

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Dulcinéia Furtado Teixeira

**ESTUDOS SOBRE *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek  
NO ÂMBITO DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE: REGULAMENTAÇÃO  
SANITÁRIA**

Rio de Janeiro

2018

Dulcinéia Furtado Teixeira

ESTUDOS SOBRE *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek  
NO ÂMBITO DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE: REGULAMENTAÇÃO  
SANITÁRIA

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Dra Silvana do Couto Jacob  
Dr. Leonardo Lucchetti

Rio de Janeiro  
2018

Catálogo na fonte  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Teixeira, Dulcinéia Furtado

Estudos sobre *Maytenus illicifolia* Mart. ex. Reissek no âmbito do Sistema Único de Saúde: regulamentação sanitária. / Dulcinéia Furtado Teixeira. – Rio de Janeiro: INCQS/Fiocruz, 2018.

173 f.: il.

Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, 2018.

Orientadores: Dra Silvana do Couto Jacob e Dr. Leonardo Lucchetti Caetano da Silva.

1. Vigilância sanitária. 2. *Maytenus illicifolia*. 3. Fitoterápicos. 4. Avaliação farmacognóstica. 5. Impurezas elementares. I. Título.

Studies on *Maytenus illicifolia* Mart. ex. Reissek within the scope of the Unified Health System: Health Regulations.

Dulcinéia Furtado Teixeira

**ESTUDOS SOBRE *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek  
NO ÂMBITO DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE: REGULAMENTAÇÃO  
SANITÁRIA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Bernardete Ferraz Spisso (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/FIOCRUZ

---

Josino Costa Moreira (Doutor)  
Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana-ENSP/FIOCRUZ

---

Monica Freiman de Souza Ramos (Doutor)  
Faculdade de Farmácia/Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Silvana do Couto Jacob (Doutor) - Orientador  
Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde/FIOCRUZ

---

Leonardo Lucchetti Caetano da Silva (Doutor) – Orientador  
Farmanguinhos/FIOCRUZ

Dedico este trabalho ao meu mestre Benjamin Gilbert pelo exemplo profissional, compreensão e amor pela ciência. Seus ensinamentos me guiaram para além das teorias e das técnicas sempre em busca de um bem maior pelas plantas medicinais. Dedico este trabalho também aos meus filhos Pedro Luiz e Arthur, luzes da minha vida, à minha mãe Hilza, exemplo de força, amor e sabedoria. Ao meu pai Atanásio, sempre presente e importante na minha vida e ao meu irmão Luiz Eduardo, companheiro das horas difíceis e à Danúbia meu carinho.

## AGRADECIMENTOS

A minha querida orientadora Silvana Jacob, pela oportunidade, confiança, paciência e orientação durante o período desta tese e pela amizade, que seja eterna;

Ao Leonardo Lucchetti que além de orientar este trabalho com sugestões preciosas também foi um grande amigo que me fez sempre seguir em frente.

A Dra Bernardete Spisso pela revisão tão primorosa desta tese e por participar tão presente nesta minha jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde da FIOCRUZ.

A querida Selma, Ana Joffily, Fernanda e Thiago pelo apoio farmacobotânico de verdadeiros *experts*.

Um agradecimento especial a minha amiga/irmã Michele Feitoza que me segura pela mão e me aconchega em todos os momentos importantes da minha vida. Mulher de fibra, guerreira, transpõe com garra, inteligência e coragem grandes montanhas. Admiro e amo demais. Me presenteou com duas meninas lindas, Laís e Lívia, experiência única de amor, laços e unicórnios.

Aos meus amigos de vida que o destino trouxe como um grande presente: André Sampaio inteligência e cuidado extremo, Paulo, Carlos (irmão de outras vidas), Raquel Elisa, amiga querida, Leonardo Seito, Maria Teresa, Paty, Rosi, Marcela, Fernanda e Beth, pelo apoio, amizade e incentivo durante todos esses anos;

Marcus Jun (grande mente e coração), Marcelo, Ramon, Elizete, João, Mazzei e Gabrielle pelo apoio excepcional no laboratório e pelo carinho; Rayane pela grande ajuda no final.

Aos amigos do PN, Temístocles, Ivone, Raquel, Ana, Flávia, Vagner, André, Alan, Maria Raquel.

Ao Sérgio Monteiro e à equipe do Quilombo de Tapera pelas amostras fornecidas.

Cláudia, Alessandra, Simone Valverde e Jislaine grandes amigas para toda vida que me apoiaram nesta jornada e estão sempre presentes mesmo nas grandes distâncias.

Maria Behrens, pela amizade e força no dia a dia, Kátia Novellino pelas mensagens de força e fé, Carla, Socorro, mulher forte como a rocha, grande exemplo.

A Kátia Lima pelo carinho, apoio logístico, amparo nas horas de cansaço extremo com uma boa conversa, risos e uma energia maravilhosa.

À equipe do SMA, Thiago e Daniel pela assessoria no CLAE/UV e pela paciência.

Ao Santos e Lisia pela ajuda em um mundo novo das análises inorgânicas.

Ao Laboratório de Tecnologia em Fármacos, Far-Manguinhos pelo apoio financeiro;

Aos funcionários das bibliotecas da ENSP (Rita, Mabel) e do INCQS (Jaqueline e Vinícius) pelo auxílio constante.

Sâmela, Gisele e Jéssica, secretarias da Pós-Graduação do INCQS pela ajuda e atenção fundamentais.

A todos aqueles que direta ou indiretamente se envolveram na realização deste trabalho meu muito obrigada.

*A Deus por estar sempre me guiando.*

*Na vida, não existe nada a temer, mas a entender*

*Marie Curie*

## RESUMO

Desde a década de 1990, o Brasil demonstra evolução nas regulamentações dos produtos de origem vegetal pela sucessão de normas que consideram a possibilidade de que tais produtos também possam causar danos. Apesar do avanço regulatório em relação ao controle da qualidade do material de origem vegetal, através de RDCs que dispõem sobre as boas práticas de processamento e armazenamento de insumos farmacêuticos de origem vegetal e de produtos tradicionais, ainda é frequente encontrar espécies de grande uso terapêutico, como *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek, conhecida como “espinheira-santa”, fora destas normas. Este trabalho teve como objetivo a avaliação farmacognóstica e elementar de 27 amostras de espinheira-santa obtidas no comércio da cidade do Rio de Janeiro, além de duas provenientes do Refúgio Biológico Bela Vista no Paraná e uma proveniente de arranjo produtivo local. Seguindo a metodologia preconizada pela 5ª edição da Farmacopeia Brasileira (2010), o perfil cromatográfico em camada delgada mostrou que apenas 37% da população de amostras foram identificadas positivamente utilizando o padrão da epicatequina. Em relação à determinação de impurezas, apenas três das 27 amostras analisadas não apresentaram contaminação. Destas, 24 amostras foram reprovadas, pois os índices superaram o limite permitido pela Farmacopeia que é de, no máximo, 2% para a maioria das drogas vegetais. Os altos índices de impurezas para a maioria das amostras devem estar relacionados a problemas de manejo, limpeza e separação inadequada de produtos à base de plantas medicinais. Contudo, especialmente para a espinheira-santa, o alto teor de impurezas deveu-se principalmente à inclusão de caules, indicando contaminação intencional. Um total de 46% das amostras apresentou teor de impurezas (caules) dez vezes maior do que o permitido. A avaliação da morfoanatomia da lâmina foliar e do pecíolo das espinheiras-santas demonstrou que 63% destas amostras não pertencem à espécie *M. ilicifolia*, indicando fortemente serem da espécie *Sorocea bonplandii*, muito utilizada em sua adulteração. A análise dos componentes principais (PCA), após as avaliações laboratoriais, permitiu visualizar três grupos de amostras: um com espécies autênticas e dois com amostras claramente fraudadas, por apresentarem os teores analisados abaixo dos limites oficiais ou por apresentarem contaminações. O grupo 1 apresentou maiores teores de epicatequina e taninos totais, característicos da espécie. Plantas com altos

