 analistas (dia 1 e 2, no mínimo 6 medidas cada um) e Reprodutibilidade ⇒ precisão interlaboratorial.

A precisão deve ser investigada através de amostras homogêneas e autênticas. Caso não seja possível, esse estudo deve ser feito através de amostras preparadas artificialmente ou de uma solução da amostra. A precisão de um método analítico deve ser avaliada quanto ao: sistema: dispersão de, pelo menos, 6 injeções do padrão. A precisão do método é a dispersão de várias preparações da amostra (homogênea). Essa avaliação corresponde a todo o procedimento, desde o preparo da amostra até a medição feita pelo instrumento. Consequentemente, é fundamental a consideração da imprecisão gerada pelas diluições. A USP (1999) recomenda, em geral, que o desvio padrão relativo de um sistema não seja superior a 2% (para 5 injeções de uma solução padrão), em que se pode obter valores inferiores a 1%. Em extratos vegetais e fitoterápicos, é perfeitamente aplicável esse parâmetro, já que o doseamento dos marcadores é realizado na amostra em teste. No caso em questão, não se realizam os testes de precisão e precisão intermediária no placebo acrescido do marcador, pois este é inexistente. O desvio padrão para esse parâmetro não pode ser maior que 5%. A tabela 2 mostra os resultados obtidos na precisão e precisão intermediária da validação de flavonoides totais em extratos vegetais por espectrofotometria UV-Vis, para análises por cromatografia líquida, gasosa e titulometria (LEITE, 2004). Esses parâmetros são aplicáveis.

Tabela 2 Precisão e Precisão intermediária na validação de flavonoides totais em extratos vegetais

Medida (Precisão)	Concentração*	A 425nm
1	1,48	0,198
2	1,49	0,199
3	1,51	0,202
4	1,47	0,197
5	1,52	0,203
6	1,50	0,201
Média	**1,50**	
DP	**0,02**	
CV (%)	**1,25**	

Condições#	Concentração*	A 425nm
Analista 1 dia 1	1,48	0,198
	1,49	0,199
	1,51	0,202
Analista 2 dia 1	1,46	0,195
	1,44	0,193
	1,48	0,197
Analista 1 dia 2	1,47	0,197
	1,53	0,204
	1,51	0,200
Analista 2 dia 2	1,47	0,196
	1,48	0,198
	1,47	0,197
Média	**1,48**	
DP	**0,02**	
CV (%)	**1,66**	

* A concentração de flavonoides totais foi calculada pela absorbância lida em 425nm (A 425nm), através da reação com cloreto de alumínio e calculada pela equação da reta (linearidade).

Medidas realizadas em triplicata. Onde DP é o desvio padrão das medidas e CV, o coeficiente de variação (%).

c) Linearidade

É a habilidade de o método oferecer (dentro de um intervalo determinado) uma resposta diretamente proporcional à quantidade da substância de interesse da amostra. O coeficiente de correlação (**r)** permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Para verificar se a equação de regressão é estatisticamente significativa podem ser efetuados os testes de ajuste do modelo linear, validade da regressão, sua eficiência e sua eficiência máxima (INMETRO, 2003; Anvisa, 2003; MERCK, 2003). A Anvisa (2003) menciona que o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser = 0,99, entretando aceita o valor de **r** para fitoterápicos de 0,98. A figura 2 mostra um exemplo de curva de calibração (linearidade) no procedimento de validação de flavonoides totais em extratos vegetais.

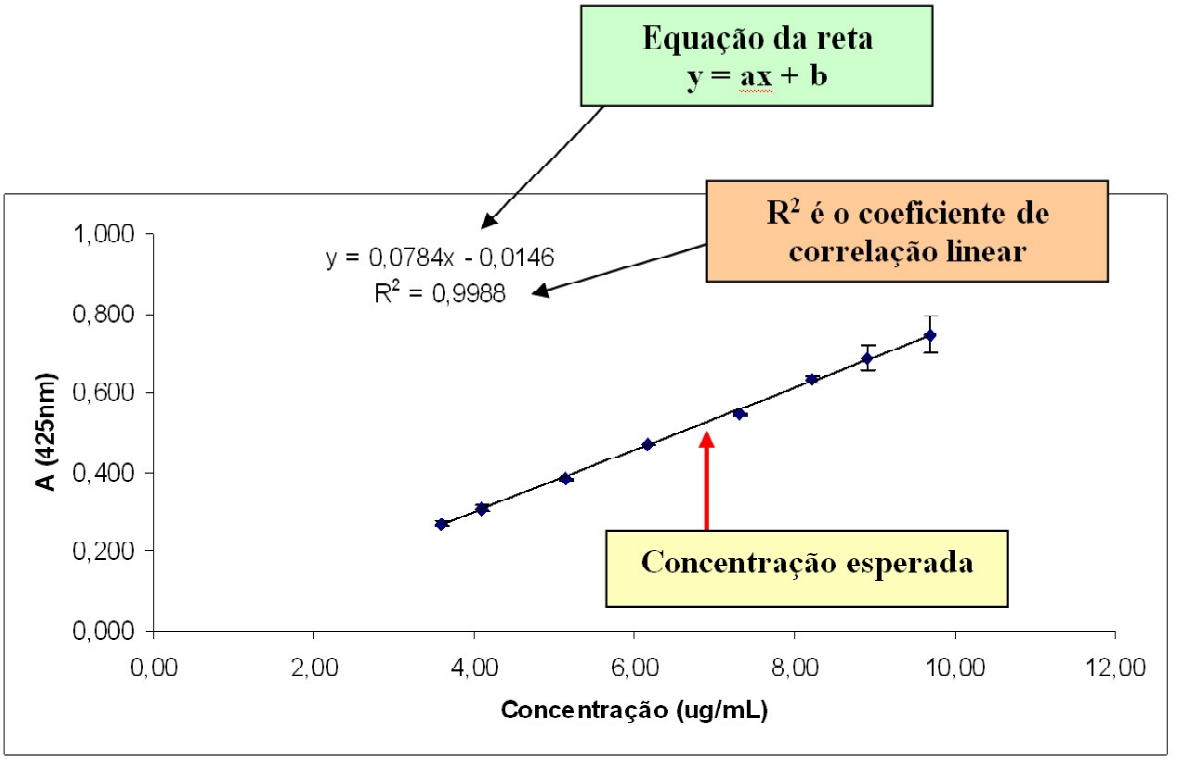


FIGURA 2 Curva de calibração (linearidade) para validação de flavonoides em extrato de planta por espectrofotometria UV-Vis. A seta vermelha indica a concentração esperada na amostra teste.

É importante realizar o teste para a existência de uma tangente significativa (MERCK, 2003). O teste é satisfatório se a diferença entre o maior e menor valores no eixo **y** obrigatoriamente for maior que o maior valor de desvio padrão em **y**, como mostra a figura 3. O gráfico das residuais é usado para uma checagem visual da qualidade dos dados para a avaliação da linearidade.

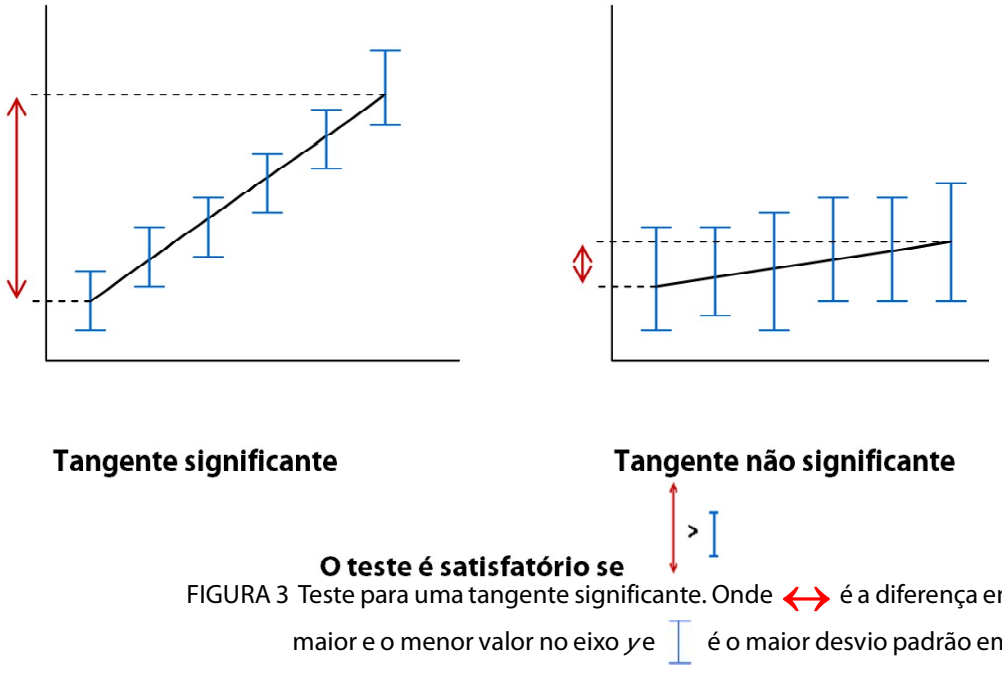


FIGURA 3 Teste para uma tangente significante. Onde ↔ é a diferença entre o maior e o menor valor no eixo *y* e I é o maior desvio padrão em *y*.

O cálculo efetuado para as análises das residuais é obtido da seguinte forma: constrói-se um gráfico da concentração (eixo **x**) *versus* a diferença entre o valor real e o verdadeiro (calculado pela equação da reta (em módulo) (eixo **y**), como no exemplo dado na tabela 3 e figura 4.

TABELA 3 Cálculos das residuais a partir da curva de calibração

Coeficiente linear	coeficiente angular	Concentração (μg/mL)	y_1	y_2	Residuais*
-12307	99700	1,0	87393,0	93271,33	5878,3
		2,0	187093,0	178756,33	-8336,7
		5,0	486193,0	457326,00	-28867,0
		7,0	685593,0	670840,33	-14752,7
		10,0	984693,0	869385,67	-115307,3

*Calculada pela diferença em módulo entre y_1 e y_2. Onde y^1 são os valores da reta real e y^2 os valores da reta ideal (calculados pela equação da reta).

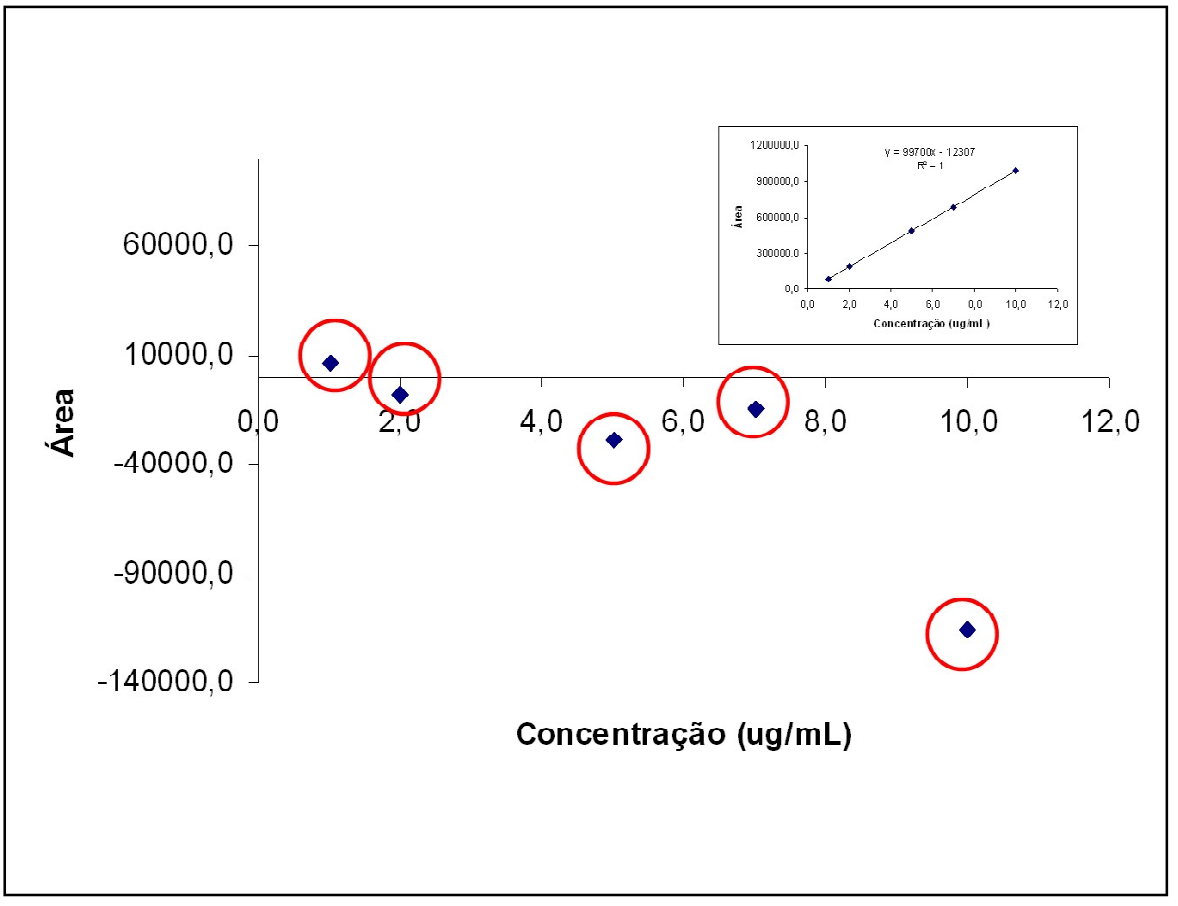


FIGURA 4. Cálculos e curva de calibração mostrando a estimativa do resíduo no sinal analítico. O gráfico interno mostra a curva de calibração para a dosagem de um princípio ativo e os círculos vermelhos indicam a heterocedastidade das medidas.

A análise do gráfico dos resíduos permitirá detectar problemas no ajuste da curva como, por exemplo, desvios da linearidade, presença de amostras atípicas, heterocedastidade e dependência entre os erros. Uma curva bem ajustada deverá apresentar erros com distribuição uniforme, média zero e variância constante (homocedastidade), e ausência de amostras atípicas (Figura 5).

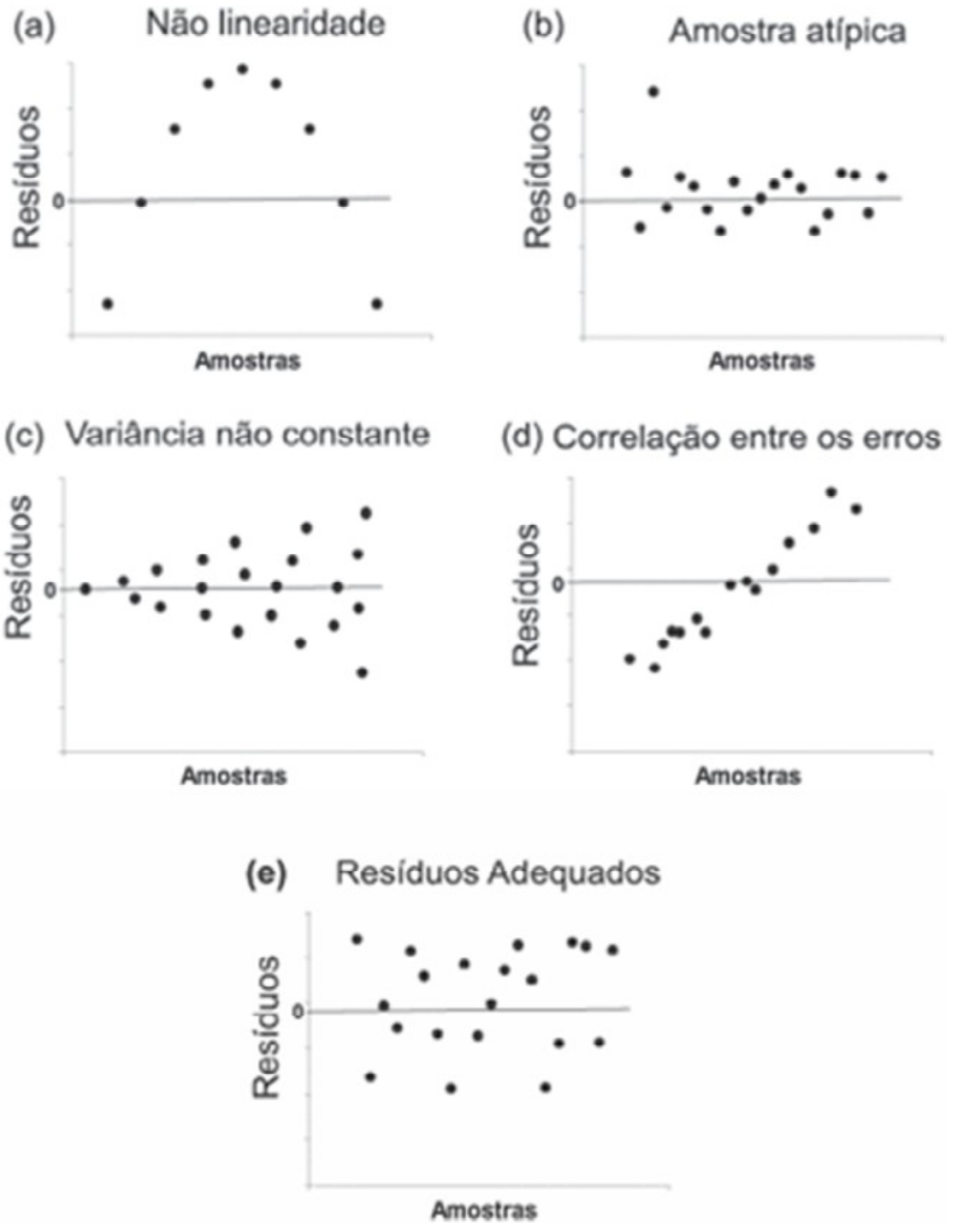


FIGURA 5. Gráfico dos resíduos mostrando (a) desvios da linearidade, (b) amostras atípicas, (c) heterocedastidade, (d) erros correlacionados e (e)resíduos com homocedastidade e normalmente distribuídos. Figura reproduzida de Ribeiro *et al.* (2008).

A linearidade é uma das etapas mais importantes na validação de um método analítico, pois permite calcular as concentrações dos marcadores nos extratos vegetais e fitoterápicos. Para análises por espectrofotometria UV-Vis, cromatografia líquida e gasosa, é necessário obter-se o parâmetro de linearidade (ERGUN *et al.*, 2005; SCHMIDT, 2005; SHABIR *et al.*, 2006; ZECEVIC *et al.*, 2006). Para a titulometria, não é pertinente. Talvez haja sentido em alguns casos, em função da cinética da reação, mas normalmente não se aplica, pois a leitura é direta ou pela diferença com a leitura do branco de reagente (LEITE, 2004). No estudo da linearidade para extratos vegetais e fitoterápicos, são utilizadas somente as diluições do padrão para a curva de calibração. Esta não é construída com o placebo acrescido do padrão pela inexistência deste.

d) Exatidão na faixa de concentração

É o grau de proximidade ou o acordo que existe entre o valor aceito como certo e o valor determinado no método. Em qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentrações do analito no qual o método pode ser aplicado. Os primeiros valores da faixa podem ser dos valores dos limites de detecção e de quantificação e os últimos dependem do sistema de resposta do equipamento de medição. A faixa linear é definida como a faixa de concentrações na qual a sensibilidade pode ser considerada constante e são normalmente expressas nas mesmas unidades do resultado obtido pelo método analítico. Para escolher a faixa de trabalho, procede-se da seguinte maneira: quando se tem uma amostra específica, a concentração esperada deve situar-se no meio da faixa de trabalho e, quando a concentração do analito é desconhecida ,utiliza-se a faixa de trabalho estudada para amostras diversificadas. Os valores medidos têm que estar dentro da faixa de trabalho, e os valores medidos próximos ao limite inferior da faixa de trabalho têm que ser diferentes dos brancos dos métodos (MERCK, 2003; ANVISA, 2003; INMETRO, 2003). Recomenda-se, antes de iniciar a validação do método aplicado a extratos vegetais e fitoterápicos, fazer uma quantificação prévia da concentração do marcador na amostra, seja por espectrofotometria UV-Vis, cromatografia líquida ou gasosa, para se ter uma ideia da faixa. Após essa análise preliminar, pode-se construir a curva de calibração com sete pontos, sendo que o valor quantificado deve ser o ponto médio da curva, isto é, três pontos acima e três pontos abaixo do valor estimado para a amostra. Na figura 2, a seta indica o ponto intermediário, como sendo a concentração do marcador encontrada na análise preliminar da amostra. Para se determinar a faixa de trabalho, normalmente se utilizam três etapas (MERCK, 2003) as quais não são aplicáveis a extratos vegetais e fitoterápicos, pois há a necessidade de se utilizar o branco (placebo). Para análises por espectrofotometria UV-Vis, cromatografia líquida e gasosa é aplicável. Para a titulometria, conforme indicação de Leite (2004), é pertinente se houver um valor de referência, como qualquer outra análise.

e) Sensibilidade

A sensibilidade de um método analítico corresponde à quantidade mínima de um analito que pode produzir um resultado significativo. Ela é calculada usando a variância devido à regressão a partir do estudo da linearidade. Serve como confirmação dos valores estimados do

Limite de Detecção e Quantificação. Uma mesma técnica, empregada em matrizes diferentes, pode apresentar a mesma sensibilidade de calibração, porém diferente sensibilidade analítica devido a fatores próprios, como extração, concentração, dentre outros. Existem dois tipos diferentes de sensibilidade que devem ser claramente identificados: sensibilidade de calibração que corresponde à inclinação da curva de calibração e sensibilidade analítica, que corresponde ao quociente entre a sensibilidade de calibração e o desvio padrão de uma medida (MERCK, 2003).

A sensibilidade de um método é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). O LD é a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental, enquanto o LQ é a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão do método durante as operações de rotina do laboratório, em condições usuais. Há três formas de estimar os limites de detecção e de quantificação, e a escolha de uma delas deve levar em consideração a técnica analítica utilizada e o grau de confiabilidade estatística necessária: método visual, método da relação sinal-ruído e método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBEIRO *et al.*, 2008). Os órgãos oficiais, como a USP e a ANVISA, preconizam que não é necessário executar esse parâmetro quando se faz a análise de um componente principal, isto é um analito de interesse (USP, 1999; ANVISA, 2003). Entretanto, como geralmente os marcadores e/ou princípios ativos de plantas medicinais e fitoterápicos se encontram em concentrações muito baixas, é prudente realizar essa etapa para garantir que o método é apto para detectar e quantificar tais marcadores.

Para a determinação do limite de detecção (LD) no método visual, realiza-se a análise de amostras contendo baixas concentrações conhecidas da espécie de interesse. Considera-se o LD como sendo a menor concentração que pode ser detectada e que seja distinta do sinal analítico do ruído (ICH, 1994; 1995; 1996; RIBANI, *et al.*, 2004).

Quando se utiliza o método da relação sinal-ruído para o cálculo do LD, aplica-se o mesmo em procedimentos analíticos que apresentam ruído da linha de base. Esse método é estimado a partir da comparação do sinal analítico obtido para uma amostra contendo baixas concentrações da espécie de interesse com o sinal de uma amostra do branco. Em geral, considera-se aceitável uma relação sinal-ruído de 3:1 ou 2:1 (ICH, 1994; 1995; 1996; BRITO, 2001; BRITO et al., 2003; RIBANI, *et al.*, 2004). O ICH (1996) recomenda que se utilize o seguinte cálculo:

Limite de detecção (concentração) = Fator x b (concentração/sinal) x Ruído (mV)
Recomendação do ICH: Fator = 3,3 para o limite de detecção

Os dois métodos descritos anteriormente são muito utilizados pela facilidade e rapidez, mas apresentam como desvantagem o fato de basearem-se em parâmetros qualitativos. O método de estimativa do limite de detecção, baseando-se em parâmetros da curva analítica, apresenta maior confiabilidade estatística, pois leva em consideração o intervalo de confiança da regressão. O LD, nesse caso, é definido como a concentração mínima de uma substância que

pode ser medida e informada com 99% ou 95% de confiança (ICH, 1996; RIBONI *et al,* 2004; RIBEIRO *et al.*, 2008). Devido atualmente à existência de vários *softwares* de validação existentes no mercado, sem dúvida esse é o método de escolha para se determinar o LD.

Para a determinação do limite de quantificação (LQ) pelo método visual, analisam-se as amostras com concentrações conhecidas da espécie de interesse. Esse corresponde à menor concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de exatidão e precisão do método (USP, 1996; US-EPA, 1996; ANVISA, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2008).

O método da relação sinal-ruído é adequado para procedimentos analíticos que apresentam ruído da linha de base. Nesse caso, o LQ é estimado a partir da comparação do sinal analítico obtido para uma amostra contendo baixas concentrações da espécie de interesse com o sinal de uma amostra do branco e estabelecendo a concentração mínima em que a espécie de interesse pode ser quantificada com confiabilidade. Em geral, considera-se aceitável uma relação sinal-ruído de 10:1 (USP, 1996; ANVISA, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2008). No caso de extratos vegetais e fitoterápicos, o branco é inexistente, podendo ser considerado o solvente onde a droga vegetal foi solubilizada. O ICH (1996) recomenda que se utilize o seguinte cálculo:

Limite de quantificação (concentração) = Fator x b (concentração/sinal) x Ruído (mV)
Recomendação do ICH: Fator = 10 para o limite de quantificação

A estimativa do LQ, através da curva de calibração, é aplicada por exemplo, no caso de o valor do ruído na posição do pico não ser determinada corretamente. No método baseado em parâmetros da curva analítica, o LQ também é calculado a partir do intervalo de confiança da curva analítica, tal qual o LD (MERCK, 2003). Esse é o melhor método de escolha para a análise de extratos vegetais e fitoterápicos, devido à complexidade da amostra e inexistência de um placebo. Para análises por espectrofotometria UV-Vis, cromatografia líquida e gasosa, é necessário esse parâmetro. Fonseca *et al.* (2004) comprovaram que o cálculo do limite de quantificação, obtido pela curva de calibração, demonstrou ser capaz de quantificar concentrações de 0,05 µg/mL, correspondendo a uma quantidade de 2,5 ng de lapachol num volume injetado de 20 µL.

f) Exatidão

É o grau de proximidade ou acordo que existe entre o valor aceito como certo e o valor determinado no método. Representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. É importante observar que um valor exato ou verdadeiro é o valor obtido por uma medição perfeita e este valor é indeterminado por natureza (MERCK, 2003). A exatidão é obtida a partir do cálculo do rendimento:

Rendimento = concentração medida / concentração teórica x 100

A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites em um dado nível de confiança (aparece sempre associada a valores de precisão). Esses limites podem ser estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços (MERCK, 2003).

O número de ensaios varia segundo a legislação ou diretriz adotada e também com as características da pesquisa. O ICH (1996) estabelece que um mínimo de nove determinações envolvendo um mínimo de três diferentes níveis de concentração deve ser obedecido, por exemplo, ensaios em triplicata para três níveis de concentração. Essa recomendação é também adotada pela ANVISA (2003). Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são: materiais de referência; comparação de métodos; ensaios de recuperação e adição padrão (MERCK, 2003). A exatidão pode ser estimada de duas formas: aplicando-se a metodologia proposta em uma substância de pureza conhecida, como, por exemplo, padrões certificados; ou pela comparação com os resultados obtidos utilizando-se uma segunda metodologia, que seja bem estabelecida e com exatidão e precisão conhecidas. A EPA (1996) recomenda que a exatidão seja fornecida como a diferença entre o valor predito e o valor considerado verdadeiro, enquanto a ANVISA (2003) recomenda que esse parâmetro seja estimado como a razão dessas duas concentrações (RIBEIRO *et al.*, 2008). O ICH (1996) recomenda que a exatidão deva ser estabelecida ao longo de toda a faixa de calibração especificada para o procedimento analítico somente após a precisão e a linearidade terem sido estimadas. A ANVISA (2003) estabelece que a exatidão deva ser verificada em três níveis de concentração: alta, intermediária e baixa e, no mínimo, com determinações em triplicata (RIBEIRO *et al.*, 2008).

Os CRM (*Certified reference Mateials*: materiais de referência certificados) são materiais de referência acompanhados de um certificado que possui o valor de concentração de uma dada substância, ou outra grandeza para cada parâmetro e uma incerteza associada. Os materiais de referência certificados são fornecidos por organismos reconhecidos e confiáveis, como NIST (*National Institute of Standards and Technology* - USA), LGC (*Laboratory of the Government Chemist* - UK), USP, FAPAS (*Food Analysis Performance Assessment Scheme*- UK), dentre outros. Os valores obtidos pelo laboratório (a média e a estimativa do desvio padrão de uma série de replicatas) da mesma amostra padrão devem ser comparados com os valores certificados do material de referência, para verificar a exatidão do método (RIBANI *et al.*, 2004).

O procedimento de comparação de métodos consiste na comparação entre resultados obtidos utilizando-se o método em desenvolvimento e os resultados conseguidos através de um método de referência. Avalia-se o grau de proximidade entre os resultados obtidos pelos dois métodos, isto é, o grau de exatidão do método testado em relação ao de referência. As análises são efetuadas em replicata, utilizando os dois métodos em separado (o método em desenvolvimento e o método de referência), sobre as mesmas amostras, em uma faixa de concentração em que se pretende validar o método (RIBANI *et al.*, 2004). Nesse caso, não há a necessidade de utilização de placebo, o que é adequado para a análise de extratos vegetais e

fitoterápicos, embora muitas vezes para esses materiais não existam métodos de referência.

Nos ensaios de recuperação, a recuperação (ou fator de recuperação), R, é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada. No caso, pode-se utilizar o CRM ou um composto substituto (RIBANI *et al.*, 2004). Diz-se que o composto é um substituto porque ele é transferido para a amostra e pode não estar efetivamente no mesmo equilíbrio que se encontra a substância na forma nativa, então se determina a recuperação do substituto, fazendo uma "correção de recuperação" para a substância de interesse (RIBANI *et al.*, 2004). Os compostos substitutos, adicionados nas amostras, podem ser de vários tipos: padrão da substância adicionado à matriz isenta da substância ou à amostra (fortificação, incorporação, dopagem, enriquecimento, termos provenientes do inglês *spiking*); o US-FDA reconhece duas categorias de padrões de referência: compendiais e não compendiais. Os padrões de referência compendiais são obtidos de fontes como a USP e não necessitam de caracterização posterior. Os padrões de referência não compendiais são substâncias com elevado teor de pureza, que pode ser obtido através de um esforço razoável e deve ser cuidadosamente caracterizado para garantir sua identidade, potência e pureza. É recomendável que fatores de correção de pureza sejam incluídos em qualquer cálculo existente no método (RIBANI *et al.*, 2004). O padrão quimicamente diferente do marcador em teste, mas representativo de seu comportamento, pode ser utilizado. Nesse caso, chama-se adição de padrão interno. A figura 6 mostra a análise de ácido *trans*-10-hidroxidecenoico (10-HDA) em geleia real, utilizando-se um padrão interno.

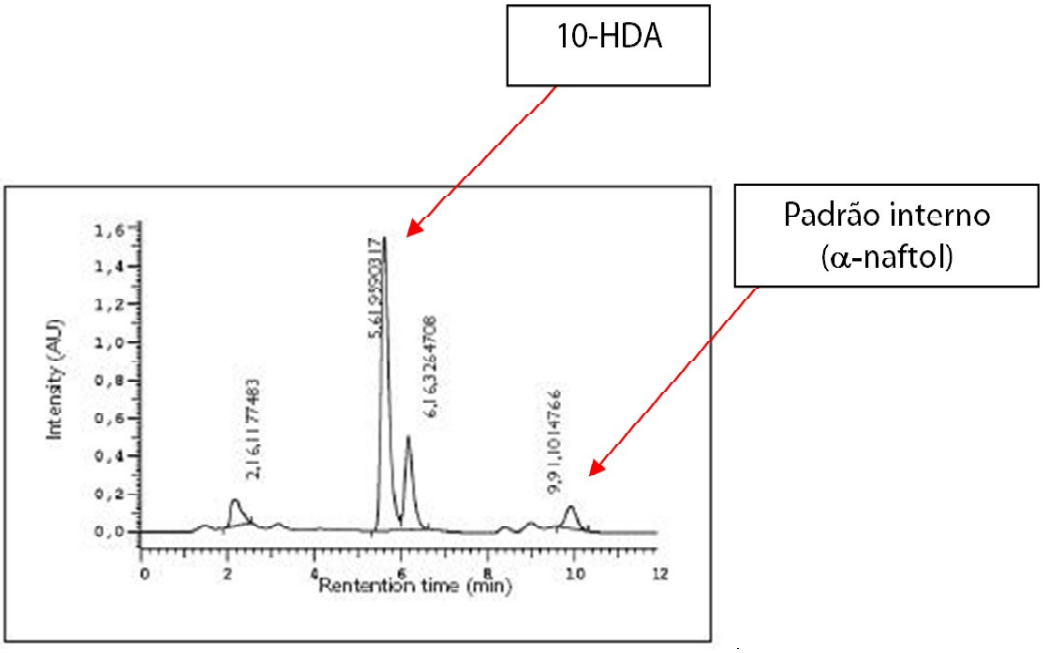


FIGURA 6. Cromatograma em HPLC onde se observa o pico do ácido *trans*-10-hidroxidecenóico e do padrão interno α-naftol. (SANTOS & MARCUCCI, 2007)

No método de adição padrão, quantidades conhecidas da substância são adicionadas em diferentes níveis numa matriz da amostra, antes do procedimento de preparo da amostra, que já contenha quantidades (desconhecidas) da substância. A concentração da substância de interesse na amostra original pode ser determinada em planilha de cálculos ou *softwares* de validação. A amostra sem adição do padrão e cada uma das amostras com o padrão adicionado devem ser analisadas e as quantidades medidas devem estar relacionadas com a quantidade adicionada. A limitação desse procedimento é a de que o analito adicionado não está necessariamente na mesma forma que apresente na amostra. A presença de analitos adicionados em uma forma mais facilmente detectável pode ocasionar avaliações excessivamente otimistas da recuperação (MERCK, 2003). Normalmente se realiza o estudo de recuperação contaminando-se o placebo com 80, 100 e 120% da concentração de referência. Como em extratos vegetais e fitoterápicos não existe o placebo, recomenda-se "contaminar" o material com 25, 50 e 100% da concentração esperada da substância na matriz. A amostra sem adição do padrão e cada uma das amostras com o padrão adicionado devem ser analisadas e as quantidades medidas devem estar relacionadas com a quantidade adicionada (RIBANI *et al.*, 2004) (Figura 7). Embora não existam regras para a quantidade de padrão que deva ser adicionada à amostra, a recuperação deverá apresentar um coeficiente de variação em torno de 10%.

Sauter *et al.* (2005) encontraram uma recuperação média para o *trans*-resveratrol e o *cis*-resveratrol em sucos de uva de 87,94 e 99,47%. Lima *et al.* (2006) avaliaram a exatidão do método gravimétrico a partir da análise de amostras do extrato de Jalapa (*Operculina macrocarpa* L.) em concentrações conhecidas equivalentes a 50, 100 e 150% da concentração teórica analisada. Para essas concentrações, foram encontrados os respectivos percentuais de recuperação: 51,67%, 103,5% e 153,33%, mostrando que, nesse quesito, o método foi validado. A tabela 4 mostra os dados da exatidão para a quantificação de fenóis totais em extratos de plantas. Para análises por espectrofotometria UV-Vis, cromatografia líquida, gasosa, esse parâmetro é aplicável.

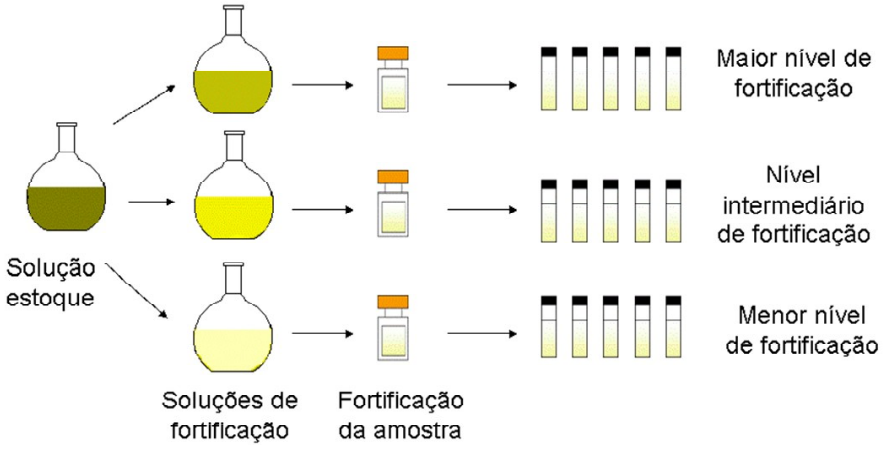


FIGURA 7 Esquema da fortificação da amostra (*spike*) com um padrão de concentração conhecida

TABELA 4 Dados da validação para o quesito Exatidão (recuperação) de fenóis por espectrofotometria UV-Vis de fenóis totais empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu (760 nm)

Padrão				
	Absorbância	Concentração (%)		
	0,049	0,23	**Média**	**Desvio**
Padrão 0,2 µg/mL	0,050	0,24	0,24	0,01
	0,053	0,25	**Coef Variação (%)**	4,17
	0,231	1,10	**Média**	**Desvio**
Padrão 1,1 µg/mL	0,226	1,07	1,10	0,04
	0,241	1,14	**Coef Variação (%)**	3,18
	0,407	1,93	**Média**	**Desvio**
Padrão 2,0 µg/mL	0,405	1,92	1,87	0,10
	0,368	1,75	**Coef Variação (%)**	5,42

Padrão + Amostra				
	Absorbância	Concentração (%)		
Padrão 0,2 µg/mL	0,517	2,45	**Média**	**Desvio**
	0,514	2,44	2,45	0,01
	0,517	2,45	**Coef Variação (%)**	0,24
Padrão 1,1 µg/mL	0,674	3,20	**Média**	**Desvio**
	0,661	3,14	3,17	0,03
	0,666	3,16	**Coef Variação (%)**	0,96
Padrão 2,0 µg/mL	0,822	3,90	**Média**	**Desvio**
	0,839	3,98	3,94	0,04
	0,828	3,93	**Coef Variação (%)**	1,03

Amostra -Especificidade/Precisão				
	Absorbância	Concentração (%)		
	0,488	2,32	**Média**	**Desvio**
	0,474	2,25	2,28	0,03
Amostra	0,480	2,28	**Coef Variação (%)**	1,39
	0,471	2,24		
	0,480	2,28		
	0,486	2,31		

Exatidão		
1º Concentração(%)	**2º** Concentração(%)	**3º** Concentração(%)
97,09	**93,60**	**94,94**

g) Tendência (ou *Bias*)

A tendência implica uma combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos, em que a determinação da tendência total com relação aos valores de referência apropriados é importante no estabelecimento da rastreabilidade aos padrões reconhecidos. A tendência pode ser expressa como recuperação analítica (valor observado/valor esperado). Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são, dentre outros, uso de materiais de referência, participação em comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação, conforme mencionado anteriormente (INMETRO, 2003).

h) Estudos de robustez

A robustez do método é determinada pelo estabelecimento do efeito de alterações mínimas sobre a precisão e a exatidão de resultados analíticos obtidos. A robustez de um método de ensaio mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Um método diz-se robusto se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando esse está sendo executado. Para determinar a robustez de um método de ensaio, pode-se recorrer ao teste de *Youden*. Trata-se de um teste que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais, indicando qual o tipo de influência de cada uma dessas variações. Convém salientar que quanto maior for a robustez de um método, maior será a confiança desse relacionamento à sua precisão. Nesse método, são realizados oito ensaios, separados para determinar os efeitos da variação das sete diferentes etapas, no procedimento analítico. As oito medições podem ser realizadas numa ordem aleatória (INMETRO, 2003). A ANVISA (2003) preconiza que as variações aceitáveis para o teste de robustez, são: a) preparo de amostras: pode-se variar a estabilidade das soluções analíticas e o tempo de extração, b) espectrofotometria: varia-se o pH da solução, a temperatura de análise e diferentes fabricantes de solventes, c) cromatografia líquida: varia-se o pH da fase móvel, a composição da fase móvel (para métodos analíticos isocráticos, que não são muito comuns em análises de extratos vegetais e fitoterápicos), diferentes lotes ou fabricantes de colunas, temperatura da coluna durante a análise e fluxo da fase móvel e d) cromatografia gasosa: diferentes lotes ou fabricantes de colunas, temperatura na análise e velocidade do gás de arraste. Para os casos em que se utiliza, por exemplo, gradiente na análise de extratos vegetais e fitoterápicos em HPLC, não se pode efetuar a variação na composição da fase móvel, pois essa já é alterada durante a análise cromatográfica.

i) Ensaios interlaboratoriais

A reprodutibilidade de um método é determinada por ensaios interlaboratoriais por meio dos quais a precisão e a exatidão são calculadas através de dados obtidos em vários laboratórios.

Os resultados de diferentes laboratórios (acima de 10) são imputados como grupos diferentes (MERCK, 2003).

j) Incerteza de medição

É o âmbito de concentrações ou valores entre os quais o método tem resposta linear, exatidão e precisão aceitáveis. *Aceitabilidade* é um termo definido pelo estudo crítico das decisões embasadas na avaliação dos resultados (MERCK, 2003; LEAL *et al.*, 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os aspectos abordados nesse capítulo mostram a importância da validação da metodologia analítica aplicada em laboratório, uma vez que se assegura a confiabilidade dos resultados obtidos, delegando qualidade aos produtos e/ou serviços prestados, além de reconhecimento comercial. Para o registro de um fitoterápico, é de extrema importância a validação de um método analítico. Por se tratar de matrizes complexas, constituídas de inúmeras substâncias químicas, a validação do método analítico se torna distinta da referente a um medicamento convencional por não se dispor do placebo. A legislação, no que diz respeito à validação de metodologias, tem várias nuances e diferentes interpretações. Felizmente essa característica pode ser encarada como intencional por permitir a adaptação para cada tipo de problema e/ou matriz, como é o caso dos fitoterápicos. A legislação brasileira tem sido mais bem definida nos últimos dois anos, através de resoluções e recomendações do INMETRO e ANVISA, inspiradas em diretrizes da ICH, por exemplo, mas, ainda, não existe uma regra específica para a validação de um método analítico para extratos vegetais e fitoterápicos. Nesse sentido, os comentários aqui apresentados contribuem para um melhor entendimento das regras para a validação dessa classe específica de medicamentos.

AGRADECIMENTO

A autora agradece a João Candido Ribeiro Junior por ter revisado esse manuscrito. Os dados aqui apresentados são resultados experimentais da própria autora.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA. Habilitação de Laboratórios Analíticos em saúde – segundo os requisitos da ISO/IEC 17025 – Procedimento GGLAS 02/17025, 2. ed, Brasília, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, ANVISA, Resolução (RE) nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.** Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

BRANDÃO, A.C.C. **Controle da qualidade e controle da produção de medicamentos- Ensaios para laboratório de controle da qualidade e controle da produção de medicamentos.** Disponível em <: http://www.boaspraticasfarmaceuticas.com.br>. Acesso em: 08/10/2010.

BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. **Journal of Chromatography B**, v.686, p.3-10, 1996.

BRITO, N. M. **Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação**. 2001. 115p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

BRITO, N.M.; DE AMARANTE JUNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente,** v.13, p.129-146, 2003.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: viewpoint and discussion. **Journal of Chromatography B**, v. 689, p.175-180, 1997.

CHASIN, A. M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de métodos cromatográficos em análises toxicológicas. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, v. 30, n. 2, p. 49-53, 1994.

CURRIE, L. A.; SVEHLA, G. Nomenclature for the presentation of results of chemical analysis. **Pure & Applied Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 595-908, 1994.

DE AZEREDO, F.S.; GUIMARÃES, R.I.; DE PAULA, J.R.; DA CUNHA, L.C. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para a identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.1, p.17-24, 2004.

ERGUN, B.; SARACOGLU, A.; ILGIN, S. Validation of a Reversed-Phase HPLC Method for the Analysis of Sildenafil Citrate in Pharmaceutical Preparations and in Spiked Human Plasma. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v.28, p.1539–1548, 2005.

FEINBERG, M.; RAGUÈNÈS, N. Development and application of a standardized validation procedure for food chemistry laboratories. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 239-252, 1999.

FONSECA, S.G. C.; DA SILVA, L.B. L.; CASTRO, R.F.; DE SANTANA, D.P. Validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de lapachol por CLAE. **Química Nova**, v.27, n.1, p.157-159, 2004.

FRANCOTTE, E.; DAVATZ, A.; RICHERT, P. Development and validation of chiral high-performance liquid chromatographic methods for the quantitation of valsartan and of the tosylate of valinebenzyl ester. **Journal of Chromatography B**, v. 686, p. 77-80, 1996.

INMETRO DOQ-CGCRE-008 **Orientações sobre Validações de Métodos de Ensaios Químicos**. RJ, Brasil, 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. **Reviewer Guidance Validation of Chromatographic Methods**. November, 1994. Disponível em www.ich.org. Acesso em 01/10/2010.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). **Guidance for Industry Q2A: Text on Validation of Analytical Procedures**, March 1995. Disponível em www.ich.org. Acesso em 01/10/2010.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). **Guidance for Industry Q2B: Text on Validation of Analytical Procedures**, November 1996. Disponível em www.ich.org. Acesso em 01/10/2010.

LABORATORY MANUAL OF QUALITY POLICIES, 31 de julho de 2008. Food and Drug Administration.

Disponível em http://www.fda.gov/ora/science_ref/lm/default.htm. Acesso em 04/10/2010.

LANÇAS, F. M. . **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. Rima, 2004. 62p.

LEAL, A.A.X.; HENRIQUES, C.A.; LUNA, A.S. Validação e estimativa da incerteza do método de determinação de fósforo por espectrofotometria UV-VIS. **Revista Analytica**, v.32, p.28-34, 2008.

LEITE, F. A fantástica titrimetria-titulação volumétrica. **Revista Analytica**, v.12, p.30-34, 2004.

LIMA, L.R.; XAVIER, H.S.; MEIRA, J.L.; ROLIM NETO, P.J. Desenvolvimento e validação da metodologia de quantificação gravimétrica de resina glicosídica em fitoterápicos contendo *Operculina macrocarpa* (L.) Urban. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v.16, n.4, p.562-567, 2006.

McDONALD, R. D. The role of laboratory information management systems (LIMS) in analytical method validation. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 149-158 1999.

MERCK, **Validação de Métodos Cromatográficos**, W.-D.Beinert (Merck, Darmstadt) (2003). Material adquirido com o software Validation Manager, Merck, Darmstadt, Alemanha.

NBR ISO/IEC 17025. **Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Calibração e de Ensaios**. Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT, RJ, Brasil, 2001.

NBR ISO 9000. **Fundamentos de sistemas de gestão da qualidade e estabelece a terminologia para estes sistemas**. Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT, RJ, Brasil, 2005.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

RIBEIRO, F.A.L.; FERREIRA, M.M.C.; MORANO, S.C.; DA SILVA, L.R.; SCHNEIDER, R.P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v.31, n.1, p.164-171, 2008.

SABINO, M. **Validação de métodos analíticos**. Instituto Adolfo Lutz. Disponível em: <http://mycotoxins.com.br/inf_tec.htm>. Acesso em: 01/10/2010.

SANTOS, C.C., MARCUCCI, M.C. Quantitative determination of *trans*-10-Hydroxy-2-Decenoic Acid (10-HDA) in Brazilian royal jelly and commercial products containing royal jelly. **Journal of Apicultural Research,** v.46, n.3, p.149-153, 2007.

SAUTTER, C.K.; DENARDIN, S.; ALVES, A.O.; MALLMANN, C.A.; PENNA, N.G.; HECKTHEUER, L.H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v.25, n.3, p.437-442, 2005.

SCHMIDT, A.H. Validation of A Fast-HPLC Method for the Separation of Iridoid Glycosides to Distinguish Between the Harpagophytum Species. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v.28, p.2339–2347, 2005.

SHABIR,G.A.; ARAIN, S.A., SHAR, G.Q. Method Development and Validation of Preservatives (Phenylformic Acid,2,4-Hexadienoic Acid, Methyl 4-Hydroxybenzoate, and Propyl 4-Hydroxybenzoate) by HPLC. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v.29, p.1223–1233, 2006.

SHAW, A. Guideline on General Principles of Process Validation, U.S.Food and Drug Administration,1987. Disponível em:

http://www.complianceassociates.ca/pdf/Guide_-_Process_Validation.pdf. Acesso em 01/10/2010.

SILVA, A.P., ALVES, M.C.C. **Como iniciar a validação de métodos analíticos**. Disponível em:

<http://www.banasmetrologia.com.br/textos.asp?codigo=1909&secao=revista>. Acesso em: 08/10/2010.

SUMMARY OF THE ENVIRONMENTAL LABORATORY ADVISORY BOARD MEETING. June, 28, 2000. Environmental Protection Agency. Disponível em http://www.epa.gov/elab/pdfs/archives/el20000628.pdf. Acesso em 01/10/2010.

UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP) Convention; US Pharmacopeia 24, Validation of Compendial Methods <1225>, Rockville, 1999.

WALSH, M. C. Moving from official to traceable methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v.18, p.616-623, 1999.

WIELING, J.; HENDRINKS, C.; TAMMINGA, W. J.; HEMPENIUS, J.; MENSINK, C. K.; OOSTERHUIS, B.; JONKMAN, J. H.G. Rational experimental desing for bioanalytical methods validation: illustration using an assay method for total captropil in plasma. **Journal of Chromatography A**, v. 730, p.381-394, 1996.

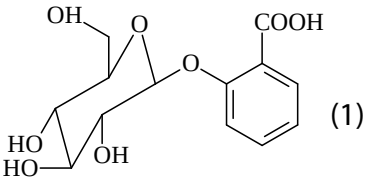
ZECEVIC, M.; SAVIC´, G.; IVANOVIC´, Z. Development and Validation of Liquid Chromatography Method for the Separation of Valdecoxib and its SC-77852 Impurity. **Analytical Letters**, v.39, p.1875–1890, 2006.

POTENCIALIDADES DO CERRADO COMO FONTE DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS E DE ESPÉCIES MEDICINAIS PARA O DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS

Fernão Castro Braga
Rachel Oliveira Castilho

INTRODUÇÃO

A contribuição dos produtos naturais para o surgimento e desenvolvimento da farmacoterapia é inquestionável. O ácido acetilsalicílico (Aspirina®) é considerado o primeiro fármaco a ser sintetizado, em 1839, pela indústria farmacêutica e teve como protótipo a salicina (1) isolada de *Salix alba* L.



(1)

Nas últimas décadas, a fitoterapia despertou grande interesse social e econômico em diversos países. Com uso consolidado em países orientais como China e Índia, a fitoterapia tem angariado apoio da comunidade científica e de usuários em países europeus, caso da Alemanha e Inglaterra, e nos países em desenvolvimento, cujas populações utilizam de forma acentuada as plantas medicinais nativas para aliviar suas enfermidades.

Na década de 1990, cerca de 80% dos novos fármacos introduzidos na terapêutica eram de origem natural ou análogos sintéticos obtidos a partir de protótipos naturais. A lista de fármacos desenvolvidos nesse período é extensa e inclui antiparasitários (avermectina), antimalariais (artemisinina), hipocolesterolêmicos (lovastatina e análogos), imunossupressores (ciclosporina) e antitumorais (Taxol®), os quais impactaram positivamente a medicina atual (NEWMAN & CRAGG, 2007).

O desenvolvimento de novos fármacos a partir de moléculas naturais é uma atividade de caráter eminentemente multidisciplinar, envolvendo setores da academia, institutos de pesquisa, pequenas empresas de base biotecnológica e, finalmente, grandes corporações farmacêuticas transnacionais (BRAGA, 2009). Do ponto de vista tecnológico, a busca de novos fármacos oriundos de plantas é um processo interativo de descoberta de protótipos moleculares (*lead compounds* ou *templates*), a partir do fracionamento biomonitorado de espécies vegetais, seguido de melhoramento dos protótipos pelo planejamento e síntese de análogos, visando incrementar propriedades farmacológicas (LEE, 2004). Uma vez identificado um protótipo molecular promissor, o processo de desenvolvimento tem continuidade fora da academia, normalmente em parceria com empresas farmacêuticas, compreendendo estudos pré-clínicos (toxicológicos, de formulação e produção) e ensaios clínicos (LEE, 2004). A taxa de sucesso dessa empreitada é frustrante: cerca de 1, em cada 5.000 protótipos moleculares, atinge a fase de estudos clínicos (BALUNAS & KINGHORN, 2005). Além disso, o custo para o desenvolvimento de um novo fármaco também constitui uma limitação para a indústria farmacêutica de países em desenvolvimento, com estimativa atual na casa de US$ 1,2 milhões, segundo dados da PhRMA (www.phrma.org).

A despeito dessas dificuldades, os produtos naturais de plantas são considerados uma fonte inesgotável de moléculas bioativas para a inovação farmacêutica, devido suas características únicas, incluindo diversidade estrutural e mecanismos de ação inéditos (LI & VEDERAS, 2009). A fim de otimizar os esforços de prospecção de biomoléculas e aumentar as taxas de sucesso, novas abordagens foram introduzidas no trabalho fitoquímico nos últimos anos, compreendendo inovações tecnológicas para a desreplicação de extratos, isolamento, purificação e elucidação estrutural de moléculas bioativas, bem como o uso de modelos biológicos miniaturizados e métodos *in silico* de triagem (LI & VEDERAS, 2009). Espera-se que esses esfor-

ços de prospecção se traduzam em novas entidades químicas, que possam vir a originar fármacos para o tratamento de doenças antigas e novas, para as quais ainda não existe uma abordagem farmacoterapêutica/farmacotécnica adequada.

Por ser o Brasil um dos maiores detentores da biodiversidade vegetal, estudos voltados para a fitoterapia devem ser incentivados intensivamente. No país, o uso popular de plantas medicinais ocorre de forma acentuada, sem que sejam estabelecidos e/ou comprovados seus reais benefícios ou toxicidade. Não menos relevante é o impacto econômico do setor: estima-se que em torno de 8% do faturamento da indústria farmacêutica brasileira é originado de medicamentos derivados de plantas. Portanto, conhecer o potencial terapêutico da flora brasileira é necessário, bem como promover sua utilização racional e científica, evitando prejuízos à saúde do usuário da fitoterapia.

Um dos aspectos positivos na pesquisa de fitoterápicos nos últimos anos reside no estabelecimento de normativas legais no país. Em 1995, o Ministério da Saúde editou norma federal para disciplinar o registro e a comercialização de produtos fitoterápicos no Brasil, por meio da Portaria SVS nº 116, sucedida pela Resolução RDC nº 17 (2000), a qual foi posteriormente substituída pela Resolução RDC n° 48 (2004) e, mais recentemente, pela Resolução RDC nº 14 (2010) (BRASIL, 2010). Tais normas estabelecem regras para o registro de medicamentos fitoterápicos, baseados em rígidos parâmetros de qualidade, segurança e eficácia terapêutica. Poucas mudanças podem ser observadas na RDC nº14 quando comparada à RDC nº 48. A norma atual oferece, como possibilidade para o controle de qualidade de drogas vegetais e derivados, substituir o emprego de marcadores químicos pelo controle da atividade biológica. Outra mudança estabelecida é a exigência de análise de aflotoxinas. A norma também possibilita o registro de produtos derivados de algas e fungos multicelulares, pois não existe norma específica na legislação brasileira para o registro de produtos dessa natureza (CARVALHO *et al.*, 2010).

Espera-se, assim, que o mercado de produtos registrados corrija gradativamente suas falhas e passe a ofertar fitoterápicos de melhor qualidade à população. Outro ponto a se destacar é a implantação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), que tem como objetivo ampliar as opções terapêuticas aos usuários do SUS, com garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade (BRASIL, 2006[a]). Destaca-se, também, o Decreto Presidencial nº 5.813, de 22 de junho de 2006, o qual estabelece a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas, que visa garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006[b]).

Nos últimos cinco anos, as vendas globais das indústrias farmacêuticas cresceram cerca de 40%. Os países do BRIC (Brasil, Rússia, Índia e China) deverão ser os responsáveis pela expansão do setor nos próximos anos e, segundo a *IMS Health*, a expectativa é que até 2013 o mercado brasileiro cresça entre 8 e 11%. O Brasil deverá ocupar a 8ª posição em faturamento no mercado mundial de medicamentos nos próximos três anos. A Figura 1 mostra o crescimento nas vendas do mercado farmacêutico brasileiro de 1997 a 2009. Apesar da magnitude das cifras movimentadas, a indústria farmacêutica brasileira de capital nacional ainda é bastante incipiente, sendo considerada uma indústria de transformação. Assim, a grande maioria dos

insumos farmacêuticos e de alguns medicamentos acabados é importada dos principais países desenvolvidos e/ou de países em desenvolvimento (China, Índia, Israel e Coreia) (CALIXTO & SIQUEIRA JR., 2008).

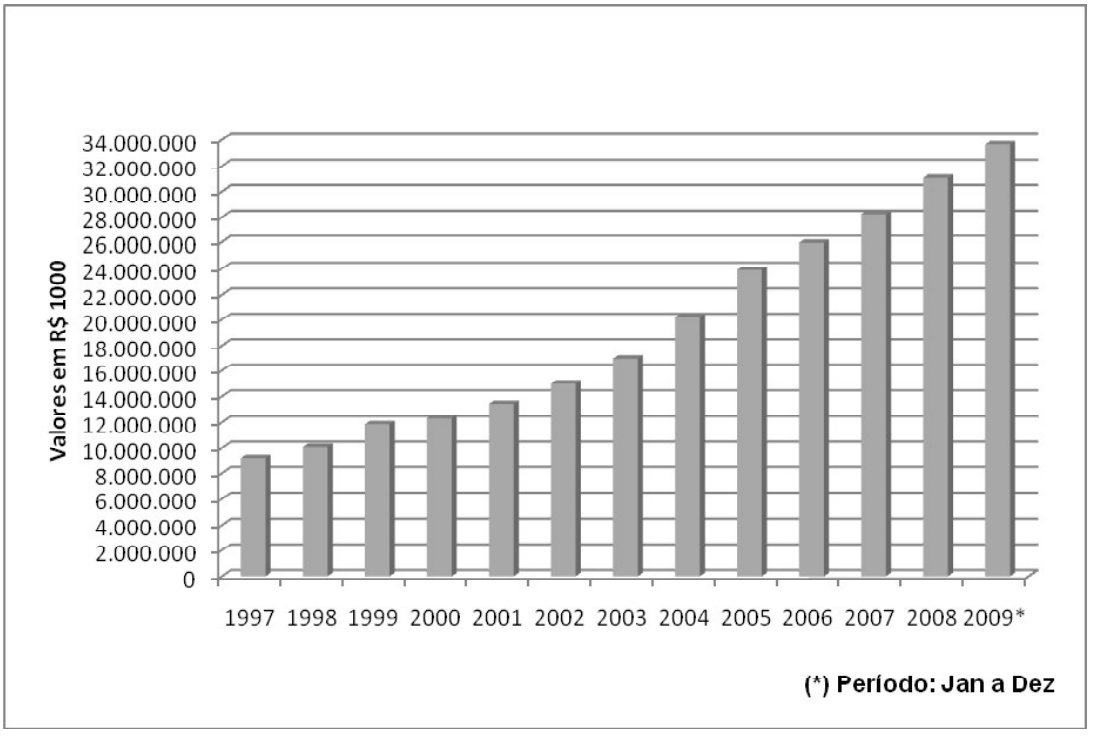


FIGURA 1. Volume do mercado farmacêutico brasileiro no período de 1997 a 2009, expresso em valor nominal de vendas, sem impostos. Fonte: SINDUSFARMA

Apesar desse cenário, é grande o progresso em pesquisas na área de plantas medicinais no Brasil, principalmente na academia. Além disso, observa-se, nos últimos 10 anos, um interesse crescente das indústrias farmacêuticas nacionais em estabelecer parcerias com universidades e centros de pesquisa, com o objetivo de desenvolver fitoterápicos validados quanto à eficácia, segurança e qualidade, segundo as diretrizes da legislação vigente no país. Dados de uma pesquisa realizada no primeiro semestre de 2008 pela Federação Brasileira da Indústria Farmacêutica (Febrafarma) mostram que, de 2006 para 2007, os investimentos em P, D & I das empresas nacionais cresceram em 68%, superior ao crescimento das multinacionais, na casa de 11%. Esses investimentos vêm sendo feito, basicamente, em inovações incrementais, que visam, por exemplo, mudar a forma de apresentação de um medicamento ou criar associações entre eles que tragam maior conforto para o paciente. Apesar do crescimento, os investimentos em P, D & I da indústria farmacêutica nacional ainda são tímidos, com menores cifras se

comparados às grandes empresas transnacionais. Assim, faz-se necessário concentrar esforços de todos os setores, que resultem em aplicações tecnológicas na área farmacêutica nacional (FUNCAP, 2010).

BIODIVERSIDADE E O CERRADO BRASILEIRO

Biodiversidade pode ser definida como a variedade e a variabilidade existente entre os organismos vivos do planeta. Essa variedade de vida inclui a diversidade genética dentro de populações e espécies, a diversidade de espécies da flora, da fauna, de fungos macroscópicos e de microrganismos, a de funções ecológicas desempenhadas pelos organismos nos ecossistemas, bem como aquela de comunidades, *hábitats* e ecossistemas formados pelos organismos (WILSON, 1988). A vida humana depende diretamente da biodiversidade, pois ela é fonte de alimentos, medicamentos, além de diversas outras facilidades para a vida nas sociedades contemporâneas (ROY, 2009). A biodiversidade ocorrente no Brasil, especialmente de espécies vegetais, é reconhecida como importante fonte de riqueza e apresenta potencial etnofarmacológico e químico para a descoberta e o desenvolvimento de novos fitofármacos e fitoterápicos (GOTTLIEB *et al*., 1998).

Atualmente há vários sistemas de classificação para as grandes áreas de vegetação existentes no país, sendo seis biomas continentais geralmente reconhecidos: amazônia, cerrado, caatinga, mata atlântica, pantanal e pampa (Figura 2). O bioma amazônia é o de maior extensão territorial, com 49,29% da área total, enquanto o pantanal é o de menor, com 1,76%. O cerrado possui 23,92% de extensão e ocupa a totalidade do Distrito Federal, mais da metade dos estados de Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Tocantins, além de porções de outros seis estados. Já a mata atlântica ocupa 13,04%, a caatinga 9,92% e o pampa 2,07% de extensão territorial (IBGE, 2004).