índices de impurezas e umidade, como as integrantes dos grupos 2 e 3, sugerem amostras não autênticas pois não apresentam teores dentro dos limites dos taninos totais nem de epicatequina, marcador farmacopeico desta espécie. A amostra 23 foi um caso de alta contaminação por chumbo, o que fez que não apresentasse similaridade com os outros grupos. Os demais elementos tóxicos apresentaram-se dentro dos limites aceitáveis, assim como o sódio; entretanto, todos os outros elementos essenciais analisados (alumínio, cálcio, ferro, manganês, magnésio e potássio) apresentaram elevadas concentrações. A falta de conformidade das amostras analisadas com as exigências da legislação pode apresentar grande impacto à saúde pública, uma vez que o consumo de produtos derivados de plantas medicinais costuma ser feito por pessoas com algum grau de debilidade sanitária.

Palavras-chaves: Vigilância sanitária. *Maytenus illicifolia*. Fitoterápicos. Avaliação farmacognóstica. Impurezas elementares.

## ABSTRACT

Since 90's, Brazilian sanitary regulation acts have been evolving by means of a succession of normatives concerning risks of products of plant origin. Despite this advance regarding the quality control of plant material, as can be seen at ANVISA's resolutions that deal with good manufacturing practices and storage of plant-derived pharmaceutical inputs and traditional products, it is still usual to see relevant therapeutic species like *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek, known as "espinheira-santa", not meeting the standards. Thus, this work aimed at the pharmacognostic and elementary evaluation of 27 samples of "espinheira-santa" purchased at local markets of Rio de Janeiro (RJ), two coming from Refúgio Biológico Bela Vista in Paraná and one from a local productive arrangement. According to the methodology of Brazilian Pharmacopeia (2010), the thin layer chromatographic profile, using epicatechin as chemical standard, showed that only 37% of samples were positively identified. Regarding impurities, only 3 samples were approved out of the 27 analyzed. The 24 samples that did not meet the requirements showed results above the maximum of 2%, allowed by the Pharmacopeia to most plant drugs. These high amounts of impurities observed for most samples may be related to manufacturing, cleansing and improper separation of medicinal plant-derived products. For "espinheira-santa" the huge amounts of impurities were due mainly to the presence of stems, thus indicating intentional contamination. 46,15 % of samples displayed amounts of stems up to 10-time higher than the established limits. Evaluation of leaf blades and petioles morphoanatomy of "espinheiras-santas" showed that 63% of total samples were not from original *M. ilicifolia* individuals, providing strong evidence of occurrence of *Sorocea bonplandii*, a plant largely used for adulteration. The Principal Component Analysis (PCA), after laboratory assays, enabled the visualization of 3 groups: one comprising authentic species original samples and other two comprising clearly fraudulent ones, either by displaying under recommended limits or by contamination. Group 1 showed higher contents of epicatechin and total tannins. Plants with higher results for impurities and humidity, such as gathered in groups 2 and 3, suggest non authentic samples once they did not show contents of these two metabolites within the legal range. Sample 23 was a case of a huge lead contamination, thus becoming incomparable. The other toxic

elements proved to be under the maximum legally permitted amounts, as well as sodium; however, all other essential elements assayed (aluminum, calcium, iron, magnesium, manganese and potassium) displayed high levels. The lack of conformity of analyzed samples to regulatory acts may cause major impact in public health since the consumption of plant-derived products is mainly done by people who present some degree of weakness.

Keywords: Sanitary Surveillance. *Maytenus ilicifolia*. Pharmacognostic evaluation. Phytomedicines. Elemental impurities.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de chumbo (Pb), cádmio (Cd) e arsênio (As) nas folhas digeridas de amostras de espinheira-santa das provenientes de APL (RJ), RBBV (PR); comercializadas em lojas de produtos naturais e farmácias no município do Rio de Janeiro e ervanarias e mercado popular do mesmo município.....	111
Tabela 2	Compilação dos resultados obtidos para os parâmetros da qualidade de impurezas, umidade, teor de taninos totais (em percentuais), de epicatequina ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) e teores de alumínio, chumbo e manganês ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ), das vinte e sete amostras de espinheira-santa das amostras provenientes de APL (RJ) e RBBV (PR); comercializadas em lojas de produtos naturais, farmácias, ervanarias e mercado popular do município do Rio de Janeiro.....	115

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Gradiente da fase móvel: eluente A: mistura de água e ácido trifluoracético a 0,05 % (v/v); eluente B: mistura de acetonitrila e ácido trifluoracético a 0,05% (v/v).....	58
Quadro 2	Condições do programa do micro-ondas <i>SpeedWave</i> (Berghof, Alemanha).....	60
Quadro 3	Elementos selecionados para o estudo, seus respectivos comprimentos de onda e intervalo de trabalho.....	62
Quadro 4	Parâmetros operacionais empregados nas análises por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).....	62
Quadro 5	Elementos selecionados para o estudo, seus respectivos comprimentos de onda e intervalo de trabalho.....	63
Quadro 6	Condições operacionais para análise de arsênio (As), chumbo (Pb) e cádmio (Cd) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS).....	63
Quadro 7	Programa de temperatura para determinação de arsênio (As) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), usando $Mg(NO_3)$ (0,003 mg) + $Pd(NO_3)_2$ (0,005 mg) como modificador químico.....	63
Quadro 8	Programa de temperatura para determinação de chumbo (Pb) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), usando $Mg(NO_3)_2$ (0,006mg) + $NH_4H_2PO_4$ (1% v/v) como modificador químico.....	64
Quadro 9	Programa de temperatura para determinação de cádmio (Cd) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), usando $Mg(NO_3)_2$ (0,006mg) + $NH_4H_2PO_4$ (1% v/v) como modificador químico.....	64
Quadro 10	Porcentagem de impurezas nas amostras 2 a 27 de espinheira-santa analisadas <i>in natura</i> .....	71
Quadro 11	Resultados dos testes de precipitação realizados com amostras de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL, RBBV	

	e comerciais (lojas de produtos naturais e ervanarias e mercado popular) de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).....	94
Quadro 12	Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e K nas folhas digeridas de amostras de espinheira-santa provenientes de APL (RJ), RBBV (PR), lojas de produtos naturais, farmácias, ervanarias e mercado popular no município do Rio de Janeiro.....	108

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. **A** – aspecto geral da lâmina foliar; **B** – detalhe da nervação foliar na face adaxial, em vista frontal; **C** – detalhe de porção da lâmina foliar, na face adaxial, em vista frontal, mostrando as aréolas e terminações xilemáticas: aréola (ar); **D** e **E** – detalhe parcial da epiderme adaxial e abaxial, respectivamente, em vista frontal: idioblasto cristalífero (ic); célula subsidiária (csb); estômato (es); **F** – detalhe parcial da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando um estômato: parênquima esponjoso (pj); cutícula (cu); átrio supra-estomático (at); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); idioblasto cristalífero (ic). As escalas correspondem 5 mm em A e B, a 1 mm em C e a 30 µm em E e F..... 26
- Figura 2 Aspectos microscópicos em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. As escalas correspondem a 50 µm em A e B, a 75 µm em C e D, a 35 µm em E, a 120 µm em F, a 180 µm em G, a em 200µm em H e I e a 50 µm em J. **A** e **B** – detalhes parciais do mesófilo em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x); floema (f); bainha parenquimática (bp); fibras (fb); estômato (es). **C** e **D** – detalhe de um feixe vascular na porção basal e na porção mediana da lâmina foliar, respectivamente, em secção transversal: fibras (fb); bainha parenquimática (bp); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f). **E** – detalhe do bordo foliar, em secção transversal, mostrando a nervura marginal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); fibras (fb); estômato (es). **F**, **G** e **H** – esquemas do aspecto geral da porção mediana da nervura principal, em secções transversais, mostrando variações na distribuição do floema, xilema e fibras: face adaxial (ad); face abaxial (ab); colênquima (co); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f);

	<p>fibras (fb). <b>I</b> – esquema do aspecto geral do pecíolo, em secção transversal: epiderme (ep); fibras (fb); xilema (x); floema (f). <b>J</b> – detalhe de um braquiesclereíde do pecíolo, em secção transversal: braquiesclereíde (br).....</p>	28
Figura 3	<p>A) Estrutura básica do flavonoide formada por três anéis (A, B e C) e (B) Princípios ativos importantes de folhas de <i>Maytenus ilicifolia</i>., (B1) catequina, (B2) epi-catequina, (B3) friedelina e (B4) friedelinol.....</p>	30
Figura 4	<p>Vista da face abaxial de folhas. <b>A.</b> <i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek; <b>B.</b> <i>Sorocea bonplandii</i> Baillon; <b>C.</b> <i>Zollernia ilicifolia</i> Vog. (barras – 1 cm); Nervuras das lâminas foliares de: <b>D.</b> <i>M. ilicifolia</i>; <b>E.</b> <i>S. bonplandii</i>; <b>F.</b> <i>Z. ilicifolia</i> (barras: 1 cm). Aréolas formadas pelas nervuras nas folhas de: <b>G.</b> <i>M. ilicifolia</i>; <b>H.</b> <i>S. bonplandii</i>; <b>I.</b> <i>Z. ilicifolia</i> (barras – 400 µm). Legenda: α – ângulo de divergência; 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> – ordens de nervuras.....</p>	33
Figura 5	<p>Constituintes de folhas de <i>Sorocea bonplandii</i> Baillon (Soroceína G e Soroceína F) e de <i>Zollernia ilicifolia</i> (Zierina).....</p>	34
Figura 6	<p>Partes aéreas de <i>Maytenus aquifolia</i> Mart. (A) e de <i>Maytenus ilicifolia</i> ex. <i>Reissek</i> (B).....</p>	35
Figura 7	<p>Cultivo de espinheira-santa no Quilombo de Tapera/Itaipava (RJ).....</p>	44
Figura 8	<p>Amostras 2 e 3, provenientes do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV)/PR.....</p>	45
Figura 9	<p>Fotos das amostras industrializadas 4 a 14, comercializadas em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.....</p>	46
Figura 10	<p>Fotos das amostras 15 a 27, vendidas a granel, procedentes de ervanarias e mercado popular selecionadas aleatoriamente no município do Rio de Janeiro.....</p>	47
Figura 11	<p>Preparo e análise das amostras de espinheira-santa.....</p>	61
Figura 12	<p>Teor de umidade (em %) nas amostras <i>in natura</i> de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL (Petrópolis, RJ), 1; do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV, PR), 2 e 3; de lojas de produtos naturais (4 a 14) e adquiridas em ervanarias e mercado popular, 15 a 27.....</p>	69

Figura 13	Folhas de espinheira-santa proveniente do Quilombo de Tapera/APL Petrópolis/RJ (amostra 1). Detalhe do tipo de nervação craspedódroma simples, característica da face abaxial de <i>M. ilicifolia</i> . Barra – 5mm.....	72
Figura 14	Análise macroscópica das folhas das amostras 2 e 3 provenientes do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV/PR). A – face adaxial; B – face abaxial.....	73
Figura 15	Análise macroscópica das folhas das amostras 5, 6, 8 e 13, provenientes de lojas de produtos naturais, e 15 e 19, adquiridas de ervanarias e mercado popular. Nervação classificada craspedódroma simples. Barra – 5 mm.....	74
Figura 16	Análise macroscópica das folhas das amostras 7, 9, 10, 11, 12, 14 (provenientes de lojas de produtos naturais), 16, 20, 24, 25, 26 e 27 (adquiridas de ervanarias e mercado popular). Nervação classificada craspedódroma-semicraspedódroma. Barra – 5 mm.....	75
Figura 17	Seção transversal na região da nervura central da folha da amostra 1, proveniente do Quilombo de Tapera/APL Petrópolis (RJ). Formato biconvexo, com uma proeminência na região adaxial, sendo a curvatura menos acentuada na face abaxial e feixe vascular anficrival com formato achatado. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); parênquima paliçádico (pp); parênquima lacunoso (pl); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb). Barra – 100 µm.....	77
Figura 18	Seção transversal na região da nervura central da folha da amostra 2 proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista (PR). <b>A</b> : formato biconvexo com curvatura menos acentuada na face abaxial e feixe vascular anficrival com formato achatado (barra = 50 µm); <b>B</b> : cutícula espessa formando flanges e colênquima angular. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb); cristais prismáticos (cp) e colênquima (co). Barra – 20 µm.....	78
Figura 19	Seção transversal na região da nervura central da folha da amostra 3 proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista (PR). <b>C</b> : formato	

	biconvexo com curvatura menos acentuada na face abaxial e feixe vascular anficrival com formato cilíndrico delimitado por uma bainha de fibras de paredes fortemente espessadas (Barra – 200 µm); <b>D</b> : cutícula espessa formando flanges e colênquima angular lamelar subepidémico. Barra – 20 µm.....	79
Figura 20	Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 4, 5, 6, 8 e 13 provenientes de lojas de produtos naturais. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb), colênquima (co). Barra – 100 µm.....	81
Figura 21	Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 15 (A e B), 17 (barra – 50 µm) e 19 (A e B) provenientes de ervanarias e mercado popular (barra – 100 µm). Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb) e colênquima (co).....	82
Figura 22	Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 7, 9, 10, 11, 12 e 14 provenientes de lojas de produtos naturais. Barra – 100 µm. 7B e 9B: presença de cristais prismáticos (cp) e tricoma tector unicelular (tt). Barra – 20 µm. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); xilema (x); floema (f); tricoma glandular (tg); fibras gelatinosas (fg).....	84
Figura 23	Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 e 27. Detalhe de tricomas tectores (tt) em 16-B e 23-B (barra – 20 µm) e glandular (tg) em 20 (barra – 100 µm). Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); xilema (x); floema (f); cristais prismáticos (cp) e fibras gelatinosas (fg).....	85
Figura 24	Percentual de drogas adulteradas no intervalo de avaliação do controle da qualidade de amostras de espinheira-santa no período de março de 2014 a novembro de 2016.....	86
Figura 25	Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais de	