Segundo Myers *et al*. (2000), a mata atlântica e o cerrado fazem parte dos 25 *hotspots* mundiais prioritários para conservação de biodiversidade. *Hotspots* de biodiversidade são áreas que concentram grande número de espécies, sendo também elevado o endemismo. Para a classificação de um bioma como *hotspot*, uma determinada área deve conter pelo menos 0,5% ou 1.500 das 300.000 espécies de plantas estimadas no planeta. Em conjunto, os biomas cerrado e mata atlântica contribuem para 4,2% do endemismo de espécies vegetais do planeta (30.000 espécies de plantas). Outro critério adotado para eleição dos *hotspots* prioritários para a conservação de biodiversidade é a perda de 70% ou mais da vegetação primária. Em escala global, esses *hotspots* compreendem diferentes *hábitats*, com o predomínio de florestas tropicais (15 *hotspots*), portanto, estão localizados nos trópicos e em grande parte em países em desenvolvimento, onde as ameaças são maiores e a conservação dos recursos é escassa.

FIGURA 2. Biomas brasileiros
(Fonte: IBGE
http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169&id_pagina=1)

O cerrado é a vegetação de savana brasileira, sendo o segundo maior bioma no país em extensão territorial, estendendo-se por uma área aproximada de 2.000.000 km^2. O cerrado possui diferentes fisionomias em sua extensão, dependentes da concentração de espécies, compreendendo desde formas campestres bem abertas, como os campos limpos de cerrado, até formas relativamente densas, florestais, como os cerradões. Entre estes dois extremos fisionômicos, encontra-se uma gama de formas intermediárias, com fisionomia de savana, às vezes de carrasco, como os campos sujos e os campos cerrados. A vegetação mais comum inclui gramíneas, arbustos e árvores esparsas. As árvores e os arbustos possuem, geralmente, de 2 a 8m de altura, têm caules retorcidos e raízes longas, que permitem a absorção da água abaixo de 2m de profundidade, mesmo durante a estação seca do inverno (RATTER *et al.*, 1997). Entre as savanas mundiais, o cerrado é considerado muito rico floristicamente. Sua biodiversidade se destaca devido a grande extensão, heterogeneidade vegetal e por conter trechos das três maiores bacias hidrográficas da América Latina: Tocantins, São Francisco e Rio da Prata.

Diversos estudos florísticos já foram realizados no cerrado, visando estimar o número de espécies. Rizzini (1963) estimou a ocorrência de 600 espécies, compreendidas em 200 gêneros; já Ratter *et al*. (1997) relataram aproximadamente 1.000 espécies diferentes. Por outro lado, Castro e colaboradores (1999) relataram uma estimativa mais promissora para a flora do cerrado, com 2.000 a 5.000 espécies de hábito arbóreo, arbustivo e herbáceo, enquanto Mendonça *et al*. (1998) contabilizaram 6.429 espécies vasculares, das quais 6.060 são Angiospermas. As famílias mais importantes, em número de espécies, são Fabaceae, Asteraceae, Malpighiaceae, Myrtaceae, Melastomataceae e Rubiaceae (RATTER *et al*., 1997).

Cabe destacar, ainda, que o cerrado oferece uma grande quantidade de frutos comestíveis, alguns de excelente qualidade, cujo aproveitamento por populações humanas se dá desde os primórdios da ocupação. Além do potencial alimentício, algumas espécies fornecem madeiras e outras são ornamentais, além de serem utilizadas medicinalmente pelas populações nativas. Esses recursos constituem potenciais fontes para exploração econômica, cuja pesquisa e desenvolvimento de tecnologias podem viabilizar seu aproveitamento em curto prazo (CASTRO *et al*. 1999).

O CERRADO COMO FONTE DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS

A importância dos produtos naturais para o desenvolvimento da farmacoterapia é incontestável. Essa afirmativa fica mais evidente ao se analisar o número de novas substâncias ativas (*New Active Substances* – NASs ou *New Chemical Entities* – NCEs) derivadas dessa fonte. De 2000 a 2006 aproximadamente, 50% dos novos fármacos introduzidos no mercado americano tiveram como origem produtos naturais, incluindo substâncias semissintéticas e sintéticas que tiveram como protótipo um produto natural (NEWMAN & CRAGG, 2007).

Avanços tecnológicos recentes têm revolucionado o processo de desenvolvimento de novos fármacos nas grandes indústrias farmacêuticas. Os processos de triagem baseados em alvos moleculares foram reformulados e estão completamente automatizados (*High-Throughput Screening* - HTS). Essa nova metodologia gerou um grande número de bibliotecas de substâncias naturais (LAM, 2007). Na atualidade, as grandes transnacionais farmacêuticas têm buscado trabalhar com bibliotecas constituídas por um número menor de substâncias (100 a 3.000), sendo frequentes coleções de moléculas sintéticas e semissintéticas que guardam aspectos estruturais de produtos naturais (*Diversity Oriented Syntheses*).

A grande diversidade estrutural de produtos naturais e atividades biológicas dessas substâncias pode ser explicada pela seleção evolutiva sobre os organismos produtores, resultando em substâncias capazes de interagir com uma ampla gama de proteínas e alvos biológicos para um propósito específico. Em geral, muitos produtos naturais possuem características desejáveis para um fármaco (*drug-like*): são moléculas de baixa massa molecular (até 1.000 u), frequentemente possuem uma combinação de heteroátomos e diversos centros quirais, o que resulta em aumento da complexidade estérica, quando comparado com uma substância sintética (KOEH & CARTER, 2005).

Uma vantagem da triagem de produtos naturais para a produção de novos fármacos em relação à triagem de moléculas obtidas por química combinatória é a maior taxa de sucesso do primeiro grupo. Para subsidiar essa afirmativa, pode-se citar, como exemplo, os policetídeos naturais, dos quais aproximadamente 7.000 substâncias forneceram 20 fármacos, o que corresponde a uma taxa de sucesso de 0,3%, bastante superior àquelas obtidas em triagens de substâncias sintéticas, em torno de 0,001% (WEISSMAN & LEADLAY, 2005).

No trabalho acadêmico, a busca racional de substâncias bioativas de plantas baseia-se em diversas abordagens, sendo as principais a etnofarmacológica e a quimiossistemática. Após a identificação de um extrato vegetal bioativo, este pode ser submetido a fracionamento bioguiado por testes de atividade farmacológica e/ou biológica *in vitro* ou *in vivo* e assim resultar no isolamento de substâncias bioativas. Nesse caso, a substância isolada pode vir a constituir um fitofármaco ou servir de modelo molecular para a síntese de derivados mais potentes e menos tóxicos, utilizando ferramentas de química medicinal e combinatória. Outra opção é a utilização do extrato ou fração semipurificada para o desenvolvimento de um fitoterápico, que diferentemente do fitofármaco tem composição complexa, e sua atividade biológica é normalmente resultante do sinergismo entre seus constituintes (BRAGA, 2009).

O desenvolvimento e a disseminação de técnicas cromatográficas hifenadas, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção de arranjo de diodos (CLAE-DAD), com espectrometria de massas (CLAE-EM) e com ressonância magnética nuclear (CLAE-RMN) têm facilitado a análise da composição química de matrizes complexas como extratos vegetais, possibilitando, em alguns casos, a determinação estrutural completa ou parcial do produto natural de interesse, reduzindo o trabalho mecânico e lento de isolamento e purificação das substâncias de interesse (WOLFENDER *et al.*, 2006).

Nesse contexto, apresentam-se a seguir algumas espécies vegetais ocorrentes no cerrado e alguns produtos naturais bioativos, com potencialidade para o desenvolvimento de novos fármacos, seja na forma de misturas padronizadas (fitoterápicos) ou como moléculas isoladas (fitofármacos ou protótipos moleculares). Não se pretende apresentar uma revisão exaustiva de substâncias bioativas obtidas de plantas do cerrado, mas identificar algumas potencialidades, baseadas em atividades biológicas promissoras e número de estudos já realizados.

QUASSINOIDES BIOATIVOS DE SIMAROUBACEAE

Em consulta às bases de dados do Portal Capes, foi possível constatar o grande número de publicações relacionadas aos quassinoides. Essas publicações compreendem o isolamento de substâncias com estruturas inéditas, a obtenção de quassinoides conhecidos em espécies diversas, a avaliação de diferentes atividades biológicas, a obtenção de derivados semissintéticos e a síntese total de algumas substâncias. O volume de informação disponível reforça a importância dessa classe de produtos naturais e sua potencialidade para o desenvolvimento de novos fármacos antitumorais e/ou antimalariais. Assim, após a descrição da potencialidade de quassinoides na quimioterapia do câncer e da malária, discutiremos o potencial de uma planta do cerrado brasileiro como fonte de substâncias dessa classe.

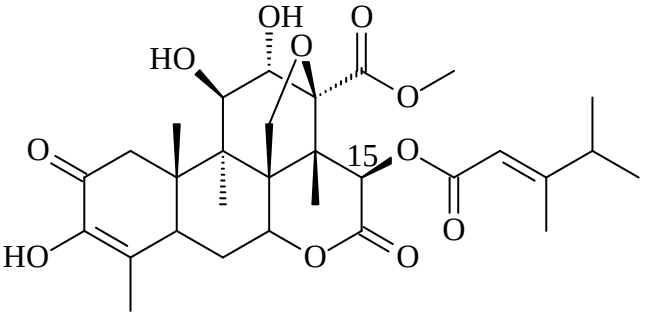
Os quassinoides são encontrados quase que exclusivamente na família Simaroubaceae. Muitas espécies dessa família (*Quassia amara* L.*, Picrasma excelsa* (Sw.) Planch.*, Jamaica quassia*, entre outras) possuem sabor amargo característico, resultante da presença de substâncias dessa classe. Em 1937 foram isolados os primeiros quassinoides de *Quassia amara* L., a quassina e a neoquassina (ALMEIDA *et al.*, 2007). Atualmente, mais de 150 quassinoides foram obtidos de espécies da família Simaroubaceae e tiveram sua estrutura química elucidada (KUMAR *et al.*, 2009).

A família Simaroubaceae compreende aproximadamente 32 gêneros e 200 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do planeta. No Brasil, está representada pelos gêneros *Quassia* L. e *Picrolemma* Hook. f., ocorrentes na região Amazônica, *Castela* Turpin e *Picrasma* Blume, distribuídos no sul do país, além de *Simaba* Aubl. e *Simarouba* Aubl., de ampla distribuição (HALL *et al.*, 1983).

Os quassinoides bioativos isolados de espécies da família Simaroubaceae apresentam ampla variedade de atividades, incluindo antitumoral (inibidor da TPA induzido pela ativação do vírus Epstein Barr), antiviral (HIV), antimalarial, antituberculose, anti-inflamatória, inibidor do apetite de insetos, inseticida e herbicida, dentre outras (OKANO *et al.*2000).

ATIVIDADE ANTITUMORAL

A atividade antitumoral dos quassinoides é expressiva e bem estudada. Na década de 1970, foi demonstrada a atividade antileucêmica dessa classe e a bruceantina (2) entrou em estudo clínico, nos Estados Unidos, para a quimioterapia de diversos tipos de câncer. O estudo foi encerrado, pois não se observaram resultados clínicos significativos (CUENDET & PEZZUTO, 2004). Outros quassinoides que também apresentam potente atividade antileucêmica são bruceantinol (CI_{50}=1 mg/kg), glaucarubinona (CI_{50}=0,25 mg/kg) e simalikaloctona D (CI_{50}=1 mg/kg) (GUO *et al.*, 2005). O mecanismo de ação antitumoral dos quassinoides se dá pela inibição da síntese proteica, a partir da inibição da atividade da peptidil transferase ribossomal.



(2)

A síntese proteica é um alvo molecular para a intervenção quimioterápica, pois sua desregulação é um dos maiores responsáveis pela iniciação do câncer e pela progressão de metástases. Tendo em vista que a atividade antitumoral de quassinoides é atribuída à inibição da síntese proteica, a relação entre a estrutura química e a atividade biológica de 63 quassinoides foi avaliada frente à síntese proteica de eucariontes. Assim, das substâncias avaliadas, 17 mostraram potente atividade *in vitro*, com CI_{50} abaixo de 2 μM, dentre elas bruceantina (2) e brusatol. A atividade foi influenciada: (i) pela natureza da cadeia lateral em C15; (ii) pelas modificações estruturais do anel A; (iii) pela presença ou ausência de açúcares e (iv) pela presença ou ausência de uma ponte de epoximetano (FUKAMIYA *et al.*, 2005).

O amplo espectro de atividades biológicas e a complexidade estrutural dos quassinoides despertaram o interesse da comunidade científica, resultando na síntese total de vários derivados incluindo quassina, amarolídeo, klaineanona, castelanolídeo, chaparrinona, bruceantina, picrasano B, shinjudilactona C e D, holocantona, glaucarubolona, simalikalactona D, shinjudilactona, quassimarina e glucaruinona, dentre outros (KUMAR *et al.* 2009). A semissíntese de uma série de substâncias dessa classe levou ao aumento da atividade antitumoral. Por exemplo, quando a bruceantina (3) é fluoretada na cadeia lateral de C15, observa-se aumento significativo da citotoxicidade frente a oito linhagens de células tumorais (cólon, sistema nervoso central, ovário e rim, dentre outras) (LEE, 1999).

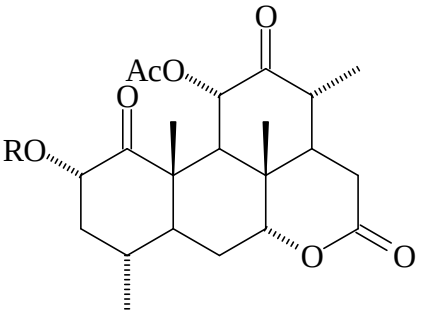
ATIVIDADE ANTIMALÁRICA

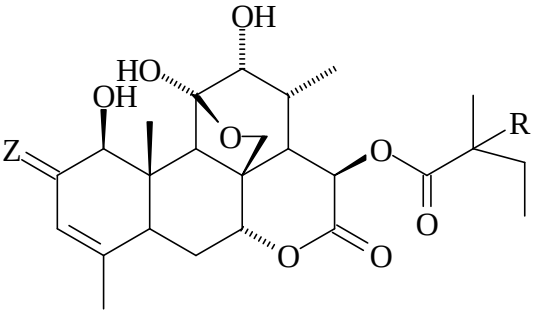
Vários quassinoides apresentaram potentes atividade antimalárica, especialmente frente a cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes a cloroquina. A CI_{50} da bruceantina (2) e da glaucarubinona (6) é da ordem de mM (CI_{50} 0,0015 e 0,008 mM, respectivamente), sendo mais ativos que a cloroquina (0,025 μM ou 0,008 μg mL^{-1}) (GUO *et al.*, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2007). Acredita-se que o mecanismo de ação também se dê a partir da inibição da síntese proteica, mas de uma forma diferente da atividade citotóxica, pois alguns quassinoides apresentam maior seletividade contra *P. falciparum* do que contra células KB (linhagem de células tumorais formadoras de queratina) (ANDRESON *et al.*, 1991). A sensibilidade de quassinoides não difere em cepas sensíveis e resistentes a cloroquina, por isso essas substâncias oferecem uma fonte promissora para o desenvolvimento de novos antimalariais (EKONG *et al.*, 1990). Portanto, o desenvolvimento dessas substâncias não-nitrogenadas como antimaláricos abre perspectivas para uma nova era na quimioterapia da malária, para tratar cepas de *P. falciparum* resistentes aos fármarcos alcaloídicos existentes e ao aumento da incidência de malária cerebral.

Simarouba versicolor A. St. – Hil (Simaroubaceae)

S. versicolor é encontrada em Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Ceará, Goiás e Piauí (CORRÊA, 1984). É conhecida popularmente por perdiz, pé-de-perdiz, pau-caixeta, paraíba e caraíba. Tem hábito arbóreo ou arbustivo e seu córtex possui um sabor amargo característico. Na medicina popular, as raízes de *S. versicolor* são utilizadas para o tratamento de fraqueza (MENDES & CARLINI, 2007), suas raízes e frutos são empregados como anti-helmíntico, anti-hemorrágico, contra veneno de cobra, para tratar diarreia, disenteria, dispepsia, malária e febre (FERNANDES *et al*. 2004). Estudos fitoquímicos revelaram a presença de quassinoides (3-8), triterpenos (9-12), esteroides e flavonoides (ARRIAGA *et al*., 2002; GHOSH *et al*. 1977).

Diversas atividades biológicas foram descritas para *S. versicolor*. O extrato hexânico de raízes da espécie apresentou citotoxicidade frente a linhagens de células tumorais de cérebro (SF-295; CI_{50}=0,7 µg/mL), carcinoma de cólon humano (HCT-8; CI_{50}=0,5 µg/mL), melanoma (MDA-MB-435; CI_{50}=1,5 µg/mL) e leucemia (HL-60; CI_{50}=1,1 µg/mL). O fracionamento bioguiado do extrato hexânico frente às linhagens tumorais supracitadas levou ao isolamento de glaucarubinona (6) com valores de CI_{50} de 0,24 µg/mL (SF-295), 0,15 µg/mL (HCT-8), 0,31 µg/mL (MDA-MB-435) e 0,07 µg/mL (HL-60) (MESQUITA *et al*., 2009). Em um trabalho que avaliou a atividade inibitória de 217 extratos vegetais frente a *Plasmodium falciparum* linhagem FcB1, *Leishmania* (L.) *chagasi*, *Trypanosoma cruzi* e fibroblastos derivados de camundongos da linhagem NIH-3T3 (avaliação de citotoxicidade), o extrato em diclorometano das folhas de *S. versicolor* apresentou valores de CI_{50} de 3,1, >100, 100 e 199,8 µg/mL, respectivamente, e índice de seletividade de 64,4 (ALBERNAZ *et al*., 2010).





(3) R = Ac

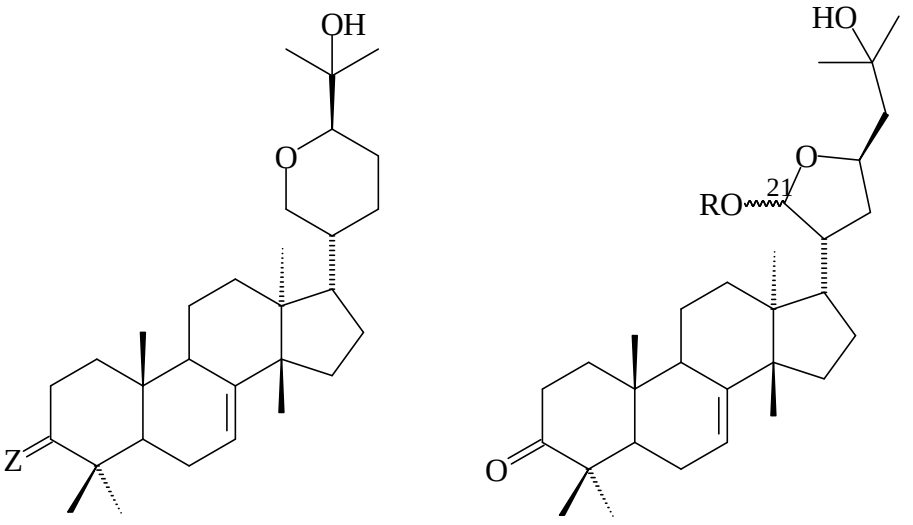
(4) R = H

(5) Z = O; R = H

(6) Z = O; R = OH

(7) Z = α-OH, H; R = OH

(8) Z = α-OH, H; R = OAc



(9) Z = O, R = H

(10) Z = β-OH, H, R = H

(11) 21β-OH, R = H

(12) 21α-OH, R = H

O CERRADO COMO FONTE DE ESPÉCIES MEDICINAIS PARA A PRODUÇÃO DE FITOTERÁPICOS

Apesar do crescimento mundial no uso de fitoterápicos, seu emprego deve ser visto com cautela. Considerando a complexidade de estudos necessários para sua validação, poucos produtos disponíveis no mercado nacional, na atualidade, estão em conformidade com a legislação vigente. Atualmente há o registro, no Brasil, de aproximadamente 512 medicamentos fitoterápicos, sendo 80 fitoterápicos associados e 432 simples (obtidos de apenas uma espécie vegetal). Do total, 25,92% das espécies são oriundas da América do Sul, incluindo espécies brasileiras. Dentre as espécies de origem brasileira ou sul-americana, as com maior número de registro são: *Mikania glomerata* Spreng. (14 registros), *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. (13 registros) e *Paullinia cupana* Kunth. (12 registros) (CARVALHO *et al*. 2008).

A extinta Central de Medicamentos (CEME), vinculada ao Ministério da Saúde, passou a coordenar, a partir de 1981, o "Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais" (PPPM), com o intuito de orientar o fomento da pesquisa em plantas medicinais no país. No âmbito desse programa, foram selecionadas 74 plantas para estudo. Em 1991, um relatório do estudo foi concluído, no qual das 28 espécies citadas, 22 não apresentaram resultados positivos quanto a atividade terapêutica atribuída popularmente e 6 espécies foram citadas com confirmação da ação: *Ageratum conyzoides* L. (mentrasto), *Cecropia glaziovi* Snethl. (embaúba), *Maytenus*

ilicifolia (Schrad.) Planch. (espinheira santa), *Mikania glomerata* Spreng. (guaco), *Passiflora edulis* Sims (maracujá) e *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra) (BRASIL, 2006[c]).

O elevado percentual de plantas inativas nesse Programa pode estar relacionado à ausência de padronização do material vegetal avaliado, bem como da dissociação entre os estudos farmacológicos e químicos. Apesar dessas ressalvas, a importância do PPPM é inegável, sendo a primeira iniciativa pública a financiar projetos de pesquisa , em plantas medicinais, direcionados para a avaliação da eficácia e segurança terapêuticas de espécies vegetais brasileiras.

A iniciativa promoveu o desenvolvimento tecnológico e agregou competência científica e tecnológica na área, mas falhou na não divulgação dos resultados. Também não cumpriu a meta de produção de fitoterápicos em laboratório oficial, com vistas à inclusão na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME). Ainda no âmbito desse projeto, houve uma tentativa de se produzir um fitoterápico de espinheira-santa pelo laboratório oficial da Fundação Ezequiel Dias (FUNED), mas, devido a falhas em diversos setores, o projeto não se concretizou (BRASIL, 2006[c]). Um longo caminho foi percorrido desde o Programa inicial da CEME e muitas das plantas avaliadas têm uso consagrado e constam da lista simplificada de registro de fitoterápicos da ANVISA. Algumas delas figuram, inclusive, entre as espécies com maior número de registro na ANVISA, caso da *Mikania glomerata* Spreng. (guaco) e *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. (espinheira santa).

Algumas plantas medicinais do cerrado possuem usos medicinais estabelecidos, baseados em estudos científicos, sendo, portanto, consideradas validadas e fazem parte de vários produtos fitoterápicos comercializados no Brasil (Tabela 1). As indicações de uso apresentadas na Tabela 1 foram compiladas de bulas de medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA. Cabe ressaltar que muitas dessas espécies são nativas, mas não são endêmicas no cerrado e têm domínios fitogeográficos em diferentes biomas (FLORA BRASILIENSIS, 2010). A seguir estão descritas brevemente algumas dessas espécies.

TABELA 1. Plantas do cerrado que entram na composição de formulações fitoterápicas comercializadas no Brasil.

Espécie	Nome popular	Uso popular	*Indicações em fitoterápicos
Baccharis trimera (Less.) DC. (Asteraceae)	Carqueja	Úlcera, diabetes, malária, anginas, anemias, diarreias, garganta inflamada, vermes intestinais, afecções estomacais e intestinais (Cruz & Gemma, 2008.)	Em associações é utilizada para tratar problemas digestivos, dispepsias, cólicas e gases intestinais e como estimulante da secreção biliar
Bauhinia forficata Link. (Fabaceae)	Pata-de-vaca	Diabetes (Cruz & Gemma, 2008.)	Diurético, hipoglicemiante e para tratar diabetes.
Echinodorus macrophyllus Michel (Alismataceae)	Chapéu-de-couro	Reumatismo, sífilis, diurética e para diminuir o ácido úrico (Côrrea, 1984.)	Problemas renais, intoxicações, inflamações, edemas, reumatismo e ácido úrico.
Passiflora alata Curtis *Passiflora edulis* Sims. *Passiflora incarnata* L. (Passifloraceae)	Maracujá	Ação calmante em casos de insônia e irritabilidade (Oga *et al.* 1984.)	Insônia, distúrbios neurovegetativos, ansiedade, hipertensão leve e irritabilidade.
Pfaffia glomerata (Sprengel) Pedersen *Pfaffia paniculata* (Martius) kuntze (Amarantaceae)	Ginseng brasileiro	Tônico, afrodisíaco, diabetes, reumatismo, adaptogênico, anticancer e hipoglicêmico (Montanari *et al.*, 1999.)	Estresse, fadiga física e mental
Polygonum acre Lam. *Polygonum hidropiper* Neck. *Polygonum hydropiperoides* Michx. (Poligonaceae)	Erva-de-bicho	Problemas circulatórios, eczema, edema, ferida, fragilidade capilar, hemorragia, hemorróidas, vermicida (Teske & Trentini, 1995.)	Utilizada em associações para o tratamento de varizes, hemorróidas e como laxante
Remijia ferruginea D.C. (Rubiaceae)	Quina da serra ou quina mineira	Tônico e tratamento de disfunções gástricas (Botion *et al.*, 2005.)	Utilizada em associações para auxiliar na digestão; protege o fígado contra excessos alcoólicos
Solanum paniculatum L. (Solanaceae)	Jurubeba	Tônico, antitérmico, tratamento de disfunções gástricas, icterícia, hepatite e distúrbios intestinais (Botion *et al.*, 2005.)	Utilizada em associações para auxiliar na digestão; protege o fígado contra excessos alcoólicos
Trichilia catigua A.Juss.(Meliaceae)	Catuaba	Afrodisíaco, impotência sexual, estimulante do sistema nervoso central, combate a fatiga, insônia e falta de memória (Mendes & Carlini, 2007.)	Estimulante

*Informações obtidas em bulas de produtos fitoterápicos registrados na ANVISA (http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/Medicamentos/frmConsultaMedicamentos.asp)

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae)

Essa espécie vegetal é conhecida popularmente como aroeira, aroeira-vermelha, aroeira-periquita e aroeira da beira do rio. Suas cascas são utilizadas tradicionalmente para tratar úlcera, diarreia, gota, problemas respiratórios e da pele, como cicatrizante, anti-inflamatório, contra reumatismo e artrite (LIMA *et al.*, 2009). A composição química das cascas da espécie compreende taninos, biflavonoides e ácidos triterpênicos. Seus frutos e folhas são ricos em óleos essenciais, constituídos por mono e sesquiterpenos (MATOS, 2004). Foram descritas, para a espécie, as atividades anti-inflamatória, cicatrizante, leishmanicida e antimicrobiana contra fungos e bactérias. Estudos pré-clínicos realizados em ratos e camundongos não indicaram toxicidade significativa para a espécie (LORENZI & MATOS, 2002). A aroeira faz parte de um fitoterápico composto, indicado para o tratamento de aftas, amigdalite, faringite, picadas de insetos, espinhas, queimaduras de sol, rinites, irritação na pele, limpeza de pele, além de problemas estomacais e intestinais.

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (Fabaceae)

É conhecido popularmente como barbatimão. Espécies desse gênero são amplamente utilizadas pela medicina popular no Brasil para tratar leucorreia, diarreia, como antisséptico, cicatrizante e anti-inflamatório. Os índios brasileiros utilizavam a espécie em seus rituais de cura como planta cicatrizante e anti-inflamatória, conhecimento este que foi passado aos caboclos e despertou o interesse da comunidade científica na atualidade (RIZINI, 1997; AFONSO & POTT, 2002).

S. adstringens é uma das espécies mais mencionadas pelos naturalistas do século XIX por sua ação adstringente. Foi descrita na 1ª edição da Farmacopeia Brasileira, com teor aproximado de 30% de taninos (BRANDÃO *et al.*, 2008). Já na 2ª e 4ª edição da Farmacopeia Brasileira, a monografia indica um conteúdo de, pelo menos, 20% e 8% de taninos, respectivamente. Estudos preliminares mostram significativas atividades farmacológicas e/ou biológicas para espécies de *Stryphnodendron* Mart., incluindo cicatrizante, antiinflamatória, antioxidante, antiulcerogênica, moluscicida, antibacteriana, atividade antitirosinase e modulação do metabolismo energético em fígado de ratos (LOPES *et al.*, 2003, BAURIN *et al.*, 2002; BEZERRA *et al.*, 2002; REBECCA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2007). Pesquisas sobre a composição química de espécies do gênero *Stryphnodendron* Mart. demonstraram a presença de galactomananas, saponinas, flavonoides e taninos (LOPES *et al.*, 2003; MELLO *et al.*, 1996 [a,b]; MELLO *et al.*, 1999). O extrato seco de cascas do barbatimão entra na composição de uma pomada fitoterápica, indicada como agente cicatrizante em vários tipos de lesões.

Achyrocline satureioides (Lam.) DC. (Asteraceae)

É conhecida popularmente como macela ou macela-do-campo. Tem uso etnomédico como anti-inflamatório, antiespasmódico e analgésico, para tratar diarreia e disenteria, como

sedativo e digestivo (LORENZI & MATOS, 2002). A composição química da espécie já foi estudada e compreende flavonoides como quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina, dentre outros, que são considerados os compostos responsáveis pela atividade anti-inflamatória (FERRARO *et al.*, 1981). Também já foi relatada a ocorrência de monoterpenos, sesquiterpenos, taninos e benzofuranos. As atividades antiproliferativa, anti-herpética, analgésica, sedativa, imunomodulatória e anti-inflamatória já foram descritas (PESSOA, 2000; GARCIA *et al.*, 1999; SIMÕES *et al.*, 1988, SANTOS *et al.*, 1999, FALCÃO *et al.*, 2005). Seu extrato isolado ou em associações fitoterápicas é utilizado para o tratamento de problemas hepáticos, má digestão, prisão de ventre e cálculos biliares.

A seguir estão descritas algumas plantas medicinais do cerrado que não estão validadas do ponto de vista químico e biológico, mas que têm amplo uso popular e possuem alguns estudos científicos realizados, os quais demonstraram sua potencialidade para o desenvolvimento de fitoterápicos ou fitofármacos.

Dimorphandra mollis Benth. (Fabaceae)

É conhecida popularmente como faveiro, barbatimão-de-folha-miúda, barbatimão-falso, angelim, canafístula, enche-cangalha, angiquinho, cinzeiro e fava-do-campo. É uma espécie nativa, mas não endêmica do Brasil, ocorrendo na amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica (LIMA, 2010). *D. mollis* é uma espécie arbórea, de ampla adaptação aos terrenos secos do cerrado. As favas possuem teores variados de flavonoides, dependentes de seu estágio de desenvolvimento. Os principais constituintes são rutina (6 a 8%), isoquercitrina e quercetina, e o fruto é uma fonte industrial para obtenção de rutina. A rutina é um dos produtos de exportação brasileira, sendo distribuída para 18 países, gerando uma receita de 12 milhões de dólares anuais (CUNHA *et al.*, 2003).