	espinheira-santa provenientes de APL e RBBV. Padrão de epicatequina (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ), segundo condições da Farmacopeia Brasileira (2010). Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico/água na proporção de 90:5:5 (v/v/v) e revelação com vanilina sulfúrica.....	88
Figura 26	Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL (Petrópolis, 1), do RBBV (2 e 3) e das lojas de produtos naturais (4-14), segundo condições de Wagner e Bladt (1996). Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico/ácido acético/água na proporção de 100:11:11:27, (v/v/v). Revelação realizada com NP/PEG e observação sob UV a 365 nm.....	91
Figura 27	Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais de espinheira-santa provenientes de ervanarias e mercado popular (15-27), segundo condições de Wagner e Bladt (1996). Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico/ácido acético/água na proporção de 100:11:11:27 (v/v/v) com revelação realizada com NP/PEG e observação sob UV a 365 nm.....	91
Figura 28	Doseamento de taninos totais expresso em percentual de pirogalol das amostras do Quilombo de Tapera/APL, RBBV e comerciais (lojas de produtos naturais, ervanarias e mercado popular). Sinalização das amostras que estão abaixo do mínimo de 2,0 %, preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010).....	96
Figura 29	Curva de calibração da epicatequina.....	97
Figura 30	Perfil cromatográfico de epicatequina, padrão farmacopeico de <i>Maytenus ilicifolia</i> . Cromatograma obtido por CLAE/UV e detecção a 210 nm. Condições: coluna Supelcosil LC-18 (250 mm x 4,0 mm d.i, 5 µm); fase móvel: água/TFA (0,05 %) e acetonitrila/TFA (0,05 %), em gradiente); temperatura: 30° C; fluxo: 0,8 mL/min; volume de injeção: 20 µL. Farmacopeia Brasileira (2010).....	98
Figura 31	Perfil cromatográfico da amostra 1 proveniente do Quilombo de Tapera/APL. O sinal com o tempo de retenção de 6,78 min corresponde à epicatequina.....	100
Figura 32	Perfil cromatográfico da amostra 2, proveniente do Refúgio Biológico	

	Bela Vista/PR, com indicação do sinal da epicatequina no tempo de retenção de 6,79 min.....	101
Figura 33	Perfil cromatográfico da amostra 3, proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista/PR, com indicação do sinal da epicatequina no tempo de retenção de 6,80 min.....	102
Figura 34	Cromatograma de alta eficiência da amostra 4, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.....	102
Figura 35	Cromatograma de alta eficiência da amostra 5, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.....	103
Figura 36	Cromatograma de alta eficiência da amostra 6, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.....	103
Figura 37	Cromatograma de alta eficiência da amostra 13, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.....	104
Figura 38	Cromatograma de alta eficiência da amostra 15, proveniente de ervanaria do município do Rio de Janeiro.....	104
Figura 39	Cromatograma de alta eficiência da amostra 17, proveniente de ervanaria do município do Rio de Janeiro.....	104
Figura 40	Cromatograma de alta eficiência da amostra 19, proveniente de ervanaria do município do Rio de Janeiro.....	105
Figura 41	Cromatograma de alta eficiência da amostra 27, identificada como <i>Sorocea bonplandii</i> , proveniente de mercado popular do município do Rio de Janeiro.....	105
Figura 42	Gráfico com as concentrações (mg kg <sup>-1</sup> ) de chumbo (Pb), cádmio (Cd) e arsênio (As) nas folhas digeridas de amostras de espinheira-santa das provenientes de APL (RJ), RBBV (PR) e comercializadas em lojas de produtos naturais, farmácias, ervanarias e mercado popular no município do Rio de Janeiro. Valores de referência de acordo com a RDC nº42/2013: Pb = 0,6 mg kg <sup>-1</sup> ; Cd = 0,4 mg kg <sup>-1</sup> ; As =0,6 mg kg <sup>-1</sup> ....	112
Figura 43	Gráfico dos <i>scores</i> das PC1 <i>versus</i> PC2 <i>versus</i> PC 3 obtido para as	

	amostras do Quilombo de Tapera/APL (1), RBBV (2 e 3) e comerciais [lojas de produtos naturais (4-14) e ervanarias e mercado popular (15-27)].....	116
Figura 44	Gráfico de <i>loadings</i> PC1 versus PC 2 versus PC3 para as amostras do Quilombo de Tapera/APL (1), RBBV (2 e 3) e comerciais [lojas de produtos naturais (4-14) e ervanarias e mercado popular (15-27)].....	117
Figura 45	Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) das amostras do Quilombo de Tapera/APL (1), RBBV (2 e 3) e comerciais [lojas de produtos naturais (4-14) e ervanarias e mercado popular (15-27)].....	118

## LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APL	Arranjo Produtivo Local
BPFC	Boas Práticas de Fabricação e Controle
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EMEA	<i>European Medicines Agency</i>
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama ( <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> )
FB	Farmacopeia Brasileira
FFFB	Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira
FG AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite ( <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> )
HCA	Análise por agrupamento hierárquico ( <i>Hierarchical Cluster Analysis</i> )
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado ( <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> )
IFAV	Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal
IN	Instrução Normativa
INCQS	Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde
IPNI	<i>International Plant Name Index</i>
JBRJ	Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro
JP	<i>Japanese Pharmacopoea</i>
LQPN	Laboratório de Química de Produtos Naturais
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MF	Medicamento Fitoterápico
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
SMA	Serviço de Métodos Analíticos
PCA	Análise por componentes principais ( <i>Principal Component Analysis</i> )
PTF	Produto Tradicional Fitoterápico
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS

PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RE	Resolução
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SPE	Extração em Fase Sólida
SR	Solução Reagente
SUS	Sistema Único de Saúde
TFA	Ácido trifluoracético
UBS	Unidade Básica de Saúde
UV/Vis	Ultravioleta/Visível
WHO	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Aspectos histórico das plantas medicinais.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 Vigilância sanitária de produtos de origem vegetal.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3 Controle da qualidade de drogas vegetais.....</b>	<b>19</b>
1.3.1 <i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek.....	23
1.3.1.1 <i>Geral</i> .....	23
1.3.2 Características morfoanatômicas de <i>M. ilicifolia</i> .....	25
1.3.2.1 <i>Descrição macroscópica da parte da planta utilizada</i> .....	25
1.3.2.2 <i>Descrição microscópica da parte da planta utilizada</i> .....	26
1.3.3 Componentes químicos presentes em <i>Maytenus ilicifolia</i> mart. ex Reissek.....	29
1.3.4 espécies vegetais similares que podem ser utilizadas como adulterantes de <i>Maytenus ilicifolia</i> mart. ex Reissek.....	31
<b>1.4 Análise elementar de drogas vegetais no âmbito da saúde pública.....</b>	<b>35</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>43</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>43</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>43</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
<b>3.1 Material.....</b>	<b>44</b>
3.1.1 Amostras botânicas.....	44
3.1.2 Substâncias químicas de referência.....	48
3.1.3 Reagentes e outros materiais.....	48
3.1.4 Reveladores para Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	49
3.1.5 Equipamentos.....	50
<b>3.2 Controle da qualidade da droga vegetal.....</b>	<b>51</b>
3.2.1 Secagem, divisão e aspecto da droga vegetal.....	51
3.2.2 Avaliação dos caracteres organolépticos.....	51
3.2.3 Amostragem.....	52
3.2.4 Material estranho.....	52
3.2.5 Determinação de água das drogas vegetais em balança de umidade.....	52

3.2.6 Avaliação Macro e Microscópica das Drogas Vegetais.....	53
3.2.7 Testes de identificação e doseamento.....	54
3.2.7.1 Cromatografia em Camada Delgada.....	54
3.2.7.2 Testes de precipitação.....	55
3.2.7.3 Doseamento de Taninos Totais.....	55
3.2.7.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	57
3.2.8 Avaliação do perfil mineral das drogas vegetais e medicamentos fitoterápicos de espinheira-santa.....	59
<b>3.3 Análises estatísticas.....</b>	<b>64</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>4.1 Amostras botânicas.....</b>	<b>66</b>
<b>4.2 Controle da qualidade da droga vegetal.....</b>	<b>67</b>
4.2.1 Determinação de água e material estranho nas drogas vegetais.....	67
4.2.2 Avaliação botânica das drogas vegetais.....	71
4.2.2.1 Morfoanatomia foliar.....	71
4.2.2.2 Anatomia foliar.....	76
4.2.3 Testes de identificação e doseamento.....	87
4.2.3.1 Cromatografia em camada delgada.....	87
4.2.3.2 Testes de precipitação.....	92
4.2.3.3 Doseamento de Taninos Totais – Método farmacopeico.....	94
4.2.3.4 Cromatografia Líquida de alta Eficiência.....	96
<b>4.3 Avaliação elementar.....</b>	<b>106</b>
<b>4.4 Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) e Análise por Componentes Principais (PCA).....</b>	<b>112</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>120</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>122</b>
<b>GLOSSÁRIO.....</b>	<b>145</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>150</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>153</b>
<b>ANEXO C.....</b>	<b>156</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aspectos histórico das plantas medicinais

O uso de plantas medicinais antecede a história humana escrita: foram os primeiros recursos utilizados como alimento ou como forma para tratar as dores e prevenir doenças. Os nossos ancestrais, assim como outros primatas não humanos, provavelmente aprenderam a utilizar as plantas pela observação da natureza. Existem dados históricos e arqueológicos que indicam a possibilidade de os neandertais terem utilizado as plantas medicinais. Resquícios de pólenes de algumas espécies foram encontrados em uma caverna no Iraque que datam de mais de sessenta mil anos – as mesmas ainda hoje utilizadas tradicionalmente para tratar feridas, disenteria, asma, inflamação, dor de dente e outras doenças pelo povo local (HARDY, et al, 2012; MILLS; BONE, 2000). Escritos sobre plantas medicinais datam de cerca de, pelo menos, 3000 anos a.C.. Os sumérios, que viveram na Mesopotâmia, registravam as receitas em placas de argila. Os babilônios, que viveram em 2000 a.C., utilizavam diversos tipos de plantas para tratar seus males (BONET, 1998).

As plantas foram sendo manipuladas e utilizadas para as mais diversas finalidades terapêuticas ao longo das diversas gerações, proporcionando assim um rico conhecimento tradicional ao longo da história humana. Os chineses, com o uso medicinal da *Artemisia annua* contra a malária, os egípcios com o ópio (*Papaver somniferum* L.) utilizado como sedativo e calmante, os hindus através da medicina Ayurvédica baseada nos Vedas – o livro sagrado dos hindus –, produziram um tratado médico intitulado Caraka (mais de 500 plantas). Os gregos e os romanos foram os primeiros a catalogar e classificar as espécies medicinais de acordo com a sua forma, odor, sabor e coloração. Dioscórides escreveu *De Materia Medica* de botânica e medicina, dividido em 5 tomos e contendo mais de 600 plantas, como o cânhamo (*Cannabis sativa*), além de anestésicos à base de ópio (*P. somniferum*) e da mandrágora (*Mandragora* sp). Avicena foi autor do Cânon da Medicina (1020 d.C.), importante livro que continha uma combinação de sua própria experiência, da medicina islâmica medieval, dos escritos de Galeno e Sushruta assim como da antiga medicina persa e árabe e foi utilizado como referência na Europa até meados

do século XVII. Os árabes também foram os responsáveis pela introdução de algumas espécies de uso ainda atual no ocidente como ruibarbo (*Rheum palmatum* L.), cânfora [*Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl], sene (*Senna alexandrina* Mill.), noz-moscada (*Myristica fragans* Houtt.) e cardamomo [*Elettaria cardamomum* (L.) Maton] (ALVES; PONTES, 2017; TU, 2011).

Na América, a utilização das plantas, não só como alimento, mas também como fonte terapêutica, teve início desde que os primeiros habitantes aqui chegaram, há cerca de 12 mil anos, dando origem aos paleoíndios amazônicos, dos quais derivaram as principais tribos indígenas do país. Pouco, no entanto, se conhece sobre esse período, além das pinturas rupestres e alguns dados arqueológicos (JÚNIOR; MAGALHÃES, 2015). No Brasil colônia os jesuítas eram os boticários e, inicialmente, usavam medicamentos vindos da Corte, mas posteriormente passaram a utilizar principalmente espécies vegetais utilizadas pelos índios. O contato constante com os nativos no processo de catequese possibilitou a aproximação dos padres ao conhecimento sobre as plantas medicinais que os índios detinham, possibilitando aos religiosos o aprendizado quanto à identificação, colheita e preparo de espécies medicinais e seus principais usos que posteriormente foram compilados em um livro manuscrito intitulado 'Coleção de Receitas', sendo utilizado como Código Farmacêutico Brasileiro até o final do século XVIII (ALVES, PONTES, 2017).

No século XIX, o médico polonês Pedro Luiz Napoleão Chernoviz escreveu o primeiro manual que listava os principais usos das plantas medicinais brasileiras nativas, pois seus registros foram coletados em um momento em que a vegetação nativa do Brasil ainda estava, em grande parte, íntegra (MADALENO, 2017; RICARDO, et al, 2017).

A utilização de plantas no tratamento de doenças no Brasil apresenta, fundamentalmente, influências de uma cultura indígena, africana e europeia. O uso e a forma de preparo das plantas na medicina popular brasileira são oriundos dos indígenas e pode ser reconhecida, principalmente, pelo nome das espécies, em geral de origem tupi, como o jaborandi (*Pilocarpus jaborandi* Holmes), a andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), ipecacuanha ou poaia [*Cephaelis ipecacuanha* (Brotero) Richard] e a copaíba (*Copaifera officinalis* L.), dentre outras. Os índios utilizavam a fitoterapia dentro de um aspecto mágico, no qual o pajé ou feiticeiro da tribo

procurava no mundo espiritual, através de espécies alucinógenas como a jurema preta [*Mimosa hostilis* (willd.) Poir], o rapé embriagante (*Anadenanthera* sp) e a ayahuasca (ALMEIDA; MARTINEZ; PINTO, 2017).

A herança europeia caracteriza-se principalmente pela presença de inúmeras espécies cultivadas, trazidas pelos portugueses, como a sálvia (*Salvia officinalis* L.), alecrim (*Rosmarinum officinalis* L.), camomila (*Matricaria chamomilla* L.), calêndula (*Calendula oficinalis* L.). A africana, por sua vez, pode ser reconhecida pelo uso de plantas originárias daquele continente e cuja utilização se associa a rituais místicos e religiosos, como a guiné (*Petiveria alliacea* L.), o alumã (*Vernonia condensata* Baker.), jucá (*Caesalpinia ferrea*) e o melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) (ALMEIDA, 2011; ALONSO, 1998). No Brasil, como em muitas partes do mundo, a medicina fitoterápica é praticada tanto por curandeiros populares, para os quais a prática da fitoterapia faz parte da cultura tradicional, como por fitoterapeutas profissionais. O uso de plantas no tratamento das enfermidades é bastante comum, tanto no meio rural como no urbano, por populações de baixo poder aquisitivo, onde a tradição cultural e os problemas sócio-econômicos dificultam o acesso à medicina convencional (AGRA, 1996). Apesar do Brasil ser o país mais diversificado da cultura ameríndia, as plantas, como os conhecimentos tradicionais, estão sob intensa ameaça devido à contínua destruição dos ecossistemas nativos, como consequência dos sucessivos ciclos econômicos ao longo dos cinco séculos de crescente ocupação humana. Da Mata Atlântica resta hoje apenas cerca de 12% da cobertura original e somente na fachada da Serra do Mar e no Vale do Ribeira resta um pouco da vegetação original. No interior, o restante de mata nativa está extremamente fragmentado e o Cerrado e a Caatinga também estão em um rápido processo de destruição (FORZZA et al, 2012; GIULIETTI et al, 2005; JOLY, SPEGLICH, 2003; NEVES, 2006).