Um estudo de toxicidade aguda e crônica demonstrou que o extrato hidroalcoólico (8:2) de favas de *D. mollis* é seguro na dose de 1.000 mg/kg (FÉRES, 2006). A rutina apresenta atividade antioxidante, anti-hemorrágica, antiviral, anti-inflamatória e antitumoral (ROSEGHINI *et al.*, 2007; PATHAK *et al.*, 1991; LA CASA *et al.*,2000; GUARDIA *et al.*, 2001; SHEU *et al.*, 2004). Sua principal indicação terapêutica é como vaso protetor por aumentar a resistência capilar e diminuir a permeabilidade vascular através do bloqueio da ação do ácido araquidônico, apresentando potencial uso na prevenção de patologias vasculares (ÁLVAREZ *et al.*, 2004; RENTON *et al.*, 1994; LAEMMEL *et al.*, 1998; CESARONE *et al.*, 2002).

Eugenia uniflora L. (Myrtaceae)

É conhecida popularmente como pitanga. É uma planta nativa, mas não endêmica do Brasil, sendo encontrada no cerrado e mata atlântica) (SOBRAL *et al.*, 2010). É usada na medicina popular como anti-hipertensivo, diurético, adstringente, antipirético, para o tratamento de bronquite, problemas digestivos e intestinais (CONSOLINI & SARUBBIO, 2002; CONSOLINI *et al.*,

1999). Estudos fitoquímicos demonstraram a presença de flavonoides (miricetina, quercetina e quercitrina), terpenoides (constituintes de óleo essencial e carotenoides), esteroides, taninos, antraquinonas e fenóis (OLIVEIRA *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 1997). Diversas atividades biológicas foram relatadas para extratos de folhas de *E. uniflora* e seus constituintes, tais como anti-inflamatória, aumento do tempo de sono induzido pelo pentobarbital, hipotensora, diurética, vasodilatadora, antimicrobiana, antinociceptiva e hipotérmica, além de atividade inibitória da enzima xantina-oxidase atribuída aos flavonoides (SCHMEDA-HIRSCHMANN *et al.*, 1987; SCHAPOVAL *et al*, 1994; CONSOLINI *et al.*, 1999; HOLETZ *et al.*, 2002; AMORIM, 2009).

Pothomorphe umbellata (L.) Miq. (sin. *Piper umbellatum* L.) (Piperaceae)

É conhecida popularmente como pariparoba, aguaxima, caapeba, malvarisco, lençol de santa bárbara, capeva, capeba e pariparoba. É uma planta nativa, mas não endêmica do Brasil, distribuída na amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica. *P. umbellata* é usada popularmente como analgésico, diurético e antiespasmódico, bem como para tratar inflamações, malária, asma e doenças gastrointestinais (PERAZZO *et al.* 2005). A 1ª edição da Farmacopeia Brasileira inclui as raízes de *P. umbellata* como droga vegetal. Estudos fitoquímicos demonstraram a presença de terpenos no óleo essencial da espécie [cariofileno (14.8%), germacreno (27.4%), biciclogermacreno (11.5%) e cadineno (13.3%)], esteroides (glicosídeo de β-sitosterol), alcaloides (N-benzoilmescalina) e flavonoides (wogonina e uvangoletina), dentre outros (LUZ *et al.,* 1999; ISOBE *et al.,* 2002, 2010). Diversas atividades biológicas foram descritas para extratos e substâncias isoladas de *P. umbellata*, a saber, antibacteriana, anti-inflamatória, analgésica, antioxidante, citotóxica, anti-malárica, leishmanicida e tripanossomicida (PERAZZO *et al.*, 2005; BARROS *et al*, 1996; AMORIM *et al.*, 1988; ROERSCH, 2010). Destaca-se, ainda, a inibição do crescimento de *Helicobacter pylori* pela substância *N*-benzoilmescalina isolada da espécie (ISOBE *et al.*, 2002). Um gel do extrato de raízes de *P. umbellata*, contendo 0,1% de 4-nerolidilcatecol, preveniu o envelhecimento da pele de uma linhagem de camundongos sem pelo contra danos causados pela exposição à radiação ultravioleta (UVB) (ROPKE *et al.*, 2005). O extrato etanólico das raízes foi padronizado, utilizando técnicas cromatográficas, e não demonstrou toxicidade (BARROS *et al.*, 2005; MORAES *et al.*, 1984; REZENDE & BARROS, 2004; ROPKE *et al.*, 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil é detentor de uma das floras mais ricas do planeta. O cerrado, um dos maiores biomas do país, é um dos 25 *hotspots* mundiais prioritários para conservação de biodiversidade, contando com 4.400 plantas endêmicas, ou seja, 1,5% do total existente no planeta. Nas últimas décadas, tem-se observado intensa pressão antrópica sobre o cerrado, principalmente devido à expansão das atividades de agricultura e pecuária. Algumas ações do poder público visam contrapor a essa realidade, com a criação de áreas de proteção ambiental e parques, caso

dos Parques Nacionais da Serra da Canastra, da Chapada dos Veadeiros e das Emas. Essas iniciativas são tímidas ao se considerar a diversidade e potencialidades do cerrado. A grande questão atual – como utilizar de forma sustentável essa biodiversidade em prol do bem-estar socioeconômico e da saúde do povo – permanece sem resposta.

O conhecimento sobre a real potencialidade das espécies do cerrado para a descoberta de fármacos é incipiente e se deve, dentre outros fatores, à ausência de políticas de incentivo e priorização de pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de fitofármacos e fitoterápicos, contribuindo para manter a dependência do país de tecnologia externa na área. Outros aspectos a se considerar são as empresas nacionais com carência de capital e pessoal qualificado, bem como, até recentemente, a falta de uma lei de patentes definida e de políticas científica, tecnológica e industrial que incentivem essas atividades, com a formação e fixação de pesquisadores em laboratórios acadêmicos, de institutos de pesquisa e em empresas farmacêuticas de base tecnológica. Lentamente observam-se sinais de mudança nesse cenário, mas, para que ocorra a real transformação do discurso em ações e produtos, é imprescindível reunir esforços de atores do governo, setor produtivo e academia, resultando, dessa forma, em um grande salto de inovação. O desafio atual é viabilizar essas ações, antes que a perda de biodiversidade do cerrado seja irreversível.

AGRADECIMENTOS

À mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFMG, Tatiana Gomes Ribeiro, pelo levantamento bibliográfico das espécies vegetais descritas no capítulo.

REFERÊNCIAS

Afonso, E.; Pott, A. **Plantas tóxicas para bovinos***.* EMBRAPA: Campo Grande, MS, 2002, 51 p.

Albernaz, L. C.; Paulab, J. E.; Romero, G. A. S.; Silva, M. R. R.; Grellier, P.; Mambue, L.; Espindola, L. S. Investigation of plant extracts in traditional medicine of the Brazilian Cerrado against protozoans and yeasts. **J. Ethnopharmacol**. v.131, p.116-21, 2010.

Almeida, M. M. B.; Arriaga, Â. M. C.; Santos, A. K. L.; Lemos, T. L. G.; Braz-Filho, R.; Curcino, I. J. V. Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da útima década. **Quím. Nova***,* v. 30, n. 4, p.935-951, 2007.

Álvarez, L.; Gil, A. G.; ;Jalón-Garcia, J. A.; Cerain, L. Immunotoxic effects of OchratoxinAinWistar rats after oral administration. **Food Chem. Tox**., v.42, p. 825-834, 2004.

Amorim, A. C. L.; Lima, C. K. F.; Hovell, A. M. C.; Miranda, A. Luisa P.; Rezende, C. M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v.16, n.10, p.923-928, 2009.

Amorim, C. Z.; Flores, C.A.; Gomes, B. E.; Marques, A. D.; Cordeiro, R. S. Screening for anti-malarial activity in the genus *Pothomorphe*. **J. Ethnopharmacol**., v.4, p.101-106, 1988.

Anderson, M. M.; O'Neill, M. J.; Phillipson, J. D.; Warhurst, D. C. In vitro cytotoxicity of a series of quassinoids from *Brucea javanica* fruits against KB cells. **Planta Med.** v.*57*, p.62-64, 1991.

Anderson, M. M.; O'Neill, M. J.; Phillipson, J. D.; Warhurst, D. C. *In vitro* cytotoxicity of a series of quassinoids from *Brucea javanica* fruits against KB cells. **Planta Med.** 57, 62-64**,** 1991.

Arriaga, A. C.; De Mesquita, A. C.; Pouliquen, Y. B.; De Lima, R. A.; Cavalcante, S. H.; De Carvalho, M. G.; De Siqueira, J. A.; Alegrio, L. V.; Braz-Filho, R. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v.74, p.415-424, 2002.

Balunas, M.J.; Kinghorn, D.A. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sci.**, v.78, p.431-441, 2005.

Barros, S. B. M.; Teixeira, D. S.; Aznar, A. E.; Moreira, J. A. Jr.; Ishii, I.; Freitas, P. C. D. Antioxidant activity of ethanolic extracts of *Pothomorphe umbellata* L. Miq. (Pariparoba). **Cien. Cult**., v.48, n.1/2, p.114-116, 1996.

Barros, S.; Ropke, C. D.; Sawada, T. C. H.; Silva, V. V.; Pereira, S. M. M.; Barros, M. B. S. Assessment of acute and subchronic oral toxicity of extract of *Pothomorphe umbellata* L. Miq. (Pariparoba). **Braz. J. Pharm. Sci.,** v.41, p.53-61, 2005.

Baurin, N.; Arnoult, T.; Scior, Q. T.; Bernard, Do P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. **J. Ethnopharmacol**., v.82, p. 155-158, 2002.

Bezerra, J. C. B., Silva, I. A.; Ferreira, H. D.; Ferri, P. H.; Santos, S. C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, v.73, p.428-430, 2002.

Botion, L. M.; Ferreira, A. V. M.; Côrtes, S. F.; Lemosa, V. S.; Braga, F. C. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina® on lipid metabolism and intestinal tonus. **J. Ethnopharmacol.,** v.102, p. 137-142, 2005.

Brandão, M. G. L.; Zanetti, N. N. S.; Oliveira, P.; Grael, C. F. F.; Santos, A. C. P.; Monte-mór, R. L. M. Brazilian medicinal plants described by 19th century european naturalists and in the official pharmacopoeia. **J. ethnopharmacol**., v. 120, n. 2, p. 141-148, 2008.

Braga, F. C. Pesquisa Fitoquímica *in* Leite, J. P. V. (editor) **Fitoterapia – Bases Científicas e Tecnológicas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009. 328p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 14**, de 31 de março de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Ciências, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC)**. Brasília, DF, 2006[a], 49p.

BRASIL. **Decreto Presidencial nº 5.813**, de 22 de junho de 2006. Brasília, DF, 2006[b].

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006[c]. 148 p.

Calixto, J. B.; Siqueira Jr., J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: Desafios. **Gaz. Méd. Bahia**, v.78 (Suplemento 1), p.98-106, 2008.

Carvalho, A. C. B.; Balbino, E. E.; Maciel, A.; Perfeito, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn**., v.18, n.2, p.314-319, 2008.

Carvalho, A. C. B.; Perfeito, J. P. S., Costa e Silva, L. V.; Ramalho, L. S.; Marques, R. F. de O.; Silveira, D. New

Brazilian rules for herbal medicines **BLACPMA,** v.9, n.3, 238-241, 2010.

Castro, A. A. J. F., Martins, F. R., Tamashiro, J. Y., Shepherd, G. J. *How rich is the flora of Brazilian Cerrados?* **Ann. Miss. Bot. Gard.,** v.86, n.1, p. 192-224, 1999.

Consolini, A. E.; Baldini, O. A.; Amat, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L.(Myrtaceae) as antihypertensive. **J. Ethnopharmaco**l., v. 66, p. 33-39, 1999.

Consolini, A. E.; Sarubbio, M. G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat' heart. **J. Ethnopharmacol**., v. 81, p. 57-63, 2002.

Cesarone, M. R.; Incadela, L.; Desanctis, M. T.; Belcaro, G.; Griffin, M.; Ippolito, E.; Acerbi, G. Treatment of edema and increased capillary filtration in venous hypertension with HR (Paroven, Venoruton, *o*-(betahydroxyethyl)-rutosides): a clinical, prospective, placebo-controlled, randomized, dose-ranging trial. **J. Cardiovasc. Pharmacol**., v.s7, p.s21–s24, 2002.

Corrêa, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. 747p.

Cuendet, M.; Pezzuto, J. M. Antitumor Activity of Bruceantin: An Old Drug with New Promise. **J. Nat. Prod**. v. 67, 269-272, 2004.

Cruz, D. L.; Gemma, M. **Plantas medicinais de Mato Grosso**, Cuiabá: Carlini Caniato, 2008. 224p.

Cunha, A. *P.* da; Silva, A. P. da; Roque, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia.** *Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. 701 p.*

Ekong, R. M.; Kirby, G. C.; Patel, G.; Phillipson, J. D.; Warhurst, D. C. Comparison of the *in vitro* activities of quassinoids with activity against *Plasmodium falciparum*, anisomycin and some other inhibitors of eukaryotic protein synthesis. **Biochem. Pharmacol**. v.40, p.297-301, 1990.

Falcão, H. S.; Lima, I. O.; Santos, V. L.; Dantas, H. F., Diniz, M. F. F. M., Barbosa-Filho, J. M., Batista, L. M. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Rev. Bras. Farmacogn.,** v.15, p. 381-391, 2005.

Féres, C. A. O.; Madalosso, R. C.; Rocha, O. A.; Leite, J. P. V.; Guimarães, T. M. D. P.; Toledo, V. P. P.; Tagliati, C. A. Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. **J. Ethnopharmacol**., v.108, p.450-456, 2006.

Fernandes, M. Z. L. C. M.; Fernandes, R. M.; Viana, G. E. N. Lopes, J. B. Determinação da toxicidade aguda (DL_{50}) do extrato aquoso da *Simarouba versicolor* St. Hill, em camundaongos. **Rev. Bras. Pl. Med**., v.6, n.48-51, 2004.

Ferraro, G. E.; Norbedo, C.; Coussio, J. D. Polyphenols from *Achyrocline satureioides.* **Phytochemistry**, v.20, p.2053-2054, 1981.

Flora Brasiliensis. Disponível em:< http://flora.cria.org.br>. – Acesso em:26/08/2010.

Fukamiya, N.; Lee, K.-H.; Muhammad, I.; Murakami, C.; Okano, M.; Harvey, I.; Pelletier, J. Structure–activity relationships of quassinoids for eukaryotic protein synthesis. **Cancer Lett**., v.220, n.1, p.37-48, 2005.

Garcia, G. H.; Cavallaro, L.; Broussalis, A.; Ferraro, G.; Martino, V.; Campos, R. Biological and chemical characterisation of the fraction with antiherpetic activity from *Achyrocline flaccida.* **Planta Med.** v.65, p.343-346, 1999.

Ghosh, P. C.; Larrahondo J.; LeQuesne, P.W.; Raffauf, R. F. Antitumor plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. Lloydia**, v.40, n.4, p.364-369, 1977.**

Gottlieb, O. R.; Borin, M. R. M. B.; Pagotto, C. L. A. C.; Zocher, D. H. T. Biodiversidade: o enfoque interdisciplinar brasileiro. Cien. *Saude Colet*.**, v.3, n.2, p.97-102, 1998.**

Guardia, T.; Rotelli, A. E.; Juarez, A. O.; Pelzer, L. E. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effect of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. **Il Farmaco**. v.56, 683-687, 2001.

Guo, Z.; Vangapandu, S.; Sindelar, R. W.; Walker, L. A.; Sindelar, R. D. Biologically Active Quassinoids and Their Chemistry: Potential Leads for Drug Design. **Curr. Med. Chem**., v.12, p.173-190, 2005.

Guimarães, E. F.; Carvalho-Silva, M.; Monteiro, D.; Medeiros, E. 2010. *Piperaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB012735).

Hall, I. H.; Lee, K. H.; Imakura, Y.; Okano, M.; Johnson, A. Antiinflammatory Agents. III. Structure-activity relationships of brusatol and related quassinoids. **J. Pharm. Sci**., v.*72*, p.1282-1284, 1983.

Holetz, F. B.; Pessini, G. L.; Sanches, N. R.; Cortez, D. A. G.; Nakamura, C. V.; Dias, B. P. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

IBGE.Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=169 >. Acesso em 15/08/2010.

Isobe, T.; Ohsaki, A.; Nagata, K. Antibacterial constituents against *Helicobacter pylori* of Brazilian medicinal plant, pariparoba. **Yak. Zass***.,* v.122, n.4, p.291-294, 2002.

Koeh, F. E.; Carter, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nat. Rev. Drug Discov**., v.4, p.206-220, 2005.

Kumar, V.; Mahajan, A.; Chibale, K. Synthetic medicinal chemistry of selected antimalarial natural products. **Bioorg. Med. Chem**. v.17, p.2236–2275, 2009.

La Casa, C.; Villegas, I.; Lastra, A. L.; Motilva, V.; Calero, M. J. M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **J. Ethnopharmacol**., v. 71, p.45-53, 2000.

Laemmel, E.; Stucker, O.; Pons, C.; Duverger, J. P.; Dedieu, F.; Leutenegger, E.; Consequences microcirculatoires d'une striction veineuse chez le rat effet d'une association coumarine–rutine. **J. Maladies Vascul**., v.23, p.176-182, 1998.

Lam; K. S. New aspects of natural products in drug discovery. **Trends Microbiol**., v.15, p.279-88, 2007.

Lee, M.-H.; Nishimoto, S.; Yang, L.-L.; Yen, K.-Y.; Hatano, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora.* **Phytochemistry**, v. 44, n.7, p. 1343-1349, 1997.

Lee, K-H. Novel antitumor agents from higher plants. **Med. Res. Rev**., v.19, p.569-596, 1999.

Lee, K. Current development in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product leads. **J. Nat. Prod.**, v.67, p.273-283, 2004.

Li, J. W.-H.; Vederas, J.C. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless Frontier? **Science**, v.325, p.161-165, 2009

Lima, H.C. de 2010. *Dimorphandra in* **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB078675).

Lima, L. B.; Vasconcelos, C. F. B.; Maranhão, H. M. L.; Leite, V. R.; Ferreira, P. A.; Andradeb, B. A.; Araújo, E. L.; Xavier, H. S.; Lafayette, S. S. L.; Wanderley, A. G. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. **J. Ethnopharmacol.**, v.126, p.468-473, 2009.

Lopes, G. C.; Nakamura, C. V.; Dias Filho, B. P.; Mello, J. C. P. Estudos físico-químico, químico e biológico de extratos das cascas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (Leguminosae). **Rev. Bras. Farmacogn**., v.13, p.

24-27, 2003.

Lorenzi, H.; Matos, F.J. de A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 511p.

Luz, A. I. R.; Da Silva, J. D.; Zoghbi, M. G. B.; Andrade, E. H. A.; Da Silva, M. H. L.; Maia, J. G. S. Volatile constituents of Brazilian Piperaceae, part 5. The oils of *Pothomorphe umbellata* and *P. peltata*. **J. Essen. Oil Research**, v.11, n.4, p. 479-481, 1999.

Matos, F. J. A. (Org.) **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2004. 448p.

Mello, J. P.; Petereit, F.; Nahrsted, A. A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 3, p.1105-1107, 1999.

Mello, J. P.; Petereit, F.; Nahrsted, A. Flavan-3-ols and rodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 3, p.807-813, 1996[a].

Mello, J. P.; Petereit, F.; Nahrsted, A. Prorobinetidinas from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 3, p.857-862, 1996[b].

Mendes, F. R.; Carlini, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **J. Ethnopharmacol**., v.109, p.493-500, 2007.

Mendonça, R. C.; Felifili, J. M.; Walter, B. M. T.; Silva Júnior, M. C.; Rezende, A. B.; Filgueiras, T. S.; Nogueira, P. E. Flora Vascular do Cerrado. 1998. 289-556 p.. In: Sano, S. M.; Almeida, S.P. (Eds.) **Cerrado, ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa, 1998. p.289-556.

Mesquita, M. L.; Paula, J. E.; Pessoa, C.; Moraes, M. O.; Costa-Lotufo, L. V.; Grougnet, R.; Michel, S.; Tillequind, F.; E., L. S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. **J. Ethnopharmacol**., v.123, p.439-445, 2009.

Montanari, J. I.; Magalhães, P. M.; Queiroga, C. L. Influence of plantation density and cultivation cycle in root productivity and tenors of betaecdisone in *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Acta Hortic**., v.3, p.125–129, 1999.

Moraes, M.; Akisue, S.; Oliveira, M. B.; Akisue, F.G. Chromatographic characterization of crude drug and fluid extract of *Pothomorphe umbellate* (L.) Miq. **Farm. Química**., v.24, p.1-9, 1984.

Myers, N.; Mittermeler, R. A.; Mittermeler, C. G.; Fonseca, G. A. B.; Kentet, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature,** v.403, p.853-858, 2000.

Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **J. Nat. Prod**., v. 70, p. 461-477, 2007.

Oga, S.; Freitas, P. C. D.; Silva, A. C. G.; Hanada, S. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata.* **Planta Med**., v.50, p. 303-306, 1984.

Okano, M.; Fukamiya, N.; Lee, K. H. Bioactive quassinoids. **Stud. Nat. Prod. Chem**., v.23, p.285-333, 2000.

Oliveira, A. L.; Lopes, R. B.; Cabral, F. A.; Eberlin, M. N. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.) **Food Chem**., v. 99, n.1, p.1-5, 2006.

Pathak, D.; Pathak, K.; Singla, A. K. Flavonoids as medicinal agents. Recent advances. **Fitoterapia**., v.61, p.371–389, 1991.

Perazzo, F.F.; Souza, G.H.; Lopes, W.; Cardoso, L.G.; Carvalho, J.C.; Nanayakkara, N.P.; Bastos, J.K. Anti-inflammatory

and analgesic properties of water-ethanolic extract from *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) aerial parts. **J. Ethnopharmacol**., v.99, n.2, p.215-220, 2005.

Pessoa, C. Antiproliferative effects of compounds derived from plants of Northeast Brazil **Phytother. Res,**. v.14, p.187-191, 2000.

Ratter, J. A.; Ribeiro, J. F.; Bridgewater, S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. **An. Bot.,** v.80, p.223-230, 1997.

Rebecca, M. A.; Ishii-Iwamoto, E. L.; Kelmer-Bracht, A. M.; Caparroz-Assef, S. M.; Cuman, R. K. N.; Pagadigorria, C. L. S.; Mello, J. C. P.; Bracht, A.; Bersani-Amado, C. A. Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) on energy metabolismin the rat liver. **Toxicol. Lett**., v.143, p.55-63, 2003.

Renton, S.; Leon, M.; Belcaro, G.; Nicolaides, A. N. The effect of hydroxyethylrutosides

on capillary filtration in moderate venous hypertension: a double blind study. **J. Int Union Angiol**. v.13, p.259-262, 1994.

Rezende, K. R.; Barros, S. B. M. Quantification of 4-nerolydylchatecol of *Pothomorphe umbellata* (Piperaceae) in rat plasma samples by HPLC UV. **Braz. J. Pharm. Sci.,** 40, 373-380, 2004.

Rizini, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos. São Paulo: Âmbito Cultural Edições Ltda, 1997. 747p.

Rizzini, C.T. A flora do cerrado, análise florística das savanas Centrais. In: **Simpósio sobre o Cerrado**. São Paulo: Universidade de São Paulo/ Edgard Blücher, p.125-177. 1963.

Roersch, C. M.F.B. *Piper umbellatum* L.: A comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. **J. Ethnopharmacol**., In Press, 2010.

Ropke, C.D.; Sawada, T.C.; Silva, V.V.; Michalany, N.S.; Barros, S.B.M. Photoprotective effect of *Pothomorphe umbellata* root extract against ultraviolet radiation induced chronic skin damage in the hairless mouse. **Clin. Exper. Dermat**., v.30, n.3, p.272-276, 2005.

Ropke, C. D.; Ostrosky, E. A.; Kaneko, T. M.; Camilo, C. M.; Sawada, T. C. H.; Barros, S. B. M. Validação de metodologias analíticas para determinação quantitativa de a-tocoferol e 4-nerolidilcatecol. **Braz. J. Pharm. Sci**. v.39, p.209-217, 2003.

Roseghini, R.; Rocha, D. S.; Clarêncio, J.; Costa, S. L.; Costa, M. F. D.; Tardy, M.; Nascimento, R.; Schaer, R.; Velozo, E.; Meyer, R.; Freire, S. Flavonoid Rutin Alters the Viability and Function of Mitogen-Stimulated Splenocytes and Thymocytes Compared with Non Stimulated Cells. **Immunopharm. Immunotoxicol**., v.29, p.271-285, 2007.

Roy, H.-Y. Land use and biodiversity relationships. **Land Use Pol.,** v.26S, p. S178–S186, 2009.

Santos, A. L. G.; Ripoll, D.; Nardi, N.; Bassani, V. L. Immunomodulatory effect of *Achyrocline satureioides* (Lam) DC aqueous extracts. **Phytother. Res.**, v.13, p. 65-66, 1999.

Schapoval, E. E. S.; Silveira, S. M.; Miranda, M. L.; Alice, C. B.; Henriques, A. T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. **J. Ethnopharmacol**., v.44, p.137-142, 1994.

Schmeda-Hirschmann, G; Theoduloz, C.; Franco, L.; Ferro, E.; Arias, R. A. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. **J. Ethnopharmacol.**, v.21, p.183-186, 1987.

Sheu, J. R.; Hsiao, G.; Chou, P. H.; Shen, M. Y.; Chou, D. S. Mechanisms involved in the antiplatelet activity of rutin, a glycoside of the flavonol quercetin, in human platelets. **J. Agric. Food Chem.** v.52, p.4414-4418, 2004.

Simões, C. M.; Schenkel, E. P., Bauer, L.; Langeloh, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides*

(Lam.) DC, Compositae. **J. Ethnopharmacol.**, v.22, p. 281-293, 1988.

Sobral, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., Lucas, E. 2010. *Myrtaceae in* **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB010560>.

Souza, T. M.; Moreira, R. R. D.; Pietro, C. L. R., Isaac, V. L. B. Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Rev. Bras. Farmacogn**., v.73, n.1, p.71-75, 2007.

Teske, M.; Trentini, A. M. M. **Compêndio de fitoterapia**. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1995. 317 p.

Weissman, K. J.; Leadlay, P.F. Combinatorial biosynthesis of reduced polyketides. **Nat. Ver. Microbiol**. v.3, p.925-936, 2005.

Wilson, E.O. 1988. **The current state of biological diversity**. In *Biodiversity*, ed. E.O Wilson, 3-18. Washington, D.C.: National Academy Press.

Wolfender, J. L.; Queiroz, E. F.; Hostettmann, K. The importance of hyphenated techniques in the discovery of new lead compounds from nature. **Expert Opin. Drug Discov**., v.1, p.237-260, 2006.

Tabela 1. Plantas do cerrado que entram na composição de formulações fitoterápicas comercializadas no Brasil.

PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS POPULARMENTE NO BRASIL PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER

Eduardo Antonio Ferreira
Eduardo Benedetti Parisotto
Fernanda Biscaro
João Francisco Gomes Correia
Karina Bettega Felipe
Maicon Roberto Kviecinski
Mirelle Sifroni Farias
Nádia Cristina Falcão Bücker
Rozangela Curi Pedrosa
Tania Mara Fisher Gunther

INTRODUÇÃO

O câncer é a denominação de um conjunto de mais de cem doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado (maligno) de células que invadem tecidos e órgãos, podendo migrar (metástase) para outras regiões do corpo. Essas células dividem-se rapidamente, tendendo a ser muito agressivas e de crescimento incontrolável, o que determina a instalação de neoplasias malignas. De acordo com a Organização Mundi-

al de Saúde (WHO) em 2008, cerca de 7,9 milhões de pessoas morreram em decorrência do câncer e aproximadamente 72% dessas mortes por câncer ocorreram em países de baixa e média renda. Estimativas preveem que esse número deverá aumentar para 12 milhões até 2030 (WHO, 2009). No Brasil, segundo Instituto Nacional de Câncer (INCA), as estimativas, para o ano de 2010, apontam para uma ocorrência de aproximadamente 489 mil novos casos de câncer (MINISTÉRIO DA SAÚDE/INCA, 2009).

O tratamento dos cânceres é considerado como um dos problemas mais desafiadores da medicina moderna (CHABNER & ROBERTS, 2005), caracterizada do ponto de vista molecular por desvios nos mecanismos de controle da proliferação e diferenciação das células, como também nos processos de morte celular (MOFFAT *et al.*, 2000; BENITES *et al.*, 2009). Sendo assim, o câncer é considerado basicamente uma doença celular onde o crescimento desregulado das células cancerosas é resultado da aquisição sequencial de mutações somáticas em genes que controlam o crescimento e a diferenciação celular. A evolução dessa doença ocorre através do acúmulo adicional de danos em genes que codificam a maquinaria celular resultando em clones cada vez mais aberrantes até o aparecimento final de um fenótipo maligno.

A utilização de agentes antineoplásicos está entre as medidas terapêuticas mais adotadas para o controle e tratamento do câncer, entretanto seus resultados são limitados e apresentam muitos efeitos colaterais (CARMELIET & JAIN, 2000; SANTOS JUNIOR *et al.*, 2010). Dessa forma, o desenvolvimento de novos fármacos para o controle e tratamento dessa doença é desejável. Nesse sentido, as plantas medicinais são consideradas bastante promissoras, uma vez que têm sido importantes fontes de substâncias que podem ser utilizadas como protótipos na pesquisa de novos fármacos com atividade antitumoral (HARVEY, 2008; SANTOS JUNIOR *et al.*, 2010).

De acordo com Calixto (2003), aproximadamente 70% dos fármacos antitumorais existentes no mercado atualmente, são derivados de plantas. Assim, vários são os exemplos de produtos obtidos a partir de plantas que levaram ao desenvolvimento de alguns quimioterápicos muito eficazes como a vimblastina e a vincristina (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don), a podofilotoxina, os análogos etoposídeo e teniposídeo (*Podophyllum peltatum* L.), camptotecina (*Camptotheca acuminata* Decne.) e o taxol (*Taxus brevifolia* Nutt.), dentre outros (DE MESQUITA *et al.*, 2009).

Entretanto, apesar de várias substâncias naturais com importância terapêutica terem sido isoladas das plantas da flora brasileira, as investigações científicas relacionadas aos estudos fitoquímicos, bioquímicos e farmacológicos destas plantas com atividade antitumoral ainda estão aquém do potencial de nossa flora (BLOCK *et al.*, 1998). Poucos também são os estudos etnofarmacológicos e relatos científicos a respeito de plantas medicinais nativas do Brasil de uso popular no tratamento de tumores, sendo que alguns dados a esse respeito são apresentados na tabela 1.

Por outro lado, além dessas plantas nativas, existe uma variedade de espécies exóticas que foi introduzida na cultura brasileira e é utilizada como agente antitumoral (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2010). Na tabela 2, são apresentadas algumas das plantas medicinais exóticas cujo uso popular como antitumoral no Brasil é referenciado na literatura científica.

A seguir são apresentados alguns resultados obtidos com estudo *in vitro* e *in vivo* de quatro plantas medicinais nativas popularmente utilizadas no Brasil para o tratamento de tumores cuja possível atividade antitumoral está sendo avaliada por nosso grupo de pesquisa.