Em 2002, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou o documento *WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005*, no qual enfatiza a importância da medicina tradicional para a saúde pública. O documento, embora registre o aumento significativo do uso da medicina tradicional em todo o mundo, também mostra que, na maioria dos países em desenvolvimento, a medicina moderna não se estabeleceu de forma sistemática e/ou a população ou o país não tem condições financeiras de utilizá-la. Como outra opção não se apresenta viável, perpetua-se a

utilização da medicina tradicional, praticada há séculos, como cuidado primário à saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

Atualmente, grande parte da comercialização de derivados de plantas medicinais é realizada em lojas de produtos naturais, ervanarias e grandes mercados atacadistas, onde são comercializadas na sua forma *in natura*, algumas vezes sendo obtidas de espécies cultivadas em viveiros ou coletadas de forma predatória nas matas (ALMEIDA et al, 2002; LEITÃO et al, 2014; VEIGA JÚNIOR, MACIEL; PINTO, 2005).

Bisch et al (2006) mostraram em seu estudo que as espécies mais utilizadas pelas comunidades locais são as mais ameaçadas de extinção devido à coleta indiscriminada. No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são muito utilizadas, apesar de haver pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas podendo assim, se tornar um problema de saúde pública. Espécies vegetais podem sofrer adulterações, serem tóxicas ou interagirem com outros medicamentos alopáticos, requerendo portanto, um controle mais ativo da sua comercialização a fim de garantir à população uma melhor qualidade de vida (BUSSMANN et al, 2011; VEIGA JUNIOR, 2008).

## **1.2 Vigilância sanitária de produtos de origem vegetal**

A regulação sanitária é definida como o modo de intervenção do Estado nas relações de produção e de consumo de bens e produtos de interesse à saúde a fim de impedir riscos à saúde da população (DE SETA; OLIVEIRA; PEPE, 2017). Até o século XIX, o Brasil se apresentava como um país majoritariamente rural com largo uso das plantas medicinais nativas e exóticas para tratamento de doenças (LORENZI; MATOS, 2008). Em 1929, Rodolpho Albino Dias da Silva publicou a primeira edição da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 1967), que continha dados botânicos e testes de qualidade de 280 espécies, demonstrando o quão importante eram as plantas medicinais como recurso terapêutico no início do século passado, bem como a preocupação em regulamentar a manipulação dos produtos de origem vegetal. A segunda edição foi publicada em 1959 e passou a conter somente 80 espécies vegetais, mostrando claramente uma tendência da Farmacopeia do Brasil em se concentrar nos medicamentos sintéticos, reflexo do momento de grande

desenvolvimento industrial, durante o qual estes fármacos passaram a dominar o mercado farmacêutico nacional, influenciado pelo advento da penicilina, sulfas e outros sintéticos, deixando o uso das drogas vegetais como segunda opção (MARQUES; PETROVICK, 2010).

Historicamente, o registro de medicamento fitoterápico no Brasil teve seis dispositivos regulatórios e se iniciou com a publicação da Portaria nº 22, de 30 de outubro de 1967, influenciada pelos fatos ocorridos com a talidomida, considerado um desastre internacional que marcou a história da vigilância sanitária de medicamentos (BRASIL, 1967). A OMS, através de várias resoluções publicadas desde 1962, orientou a revisão das legislações sanitárias dos países membros para o estabelecimento de testes farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos padronizados antes da entrada dos medicamentos no mercado. Esta atitude repercutiu no desenvolvimento do arcabouço regulatório sanitário de medicamentos em todo o mundo (OMS, 2010), incluindo o Brasil, que publicou a Portaria nº 22 de 1967 (BRASIL, 1967). Esta norma teve a finalidade de normatizar a produção e comercialização de medicamentos fitoterápicos, definindo os principais critérios necessários a serem cumpridos pelas empresas fabricantes para obtenção de licença no órgão de vigilância sanitária, o então Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia (SNFMF). Esta portaria regulava as especialidades farmacêuticas que possuíam a droga vegetal ou o produto fitoterápico na sua composição, constando ou não na Farmacopeia. Mesmo com restrições técnicas, esta norma trouxe algumas exigências antes nunca solicitadas, como a caracterização farmacognóstica, o controle da qualidade (concentração e atividade) da preparação fitoterápica e testes adicionais (ensaios farmacológicos e clínicos, toxicidade aguda e crônica, farmacologia animal e testes de teratogenicidade) caso a planta medicinal utilizada para o preparo do produto fitoterápico não constasse na Farmacopeia. Entretanto, na prática, relatórios técnicos eram aprovados sem estes testes exigidos pela norma, contribuindo para a permanência no mercado de produtos sem qualidade (MARQUES; PETROVICK, 2010).

A partir da década de 1980, diversas ações e programas de fitoterapia foram implantados na rede pública de saúde que regulamentou, dentre outras, a prática da fitoterapia no serviço público e criou procedimentos e rotinas relativas a essa prática nas unidades assistenciais médicas. Na década de 70 foi instituído pelo Decreto nº

68.806/1971 (BRASIL, 1971) o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos do Ministério da Saúde (PPPM/CEME). Prioritariamente, suas ações eram voltadas ao fornecimento de medicamentos, mas também atuava na área de pesquisa e desenvolvimento, formulando, coordenando e executando políticas de fomento ao desenvolvimento tecnológico e industrial farmacêutico. Possuía dois programas nesta área, o Programa de Nacionalização de Fármacos (PNAF) e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais (PPPM). Em 1973 foi aprovado o primeiro projeto de pesquisa tendo como objeto uma planta medicinal, sendo desativado quinze anos depois. Segundo Fernandes (2004), as principais causas para o término do programa da CEME foram má administração, corrupção e a própria trajetória do setor industrial farmacêutico brasileiro.

Vinte e oito anos após a publicação da Portaria nº 22/1967, diante da necessidade urgente de atualização das normas brasileiras, foi elaborada na década de 1990, a Portaria SVS nº 6, de 31 de janeiro de 1995 (BRASIL, 1995). Esta portaria acrescentou requisitos modernos de qualidade e foi considerada uma norma mais rígida que, efetivamente, igualava os medicamentos fitoterápicos aos quimicamente definidos quanto à exigência de comprovação de eficácia e segurança para o seu registro. Dessa forma, a norma definiu uma nova classe de medicamentos industrializados, os medicamentos derivados de plantas medicinais (denominados como produto fitoterápico): aqueles formados somente por drogas vegetais sem a presença de substâncias isoladas sintéticas ou naturais. A Portaria SVS nº 06/1995 regulamentava também a isenção de registro, prevista na Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976 (BRASIL, 1976), para o caso de fitoterápicos que fossem descritos em monografias da Farmacopeia Brasileira ou em outro código oficial aceito (BRASIL, 1995). A portaria SVS nº 06/1995 não conseguiu cumprir com seu papel legal, sendo revogada pela RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000. Esta última norma reforçou a preocupação com a eficácia e com os riscos do uso dos fitoterápicos, assim como com a reprodutibilidade e constância de sua qualidade (BRASIL, 2000). O termo “Medicamento Fitoterápico” foi inserido e o conceito de uso tradicional na regulamentação sanitária brasileira, que vinha sendo sugerido havia alguns anos pela OMS (OMS, 1991; OMS, 2000). O conceito do uso tradicional vem associado a três alternativas para a comprovação da eficácia e da segurança: presença na lista de registro simplificado de medicamentos fitoterápicos, através da