TABELA 1. Plantas medicinais nativas do Brasil utilizadas popularmente como agente antitumoral

Nome científico	Nomes populares	Referência bibliográfica
Annona muricata L.	Araticum, fruta-do-conde, nona, graviola, jaca-de-pobre	Lorenzi e Matos, 2002
Brassica campestris L.	Mostarda	Martins et al., 2000
Bidens pilosa L.	Picão preto	Kviecinski et al., 2008
Casearia sylvestris Sw.	Guaçatonga	De Carvalho et al.; 1998
Cordia verbenacea DC.	Erva baleeira, catinga-de barão, catinga de mulata, salicilina	Salatino et al., 2007
Croton celtidifolius Baill.	Sangue-de-dragão, sangue de drago	Salatino et al., 2007
Dodonaea viscosa Jacq.	Vassoura-vermelha, faxina-vermelha, vassoura-do-campo	Mors, Rizzinni e Pereira, 2000
Euphorbia heterodoxa Müll. Arg.	Aveloz e mata-verrugas	Lorenzi e Matos, 2002
Himatanthus drasticus (Mart.) Plumel	Janaguba, janauba, jasmim-manga, sabéu-uma e tiborna	Lorenzi e Matos, 2002
Hyptis suaveolens (L.) Poit.	Alfavacão, alfazema-brava, salva-limão, erva-cidreira	Lorenzi e Matos, 2002
Maytenus ilicifolia (Schrad.) Planch.	Espinheira Santa	Lorenzi e Matos, 2002
Pfaffia sp. Mart.	Fáfia, para-tudo, suma, corrente, carango, sempre-viva, caxixe	Lorenzi e Matos, 2002
Schinus erebinthifolius Raddi	aroeira-mansa, aroeira-vermelha, aroeira-precoce, aroeira pimenteira	Araújo et al., 2007
Solanum paniculatum L.	Jurubeba, caapeba, joa-tica, jubeba, juvena, juveva, jurepeba, jurupeba	Schwontkowski, 1993
Tabebuia impetiginosa (Mart. ex DC.) Standl. *ou Tabebuia avellanedae Lorentz ex Griseb.*	Ipê roxo	Castelluci et al., 2000
Uncaria sp. Schreb.	Unha-de-gato, unha-de-cigana, carrapato-amarelo, garra-de-gavião	Ocampo, 1994

TABELA 2. Plantas medicinais exóticas de uso popular como agente antitumoral no Brasil.

Nome científico	Nomes populares	Referências bibliográficas
Allium sativum L.	Alho	Araújo et al., 2007
*Alpinia galanga (*L.) Willd.	Alpínia, galanga, galangal, gengibre-siamês	Lorenzi e Matos,2002
Arctium lappa L.	Bardana, baldrana, carrapicho-de-orelha-de-gigante, ruibarbo-cigano	Lorenzi e Matos,2002
*Calotropis procera (*Aiton) W.T. Aiton	Algodão de seda, hortência, ciumeira, leiteiro, queimadeira , janaúba	Lorenzi e Matos,2002
*Catharanthus roseus (*L.) G. Don	Boa-noite, boa-tarde, flor-de-todo-ano, lavadeira e vinca	Lorenzi e Matos,2002
Chelidonium majus L.	Celidônia, quelidônia, erva-das-verrugas, erva-dos-calos, erva-andorinha	Bown, 1995
Galium aparine L.	Aparine	Lorenzi e Matos,2002
Lycopersicon esculentum Mill.	Tomate	Teixeira e Melo, 2006
Aloe sp L.	Babosa	Araújo et al., 2007
Adiantum raddianum C. Presl	Avenca	Vendrusculo e Mentz, 2006
Stachytarpheta cayennensis (Rich.) Vahl	Gervão	Vendrusculo e Mentz, 2006

Bidens pilosa L.

Bidens pilosa L. é uma espécie vegetal anual da família Asteraceae que possui pequeno porte e vasta ocorrência natural, sendo nativa dos campos e terrenos baldios de áreas tropicais na América do Sul, África, Caribe e Filipinas. Sua denominação popular varia dependendo da localidade onde é encontrada. No Brasil, é mais conhecida como picão-preto. A planta possui caule ramoso, com folhas verdes lanceoladas opostas e flores amareladas aromáticas. Em muitos lugares, é considerada uma erva daninha, podendo ser invasora das plantações (VALDÉS &

REGO, 2001; CORRÊA, 1984).

O picão-preto possui longa história de utilidade diversa na medicina popular. Existem relatos de sua utilização por populações de Cuba, Bahamas, Amazônia e região meridional brasileira. Essa planta também é tradicionalmente empregada pela medicina chinesa. Praticamente todas as partes da planta são utilizadas nas preparações medicinais que são aplicadas por via tópica e/ou oral. Na Amazônia, é consagradamente utilizada pelos indígenas, dentre outros propósitos, para o tratamento de cirrose e hepatites associada à malária e para eliminar verminoses. Esses povos destacam ainda a atividade sobre feridas, intoxicações e o tratamento de tumores (KVIECINSKI *et al.*, 2008; YUAN *et al.*, 2008; VALDÉS & REGO, 2001; CORRÊa, 1984).

A *B. pilosa* tem sido objeto de estudos fitoquímicos que procuram identificar seus constituintes ativos e desenhar seus mecanismos de ação. De acordo com Valdés e Rego (2001), em se tratando do picão-preto, a grande diversidade de ações farmacológicas atribuídas popularmente deve-se possivelmente a grande variedade de compostos químicos presentes na planta. Os dados obtidos a partir de amostras coletadas em diferentes partes do mundo revelam que a espécie possui uma constituição fitoquímica complexa com peculiaridades sutis que são determinadas pelo local onde ela está a crescer. No entanto, os constituintes flavonoides e poliacetilênicos têm sido relatados como sendo constantes e majoritariamente identificados em amostras do vegetal (GROMBONE-GUARANTINI *et al.*, 2005).

Considerando *B. pilosa* como uma fonte potencial para a descoberta de novas moléculas-protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos de sucesso para o tratamento do câncer, a espécie tem despertado o interesse da comunidade científica por seus constituintes poliacetilênicos que podem ser os principais responsáveis por sua atividade antitumoral. Os poliacetilenos são hidrocarbonetos que, em princípio, funcionam como fitoalexinas, ou seja, uma substância relativamente tóxica que protege o vegetal que o sintetiza sob condição de estresse (HARBORNE, 1998). Alguns poliacetilenos já foram indicados como os principais responsáveis pelos efeitos parasiticidas de extratos de *B. pilosa* sobre *Plasmodium* sp. (BRANDÃO *et al.,* 1997). Adicionalmente, efeitos citotóxicos importantes sobre linhagens celulares transformadas em cultura também já foram relatados (ALVAREZ *et al.*, 1996).

A atividade antitumoral de *B. pilosa* já foi observada por um estudo realizado por Kviecinski *et al.*(2008) que demonstraram que alguns extratos apresentaram potencial citotóxico *in vitro* sobre células do carcinoma de Ehrlich em cultura e efeito antitumoral em camundongos portadores do mesmo carcinoma na sua forma ascítica. Esse estudo foi realizado sob forma de triagem para atividade antitumoral e aplicou extratos obtidos com diferentes solventes empregados em ordem crescente de polaridade para a obtenção de várias frações. A fração mais apolar, supostamente mais rica em poliacetilenos, foi justamente a indicada como a mais ativa. Em outro estudo realizado pelos mesmos autores, um extrato enriquecido em poliacetilenos foi obtido e administrado em camundongos transplantados com tumor por via intraperitoneal por nove dias (100mg/kg). Ao décimo dia, fez-se o estudo da atividade antitumoral através da medida do potencial do extrato testado para induzir fragmentação do DNA e, consequentemente, morte das células tumorais. Os resultados mais uma vez indicaram atividade antitumoral para *B. pilosa* e envolvimento de seus constituintes poliacetilênicos. Por princípio, o método empregado para avaliação do potencial para induzir dano ao DNA das células tumorais considera que as células que se encontram sob processo de morte induzida apresentam DNA fragmentado que, sob eletroforese, possui mobilidade alterada deslocando-se mais do que o DNA de células intactas, assim o núcleo das células danificadas. Com base

nessas características, um índice de dano ao DNA foi compilado para cada grupo de animais sob experimento, tendo sido observados 30% de fragmentação desse ácido nucleico no grupo de animais tratados com o extrato poliacetilênico de *B. pilosa* em comparação ao grupo controle negativo (Figura 1). Os animais tratados apresentaram um perfil de dano muito semelhante àquele observado no grupo de animais do controle positivo que, nesse caso, foram tratados com doxorrubicina.

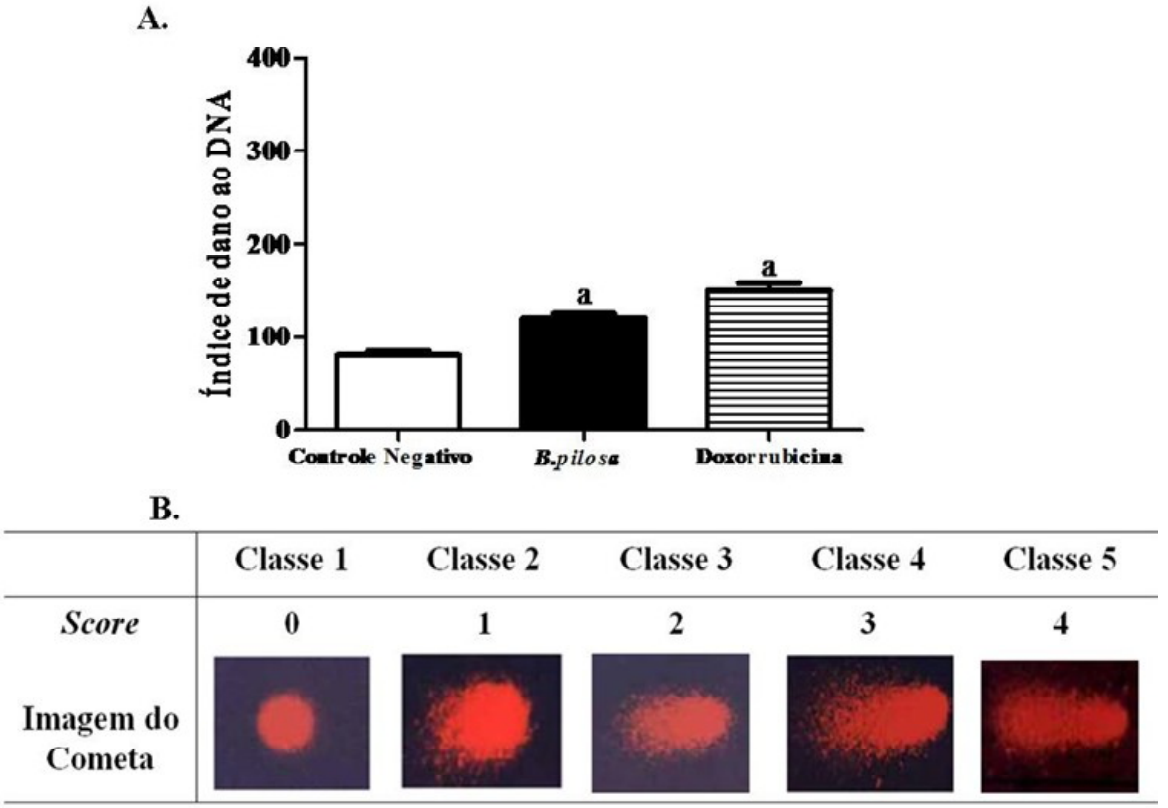


FIGURA 1. Índice de dano ao DNA em células tumorais de animais somente inoculados com o tumor ascítico de Ehrlich (controle negativo), grupo tratado com extrato de *Bidens pilosa* L. rico em poliacetilenos e controle positivo tratado com doxorrubicina (A); Exemplo das imagens dos cometas, sua classificação e *score* (B). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. (a) denota diferença estatística significativa em animais tratados quando comparados ao grupo controle negativo, $p<0,01$, n=6.

Finalmente, as informações de *B. pilosa* já compiladas, se consideradas de um modo geral, sugerem que essa espécie pode ser considerada uma planta medicinal promissora em se tratando da terapêutica do câncer. Como mencionado anteriormente, os achados experi-

mentais obtidos com a administração de seus extratos a animais transplantados com o tumor e em linhagens tumorais, até o momento, parecem apresentar-se bem alinhados com as alegações da medicina popular. A espécie apresenta justificativas suficientes para o progresso dos estudos no sentido de purificar os princípios ativos verdadeiramente úteis, caracterizá-los e, talvez, tomá-los como moléculas líderes ou protótipos para aprimoramento de atividade farmacológica e seletividade de efeito antineoplásico.

Casearia sylvestris Sw.

Casearia sylvestris Sw. trata-se de uma árvore pertencente à família Flacourtinaceae, sendo comumente encontrada na América tropical (MAISTRO *et al.*, 2004), inclusive no Brasil, onde é conhecida principalmente como guaçatonga, uma palavra originária do tupi-guarani, o que sugere o uso da planta por parte de comunidades indígenas brasileiras (ESTEVES *et al.*, 2005).

C. sylvestris é utilizada na medicina popular para diversas finalidades, incluindo seu uso como agente antitumoral, antisséptico, anestésico tópico, antitérmico, antiulcerativo, antiofídico e para o tratamento de herpes e síndromes diarreicas (BASILE *et al.*, 1990; ESTEVES *et al.*, 2005).

Muitos desses usos populares estão sendo corroborados pela comunidade científica, particularmente seu uso como agente antitumoral, uma vez que foi observada atividade citotóxica da planta sobre diversas linhagens tumorais (DA SILVA *et al.*, 2008; DE MESQUITA, 2009). Investigações realizadas no Laboratório de Bioquímica Experimental-UFSC demonstraram atividade citotóxica para o extrato bruto e fração clorofórmica obtidos das folhas da *C. sylvestris*, sobre células do carcinoma de Ehrlich cultivadas *in vitro*, bem como a capacidade desses extratos em regredir o crescimento do tumor ascítico de Ehrlich inoculado em camundongos isogênicos Balb/C.

Como pode-se observar na figura 2, tanto a fração clorofórmica quanto o extrato bruto da *C. sylvestris* promoveram uma citotoxicidade significativa sobre as células do carcinoma de Ehrlich quando avaliado pelo ensaio de redução do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5 difeniltetrazolium bromide), podendo-se observar a elevação do efeito citotóxico de acordo com o aumento da concentração dos extratos. O extrato que demonstrou ser mais efetivo nesse parâmetro trata-se da fração clorofórmica. Entretanto, o tratamento com o extrato bruto nas concentrações de 500 e 1.000 µg/mL foi capaz de reduzir a viabilidade celular para 2,9 e 2,3%, respectivamente, enquanto que o tratamento com fração clorofórmica nessas concentrações foi capaz de reduzir a viabilidade celular para aproximadamente 40%.

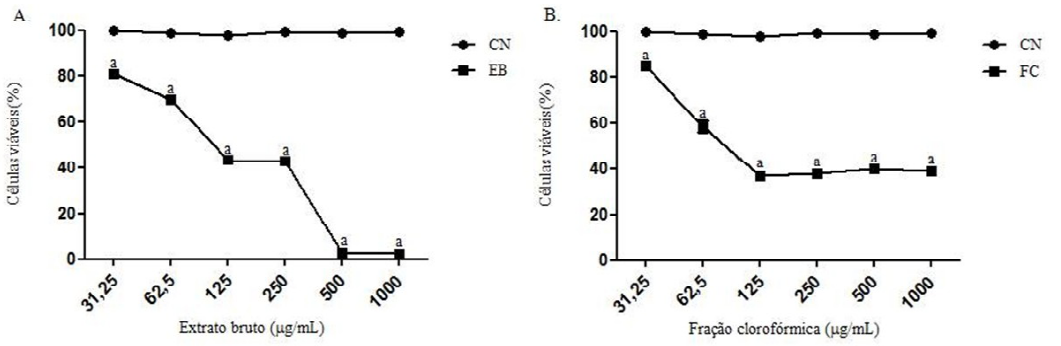


FIGURA 2. Efeito (A) do extrato bruto (EB) e (B) fração clorofórmica (FC) (32,5 – 1000 µg/mL) de *Casearia sylvestris* Sw. sobre a viabilidade celular no carcinoma de Ehrlich após 24 horas de tratamento avaliada pelo método do MTT. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. (a) denota diferença estatística significativa ($p < 0,01$) em relação ao controle negativo, n=3.

Em relação ao efeito dos extratos sobre o crescimento do carcinoma ascítico de Ehrlich, pode-se observar que o tratamento dos animais com o extrato bruto e fração clorofórmica (150mg/kg) aumentou significativamente o percentual de inibição do crescimento do tumor em torno de 58,8 e 41,2%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle negativo (Figura 3). Entretanto, nenhum dos extratos foi capaz de reverter totalmente a progressão do tumor como foi observado no tratamento realizado com o grupo controle positivo, tratado com doxorrubicina. Apesar de a fração clorofórmica ter apresentado uma citotoxicidade maior que o extrato bruto no ensaio do MTT, essa fração promoveu um percentual de inibição do crescimento tumoral (41,2%) inferior ao apresentado pelo tratamento com extrato bruto (58,8%).

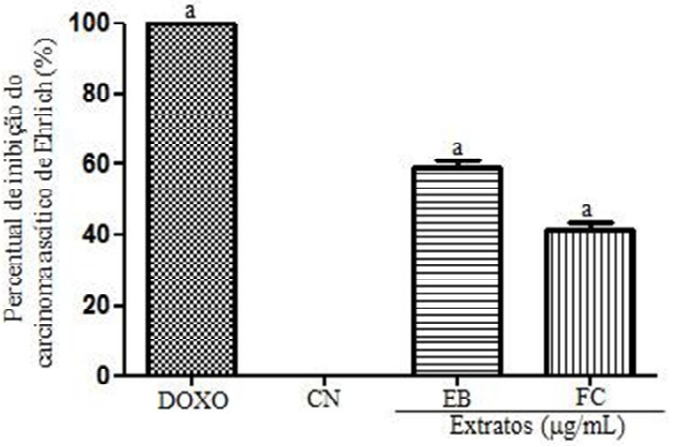


FIGURA 3. Percentual de inibição do crescimento do carcinoma de Ehrlich em camundongos tratados com extrato bruto (EB) e fração clorofórmica (FC) (150mg/kg) de *Casearia sylvestris* Sw. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. (a) denota diferença estatística significativa ($p < 0,01$) em relação ao controle negativo, n=6.

Relatos presentes na literatura sugere que o efeito antitumoral apresentado pelo extrato bruto e fração clorofórmica de *C. sylvestris* esteja relacionado à presença de compostos com atividade citotóxica e antitumoral nas folhas da planta, como diterpenos clerodânicos, sesquiterpenos (α-humuleno e β-cariofileno) e derivados do ácido gálico, os quais devem estar presentes em uma maior concentração no extrato bruto, o que justifica o proeminente efeito antitumoral desse extrato em relação aos efeitos mediados pela fração clorofórmica.

Dentre os diterpenos clerodânicos isolados das folhas de *C. sylvestris,* os mais conhecidos e estudados tratam-se das casearinas. Estudos têm evidenciado a atividade citotóxica das casearinas sobre diversos microrganismos e linhagens celulares (incluindo células tumorais) (ITOKAWA *et al.*, 1990; MORITA *et.al.*, 1991; DE CARVALHO *et al.*, 1998; FERREIRA, 2006; DOS SANTOS *et al.*, 2010). Além das casearinas, outros diterpenos clerodânicos vêm sendo isolados das folhas de *C. sylvestris*: as casearvestrinas (ORBELIES *et al.*, 2002) e a caseargrewiina F, a qual vem apresentando efeito citotóxico seletivo sobre diversas linhagens celulares tumorais (DOS SANTOS *et al.*, 2010).

Outros compostos de atividade citotóxica comprovada que foram identificados no óleo essencial das folhas dessa planta são os sesquiterpenos β-cariofileno e δ-humuleno, os quais mostraram citotoxicidade perante células A-549, DLD-1, M4BEU, HeLa, Bel-7402 e CT-26 (LEGAULT *et al.*, 2003; SYLVESTRE *et al.*, 2005; HOU *et al.*, 2006; SYLVESTRE *et al.*, 2006). Por fim, cabe ressaltar que dois derivados do ácido gálico, o isobutil galato-3,5-dimetil éter (IGDE) e o metil galato-3,5-dimetil éter (MGDE), isolados das folhas da *C. sylvestris*, demonstraram atividade citotóxica sobre células do carcinoma de Ehrlich cultivadas *in vitro* (DA SILVA *et al.*, 2009).

Em relação aos compostos que apresentam atividade antitumoral *in vivo* e que foram identificados nas folhas da planta, destacam-se os derivados do ácido gálico e os sesquiterpenos α-humuleno e β-cariofileno. Dados da literatura ressaltam que camundongos previamente inoculados com o tumor ascítico de Erlich e posteriormente tratados com derivados do ácido gálico (IGDE, MGDE), isolados das folhas de *C. sylvestis* ou com α-humuleno e β-cariofileno isolados do óleo volátil das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam.*,* apresentaram um aumento significativo do tempo de sobrevida quando comparados ao grupo controle negativo (DA SILVA *et al.*, 2009; DA SILVA *et al.*, 2007).

Cordia verbenacea DC.

Cordia verbenacaea DC. é uma planta da família das Boraginaceae, encontrada nas restingas marítimas de quase todo o litoral brasileiro, sendo mais comumente encontrada no trecho compreendido entre os estados de Santa Catarina e São Paulo, sendo conhecida popularmente como erva-baleeira, catinga-de-barão, catinga-de-mulata, salicilina e maria-pretinha (CARVALHO *et al.*, 2004; SERTIÉ *et al.*, 2005). Na medicina popular, suas folhas costumam ser

utilizadas para diversos fins, destacando-se o tratamento de inflamações e tumores (ARREBOLA *et al.*, 2004; FERNANDES *et al.,* 2007).

De acordo com Sertié *et al.* (1991 e 2005) e Ticli *et al.* (2005), os extratos de *C. verbenacea* exibiram importante atividade anti-inflamatória. Essa atividade provavelmente se deve à presença de sesquiterpenos isolados do óleo essencial dessa planta, α-humuleno e *trans*-cariofileno, os quais apresentaram habilidade de inibir a atividade da ciclooxigenase-2 (COX-2) e óxido nítrico sintase (iNOS) (FERNANDES *et al.,* 2007).

Por outro lado, a elevada expressão da COX-2 em células tumorais também tem sido implicada em vários eventos que promovem o câncer como alteração das células de adesão da matriz extracelular, da regulação do fator de crescimento endotelial vascular e resistência à indução de apoptose. Recentes estudos demonstraram uma possível correlação entre a superexpressão da COX-2 e a perda da regulação da apoptose em resposta à superexpressão dessa enzima (SUBHASHINI *et al.*, 2005). Além disso, ensaios clínicos e estudos epidemiológicos demonstraram que anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) diminuem o risco de câncer pela inibição da COX-2 ou, ainda, reduzem a forma preexistente dessa doença (SUBHASHINI *et al.*, 2005; BERNADI, 2006).

Sendo assim, um dos possíveis mecanismos para o efeito antitumoral de *C. verbenacea* seria devido à propriedade de inibição da COX-2, a qual é ativada via geração de EROs. Portanto, a inibição da COX-2 pode ativar a apoptose de células tumorais (reduzindo a expressão de Bcl-2, uma proteína antiapoptótica), impedir sua proliferação (reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias que sinalizam para a sobrevivência celular) e inibir a angiogênese (reduzindo a expressão de fator de crescimento endotelias vascular – VEGF) (DEMPKE *et al.*, 2001; WARIS & SIDDIQUI, 2005).

Baseado nessas evidências, nosso grupo de pesquisa investigou o possível efeito citotóxico da *C. verbenacea* sobre células MCF-7 (linhagem de células de câncer de mama humano) e o efeito antitumoral *in vivo* em camundongos Balb/C isogênicos inoculados com tumor ascítico de Ehrlich.

A avaliação da viabilidade celular em células MCF-7 tratadas com as diferentes concentrações de extrato bruto pelo ensaio de redução do MTT mostrou significativa atividade citotóxica em todas as concentrações analisadas quando comparadas com o controle negativo (Figura 4). Quispe-Condori *et al.* (2007) verificaram efeito de redução no crescimento celular em diversas linhagens de células, incluindo MCF-7, quando testados extratos supercríticos (ricos em α-humuleno e *trans*-cariofileno) dessa planta. Esse dois sesquiterpenos também exibiram importante citotoxicidade para células A-549, DLD-1, M4BEU, HeLa, Bel-7402 e CT-26 (LEGAULT e*t al.*, 2003; SYLVESTRE *et al.*, 2005; HOU *et al.*, 2006; SYLVESTRE *et al.*, 2006). Segundo Suffness e Pezzuto (1991), para ser citotóxico um composto deve apresentar CI_{50} menor que 200 μL/mL, fato este que foi observado em nossos ensaios com células MCF-7 expostas ao extrato bruto de *C. verbenacea*, obtendo uma CI_{50} de 187 μL/mL.

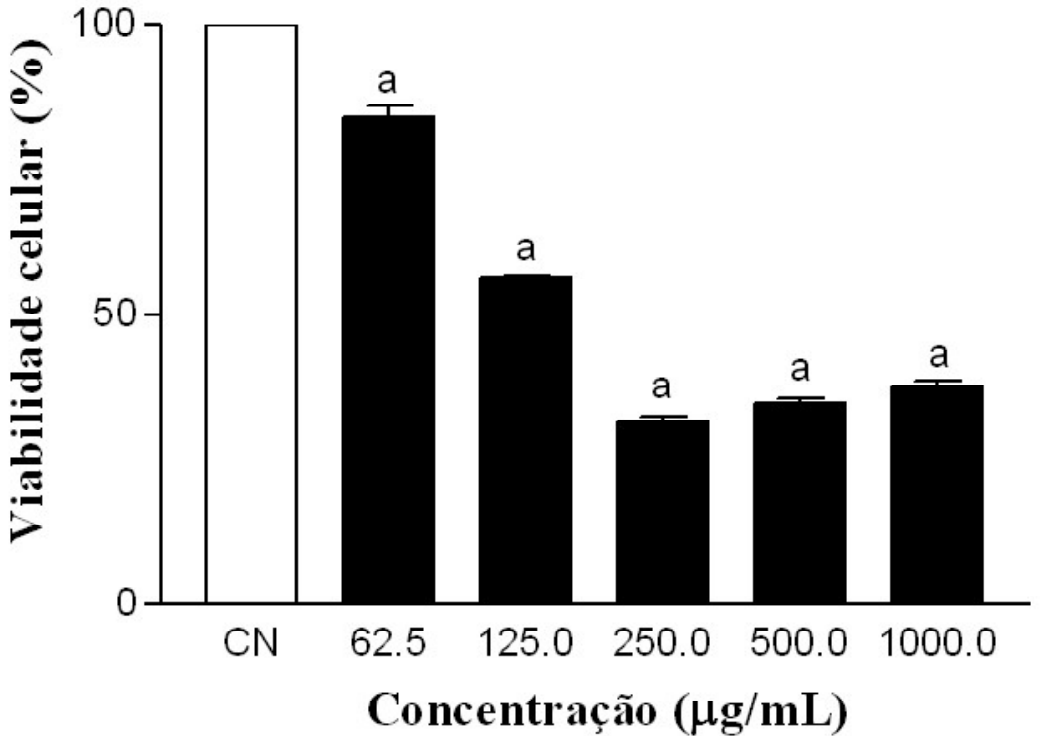


FIGURA 4: Efeito do extrato bruto de *Cordia verbenacea* DC. em diferentes doses testadas (48 horas de incubação) sobre a viabilidade de células MCF-7. Cada barra representa a média ± desvio padrão, n=3. (a) representa a diferença estatística ($p<0,01$) do tratamento comprado com o controle negativo (CN).

Ensaios *in vivo* realizados em extrato bruto dessa planta demonstraram importante efeito antitumoral nos camundongos inoculados com o tumor ascítico de Erlich (Tabela 3). O tratamento com extrato bruto quando comparado com um grupo controle não tratado reduziu significativamente o peso tumoral, a circunferência abdominal, o volume tumoral, o volume de células compactadas e a proporção de células por volume de tumor. Além disso, aumentou a relação células inviáveis/viáveis e o tempo médio de sobrevida dos animais. Um dos critérios de confiança mais aceitos pelo pesquisadores para julgar o valor de qualquer agente antitumoral é o aumento do tempo de sobrevida (TMS) dos animais (CLARKSON, BURCHENAL, 1965). Nesse estudo, a administração de extrato bruto de *C. verbenacea* aumentou significativamente a sobrevida dos animais, como foi demonstrado pelo aumento do percentual de longevidade quando comparado ao grupo controle não tratado.

TABELA 3: Efeito antitumoral obtido em camundongos inoculados com tumor ascítico de Ehrlich (TAE) em três diferentes concentrações de extrato bruto de *Cordia verbenacea* DC.

Parametros	CN	Extrato Bruto		
		37,5	75,0	150,0
Aumento do peso corporal (g)	10,45 ±1,13	10,17 ±2,20	4,25 ±3,94a	7,40 ±3,20
Aumento da circunferência abdominal (cm)	3,10 ±0,37	2,53 ±0,79	1,94 ±0,43a	1,60 ±1,04a
Volume de tumor (mL)	10,40 ±0,75	±1,88	6,76 ±2,l04a	7,00 ±1,48
Volume de células compactadas (mL)	3,25 ±1,70	3,20 ±0,27	1,80 ±0,47	1,90 ±0,42
Proporção de células/volume tumoral	0,312	0,335	0,268	0,271
Proporção de células inviável-viáveis	0,009±0,001	0,014±0,002a	0,020±0,001a	0,020±0,006a
TMS (dias)	13,50	15,00	14,50	14,50
PML (%)	0	7,0	7,40	11,10

Nota: Os valores representam à média ± desvio padrão (n=6). (ª) p<0,01 indica a diferença estatística em relação ao controle negativo (CN). PML é o Percentual Médio de Longevidade e TMS, o tempo de sobrevida.

Croton celtidifolius Baill.

A utilização de plantas denominadas popularmente como sangue-de-dragão é oriunda das civilizações mais antigas, como aquelas que habitavam Grécia, Roma e Arábia, devido às suas variadas propriedades medicinais. Essa terminologia tornou-se tão comum a ponto de fazer menção a diversas plantas que apresentam como característica um látex de cor avermelhada. Dentre algumas dessas plantas, pode-se citar *Daemonorops draco* (Willd.) Blume, de onde o látex é obtido a partir da sua fruta; *Croton lechleri* Müll. Arg. e *Croton gossypiifolius* Vahl, de onde o látex é extraído do caule (GUPTA *et al.*, 2008).

No Brasil, destaca-se a *Croton celtidifolius* Baill., que também recebe a denominação de sangue-de-dragão. Essa planta pertence à família Euphorbiaceae, sendo encontrada nas áreas de Mata Atlântica como nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, porém, em maior quantidade no sul do país, no estado de Santa Catarina (NARDI *et al.*, 2006, 2007).

A *C. celtidifolius* é uma árvore que apresenta folhas alternadas, pubescentes, rombiformes-ovadas, com duas grandes glândulas estipitadas na base, com cerca de 6,5-18 cm

de comprimento. Sua inflorescência aparece na forma de racemo com até 30cm de comprimento e com 1-10 flores que florescem de novembro a fevereiro com frutos de janeiro a março, sendo os últimos do tipo cápsula (CITADINI-ZANETTE & BOFF, 1992).

Popularmente acredita-se que essa planta apresente diversos efeitos terapêuticos como no caso de reumatismo, febre, dor, hipertensão, hipercolesterolemia e inclusive câncer onde se relata a sua utilização principalmente em casos de leucemias (DALBÓ *et al.*, 2005; SALATINO *et al.*, 2007). Cientificamente ainda são poucas as suas propriedades terapêuticas da *C. celtidifolius* já comprovadas, sendo que estudos relatam o efeito analgésico de frações obtidas da casca de *C. celtidifolius* e também propriedades antioxidante e anti-inflamatória de frações ricas em proantocianidinas (NARDI *et al.*, 2006, 2007). DalBó *et al.* (2005, 2006) descrevem o efeito antinociceptivo da fração rica em proantocianidinas sugerindo a participação de receptores dopaminégicos e das fibras C sensíveis à capsaicina como mecanismo de ação.

Muitas das plantas pertencentes à família Euphorbiaceae e ao gênero *Croton* L. demonstraram efeito relacionado à inibição tumoral. Segundo Sandoval *et al.* (2002) o látex de *C. palanostigma* Klotzsch possui efeito antiproliferativo sobre as células AGS, HT29 e T84 através de mecanismos que envolvem inibição da capacidade de adesão celular e indução de morte celular por apoptose. Da mesma forma, as espécies *C. lechleri* Müll. Arg. e *C. flavens* L. apresentaram atividade citotóxica ao promover redução da viabilidade celular das linhagens tumorais K562 e A-549; DLD-1, respectivamente (ROSSI *et al.*, 2003; SYLVESTRE *et al.*, 2006). Ainda existem relatos do efeito antitumoral de *C. urucurana* Baill. (PERES *et al.*, 1997), *C. draco* Schltdl. & Cham. (GUPTA *et al.*, 1996), *C. draconoides* Müll. Arg. e *C. erythrochilus* Müll. Arg. (PIACENTE *et al.*, 1998).

Em vista do potencial terapêutico apresentado por esse gênero associado à falta de conhecimento a respeito da constituição química e propriedades farmacológicas do látex da espécie *C. celtidifolius*, neste capítulo serão apresentados alguns resultados experimentais obtidos em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* utilizando camundongos isogênicos Balb-C.

A viabilidade celular analisada, *in vitro*, pelo ensaio do MTT permitiu verificar se o látex de *C. celtidifolius* testado em diferentes concentrações e tempos apresentaria atividade citotóxica sobre as células do carcinoma de Ehrlich. A partir dos resultados obtidos, foi possível observar que todas as concentrações testadas (32,5-1000 µg/mL) demonstraram efeito citotóxico de forma dose-dependente (Figura 5A).

Como ensaio complementar, a avaliação tempo-dependente (Figura 5B) permitiu comprovar esse efeito citotóxico *in vitro* do látex onde a viabilidade celular foi claramente reduzida à medida que o tempo decorrido tornou-se maior, atingindo uma redução de 51% na viabilidade em 48 horas de tratamento.

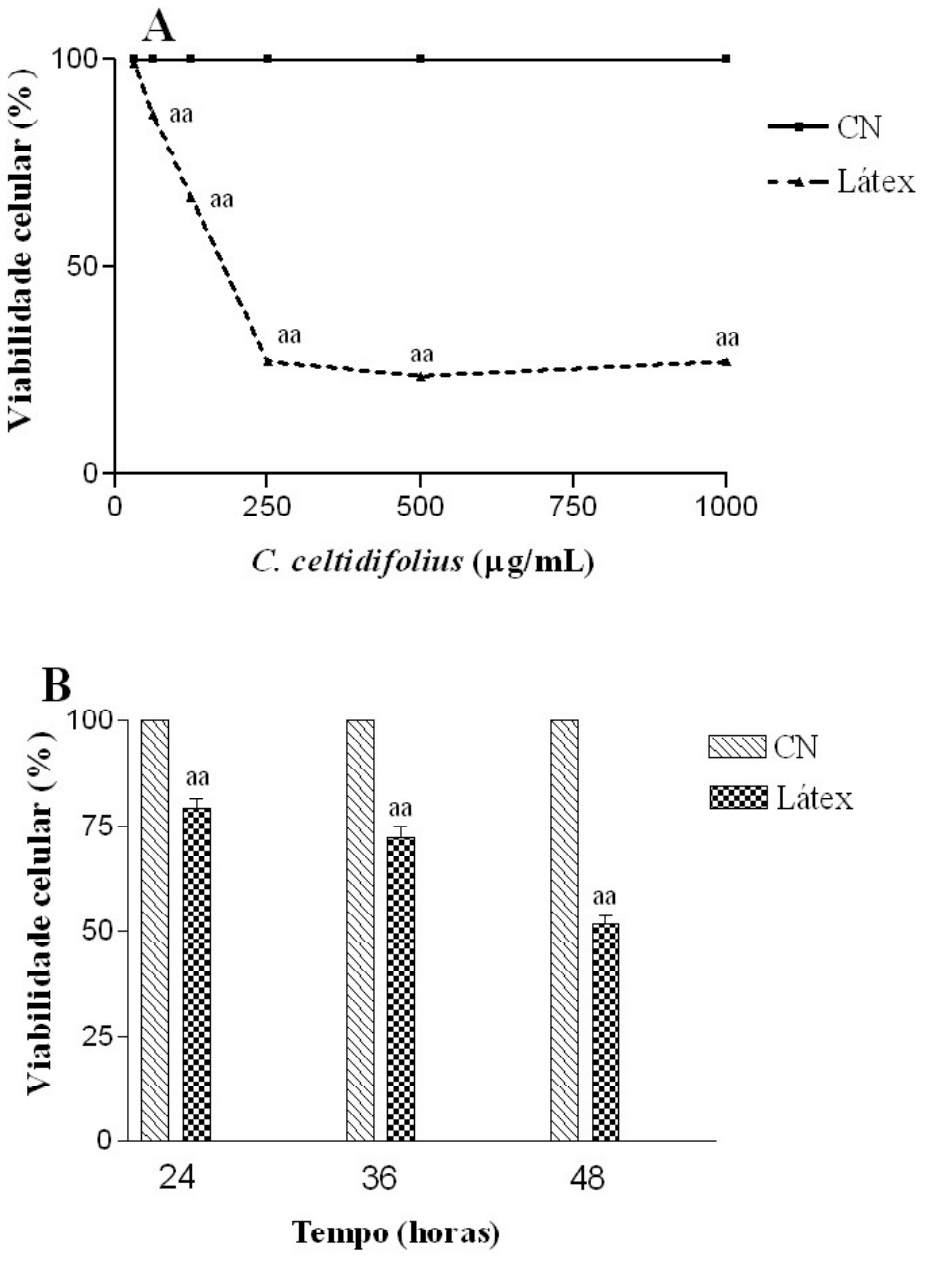


FIGURA 5. (A) efeito dose-dependente do látex de *Croton celtidifolius* Baill. (32,5 – 1000 µg/mL) sobre a viabilidade celular no Carcinoma de Ehrlich após 48h de tratamento. (B) efeito tempo-dependente do látex de *C. celtidifolius* (IC_{50}=169µg/mL) sobre a viabilidade celular no carcinoma de Ehrlich após 24, 36 e 48 horas de tratamento. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. (aa) representam diferença estatística ($p<0,01$) em relação ao controle negativo (meio de cultura), n = 3.

Ainda em busca de um possível efeito antitumoral, foram iniciados os experimentos relacionados ao tumor sólido de Ehrlich, *in vivo*, inoculado no coxim plantar dos animais, onde, após 10 dias de tratamento, foi possível observar que o látex de *C. celtidifolius* foi capaz de reduzir 46% o volume de tumor em relação ao controle negativo (solução salina) (Figura 6) .

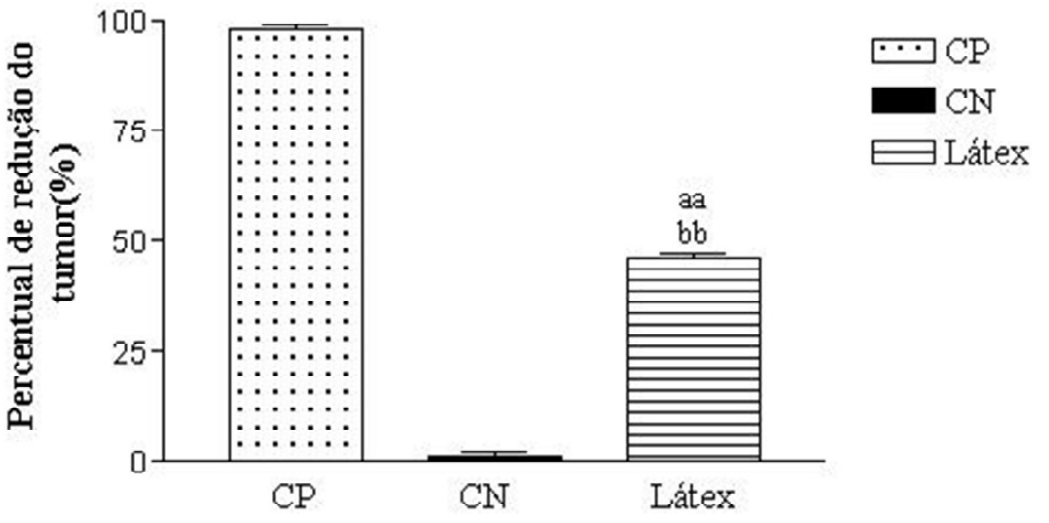


FIGURA 6. Percentual de redução do tumor sólido de Ehrlich após 10 dias de tratamento com o látex (3,12 mg/kg) de *Croton celtidifolius* Baill. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. (aa) e (bb) representam diferença estatística ($p<0,01$) em relação ao controle positivo (doxorrubicina) e ao controle negativo (salina), respectivamente, n=6.

Diante dos resultados apresentados, é possível sugerir que essa planta apresenta potencial como produto farmacológico antitumoral, uma vez que demonstrou efeitos citotóxicos *in vitro* e inibição do crescimento tumoral *in vivo*. Entretanto, deve-se ressaltar a necessidade da realização de mais experimentos para que a atividade antitumoral possa ser mais bem detalhada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora já existam fármacos consagrados no tratamento do câncer, nenhuma das abordagens terapêuticas atuais foi capaz de regredir completamente as diferentes manifestações dessa patologia, ou mesmo reduzir significativamente sua toxicidade, efeitos adversos e a

multirresistência à quimioterapia. Por outro lado, as plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos nos processos tumorais, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. O reconhecimento do valor das plantas medicinais, como recursos clínico, farmacêutico e econômico, tem incentivado diversos países a promover pesquisas tanto na validação do seu uso popular, quanto na identificação de novas moléculas-protótipo e produção de medicamentos fitoterápicos. Vista a imensa biodiversidade brasileira e o seu potencial desconhecimento, a seleção de espécies vegetais para pesquisa e desenvolvimento baseada na alegação de um dado efeito terapêutico pode se constituir em um valioso atalho para a descoberta de novos fármacos. A *Bidens pilosa* L.*, Casearia sylvestris* Sw.*, Cordia verbenacea* DC. *e Croton celtidifolius* Baill. são espécies vegetais que se inserem nesse contexto, pois possui em história de uso popular como antitumoral, e os dados aqui apresentados, bem como relatos de outros pesquisadores, validam parcialmente esse uso popular.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, L.; MARQUINA, S.; VILLARREAL, M.L.; ALONSO, D.; ARANDA, E.; DELGADO, G. Bioactive polyacetylenes from *Bidens pilosa*. **Planta Med**. v.62, n.4, p. 355-357, 1996.

ARAUJO, E. C.; OLIVEIRA, R. A. G.; CORIOLANO, A. T.; ARAUJO, E. C. Uso de plantas medicinais pelos pacientes com câncer de hospitais da rede pública de saúde em João Pessoa (PB). **Revista Espaço para a Saúde**, Londrina, v.8, n.2, p.44-52, jun.2007.

ARREBOLA, M.R.B.; PETERLIN, M.F.; BASTOS, D.H.M.; RODRIGUES, R.F.O.; CARVALHO, P. 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.

BASILE, A.C.; SERTIÉ, J.A.A.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T.T.; AZZOLINI, C.A. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris* –I: preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. **Journal of Ethopharmacology**, v. 30, p.185-197, 1990.

BERNADI, A.. **Efeitos anti-inflamatórios não-esteróides sobre a proliferação celular e atividade das ectonucleotidases em linhagens de gliomas.** 2006. 118 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BENITES, J.; VALDERRAMA, J. A.; TAPER, H.; CALDERON, P. B. Part 2: Influence of 2-Euryfuryl-1,4-naphthoquinone and Its peri-Hydroxy Derivatives on Both Cell Death and Metabolism of TLT Cells, a Murine Hepatoma Cell Line. Modulation of Cytotoxicity by Vitamin C. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. v. 57, n. 6, p. 615—619, 2009.

BLOCK, L.C.; SANTOS, A.R.; SOUZA, M.M. de; SCHEIDT, C.; YUNES, R.A.; SANTOS, M.A.; MONACHE, F.D.; FILHO, V.C. Chemical and pharmacological examination of antinociceptive constituents of *Wedelia paludosa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 85-89, 1998.

BOWN, D. **The Herb Society of America – Encyclopedia of Herbs & Their Uses**. Dorling Kindersley Publishing Inc.: New York, 1995.

BRANDÃO, M.G.L.; KRETTLI, A.U.; SOARES, L.S.R.; NERY,C.G.C.; MARINUZZI, H.C. Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene

and flavonoid compounds. **J.Ethnopharmacol.** v.57, p.131-138, 1997.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **A situação do câncer no Brasil/Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Instituto Nacional de Câncer, Coordenação de Prevenção e Vigilância**. Rio de Janeiro: INCA, 2009.

CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**. v.55, n.3, 2003.

CARMELIET, P.; JAIN, R.K.. Angiogenesis in cancer and other diseases. **Nature**, v. 14, n. 407(6801), p. 249-57, 2000.

CARVALHO JUNIOR, 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**, n 95. , p.297-301, 2004.

CASTELLUCCI, S.; LIMA, M. I. S.; NORDI, N.; MARQUES, J. G. W. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na estação ecológica Jataí, município de Luis Antônio/SP: uma abordagem rtnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 3, n. 1, p. 51-60, 2000.

CHABNER, B.A.; ROBERTS, T.G. Jr. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. **Nature Reviews Cancer**. v. 5, p. 65-72, 2005.

CITADINI-ZANETTE, V.; BOFF, V. P. **Levantamento florístico em áreas mineradas a céu aberto na região carbonífera de Santa Catarina, Brasil; Florianópolis.** Secretaria de Estado da Tecnologia, Energia e Meio Ambiente, 1992. 160p.

CLARKSON, B.D., BURCHENAL, J.H.,. Preliminary screening of antineoplastic drugs. **Progress in Clinical Cancer 1**, 625–629, 1965.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil – e das exóticas cultivadas. Brasil:** Instituto Brasileiro de desenvolvimento florestal (Ministério da Agricultura): 1984, v.II, p.459-460.

DA SILVA, S. L. .; CHAAR, J.S.; YANO, T. Chemeotherapeutic potential of two gallic acid derivative compounds from leaves of *Casearia sylvestris* (Flarcortinaceae). **European Journal of Pharmacology**. v. 608 (1-3), p. 76-83, 2009.

DA SILVA, S.I.; FIGUEIREDO, P. M. S.; CHAAR, J.S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *C. sylvestris* on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazon**, v. 38, p.107-112, 2008.

DA SILVA, S.L.; FIGUEIREDO, P.M.S.; YANO, T. Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves. **European Journal of Pharmacology**, v. 576, p. 180-188, 2007.

DALBÓ, S.; JÜRGENSEN, S.; HORST, H.; RUZZA, A. A.; SOETHE, D. N.; SANTOS, A. R. S.; PIZZOLATTI, M.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Antinociceptive effect of proanthocyanidins from *Croton celtidifolius* bark. **Journal of Pharmacy and Pharmacology.** v.57, p.765-771, 2005.

DALBÓ, S.; JÜRGENSEN, S.; HORST, H.; RUZZA, A. A.; SOETHE, D. N.; SANTOS, A. R. S.; PIZZOLATTI, M.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Antinociceptive effect of proanthocyanidins from *Croton celtidifolius* bark. **Journal of Pharmacy and Pharmacology.** v.57, p.765-771, 2005.

DALBÓ, S.; JURGENSEN, S.; HOST, H.; RUZZA, A. A.; SOETHE, D. N.; SANTOS, A. R.; PIZZOLATTI, M. G.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Analysis of the antinociceptive effect of the proanthocyanidin-rich fraction obtained from *Croton celtidifolius* barks: evidence for a role of the dopaminergic system. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior.** v.85, p.317-323, 2006.

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

DE MESQUITA, M. L.; DE PAULA, J. E.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; GROUGNET, R. et al. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against câncer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n. 3, p. 439-445, 2009.

DEMPKE, W.; RIE. C.; SCHMOLL, A.G.H. Ciclooxigenase-2: a novel target for câncer quimotherapy?.**Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**., n. 127, p 411-417, 2001.

DOS 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.Ó.; CAVALHEIRO, A.J. Casearin X, its degradationproduct and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris:* evaluation of citotoxicity against normal and tumor human cells. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, p.205-215, 2010.

ESTEVES, I.; SOUZA, I.R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L.G.V.; SANTOS, L.S.; SERTIE, J.A.A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L.M.; SCHNNEDORF, J.M.; BASTOS, J.K.; CRAVALHO, 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.

FERNANDES, E.S.; PASSOS, G.F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F.M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M.M.; PIANOWSKI, L.F.; CALIXTO, J.B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-*trans*-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal Of Pharmacology**, v. 569, n. 3, p.228-236, 2007.

FERREIRA, P.M.P.**Determinação do potencial antitumoral de diterpenos isolados das folhas de *Casearia sylvestris* Swartz,** 2006, 116p. Dissertação de Mestrado em Farmacologia- Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

GROMBONE-GUARANTINI, M.T.; SILVA-BRANDÃO, K.L.; SOLFERINI, V.N.; SEMIR, J.; TRIGO, J.R. Sesquiterpen and polyacethylene profile of the *Bidens pilosa* complex (Asteraceae: Heliantheae) from Southeast of Brazil. **Biochem.Syst.Ecol.**, v.33, p. 479-486, 2005.

GUPTA, D.; BLEAKLEY, B.; GUPTA, R. K. Dragon's Blood: Botany, chemistry and therapeutics uses. **Journal of Ethnopharmacology.** v.115, p.361-380, 2008.

GUPTA, M. P.; MONGE, A.; KARIKAS, G. A.; LOPEZ DE CEARIN, A.; SOLIS, P. N.; De LEON, E.; TRUJILLO, M.; SUAREZ, O., WILSON, F. Screening of Panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, crown gall tumor inhibition, citotoxicity and DNA intercalation. **International Journal of Pharmacognosy.** v. 34, p.19-27, 1996.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis.** 3rd ed. London: Chapman & Hall, 1998. 302p.

HARVEY, A. L.. Natural products in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 894–901, 2008.

HOU, J., SUN, T.; HU, J.; CHEN, S.; CAI, X.; ZOU, G. Chemical composition , cytotoxic and antioxidant activity of the leaf essential oil of *Photínia serrulata.* **Food Chemistry**, v. 133, p. 355-358, 2006.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; IITAKA, Y.; SCHENKEL, E. P.; MOTIDOME, M. New antitumor principles casearins A-F for *C. sylvestris* (Flacortinaceae). **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 38 (12), p. 3384- 3388, 1990.

KVIECINSKI M.R.; FELIPE K.B.; SCHOENFELDER T.; DE LEMOS WIESE L.P.; ROSSI M.H.; GONÇALEZ E.; FELICIO J.D.; FILHO D.W.; PEDROSA R.C. Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. **J. Ethnopharmacol**., v.117, n.1, p. 69-75, 2008.

LEGAULT, J.; DAHL, W.; DEBITON, E.; PICHETTE, A.; MADELMONT, J.C. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by alpha-humulene as possible mechanism of action. **Planta Medica**, v. 69, p.402–407, 2003.

LORENZI, H. e MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil:** nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

MAISTRO, E.L., CARVALHO, J.C., MANTOVANI, M.S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and V79 cells by the comet assay. **Toxicology *In Vitro***, v. 18, p. 337–342, 2004.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 2000.

MOFFAT, J.; HASHIMOTO, M.; KOJIMA A.; KENNEDY, D.O.; MURAKAMI, A. KOSHIMIZU, K.; OHIGASHI, H.; MATSUI-YUASA, I. Apoptosis induced by 1'-acetoxychavicol acetate in Ehrlich ascites tumor cells is associated with polyamine metabolism and caspase-3- action. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 12, p. 2151-2157, 2000.

MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H.; SCHENKEL, E. P.; MOTIDOME, M. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.39 (3), p. 693-697, 1991.

MORS, W. B., RIZZINI, C. T. & PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brazil**. Reference Publications, Inc. Algonac: Michigan, 2000.

NARDI, G. M.; DALBÓ, S.; MONACHE, F. D.; PIZZOLATTI, M. G.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M. Antinociceptive effect of *Croton celtidifolius* Baill (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnophamacology.** v.107, p.73-78, 2006.

NARDI, G. M.; SIQUEIRA JUNIOR, J. M.; DELLE MONACHE, F.; PIZZOLATTI, M. G.; CKLESS, K.; RIBEIRO-DO-VALE, R. M. Antioxidant and anti-inflammatory effects of products from *Croton celtidifolius* Bailon on carrageenan-induced pleurisy in rats. **Phytomedicine.** v.14, p.115-122, 2007.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, J.M.; SNADER, K.M. Natural products as a source of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1002-1037, 2003.

OBERLIES, N.H., BURGESS, J.P., NAVARRO, H.N., PINOS, R.E., FAIRCHILD, C.G.R., PETERSON, R.W., SOEJARTO, D.D., FARNSWORTH, N.R., KINGHORN, D., WANI, M.C., WALL, M.E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, p.95–99, 2002.

OCAMPO, T. P. **Uncaria tomentosa, apesctos ethnomedicos, médicos, farmacológicos, botânicos, agro-nômicos, comerciales, legales, anthropológicos, sociales y políticos**. Instituto de Desarrollo Rural Peruano. IDDERP: Lima, p. 74, 1994.

PERES, M. T. L. P.; DELLE MONACHE, F.; CRUZ, A. B.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology.** v. 56, p. 223-226, 1997.

PIACENTE, S.; BELISARIO, M. A.; DEL CASTILLO, H.; PIZZA, C.; DE FEO, V. *Croton ruizianus*: platelet proaggregating activity of two new pregnane glycoides. **Journal of Natural Products.** v. 61, p. 318-322,1998.

QUISPE-CONDORI, S.; ROSA, P.T.V.; SATO, D.N.; CARVALHO, J.E.; FOGLIO, M.A.A.; MEIRELES, A.A. Global yield of the Supercritical CO2 extraction from *Cordia verbenacea* DC - Anticancer and antimycobacterial activities. **Pharmacognosy Magazine**. v. 3, n. 9, p. 40-46, 2007.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 11, n. 1, p. 57-69, 2001.

ROSSI, D.; BRUNI, R.; BIANCHI, N. ; CHIARABELLI, C. ; GAMBARI, R. ; MEDICI, A. ; LISTA, A. ; PAGANETTO, G. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potencial of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) látex. **Phytomedicine.** v. 10, p.139-144, 2003.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of Brazilian Chemical Society.** v.18, n.1, p.11-33, 2007.

SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N. N.; CLARK, M.; ANGELES, F. M.; LAO, J.; BUSTAMANTE, S.; MILLER, M. J. S. Sangre de grado *Croton palonostigma* induces apoptosis in human gastrointestinal cancer cells. **Journal of**

Ethnopharmacology. v. 80, p. 121-129, 2002.

SANTOS JÚNIOR, H. M. DOS; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, D. A. DE; PINTO, J. M. A.; CAMPOS, V. A. C.; MOURÃO, A. R. B.; PESSOA, C.; MORAES, M. O. DE; COSTA-LOTUFO, L. V.. Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. **Journal of Natural Medicines**, v. 64, p. 231–238, 2010.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.) *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. ampl. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2003. cap. 15, p. 371-400.

SCHWONTKOWSKI, D. **Herbs of the Amazon – Traditional and Common Uses**. Science Studente Brain Trust Publishing, Utah, 1993.

SERTIÉ, J.A; WOISKY, R.G; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity,analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. Phytomedicine**, v12,n 5, p.338-344, 2005.**

SHIMURA, N.; MUSYA, A.; HASHIMOTO, T.; KOJIMA, S.; KUBODERA, A.; SASAKI, T. Usefulness of 99Tc-d, 1 HMPAO for estimation of GSH content in tumor tissues. **Nucl. Med. Biol.**, v.27, p.577–580, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 35-40, 2002.

SUBHASHINI, J.; MAHIPAL, SV.K.; REDDANA, P. Anti-proliferative and apoptotic effects of celecoxib on human chronic myeloid leukemia *in vitro*. Cancer letters, n. 225, 31-43, 2005.

SUFFNESS, M., PEZZUTO, J.M. Assays related to cancer drug discovery Hostettmann, K. (Ed.), Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity, vol. 6. Academic Press, London, 1991, pp. 71–133.

SYLVESTRE, M.; LEGAULT, J.; DUFOUR, D., PICHETTE, A. Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myryca gale L.* **Phytomedicine**, v. 12, p. 299-304, 2005.

SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A. ; NAGAU, F. ; LEGAULT, J. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guardaloupe. **Journal of Ethnopharmacology.** v.103, p.99-102, 2006.

TEIXEIRA, S. A. & MELO, J. I. M. Plantas medicinais utilizadas no município de Jupi, Pernambuco, Brasil. **Série Botânica IHERINGIA**. Porto Alegre, v. 62, n. 1-2, p. 5-11, 2006.

TICLI, F.K.; HAGE, L.I.S.; CAMBRAIA, E.S.; PEREIRA, P.P.; MAGRO, A.J.; FONTES, M.R.M.; STABELI, R.G.; GILGIO, J.R.; FRANÇA, S.C.; SOARES, A.M.; SAMPAIO, S.V. Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): antiserum action potentiation and molecular interaction. **Toxicon**, v. 46, p.318-327, 2005.

VALDÉS, H.A.L.; REGO, H.P.L.*Bidens pilosa* Linné. **Revista Cubana de Plantas Medicinales.** v. 1, p.28-33, 2001.

VENDRUSCULO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Série Botânica IHERINGIA**. Porto Alegre, v. 61, n. 1-2, p. 82-103, 2006.

WARIS, G. & SIDDIQUI, A. Hepatitis C virus stimulates the expression of cyclooxygenase-2 via oxidative stress: role of prostaglandin E2 in RNA replication. **Journal of Virology**. v. 79, n. 15, p. 9725-9734, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Cancer Report, 2008**. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2009.

YUAN, L.P.; CHEN, F.H.; LING, L.; DOU, P.F.; BO, H.; ZHONG, M.M.; XIA, L.J. Protective effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis. **J. Ethnopharmacol.**, v.116, p.539-546, 2008.

Garcinea – *Garcibia camboja*

EXTRATO SECO VEGETAL E PRODUTOS DERIVADOS

Luiz Alberto Lira Soares
Tatiane Pereira de Souza

INTRODUÇÃO

As formas farmacêuticas sólidas apresentam uma série de vantagens sobre as líquidas, tais como maior estabilidade e menor volume por dose, o que conduz a maior simplicidade de conservação, transporte e armazenamento, além de facilidade de manuseio, da versatilidade de dosagem e da aceitação do paciente (VILA JATO, 2001).

A elaboração de formas farmacêuticas contendo extratos vegetais, geralmente, envolve problemas tecnológicos maiores que os encontrados com substâncias ativas isoladas. Isso está relacionado com as características dos próprios extratos, principalmente, devido à necessidade de alta dosagem de uso e complexidade de constituição. Outros fatores, de caráter físico-químico e mecânico, inerentes aos extratos, tais como, higroscopicidade, propriedades materiais e reológicas, constituem barreiras a serem vencidas no seu emprego como matérias-primas num ciclo tecnológico (CRIPPA, 1978).

As formas farmacêuticas sólidas são classificadas em pós, granulados, cápsulas duras e moles, comprimidos e comprimidos revestidos. Os medicamentos na forma sólida, devido sua conveniência e comodidade ao paciente, constituem

as formulações mais largamente prescritas em nível mundial e, dentre elas, destacam-se os comprimidos que, desde sua introdução, na metade do século XIX, têm sido a forma mais utilizada, representando cerca de 40 a 70% de todas as formulações existentes no mercado (VOIGT, 1993; VILA JATO, 1997). Assim, na elaboração de um medicamento sólido fitoterápico, o extrato seco vegetal constitui a matéria-prima ativa inicial e primordial.

As principais formas farmacêuticas sólidas estão descritas abaixo:

- *Pós* são sólidos pulverulentos com uma grande importância para a tecnologia farmacêutica, uma vez que constituem matérias-primas e/ou produtos intermediários para obtenção de vários tipos de formas farmacêuticas, inclusive líquida, semissólida ou sólida. Também, podem ser medicamentos ou preparações de medicamentos para uso interno e externo, obtidos pela mistura íntima e seca da (s) substância (s) ativa (s), com ou sem adição de adjuvantes farmacêuticos (VOIGT, 1993).

- *Granulados* são formas farmacêuticas sólidas obtidas pela aglomeração de partículas, com resistência suficiente para manuseio e embalagem e, dependendo da finalidade de aplicação, podem ser consideradas também matérias-primas, produto intermediário ou final. Uma das maiores justificativas para a obtenção e desenvolvimento de granulados é melhorar a fluidez e compressibilidade da (s) substância (s) ativa (s), bem como evitar a segregação entre os pós, a fim de garantir a homogeneidade de conteúdo no produto final (COUTO *et al.*, 2000).

- *Cápsulas* são medicamentos de dose individualizada, constituídos por invólucro de natureza, forma e dimensões variadas contendo substâncias medicinais sólidas, pastosas ou líquidas. Essas formas farmacêuticas sólidas são divididas em *cápsulas duras,* quando produzidas com invólucro rígido de gelatina, amido ou derivados de celulose; e *cápsulas moles,* quando obtidas com invólucro elástico de gelatina (VILA JATO, 2001).

- *Comprimidos* são medicamentos de dosagem unitária obtidos pela compressão mecânica de granulados ou misturas pulvéreas, de um ou mais princípios ativos, com adição, na maioria das vezes, de diferentes adjuvantes. Podem ser revestidos com os mais diferentes fins, tais como: proteção do ativo contra luz, ar e umidade; aumento da estabilidade mecânica do comprimido; proteção do ativo contra a influência dos fluidos digestivos; modificação dos perfis de liberação do ativo; evitamento ou redução de efeitos colaterais ou, simplesmente, melhoria das características organolépticas do comprimido. Quando o revestimento é feito com sacarose e outros açúcares, são chamados de *Drágeas* e, quando é utilizado um filme polimérico, são denominados *Comprimidos Revestidos Peliculares* (VOIGT, 1993; VILA JATO, 2001).

EXTRATOS SECOS VEGETAIS

Os extratos são as mais simples e tradicionais formas de derivados de plantas medicinais, a partir dos quais é possível a obtenção e desenvolvimento de um medicamento fitoterápico (BONATI, 1980). Podem ter consistência líquida, sólida ou intermediária, podendo ser classificados em fluidos, moles e secos.

Extratos fluidos são preparações líquidas, normalmente obtidos utilizando misturas hidroetanólicas como solvente, onde, exceto quando especificado diferentemente, cada mililitro do extrato contém os constituintes ativos correspondentes a 1g da droga vegetal. Podem ainda ser obtidos através da dissolução de um extrato seco ou da diluição de um extrato concentrado e padronizado em termos de concentração do solvente, do teor dos constituintes ou do resíduo seco (LIST & SCHMIDT, 1989; SIMÕES *et al.*, 2004).