RE nº 88 de 16 de março de 2004 (BRASIL, 2004b); obtenção de um mínimo de 6 pontos na lista de referências bibliográficas, indicadas na RE nº 89 de 16 de março de 2004 (BRASIL, 2004c); e a realização de estudo etnofarmacológico de utilização. A RDC nº 17/2000, posteriormente, foi revogada pela RDC nº 48/2004 que, por sua vez foi substituída pela RDC nº 14/2010 (BRASIL, 2000; BRASIL 2004a; BRASIL, 2010b). Em 2010 foi publicada uma nova norma, a RDC nº10/2010 (BRASIL, 2010a), que possibilitava que drogas vegetais industrializadas fossem oficializadas e padronizadas com base no uso tradicional. A norma apresenta sessenta e seis espécies em seu anexo com indicação de uso, forma de preparo, dose e os cuidados e restrições a serem observados na sua administração, podendo ser comercializadas após notificação simplificada. Apesar desta norma requerer requisitos mínimos da qualidade, as empresas produtoras de medicamento fitoterápico e drogas vegetais não conseguiram notificar seus produtos pois a maioria era formada por pequenas empresas e não conseguiam atender às condições de Boas práticas Farmacêuticas (BPF) reguladas pela RDC nº 13/2013 (BRASIL, 2013a).

Nesse mesmo ano foi publicada a edição atualmente em vigor da Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA Brasileira, 2010) e, em 2011 foi publicado o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (FFFB), composto por 47 monografias de drogas vegetais para infusos e decoctos, 17 de tinturas, 1 de xarope, 5 de geis, 5 de pomadas, 1 de sabonete, 2 de cremes, 4 de bases farmacêuticas e 1 de solução conservante (BRASIL, 2011).

Em 2014 foram revogadas as RDCs nº 10/2010 (BRASIL, 2010a) e nº 14/2010 (BRASIL, 2010b), tendo sido substituídas pela RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, norma ainda vigente e que apresenta duas categorias de fitoterápicos, os medicamentos fitoterápicos (MF) – obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e eficácia sejam baseadas em evidências clínicas e que sejam caracterizados pela constância de sua qualidade e os produtos tradicionais fitoterápicos (PTF) – obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e efetividade sejam baseadas em dados de uso seguro e efetivo publicados na literatura técnico-científica e que sejam concebidos para serem utilizados sem a vigilância de um médico para fins de diagnóstico, de prescrição ou de monitorização, (BRASIL, 2014a), formato semelhante aos

empregados pelas farmacopeias internacionais como a da *European Medicines Agency* (EMA), (BRASIL, 2009a). A RDC nº 26/2014, além de regulamentar o registro de medicamentos fitoterápicos (MF) e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos (PTF), também se aplica a produtos que sejam constituídos de fungos multicelulares e algas como insumos farmacêuticos ativos (IFA) até que seja publicada regulamentação específica para essas classes. É importante destacar que tanto MF como PTF são considerados medicamentos, possuindo requisitos similares de fabricação e de qualidade (mais flexíveis para PTF). As mudanças trouxeram as regras brasileiras para mais perto da regulamentação internacional (BRASIL, 2010a; BRASIL, 2010b; BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014d; CARVALHO et al, 2011).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMP) e a Política de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), ambas publicadas em 2006 (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b), promoveram modificações na regulação de plantas medicinais e fitoterápicos. Estas políticas definiram ações e metas que deveriam ser cumpridas pelos diversos ministérios e instituições que estivessem envolvidos na cadeia de produção de plantas medicinais e seus derivados. A principal ação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foi relacionada com a regulamentação da produção, distribuição e uso de plantas medicinais e fitoterápicos. Em substituição à IN nº 05/2008 (Lista de Medicamentos Fitoterápicos de Registro Simplificado) foi publicada a IN nº 02/2014, com a lista de 27 medicamentos fitoterápicos de registro simplificado e 15 de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado, mais a publicação de um guia, a IN 4/2014 (BRASIL, 2008; BRASIL, 2014a, BRASIL, 2014b, 2014c).

Uma revisão da legislação de registro orientada pelas diretrizes da PNPMP, somadas às necessidades de mercado nacional, aumentaram a abrangência da legislação por adequar as exigências aos níveis de produção e favorecer o registro dos fitoterápicos. Outra ação importante foi a publicação pelo MS, em fevereiro de 2009, da relação de plantas medicinais de interesse ao SUS (RENISUS). Esta lista é composta por 71 espécies vegetais; porém, como foram incluídas mais de uma espécie de um mesmo gênero, o número total passou para 89 espécies. O intuito desta lista foi estimular a área de pesquisa e desenvolvimento a investir intelectual e

financeiramente nestas plantas e que estas resultassem em produtos mais seguros e eficazes. Sendo uma prioridade do MS, passou a ser também da ANVISA, que elaborou listas de registro simplificado, Farmacopeias, Mementos e o Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2009b; BRASIL, 2016; RECH et al, 2017).

Em 2008, segundo diagnóstico, as ações e serviços da fitoterapia, modalidade das Práticas Integrativas e Complementares mais incidentes no SUS, eram ofertados em 350 municípios/estados, distribuídos em todas as regiões do país. Nestes, os serviços disponibilizam plantas medicinais em uma ou mais formas como planta medicinal *in natura*, droga vegetal, fitoterápico manipulado e fitoterápico industrializado (BRASIL, 2008). A inserção da fitoterapia na atenção primária à saúde trouxe grandes melhoras ao acesso a outras formas de tratamento além dos medicamentos sintéticos, fortalecendo a implementação das políticas públicas e o desenvolvimento local, com resgate do saber tradicional. A Portaria nº 1.897, de 26 de julho de 2017 estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) que podem ser disponibilizados para a população. Doze espécies estão presentes nesta lista, *M. ilicifolia* (espinheira-santa), *Mikania glomerata* (guaco), *Cynara scolymus* (alcachofra), *Schinus terebenthifolia* (aroeira), *Rhamnus purshiana* (cáscara-sagrada), *Harpagophytum procumbens* (garra-do-diabo), *Glycine max* (isoflavona de soja), *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato), *Mentha piperita* (hortelã), *Plantago ovata* (plantago), *Aloe vera* (babosa) e *Salix alba* (salgueiro). De acordo com o Ministério da Saúde, estes medicamentos são financiados com recursos da União, estados e municípios, e podem ser manipulados ou industrializados, sendo que estes últimos devem possuir registro na ANVISA (BRASIL, 2017). O Brasil possui, atualmente 8 normas vigentes específicas para MF e PTF e 26 normas gerais que complementam o arcabouço regulatório para estas categorias de produtos. Todas essas normas encontram-se no Consolidado de Normas da Coordenação de Medicamentos Fitoterápicos e Dinamizados – COFID/GGMED/ANVISA. A versão V foi publicada em janeiro de 2015, com normas referentes ao registro ou pós-registro dos medicamentos fitoterápicos, medicamentos dinamizados e produtos tradicionais fitoterápicos (BRASIL 2015). A ANVISA também publicou a IN nº 04, de 18 de junho de 2014, que é um Guia de

Orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico, elaborado a partir dos guias orientativos sobre fitoterápicos publicados pela OMS e pelos órgãos reguladores da Austrália (*Therapeutic Goods Administration – TGA*), do Canadá (*Health Canada – HC*) e da Comunidade Europeia (*European Medicines Agency – EMA*), considerado de grande importância para o setor regulatório das indústrias farmacêuticas produtoras de fitoterápicos no país (BRASIL, 2014 b).