Extratos moles ou espessos são preparações viscosas e/ou de consistência pastosa obtidas pela evaporação parcial do solvente utilizado na sua preparação, podendo ser adicionados ou não de adjuvantes (FARMACOPÉIA, 1988; LIST & SCHMIDT, 1989; SIMÕES *et al.*, 2004).

Extratos secos são preparações sólidas obtidas pela eliminação total do solvente utilizado na sua preparação, através da operação de secagem. Podem ser adicionados de adjuvantes quando necessários e devem apresentar uma umidade residual máxima de 5% (LIST & SCHMIDT, 1989; SIMÕES *et al.*, 2004; FORMULÁRIO NACIONAL, 2005).

Os extratos líquidos, apesar de sua simplicidade tecnológica, apresentam frequentemente sérios problemas de manutenção da qualidade devido à facilidade de contaminação microbiana e reações de degradação. Portanto, a eliminação do meio solvente, através da operação de secagem, parcial ou total, representa uma alternativa para contornar esse aspecto. Produtos secos possuem, portanto, um grande número de vantagens, sobretudo considerando os diversos aspectos práticos quando utilizados como forma intermediária, destacando:

· manipulação mais simples;

· homogeneidade e distribuição dos constituintes da preparação, conferindo à forma final maior garantia da dose empregada;

· facilidade de armazenamento, manuseio e transporte, o que é justificado pelo menor volume ocupado pelas formas farmacêuticas sólidas;

· maior estabilidade química, uma vez que, após a retirada de todo o solvente, em geral, os extratos passam a ser menos susceptíveis a degradações físico-químicas e contaminações microbianas (LIST & SCHMIDT, 1989; DE PAULA, 1997; DE SOUZA *et al.*, 2006).

No entanto, apresentam algumas desvantagens tecnológicas, tais como, tamanho reduzido de partícula e, consequentemente, elevada superfície específica, gerando problemas, especialmente relacionados à reologia e de sorção a umidade. Dessa forma, não raro, esses produtos apresentam pobre fluidez e instabilidade de empacotamento, bem como elevada higroscopia, o que resulta em dificuldades na compressão e compactabilidade (LIST & SCHIMIDT, 1989; ORTEGA & SCHMIDT, 1995; PETROVICK *et al.*, 1995; SCHILLER *et al.*, 2000; DE SOUZA, 1999; SOARES, 2001).

Na elaboração de um fitoterápico, a preparação de soluções extrativas, contendo as substâncias químicas de interesse terapêutico, constitui uma etapa preliminar que, após a retirada total da fase líquida (água ou solvente), através da operação de secagem, conduz à obtenção de um pó, denominado extrato seco, o qual pode ser considerado uma matéria-prima, produto intermediário ou, final, dependendo da aplicação a que se destina. Como produto intermediário, os extratos secos podem ser utilizados na preparação de comprimidos, cápsulas, granulados, pomadas e outras formas farmacêuticas (GAUDY *et al.,* 1991).

As principais técnicas de secagem utilizadas na obtenção de extratos secos vegetais estão descritas abaixo:

- Cintos de secagem a vácuo (*Vacuun Belt dryers*): operam a pressão atmosférica e, portanto, exigem altas temperaturas para remoção do solvente, principalmente, se este for água (Figura 1) (LIST & SCHMIDT, 1989).

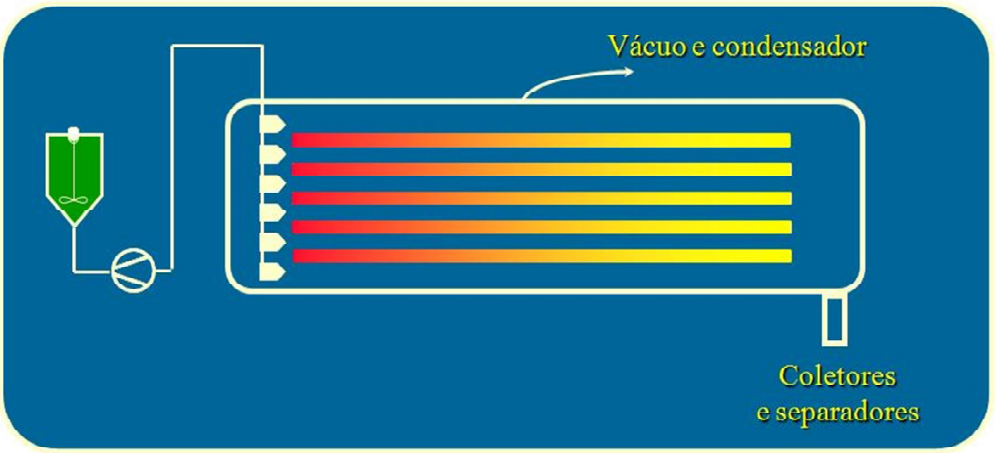


FIGURA 1: Diagrama esquemático de um cinto de secagem a vácuo

- Cilindros de secagem (*Roller dryers*): o princípio de funcionamento é a evaporação ou vaporização da umidade através do contato do produto a secar com a superfície quente dos cilindros (Figura 2). Apesar de serem equipamentos simples, de secagem contínua e fácil operação, apresentam a desvantagem da necessidade do uso de temperaturas de 100 a 110 °C para secagem de soluções aquosas, o que pode ser prejudicial em caso de presença de substâncias termolábeis (LIST & SCHMIDT, 1989).

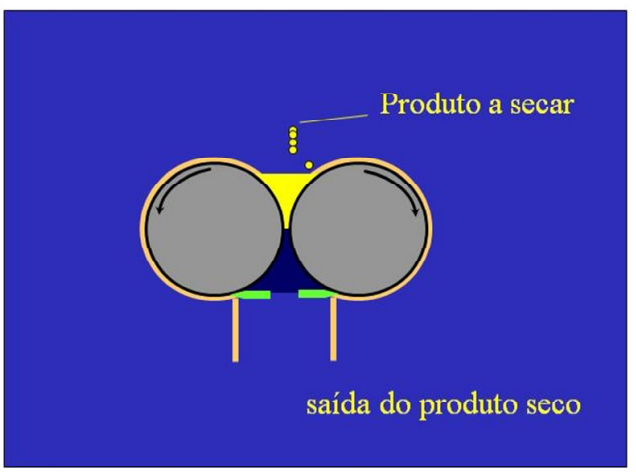


FIGURA 2: Desenho esquemático de um cilindro duplo de secagem

- Secagem por Aspersão (*spray-drying*): consiste em uma operação de secagem que pode ser empregada em soluções, suspensões, emulsões ou pastas, cujo princípio consiste na divisão, do produto a secar, em finas gotículas no interior de uma câmara provida de ar quente, a fim de obter a evaporação do solvente e a recuperação de um produto seco no estado particulado (Figura 3). Existem várias denominações para os produtos obtidos por essa técnica, tais como, produto seco por aspersão, produto seco por nebulização e produto seco por pulverização (MASTERS, 1978, WENDEL & ÇELIK, 1998).

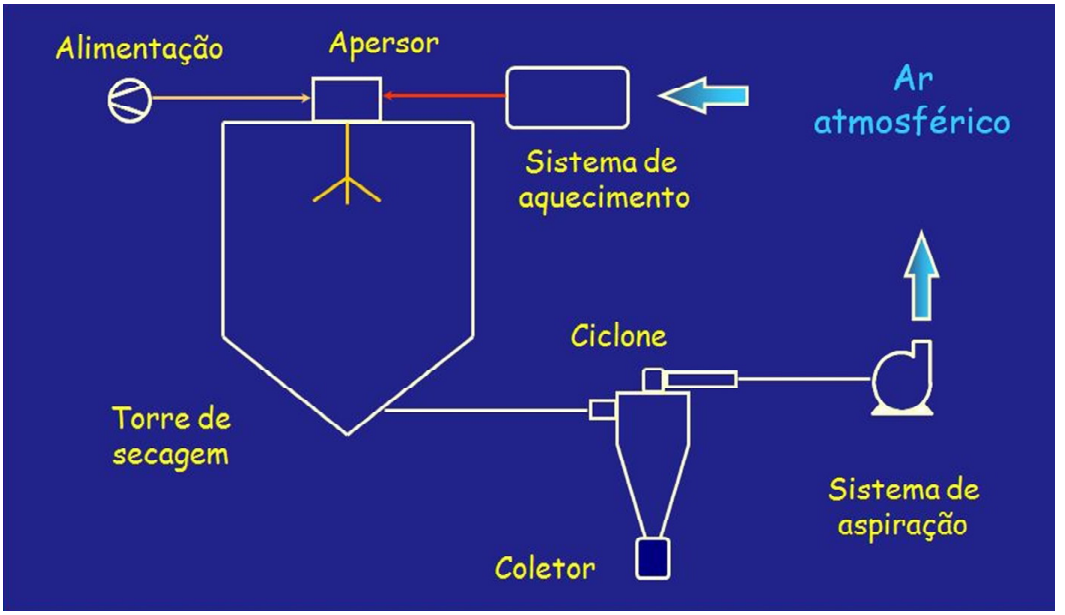


FIGURA 3: Desenho esquemático de um *spray-drying*

A secagem por aspersão é muito utilizada nas empresas químicas, alimentícias, bioquímicas e farmacêuticas e, dentre as várias razões para sua ampla utilização, destacam-se a capacidade de obtenção de produtos particulados com propriedades predefinidas, como tamanho e forma de partículas, otimização de produção e possibilidade de eliminação de etapas do processo de fabricação de formulações, tais como, granulação, revestimento e formação de complexos, operações que podem ser realizadas no próprio equipamento. Além dessas vantagens, tem aplicabilidade na secagem de materiais tanto estáveis quanto sensíveis ao aquecimento, uma vez que o curto tempo de contato com a fonte de calor viabiliza o emprego dessa técnica para secagem de produtos termossensíveis (MASTERS, 1978; BROADHEAD *et al.*, 1992; WENDEL & ÇELIK, 1998).

A otimização das características físicas e químicas dos produtos secos, obtidos através desse tipo de secagem, envolve a avaliação da influência de fatores relacionados aos parâmetros do processo e às características do material a ser seco, resumidamente, descritos no quadro 1 (MASTER, 1978; WAN *et al.*, 1991; BROADHEAD *et al.*, 1992; OLIVEIRA & PETROVICK, 2009).

QUADRO 1: Fatores que influenciam as características dos produtos secos em equipamento de *spray-drying*

Parâmetros do processo
Desenho e dimensão do equipamento
Princípio de funcionamento do dispositivo de aspersão
Vazão de ar
Temperatura de aquecimento
Fluxo de alimentação
Velocidade de aspiração
Características do Material a ser seco
Viscosidade
Tensão superficial
Concentração de sólidos
Tipo de solvente

As partículas apresentam-se como esferas ocas, exibindo às vezes um pequeno orifício na superfície (Figura 4), decorrente da vaporização do líquido contido no seu interior (DE SOUZA, 2004).

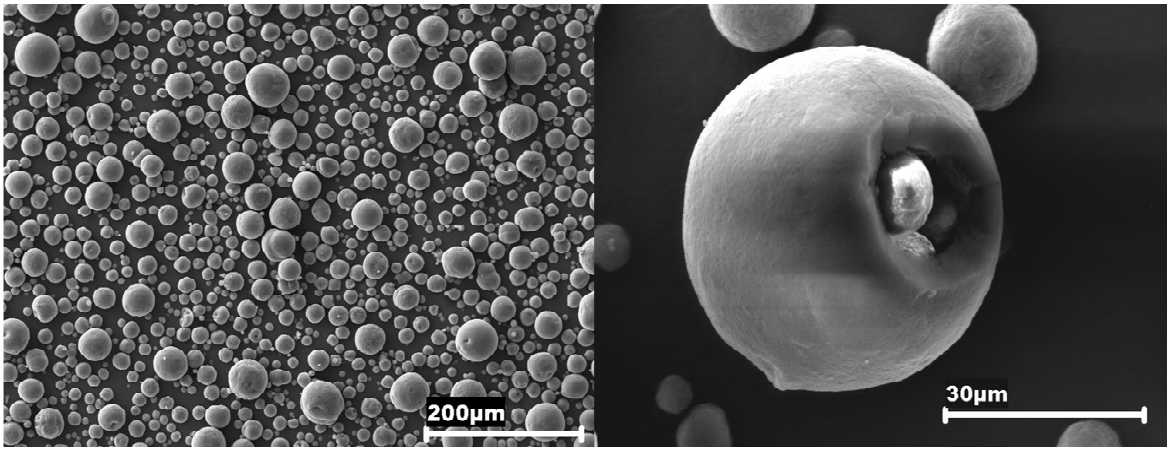


FIGURA 4. Microfotografia de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L.500x e 4400x (DE SOUZA, 2004)

No entanto, a maioria dos extratos secos vegetais obtidos por meio dessa técnica, mesmo utilizando adjuvantes de secagem para melhorar as características dos produtos resultantes, apresenta reduzido tamanho de partícula, baixa densidade e elevada higroscopicidade (TEIXEIRA, 1996; CARVALHO, 1997; DE SOUZA, 1999). Nesse caso, o pequeno tamanho particular dos produtos obtidos pode ser justificado pelas características do bocal de aspersão utilizado e pela baixa concentração de sólidos presentes no produto a secar, o que contribui para o reduzido diâmetro das partículas obtidas (MASTER, 1978).

O tipo do bocal aspersor e a natureza do produto a aspergir são dois fatores com papel fundamental sobre as características do produto seco obtido. Os dispositivos de aspersão podem ser classificados em: bocais pneumáticos e discos rotores. Nos primeiros, a seleção dos diâmetros das partículas é feita pelo diâmetro interno da agulha injetora; já os discos rotores, devido ao próprio desenho, permitem que o líquido a secar seja distribuído a partir do seu centro e que, através da força centrífuga, gera a formação de gotículas maiores, o que favorece o aumento do diâmetro de partículas do produto obtido (MASTERS, 1978; BROADHEAD *et al.*, 1992). Como exemplo, cita-se o estudo descrito na tabela 1. Soares (2002) utilizando aparelho semi-industrial, com aspersor de disco rotor, para secagem de solução extrativa aquosa de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch., obteve um produto com tamanho de partícula consideravelmente maior e, consequentemente, com melhores propriedades tecnológicas, que o produzido por DeSouza (1999), em escala de bancada, com aspersor tipo agulha.

TABELA 1: Características tecnológicas de produto seco por aspersão (PSA) de *Maytenus ilicifolia* obtido em escala semi-industrial por Soares (2002) e de bancada por De Souza (1999)

Parâmetros	Semi-Industrial (CV%)	Bancada (CV%)
Diâmetro médio (m)	22,36 (4,75)	< 7,0
Densidade bruta (g/ml)	0,632 (0,74)	0,261 (0,75)
Densidade de compactação (g/ml)	0,830 (0,49)	0,444 (1,79)
Fator de Hausner	1,315 (1,07)	1,704 (1,95)
Indice de Carr (%)	23,94 (3,41)	41,29 (2,75)
Compactabilidade (ml)	30,83 (4,68)	121, 67 (2,37)
Fluxo (g/s)	54,18	*

* Não apresentou escoamento livre.

- Liofilização (*freeze-drying* ou *lyophilization*): técnica considerada uma boa escolha para secagem de produtos termolábeis, uma vez que consiste na desidratação através da su-

blimação de um produto congelado, ou seja, sublimação do gelo, sob pressão reduzida. É um processo que envolve quatros operações: congelamento, vácuo, sublimação e condensação. Devido à ausência de água no estado líquido e das baixas temperaturas requeridas no processo, a maioria das reações de deterioração e/ou de contaminação microbiológica são paradas. Dessa forma, o estado sólido da água durante a liofilização protege a estrutura primária e a forma dos produtos com mínima redução do volume. No entanto, apesar dessas vantagens, essa técnica é considerada o processo mais caro para obtenção de extratos secos (JOUBERT, 1990; RATTI, 2001), devido ao pequeno volume de produção em termos de tempo e custo econômico. Além disso, tecnologicamente, essa técnica produz pós extremamente leves, muito volumosos e com elevada higroscopicidade o que a torna pouco utilizada na indústria de fitoterápicos. A grande porosidade e, consequentemente, a facilidade de dissolução são as principais características dos extratos secos liofilizados. No entanto, a ampla faixa de distribuição granulométrica e a falta de uniformidade de forma das partículas exigem etapas de processamento posteriores, tais como trituração e classificação. Assim, essas desvantagens associadas ao custo elevado de sua utilização limitam o emprego dessa técnica (LIST & SCHMIDT, 1989; WENDEL & ÇELIC, 1998).

- Leito fluidizado (*fluidized bed*) ou leito de jorro (*spouted bed*): tem como princípio a circulação de ar quente através de um leito de sólidos de modo que estes fiquem suspensos no ar ou fluidizados. Esse sistema de secagem está entre os mais utilizados para secar sólidos particulados, suspensões, polpas e pastas. No entanto, apresenta pouca aplicabilidade comercial para secagem de líquidos ou soluções, uma vez que, nesse caso, exige a utilização de partículas inertes. Dessa forma, esse equipamento, é mais utilizado, industrialmente, no revestimento de partículas e obtenção de granulados (PETROVICK *et al.*, 2006). Apesar de essa técnica apresentar vantagens, tais como calor elevado e altas taxas de transferência de massa entre os sólidos produzidos e o ar quente, o que conduz a baixos tempos de secagem, permitindo a obtenção de produtos secos, utilizando um equipamento de volume e área muito menor que outros secadores, com menores investimentos, baixos custos operacionais e, portanto, apresentar economia competitiva frente a outros equipamentos de secagem, inclusive, ao *spray-dryer*, por outro lado, a aplicabilidade dos secadores de leito fluidizado ou leito de jorro com partículas inertes é limitada devido à necessidade de alta velocidade do gás para fluidificar o leito de partículas inertes relativamente grandes e pesados, isso resulta em restrições do *design* e aumento do consumo de energia pela exigência de ventiladores de alta pressão e alta capacidade (CABRAL *et al.*, 2007).

Assim, na obtenção de extratos secos, a técnica e as condições de secagem devem ser estabelecidas de acordo com a constituição química do material a secar, bem como com as características desejadas ao produto acabado. Dessa forma, a seleção apropriada do equipamento e parâmetros de secagem e a prévia incorporação de adjuvantes farmacêuticos com alto poder de sorção à matéria-prima vegetal líquida são algumas das medidas que podem melhorar as características tecnológicas dos produtos secos obtidos (PALMA *et al.*, 1999; DE

SOUZA *et al.*, 2000a).

Na obtenção de extratos secos vegetais, a utilização de adjuvantes de secagem tem sido fator primordial para a otimização da operação de secagem, pois estes atuam tanto no aumento do rendimento como no asseguramento da estabilidade do produto obtido. Vários trabalhos, utilizando diferentes adjuvantes de secagem, evidenciam a necessidade deles para aumentar o rendimento, bem como para a definição e a melhoria das características tecnológicas do produto obtido (JACOB *et al.*, 1976; CASADEIBAG, 1987; BASSANI, 1990; GONZÁLEZ ORTEGA & SCHMIDT, 1995). Dentre os adjuvantes de secagem que oferecem melhores perspectivas tecnológicas, destacam-se goma arábica, ciclodextrinas, celulose microcristalina, hidroxiapatita, fosfato tricálcico e dióxido de silício coloidal (BASSANI, 1990; GONZÁLEZ ORTEGA & SCHMIDT, 1995; DE SOUZA, 1997).

CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE EXTRATOS SECOS VEGETAIS: ALGUNS EXEMPLOS

Carvalho (1997) avaliou tecnologicamente a influência do adjuvante farmacêutico dióxido de silício coloidal (Aerosil 200®) na característica final do produto seco nebulizado de *M. ilicifolia,* observando que a sua adição, como adjuvante de secagem, melhorou as características físico-químicas dos produtos, os quais apresentaram menor tendência à absorção de umidade, melhor aspecto pulvéreo e ausência de aglomerados. Em estudo farmacológico, verificou-se que os produtos secos nebulizados apresentaram manutenção da atividade biológica, proposta para *M. ilicifolia,* sugerindo que a operação de secagem não interfere nos constituintes responsáveis pelo efeito farmacológico dessa espécie vegetal.

Martins (1998), comparando o produto seco de *M. ilicifolia* obtido pela técnica de secagem por aspersão com a técnica de liofilização, avaliou a influência do método de secagem no teor da fração tanante e atividade farmacológica antiúlcera em ratos Wistar, a autora observou que apesar de o produto liofilizado possuir maior teor de fração tanante e maior atividade farmacológica que o produto seco nebulizado, este último apresentou, também, resultado bastante promissor, superando o liofilizado por suas melhores características tecnológicas.

De Souza e colaboradores (2000a) utilizaram a técnica de secagem por aspersão para elaboração de um produto seco de *Passiflora edulis* Sims. Utilizando dois adjuvantes de secagem, Aerosil® 200 e Gelita-Sol-P®, isolados e em misturas, verificaram que o produto seco por aspersão, preparado somente com Aerosil® 200, foi o que apresentou melhores características tecnológicas, principalmente no que se refere ao comportamento frente à umidade.

Liu e colaboradores (2010) avaliaram as características de extrato seco de *Panax notoginseng* (Burkill) F.H. Chen ex C.H. Chow obtidos por diferentes métodos de secagem (cintos de secagem a vácuo - VBD, secagem por aspersão - SD, liofilização – FD e secagem a vácuo –

VD) e observaram que as características dos produtos secos obtidos foram influenciadas, diretamente, pelos diferentes métodos de secagem, conforme descrito na tabela 2.

TABELA 2: Propriedades de extrato seco de *Panax notoginseng* obtidos por diferentes métodos de secagem (LIU *et al.*, 2010).

Ensaios	Diferentes métodos de secagem			
	VBD	SD	FD	VD
Tempo de secagem (h)	0,5	0,01	24	28
Umidade (m/m)	0,01	6,72	4,40	16,10
Densidade bruta (g/cm3)	24	0,316	0,389	0,694
Densidade de compactação (g/cm3)	28	1,215	1,270	1,218
Porosidade	0,715	0,740	0,694	0,457
Conteúdo de saponinas				
Notoginsenosídeo R1 (mg)	11,03	12,08	11,08	11,97
Ginsenosídeos Re (mg)	0,65	0,69	0,66	0,70
Ginsenosídeos Rg1 (mg)	75,24	79,00	75,30	75,20
Ginsenosídeos Rb1 (mg)	66,94	70,54	67,61	67,91
Ginsenosídeos Rd (mg)	10,53	10,62	10,64	10,93
Atividade antiradical livre	++++	+++	+	++

VBD – cintos de secagem a vácuo; SD – secagem por aspersão; FD – liofilização; VD – secagem a vácuo. +baixa, ++média, +++ alta, ++++muito alta

Neste estudo, os autores concluíram que, apesar de todos os métodos de secagem originarem extratos secos de *P. notoginseng* com boas qualidades, o cinto de secagem a vácuo foi a técnica mais eficiente, considerando o menor tempo de secagem, baixa umidade do produto final e superior atividade antirradical livre.

Outro grupo de pesquisadores, avaliando diferentes métodos de secagem (liofilização e estufa a vácuo) na produção de extratos secos vegetais de sementes de *Glinus lotoides* L., obtidas a partir de diversas soluções extrativas com diferentes proporções de metanol:água, demonstrou pobre reologia e instabilidade de empacotamento nos extratos secos obtidos (ENDALE *et al.*, 2004).

OBTENÇÃO DE COMPRIMIDOS A PARTIR DE EXTRATOS SECOS VEGETAIS

Comprimidos são formas farmacêuticas sólidas obtidas pela aplicação de uma pressão externa forçando com que as partículas se rearranjem e deformem-se até se tornar uma massa coesa. A aplicação de uma pressão na formulação, no estado pulvério, resulta na transmissão dessa força no interior do leito de pó, através de pontos de contato interparticulares, culminando com um estado de saturação de resistência estrutural e alteração volumétrica ou deformação. A deformação, dependendo das características do material, da força aplicada e do tempo de sua manutenção, pode ser classificada como *elástica*, quando a alteração volumétrica causada pela saturação estrutural volta à situação normal após a retirada da pressão; *plástica*, quando não há recuperação volumétrica total; ou *de ruptura*, quando a alteração provoca fraturas estruturais (WRAY, 1992; CARSTENSEN *et al.*, 1993; SOARES & PETROVICK, 1999).

Os fatores do material a comprimir, relacionados com a consolidação sob pressão, são, primariamente, os mecanismos de ligação e a área de superfície na qual as forças de ligação estão ativas e, secundariamente, tamanho, forma, textura de superfície e tipo de deformação das partículas que compõem o leito pulvério a ser comprimido (NYSTRÖM *et al.*, 1993). As propriedades físicas do material influenciam, principalmente, o empacotamento e a coesão, fatores primordiais para a consolidação da massa compactada (WRAY, 1992; VOIGT, 1993; SOARES & PETROVICK, 1999).

Até o final dos anos 50, a maioria dos comprimidos era produzida a partir de granulados, cujo propósito básico era obter misturas de substâncias ativas e adjuvantes com fluxo livre e compressível. Basicamente, a operação de granulação é dividida em *via seca*, quando o agente efetor é a pressão; e *via úmida*, quando o agente efetor é um solvente ou líquido. A granulação por via úmida tem aplicação limitada, face à termoinstabilidade de diversas substâncias ativas. Por outro lado, a granulação por via seca, embora contornando a etapa de secagem, envolve problemas tecnológicos relacionados com a estabilidade estrutural das formulações e com a eficácia dos adjuvantes (LE HIR, 1995). No entanto, com o avanço tecnológico, surgiram novos adjuvantes, principalmente com propriedades multifuncionais, permitindo que os comprimidos fossem produzidos por um procedimento muito mais simples, chamado compressão direta (MORETON, 1996).

A técnica de compressão direta consiste na compactação de fármacos pulveriformes ou misturas desses com adjuvantes, dispensando as etapas de granulação. Três tipos de ligação estão, normalmente, envolvidos nessa técnica: forças intermoleculares, pontes sólidas e entrelaçamentos mecânicos, sendo todos dependentes da textura da superfície e forma das partículas (ADOLFSSON & NYSTRÖM, 1996).

Porém, a obtenção de comprimidos através da técnica de compressão direta apresenta alguns problemas inerentes às características da própria formulação pulvérea, tais como escassa capacidade de fluxo, possibilidade de aderência às ferramentas de compressão e baixa coesão, ligada à sua reduzida área superficial que diminui, consideravelmente, os pontos de contato no momento da compressão. Esses problemas podem ser contornados pela seleção apropriada da forma e faixa granulométrica das partículas que compõem a formulação, através de dispositivos mecânicos (elevada força de compressão e acessórios que facilitem o enchi-

mento das matrizes) e, também, mais comumente utilizado, mediante o emprego de adjuvantes tecnológicos de maior eficiência (VOIGT, 1993; VILA JATO, 1997; AULTON, 2005).

Apesar das inúmeras vantagens da compressão direta sobre a compressão via granulação, principalmente, devido à economia de tempo e menores gastos, de modo geral, poucos são os fármacos que podem ser comprimidos diretamente. Essa propriedade depende das características físicas do material, destacando-se seu sistema de cristalização, o qual condiciona a capacidade de deformação plástica e coesão particular (VILA JATO, 1997; AULTON, 2005).

Nesse sentido, as deficientes propriedades tecnológicas dos extratos secos vegetais, associadas ao fato de que, geralmente, as substâncias ativas estão diluídas na matriz vegetal, sendo, portanto, necessárias doses elevadas de extratos secos para alcançar o efeito farmacológico desejado, dificultam consideravelmente a operação de compactação, tornando a compressão direta praticamente impossível (LIST & SCHMIDT, 1989; PALMA *et al.*, 1999; DE SOUZA *et al.*, 2000). Sendo assim, a seleção apropriada dos adjuvantes farmacêuticos, bem como da técnica de compressão representam condição essencial para obtenção de comprimidos a partir de extratos vegetais, influenciando diretamente nas características do produto final (PLAIZIER-VERCAMMEN & BRUWIER, 1986; VENNAT *et al.*, 1993; GONZÁLEZ ORTEGA & SCHMIDT, 1995; PETROVICK *et al.*, 1995; RENOUX *et al.*, 1996; LINDEN, 1998; DE SOUZA, 2000; SOARES, 2002).

Plaizier-Vercammen & Bruwier (1986), avaliando a influência de adjuvantes na compressão direta de extrato seco de *Harpagophytum procumbens* DC. ex Meisn., observaram que, mesmo com a utilização de adjuvantes tecnológicos, as formulações apresentavam elevada aderência às ferramentas de compressão, dificultando a obtenção dos comprimidos. Os comprimidos obtidos apresentaram-se altamente higroscópicos, sugerindo a necessidade de um revestimento para proteção contra umidade. Fenômeno semelhante foi observado por De Souza (1999) e Couto e colaboradores (2000) na compressão direta de extrato seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* e *Phyllanthus niruri,* respectivamente. Os autores concluíram que, além da higroscopicidade, os produtos compactados obtidos não apresentaram características tecnológicas adequadas para uma forma farmacêutica do comprimido, porém sendo viáveis para utilização como produtos intermediários para granulação por via seca.

Plaizier-Vercammen e colaboradores (1991), estudando a ação do Emcocel® 50 e Emcocel® 90, adjuvantes derivados da celulose microcristalina, na compressão direta de extrato seco de *Equisetum arvense* L., verificaram uma grande segregação de partículas refletida na variação de peso dos comprimidos, além disso, observaram que a friabilidade e o tempo de desintegração deles dependeram tanto dos adjuvantes como da força de compressão aplicada.

Os problemas relativos à elevada higroscopia dos extratos foram estudados por Plaizier-Vercammen & De Neve (1993) que avaliaram, comparativamente, as alterações sofridas por comprimidos placebos e outros com características similares contendo extrato seco de *Taraxacum* F.H. Wigg., submetidos a ambientes de diferentes umidades relativas (UR%). Os autores observaram que os filmes de revestimentos utilizados para proteção contra umidade mostraram eficácia somente para os placebos, pois a elevada higroscopicidade do extrato seco

foi responsável pelo aumento da fragilidade dos comprimidos em ambientes com UR% acima de 22 %.

Peréz (1995), estudando o comportamento de compressão de granulados contendo polimetacrilatos, Eudragit® E e Eudragit® RS, observou que os granulados, mesmo contendo proporções reduzidas dos polímeros, apresentaram significativas melhoras em suas propriedades reológicas. Todas as formulações originaram comprimidos com adequadas propriedades mecânicas e com velocidade de dissolução dependente da proporção de polímero empregada e da força de compressão aplicada. O revestimento dos comprimidos com uma película de Eudragit® E permitiu sua conservação, durante um ano, à temperatura ambiente, sem apresentarem alterações consideráveis no peso ou no conteúdo de substâncias químicas.

O emprego de altos teores de extratos secos vegetais e, em certos casos, a precária estabilidade de alguns de seus componentes podem inviabilizar a utilização da granulação por via úmida (PLAIZIER-VERCAMMEN & BRUWIER, 1986; LIST & SCHMIDT, 1989; VENNAT *et al.*, 1993). Por conseguinte, a maioria dos trabalhos descritos na literatura indica a granulação por via seca, seguida do revestimento com película, como técnica alternativa na obtenção de produtos intermediários para a tecnologia de comprimidos contendo extratos secos vegetais (PLAIZIER-VERCAMMEN & BRUWIER, 1986; PLAIZIER-VERCAMMEN *et al.*, 1991; PERÉZ, 1995; DE SOUZA, 1999; COUTO, 2000; DE SOUZA, 2004; DE SOUZA *et al.* 2009; PETROVICK *et al.*, 2009).

Eggelkraut-Gottanka e colaboradores (2002a), estudando a compressão de granulados de extratos secos obtidos a partir da erva de São João, concluíram que comprimidos que continham o extrato seco na forma granulada apresentaram tempo de desintegração cerca de três vezes menor que os comprimidos elaborados com o extrato na forma de pó, além do mais, estudos de dissolução revelaram que a hiperforina, a hipericina e a rutina foram mais rapidamente liberadas dos comprimidos que continham o extrato na forma granulada. Em outro estudo, os mesmos autores verificaram que um aumento da concentração de estearato de magnésio incorporado nos granulados, como fase interna, reduz sua influência negativa no tempo de desintegração dos comprimidos, mantendo, no entanto, sua função de lubrificante (EGGELKRAUT-GOTTANKA *et al.*, 2002b).

Além das propriedades relacionadas aos componentes da formulação do comprimido, o processo de compressão propriamente dito apresenta variáveis capazes de causar alterações importantes sobre a qualidade dos comprimidos. Tal fenômeno ganha importância, especialmente, na passagem de escala de produção ou no emprego de máquinas de comprimir rotativas as quais operam em maiores velocidades que as alternativas.

Soares e colaboradores (2003), quando avaliaram o efeito da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco de *Maytenus ilicifolia*, obtido através de secagem por aspersão, observaram que as propriedades mecânicas dos comprimidos, tais como dureza e friabilidade, foram sensíveis apenas à força aplicada, enquanto que o tempo de desintegração foi influenciado por ambas variáveis independentes avaliadas. O estudo demonstrou que, enquanto a força de compressão proporcionou aumento nos valores do tempo de desintegração, o aumento da velocidade de

compressão, ou seja, a redução no tempo de aplicação de força, diminuiu, significativamente, o tempo de desintegração dos comprimidos. Tal comportamento pode ser explicado pelo mecanismo de redução de volume da formulação durante a compressão, uma vez que comprimidos que foram submetidos à aplicação de força por menor tempo apresentaram maior porosidade e, portanto, a penetração de fluidos pode ter sido favorecida, explicando o fenômeno de redução do tempo de desintegração desses comprimidos.

Dessa forma, para a obtenção de comprimidos, o tipo de maquinário a ser utilizado e a técnica de compressão a ser empregada devem ser adequadamente selecionados em função da formulação a ser comprimida, bem como das características desejadas ao produto acabado. Spaniol e colaboradores (2009), ao avaliarem o comportamento compressional de grânulados contendo alto teor de extrato seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* em diferentes máquinas de comprimir, excêntrica e rotativa, observaram que, apesar de a diferença de construção e o funcionamento das máquinas não terem influenciado no tempo de desintegração e no perfil de dissolução dos comprimidos obtidos, os comprimidos apresentaram distinções quanto aos demais parâmetros de qualidade, tais como resistência à tensão, recuperação elástica, pororsidade e densidade aparentes.

Bica (2009), comparando as caracteríticas tecnológicas de comprimidos obtidos via granulação em máquina de comprimir rotativa, a partir de diferentes extratos secos por aspersão de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., observou que, apesar de ambos os comprimidos apresentarem indício de percolação, eles demonstraram boas propriedades mecânicas, baixo tempo de desintegração e uniformidade de conteúdo. No entanto, as propriedades físicas e mecânicas dos comprimidos oriundos de diferentes extratos secos foram diretamente influenciadas pela velocidade de rotação empregada no ciclo compressional.

Com relação à sensibilidade à umidade, característica inerente à maioria dos extratos secos vegetais, independente do método de secagem utilizado na sua obtenção, a granulação do produto, além da diminuição da área superficial, pode não oferecer maior proteção ao extrato seco (ONUNKWO & UDELA, 1995). Porém, a adição de adjuvantes na formulação além de auxiliar no processo de granulação, pode funcionar como agente protetor contra a umidade (DÍAZ et al., 1996). A utilização da resina acrílica Eudragit E como aglutinante na granulação via úmida demonstrou diminuir a higroscopicidade de grânulos contendo extratos secos vegetais, constituindo uma estratégia tecnológica interessante (DÍAZ *et al.*, 1996).

Semelhante resultado foi encontrado por De Souza *et al.* (2009), que avaliaram a viabilidade de obtenção de granulados por via seca e por via úmida, neste último caso utilizando uma solução de Eudragit E em acetona (12,5% m/v) como líquido de aglutinação, visando ao aumento da resistência à umidade do produto e melhora das características compressionais. Os resultados demostraram que ambas as técnicas de granulação originaram produtos com características tecnológicas satisfatórias, revelando que essas propriedades foram influenciadas pela técnica de granulação. Os granulados obtidos por via úmida apresentaram densidade bruta e de compactação significativamente menor que os granulados obtidos por via seca, o que é inerente à própria técnica de granulação (LIEBERMAN *et al.*, 1989).

REVESTIMENTO DE COMPRIMIDOS CONTENDO EXTRATOS VEGETAIS

Poucos são os estudos de revestimento em comprimidos contendo extratos secos vegetais, o que, no entanto, apresenta-se como uma estratégia interessante na proteção contra umidade atmosférica e aumento da estabilidade. Schmidt & Soyke (1992) estudaram a viabilidade de revestimento com polímeros de extratos secos de camomila (*Matricaria recutita* L.), a fim de proteger a matricina, principal componente ativo, das influências ambientais. Os polímeros utilizados foram derivados da celulose, polimetacrilatos e copolímeros. Dentre esses, foram empregados polímeros de revestimentos gastrossolúveis (Eudragit-E-100®, Kollidon-VA-64®, Pharmacoat-603®, Resomere®), de revestimento enterossolúveis (Eudragit-L-100®, Aquacoat®) e filmógenos que provocam a difusão por membrana (Ethocel-7®). Através de um estudo preliminar, os autores observaram que a decomposição da matricina é acelerada por polímeros contendo grupos carboxílicos, pelo contrário, filmes sem esses grupamentos, particularmente de etolose (Ethocel-7®) e derivados básicos de polimetacrilato (Eudragit-E-100®), aumentam a estabilidade da matricina. O revestimento do extrato seco de camomila mostrou um aumento da meia vida da matricina em mais de 50% em relação ao extrato não revestido.

Pérez (1995), estudando a estabilidade de comprimidos de extrato seco de *Plantago lanceolata* L. revestidos com Eudragit E-100 ® e armazenados em ambiente com umidade relativa controlada de 50%, concluiu que, por um período de um ano, não houve modificação considerável dos perfis de liberação dos comprimidos, nem alteração do conteúdo de glicosídeos iridoides, considerados as substâncias ativas do extrato.

Jekö e colaboradores (1999) compararam diferentes filmes de revestimentos para comprimidos contendo extrato seco de sene (*Cassia angustifolia* Vahl). Dentre os filmógenos testados, os mais eficazes em aumentar a estabilidade dos comprimidos frente a alterações ambientais foram a dispersão aquosa de etolose e a dispersão aquosa de ácido polimetacrílico, sendo a eficácia de revestimento atribuída à hidrofobicidade desses polímeros.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento tecnológico de medicamento pressupõe o domínio de todas as etapas envolvidas na sua produção, centralizadas na sua finalidade de uso e correlacionadas com o desenho proposto da forma farmacêutica. No caso de medicamentos oriundos de plantas medicinais, fitoterápicos, as etapas de desenvolvimento do produto devem atender às especificidades das matérias-primas, produto intermediário e finais, bem como as fases do processamento (BRASIL, 2010).

A sensibilidade frente à umidade atmosférica e deficientes propriedades reológicas, fluidez e compressibilidade são fatores, característicos de extratos secos vegetais, que dificultam o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, principalmente quando contêm alto teor desses produtos (ROCKSLOH *et al.*, 1999). Dessa forma, o emprego da granulação tem se mostrado como uma possível alternativa para contornar esses problemas (PLAIZIER-

VERCAMMEN & BRUWIER, 1986; DÍAZ *et al.*, 1996; COUTO, 2000, SOARES *et al.*, 2005a; SOARES *et al.*, 2005b; DE SOUZA *et al.*, 2007). No entanto, apesar de a granulação viabilizar a obtenção de comprimidos, contendo alto teor de extrato seco, com satisfatórias características tecnológicas, a alta sensibilidade à umidade atmosférica permanece, fato inerente à elevada concentração do produto seco na formulação (COUTO, 2000; SOARES, 2002, DE SOUZA, 2004).

Assim, o revestimento de comprimidos pode representar uma alternativa tecnológica a fim de proteger o extrato seco contra a umidade ambiental. Nesse sentido, o polímero Eudragit E, resina acrílica gastrossolúvel, tem sido bastante empregado como filmógeno de revestimento (BAUER *et al.*, 1998). De Souza *et al.* (2005), avaliando a viabilidade de utilização desse polímero no revestimento de comprimidos contendo extrato seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*, que visa apenas à proteção contra umidade, demonstraram que os comprimidos revestidos produzidos apresentaram adequadas características tecnológicas, homogeneidade de conteúdo, além de o filmógeno ser capaz de causar uma proteção à umidade sem alteração do perfil de cedência do produto seco por aspersão e do tempo de desintegração. Dessa forma, o revestimento dos comprimidos contendo extrato seco vegetal demonstra boas perspectivas no sentido de aumentar sua estabilidade frente a variações de umidade atmosféricas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOLFSSON, A.; NYSTRÖM, C. Tablet strength, porosity, elasticity and solid state structure of tablets compressed at high loads. *International Journal of Pharmaceutics*, n.132, p. 95-106, 1996.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

BASSANI, V.L. *Valorization de formes galêniques végétales desalcoolisation et concentration de solutions extratives sur membrane d'osmose inverse*. Montpellier: Faculté de Pharmacie, 1990. Tese de Doutorado

BAUER, K.H.; LEHMANN, K.; OSTERWALD, H.P.; ROTHGANG, G. **Coated** *Pharmaceutical Dosage Forms: Fundamentals, Manufacturing Techniques, Biopharmaceutical Aspects, Test Methods and Raw Materials*. CRC Press: Florida, 1998.

BICA, C.V. **Avaliação do comportamento de compressão de dois extratos secos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela).** Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, 2009. Dissertação de mestrado

BONATI, A. Problems relating to the preparation and use of extracts from medicinal plants. *Fitoterapia*, v. 1, p. 5-12, 1980.

BROADHEAD, J.; ROUAN, S.K.E.; RHODES, C.T. The spray-drying of pharmaceuticals. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992.

CABRAL, R.A.F.; TELIS-ROMERO, J.; TELIS, V.R.N.; GABAS, A.L.; FINZER, J.R.D. Eûect of apparent viscosity on ûuidized bed drying process parameters of guava pulp. *Journal of Food Engineering*. v. 80, p. 1096–1106, 2007.

CARVALHO, E.L.S. **Desenvolvimento de extrato seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia*** *Martius ex Reiss. (espinheira santa)***.** Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de Mestrado

CASADEIBAG, J.L.; JACOB, M.; CASSANA, G.; GAUDY, D.; BAYLAC, G.; PUECH, A. Physicochemical and

pharmacological properties of spray-dried powder from *Fraximus excelsior* leaf extracts. *Journal of Ethnopharmacology.*, v. 26, p. 21-216, 1989.

COUTO, A.G. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulados contendo produto seco nebulizado de *Phyllanthus niruri L.* – Euphorbiaceae *(quebra-pedra).*** Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2000. Dissertação de Mestrado

COUTO, A.G.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. PETROVICK, P.R. Granulação. **Caderno de Farmácia**, v.16, n.1, p. 13-20, 2000.

CRIPPA, F. Problems of pharmaceutical technics with plant extracts. *Fitoterapia*, v. 6, p. 257-263, 1978.

DE PAULA, I.C. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureioides*** (Lam.) DC. Compositae - marcela. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado

DE SOUZA, K.C.B. **Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas na obtenção de extratos secos nebulizados de *Passiflora edulis* forma flavicarpa.** Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de mestrado

DE SOUZA, K.C.B; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. The Adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the Technological Characteristics of Spray-dried Poeders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000a

DE SOUZA, T.P. **Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae).** Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2004. Tese de doutorado.

DE SOUZA, T.P. **Influência de adjuvantes farmacêuticos nas características tecnológicas de compactos contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss.*** Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1999. Dissertação de Mestrado.

DE SOUZA, T.P.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V. L.; PETROVICK, P.R. Avaliação da viabilidade de compressão direta de formulações contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 19, n. 2, p. 53-60, 2000

DE SOUZA, T.P.; LIONZO, M.I.Z.; PETROVICK, P.R. Avaliação da redução da carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** v. 16, n.1, P. 93-98, 2006.

DE SOUZA, T.P.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; PETROVICK, P.R. Development of granules from *Phyllanthus niruri* spray-dried extract. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 45, n. 4, p. 1-7, 2009.

DE SOUZA, T.P.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; PETROVICK, P. R. Eudragit E as excipient for production of granules and tablets from *Phyllanthus niruri* L spray-dried extract. *AAPS PharmSciTech*, v.8, n.2, p.E1-E7, 2007.

DE SOUZA, T.P.; SPANIOL, B.; PETROVICK, P.R. Avaliação de comprimidos revestidos por película contendo alta concentração de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v.24, n. 1, p. 61-67, 2005.

ENDALE, A.; SCHMIDT, P.C.; GEBRE-MARIAM, T. Standardization and physicochemical characterization of the extracts of seeds of *Glinus lotoides*. Die Pharmazie, v. 59, n. 1, p. 34-38, 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed., São Paulo: Atheneu, 1988

GAUDY, D.; PUECH, A., JACOB, M. Rôle de l'adjuvant dans l'optimisation de la production d'un extrait de *Noix vomique*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*., v. 66, n.1, p. 5-10, 1991.

JACOB, M.; SOETERANO, S.; PUECH, A.; DURU, C.; CAVAILLES, M.L.; PELLECUER, J. Contribution à l'étude de la stabilité de divers extraits végétaux secs. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 59, n. 12, p. 335-338, 1984.

JEKÖ, Zs. B.; MÁTE, M.; KRAUSZ, E.; BENE, M. Development and Scale Up of a New Film Coated Tablet Containing Dry Herba Extract. **Pharmazie**, v.54, n.2, p.148-150, 1999.

JOUBERT E. Chemical and sensory analyses of spray-and freeze-dried extracts of rooibos tea (*Aspalathus linearis*). International Journal of Food Science and Technology. V. 25, p. 344-349, 1990.

LE HIR, A. *Farmacia galénica*. Barcelona: Masson, 1995.

LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*. 2 ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v. 1, 2 e 3.

LINDEN, R. **Desenho estatístico de experimentos e metodologia de superfície de respostas aplicados à obtenção de formas farmacêuticas derivadas de *Passiflora edulis.*** Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1998. Dissertação de Mestrado.

LIST, P.H. e SCHIMDT, P.C. *Phytopharmaceutical technology*. Florida: Boca Raton, 1989LIST & SCHMIDT, 1989;

LIU, X., QIU, Z.; WANG, L.; CHEN, Y. Quality evaluation of *Panax notoginseng* extract dried by different drying methods, *Food Bioproducts Processing*. **In press**. doi:10.1016/j.fbp.2010.03.008, 2010MARTINS (1998),

MASTERS, K. *Spray Drying*. 2 ed., New York: John Wiley, 1978.

MORETON, R.C. Tablet excipients to the year 2001: a look into de crystal ball. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 22, n. 1, p. 11-23, 1996.

NYSTRÖM, C.; ALDERBOR, N.G.; DUBERG, M.; KAREHILL, P.G. Bonding surface area and bonding mechanism – two important factors for the understanding of powder compactability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, n. 17 e 18, p. 2143-2196, 1993.

OLIVEIRA, W.O.; PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 20, n. 4, p. 641-650, 2009.

ONUNKWO, G.C.; UDEALA, O.K. Studies on *Rauwolfia vomitoria* Root III. Flow properties of R. vomitora Granulations. *S.T.P. Pharma Pratiques*. v.5, n.4, p. 296-301, 1995

ORTEGA, G. G.; SCHMIDT, P.C. Obtención de comprimidos conteniendo extractos atomizados de flor de la pasión (*Passiflora incarnata* L.). *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 14, n. 3, p. 173-180, 1995.

PALMA, S.D.; MANZO, R.H. ALLEMANDI, D.A. Dry Plant Extracts Loaded on Fumed Silica for Direct Compression: Preparation and Preformulation. *Pharmaceutical Development Technology*, v. 4, n. 4, p. 523-530, 1990

PÉREZ, L.M.D. *Diseño y evaluation de comprimidos convencionales y de cesion controlada de extractos secos (Plantago lanceolata)*. Santiago de Compostela: Universidade de Santiago de Compostela, 1995. Tese de doutorado

PETROVICK, P.R.; ORTEGA, G.G.; LINCK, V.B. Compression Characteristics of Spray Dried Extracts from Medicinal Plants. In: AAPS ANNUAL MEETING, 10, 1995, Miami, **Pharmaceutical Research**, v. 12, suppl., p. S-167, 1995. PT 6123

PLAIZIER-VERCAMMEN J.A.; BRUWIER, C. Evaluation of Excipients for Direct Compression of the Spray-Dried Extract of *Harpagophytum procumbens*. *S.T.P. Pharma*, v.2, p.525-530, 1986

PLAIZIER-VERCAMMEN J.A.; DE NEVE, R.E. Pharmazie, n. 48, p.441-446, 1993. *Apud* PÉREZ, L.M.D. Diseño y evaluation de comprimidos convencionales y de cesion controlada de extractos secos (*Plantago lanceolata*). Santiago de Compostela: Universidade de Santiago de Compostela, 1995. Tese de doutorado

PLAIZIER-VERCAMMEN, J.A.; BOURGEOIS, A.; DE BOEKE, L. Evaluation of Emcocel® 50 e Emcocel® 90, a New Excipient in Direct Compression. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 17, p. 763-776, 1991

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. Journal of Food Engineering. V. 49, p. 311-319, 2001RENOUX et al., 1996;

ROCKSLOH, K.; RAPP, F.R.; ABU ABED, S.; MÜLLER, W.; REHER, M.; GAUGLITZ, G.; SCHMIDT, P.C. Optimization of Crushing Strength and Disintegration Time of a High-Dose Plant Extract Tablet by Neural Networks. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 25, n. 9, p.1015-1025, 1999

SCHILLER, M.; VON DER HEYDT, H.; MÄRZ, F.; SCHMIDT, P.C, Determination of carbohydrate content of plant dry extracts and comparison with their water sorption behavior. *Archiv der Pharmazie*, v. 33, (S1/100), p. 27, 2000;

SCHMIDT, P.C. e SOYKE, B. Development of a Chamomile Preparation Containing Matricine. *Pharmazie*, v.47, p.516-518, 1992

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROWICK, P.R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC, 2004

SOARES, L.A.L**. Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia Mart. ex. Reissek* – Celastraceae.** Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2002. Tese de Doutorado

SOARES, L.A.L.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P.R.; SCHMIDT; P.C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extracts. *AAPS PharmSciTech*. v. 6, n.3, p. E359 – E366, 2005a.

SOARES, L.A.L.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P.R.; SCHMIDT; P.C. Optimization of tablets containing a high dose of spray-dried plant extract: a technical note. AAPS PharmSciTech. v. 6, n. 3, p. E367-E371, 2005b

SOARES, L.A.L.; SCHMIDT, P.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Efeito da força e velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal. **Acta Farmacéutica Bonaerence**, v. 22, n. 2, 147-154, 2003

SOARES, L.A.L; PETROVICK, P.R. Física da Compressão. **Caderno de Farmácia**, v. 15, n. 2, p. 65-79, 1999.

SPANIOL, B.; BICA, V.C.; RUPPENTHAL, L.R.; VOLPATO, M.R.; PETROVICK, P.R. Compressional behavior of a mixture of granules containing high load of *Phyllanthus niruri* spray-dried extract and granules of adjuvants: comparison between eccentric and rotary tablet machines. AAPS PharmSciTech, v. 10, n. 3, p. 1013-1023, 2009

TEIXEIRA, H.F. **Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides (LAM.) DC.* Compositae (marcela).** Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. Dissertação de mestrado

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. Tablets of Hamamelis Dry Extract by Direct Compression: Comparative Study of Natural Starches and Starch Derivates. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, n. 11, p. 1357 - 1368, 1993

VILA JATO, J.L. *Tecnología farmacéutica - Formas farmacéuticas*. Madrid: Síntesis., 1997. v.2

VILA JATO, J.L. *Tecnología farmacéutica - Formas farmacéuticas*. Madrid: Síntesis., 2001. v.1

VOIGT, R. *Pharmazeutische Technologie*. 7. überarb. Aufl., Berlin: Ullstein Mosby, 1993

WAN, L.S.C.; HENG, P.W.S.; CHA, C.G.H. Spray-drying as a Process for Microcapsulation and the Effect Different Coating Polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.18, n.9, p.977-1011, 1991;

WENDEL, S. e ÇELIK, M. Uma visão geral sobre o uso de tecnologia de Spray Drying**.** *Pharmaceutical Technology*, (ed. port.), abril, p. 31-45, 1998

WRAY, P.E. The physics of tablets compactation revisited. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, n. 6 e 7, p. 627 - 658, 1992

PESQUISADORES
RELAÇÃO DE AUTORES

Adriana Gibara Guimarães
Universidade Federal de Sergipe
Departamento de Fisiologia
Av. Marechal Rondon, s/n - Rosa Elze
49100-000 - São Cristóvão - SE
E-mail: adrianagibara@hotmail.com

Aldeidia Pereira de Oliveira
Universidade Federal do Piauí
Departamento de Enfermagem
Campus Almicar Ferreira Sobral
BR 343, km 3,5 - Bairro Meladão
64800-000 – Floriano - PI
E-mail: aldeidia@ufpi.br

Alexandre Bella Cruz
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: bellacruz@univali.br

Amélia Teresinha Henriques
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia
Av. Ipiranga, 2752
90610-000 - Porto Alegre - RS
E-mail: amelia.henriques@ufrgs.br

André Gonzaga dos Santos
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: santosag@fcfar.unesp.br

Angela Malheiros
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: angela@univali.br

Angélica Garcia Couto
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: angelica@univali.br

Christiane Meyre da Silva Bittencourt
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: cmeyre@univali.br

Cláudia Alexandra de Andrade
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: c.alexandra.andrade@gmail.com

Edna Tomiko Myiake Kato
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo
Av.Prof.Lineu Prestes 580
05508-900 São Paulo SP
E-mail: myiake@usp.br

Eduardo Antônio Ferreira
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: eduardoantonioferreira@gmail.com

Eduardo Benedetti Parisotto
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: eduuh@yahoo.com.br

Elfriede Marianne Bacchi
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo
Av.Prof.Lineu Prestes 580
05508-900 São Paulo SP
E-mail: elfriede@usp.br

Eurica Adélia Nogueira Ribeiro
Universidade Federal de Alagoas
Escola de Enfermagem e Farmácia
Av. Lourival Melo Mota, s/n
Campus A.C. Simões
BR 104 – Norte, Km 97 - Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió – AL
E-mail: euricanogueira@gmail.com

Fernanda Alvares da Silva
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Chefia de Comunicação e Negócios
Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W5 Norte (final)
70770-917 – Brasília – DF
E-mail: fsilva@cenargen.embrapa.br

Fernanda Biscaro
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: fernanda_minininha@hotmail.com

Fernão Castro Braga
Universidade Federal de Minas Gerais
Faculdade de Farmácia
Departamento de Produtos Farmacêuticos
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627
Campus UFMG
31270-901- Belo Horizonte – MG
E-mail: fernao@netuno.lcc.ufmg.br

Fladmir de Sousa Claudino
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais
Av. José de Sá Maniçoba, s/n
56304-205 – Petrolina - PE
E-mail: fladmirclaudino@gmail.com

Gilsane Lino von Poser
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia
Av. Ipiranga, 2752
90610-000 - Porto Alegre - RS
E-mail: gilsane@farmacia.ufrgs.br

Hérida Regina Nunes Salgado
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: salgadoh@fcfar.unesp.br

Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais
Av. José de Sá Maniçoba, s/n
56304-205 – Petrolina - PE
E-mail: jackson.guedes@univasf.edu.br

João Francisco Gomes Correia
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: correia@enq.ufsc.br

José Angelo Silveira Zuanazzi
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia
Av. Ipiranga, 2752
90610-000 - Porto Alegre - RS
E-mail: zuanazzi@ufrgs.br

Josiane de Fátima Gaspari Dias
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: jodias@ufpr.br

Julianeli Tolentino de Lima
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais
Av. José de Sá Maniçoba, s/n
56304-205 – Petrolina - PE
E-mail: julianeli.lima@univasf.edu.br

Karina Bettega Felipe
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis – SC
E-mail: kakabettega@yahoo.com.br

Leandro Santoro Hernandes
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo
Av.Prof.Lineu Prestes 580
05508-900 São Paulo SP
E-mail: leandro.hernandes@usp.br

Leonardo Rigoldi Bonjardim
Universidade Federal de Sergipe
Departamento de Fisiologia
Av. Marechal Rondon, s/n - Rosa Elze
49100-000 - São Cristóvão - SE
E-mail: lbonjardim@yahoo.com.br

Luciano Augusto de Araujo Ribeiro
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais
Av. José de Sá Maniçoba, s/n
56304-205 – Petrolina - PE
E-mail: ribeiro.laa@gmail.com

Lucindo José Quintans-Júnior
Universidade Federal de Sergipe
Departamento de Fisiologia
Av. Marechal Rondon, s/n - Rosa Elze
49100-000 - São Cristóvão - SE
E-mail: lucindo@pq.cnpq.br

Luiz Alberto Lira Soares
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Rua Prof. Artur de Sá, s/n
Cidade Universitária
50740-521 – Recife - PE
E-mail: phtech@uol.com.br

Maicon Roberto Kviecinski
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: mrkviecinski@hotmail.com

Márcio Roberto Viana Santos
Universidade Federal de Sergipe
Departamento de Fisiologia
Av. Marechal Rondon, s/n - Rosa Elze
49100-000 - São Cristóvão - SE
E-mail: marcio@infonet.com.br

Marcos Antonio Corrêa
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: correama@fcfar.unesp.br

Maria Cristina Marcucci
Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Mestrado Profissional em Farmácia da UNIBAN
Rua Maria Cândida, 1813
02071-013 - São Paulo – SP
E-mail: cris.marcucci@yahoo.com.br

Marilis Dallarmi Miguel
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: dallarmi@ufpr.br

Marlus Chorilli
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: chorilli@fcfar.unesp.br

Michel Otuki
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: michelotuki@yahoo.com.br

Mirelle Sifroni Farias
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: mirellesfarias@hotmail.com

Miriam Anders Apel
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia
Av. Ipiranga, 2752
90610-000 - Porto Alegre - RS
E-mail: miriam.apel@gmail.com

Nádia Cristina Falcão Bücker
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: nadiafarmaster@gmail.com

Nara Lins Meira Quintão
Universidade do Vale do Itajaí
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 – Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: nara.quintão@univali.br

Obdulio Gomes Miguel
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: obdulio@ufpr.br

Paulo Roberto Wunder
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: paulo.wunder@ufpr.br

Rachel Oliveira Castilho
Universidade Federal de Minas Gerais
Faculdade de Farmácia
Departamento de Produtos Farmacêuticos
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627
Campus UFMG
31270-901 -Belo Horizonte - MG
E-mail: roc2006@farmacia.ufmg.br

Raquel Regina Duarte Moreira
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: moreirar@fcfar.unesp.br

Rivaldo Niero
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458, centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: niero@univali.br

Roberto Pontarolo
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: pontarolo@ufpr.br

Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: pietrorc@fcfar.unesp.br

Rozangela Curi Pedrosa
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquimica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: roza@ccb.ufsc.br

Ruth Meri Lucinda Silva
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: rlucinda@univali.br

Sandra Maria Warumby Zanin
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: sandrazanin@ufpr.br

Sergio Faloni de Andrade
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: faloni@univali.br

Silvana Krychak-Furtado
Universidade Federal do Paraná
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Prefeito Lothário Meissner, 632
Jardim Botânico
80210-170 - Curitiba – PR
E-mail: silvana.krychak@utp.br

Stela Maris Kuze Rates
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Farmácia
Av. Ipiranga, 2752
90610-000 - Porto Alegre - RS
E-mail: stela.rates@ufrgs.br

Tânia Mara Fischer Günther
Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Bioquímica
Rua Roberto Sampaio Gonzaga, s/n
88040-900 – Florianópolis - SC
E-mail: taniafg@ccb.ufsc.br

Tania Mari Bellé Bresolin
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: tbresolin@univali.br

Tatiane Pereira de Souza
Universidade Federal do Amazonas
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Rua Alexandre Amorim, 330 - Aparecida
69030-330 – Manaus - AM
E-mail: tpsouza@ufam.edu.br

Valdir Cechinel Filho
Universidade do Vale do Itajaí
Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas
Rua Uruguai, 458 - Centro
88302-202 – Itajaí - SC
E-mail: cechinel@univali.br

Vera Lucia Borges Isaac
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia
Rodovia Araraquara Jau km 1
14801-902 – Araraquara – SP
E-mail: veraisaac@fcfar.unesp.br

Xirley Pereira Nunes
Universidade Federal do Vale do São Francisco
Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais
Av. José de Sá Maniçoba, s/n
56304-205 – Petrolina - PE
E-mail: xirley.nunes@univasf.edu.br

Esta obra foi impressa pela Imprensa Universitária da Universidade Federal de Ouro Preto,
composta na fonte Myriad-Pro e Ottawa,
em papel 100% reciclado, capa 380 g/m^2 e miolo 90 g/m^2,
em outubro de 2011.

EDITORA UFOP

APOIO

inct-if
INSTITUTO NACIONAL
de CIÊNCIA e TECNOLOGIA
para INOVAÇÃO FARMACÊUTICA

Em meados de 2008, um grupo de pesquisadores da área de Farmácia, coordenado pelos professores Ivan da Rocha Pitta e Dulcinéia Saes Parra Abdalla, lançou-se no desafio de organizar um dos maiores grupos para participar dos Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia. Essa iniciativa tem como missão *desenvolver, internalizar e difundir práticas científicas e tecnológicas capazes de superar as fragilidades e lacunas da cadeia inovativa e produtiva farmacêutica, propondo mecanismos operacionais capazes de viabilizar a transformação de resultados científicos promissores em resultados econômicos efetivos com impactos sociais*. Nessa missão, um espaço significativo foi destinado à formação de recursos humanos e difusão do conhecimento. Hoje o instituto conta com mais de 400 pesquisadores organizados em oito redes temáticas, sendo uma delas a de Produtos Naturais Bioativos (PNBio). Considerando a constante necessidade de novas informações de pesquisa dos Biomas Nacionais e dos grupos brasileiros que atuam na área de Farmácia com Plantas Medicinais, a PNBio teve como uma de suas metas iniciais compilar informações em uma coleção de livros com os objetivos de informação e ensino. Nesta edição, os leitores terão acesso a algumas coletâneas realizados, por pesquisadores da área, vinculados ao INCT, versando sobre atividade de plantas do Brasil.

APOIO

inct-if
INSTITUTO NACIONAL de CIÊNCIA e TECNOLOGIA para INOVAÇÃO FARMACÊUTICA

ISBN 978-85-288-0270-2