### **1.3 Controle da qualidade de drogas vegetais**

No Brasil, desde 1990, normas para o controle da qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos vêm sendo sucessivamente substituídas por outras que veem tais produtos como possíveis riscos ao consumo (TAPPIN; LUCCHETTI, 2007). Pode-se perceber que é dado destaque às partes das plantas utilizadas, as formas de obtenção de extratos, as doses diárias recomendadas e, muitas vezes, os princípios ativos presentes nas plantas (CARVALHO et al, 2008). Para a normatização das plantas medicinais sob a forma de droga vegetal, que era regulada pela extinta RDC nº 10/2010, a norma atual considerou o Art. 22 do Decreto no 8.077, de 14 de agosto de 2013, para a normatização dos “Chás Medicinais”. Estes são dispensados de registro, devendo ser notificados, de acordo com esta Resolução, na categoria de Produto Tradicional Fitoterápico. A espécie medicinal deverá ter monografia em farmacopeia reconhecida pela ANVISA ou que esteja presente no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, sendo as demais drogas vegetais ou chás medicinais sujeitos ao registro (BRASIL, 2010b; BRASIL, 2014a; BRASIL, 2013d).

Em relação ao controle da qualidade de material de origem vegetal, é possível observar que, apesar do avanço regulatório na área de plantas medicinais com as RDCs nº 18/2013 (que dispõe sobre boas práticas de processamento e armazenamento de plantas medicinais), nº 14/2013 (que discursa sobre boas práticas de fabricação de insumos farmacêuticos de origem vegetal) e nº 13/2013 (que regula as boas práticas de fabricação de produtos tradicionais), observa-se uma grande falta de qualidade das drogas vegetais comercializadas no país (BRASIL 2013a; BRASIL, 2013b e BRASIL 2013c). Devido a fatores como a

dimensão continental do país, a diversidade cultural da população, a fiscalização insuficiente por parte das autoridades sanitárias e o número de pesquisas reduzido proporcionalmente ao elenco de plantas utilizadas no combate a doenças, mesmo existindo exigências da legislação de laudos com identificação correta da espécie, teor de princípios ativos e presença de contaminantes orgânicos e inorgânicos, ainda é muito comum encontrar espécies de grande uso terapêutico fora destas especificações (OLIVEIRA; OLIVEIRA; MARQUES, 2016; SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

Balbino e Dias (2010), no período de 1999 a 2009, traçaram o perfil das notificações realizadas na ANVISA em decorrência de efeitos adversos com o uso de plantas medicinais e fitoterápicos. Os bancos de dados de farmacovigilância da ANVISA possuem mais de vinte mil notificações de eventos adversos a medicamentos, acumulados nos dez anos de estudo realizado pelo grupo. Aplicando-se o critério de inclusão, 71 notificações de eventos adversos tiveram plantas medicinais ou fitoterápicos como principal suspeito causador; destes, 18% tiveram efeitos adversos graves com três óbitos, sinalizando a importância do controle das espécies medicinais disponíveis no mercado tanto privado (lojas produtos naturais, farmácias, mercados populares, feiras) e distribuídos nas Unidades Básicas de Saúde (UBSs).

Pesquisas realizadas no Brasil, principalmente nas regiões sul e sudeste, têm mostrado que a situação dos produtos constituídos por plantas medicinais e comercializados em vários centros urbanos é precária. Estas pesquisas, mais concentradas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul, constataram diversas irregularidades tais como características organolépticas impróprias para a espécie, contaminação microbiológica, adulterações, falsificação, informações inadequadas, impurezas (orgânicas e inorgânicas), ausência ou baixa concentração dos constituintes ativos, elevado teor de umidade e a presença de resíduos de agrotóxicos nos produtos (AMARAL et al, 2003; BARBOSA et al, 2001; BRANDÃO et al, 2002; CARVALHO et al, 2008; DUARTE; LIMA, 2003; FISCHER et al, 1993; LEITÃO et al, 2014; SOUSA et al, 2003; ZARONI et al, 2004; ZUCCOLOTTO et al, 1999).

Brandão, Freire e Vianna-Soares (1998), analisando amostras comerciais de camomila procedentes de farmácias e ervanarias, constataram que as mesmas se

apresentavam fora dos padrões de qualidade. A elevada quantidade de matéria estranha e a ausência dos constituintes ativos nas amostras foram os principais problemas observados. Mais tarde, ao analisarem amostras de chás de boldo (*Peumus boldus* Molina), camomila (*Chamomilla recutita* L.), cidreira (*Melissa officinalis* L.), capim-santo [*Cymbopogon citratus* (DC. ex Nees) Stapf], erva-doce (*Pimpinella anisum* L.) e hortelã (*Mentha* sp) comercializadas em Belo Horizonte, averiguaram que, embora todas fossem autênticas, apresentavam-se muito secas e sem os aromas característicos. Os produtos à base de *C. recutita*, *Mentha* sp. e *M. ilicifolia* apresentavam elevados índices de matéria estranha e todas as amostras à base de *P. boldus*, *C. recutita*, *M. officinalis* e metade das amostras de *P. anisum* não tinham os componentes voláteis (BRANDÃO et al, 2002).

Sousa et al (2003) avaliaram amostras de ruibarbo (*Rheum officinale* Baill., *R. palmatum* L., *R. rhaponticum* L. e *Ferraria catártica* Mart.) analisando seu perfil fitoquímico, identidade e pureza, tendo como resultado 2 amostras com contaminação mineral e 1 amostra de *R. palmatum* adulterada, concluindo que a avaliação da qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos é de essencial importância para a garantia de sua eficácia. No Rio Grande do Sul, Zuccolotto et al (1999), avaliando 42 produtos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre, constataram que 71,4% não atendiam aos quesitos mínimos de qualidade, sendo apontados como problemas mais frequentes as substituições, contaminações e ausência do constituinte químico principal. No Paraná, Barbosa et al (2001) investigaram a situação de 10 amostras constituídas por folhas de boldo (*P. boldus*) comercializadas na região metropolitana de Curitiba, verificando a identidade, pureza, percentual de umidade, teor do constituinte químico principal e óleo essencial. Todas as amostras foram reprovadas por apresentarem elevada quantidade de água e teor de boldina abaixo do recomendado, além de 90% dos produtos apresentarem altos índices de impurezas. Duarte e Lima (2003), analisando 8 amostras de camomila comercializadas em farmácias, drogarias e ervanários de Curitiba, constataram que 5 amostras apresentaram percentuais acima do máximo para matéria estranha e 7 possuíam óleo essencial abaixo do recomendado.

Para o nordeste existem poucos estudos avaliando a qualidade de produtos à base de plantas medicinais. Todavia, no Maranhão, foi realizada uma análise

qualitativa de plantas comercializadas em 5 mercados públicos, num total de 12 bancas, sendo selecionadas 12 espécies (AMARAL et al, 2003): aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), boldo (*P. boldus* Molina), cabacinha [*Luffa operculata* (L.) Cogn.], capim-santo [*Cymbopogon citratus* (DC. ex Nees) Stapf], carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.], enxuga (*Alternanthera tenella* Colla), jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul), melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), pau-d'arco-roxo (*Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb.), romã (*Punica granatum* L.), sene (*Senna alexandrina* Miller) e sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth). Foram verificadas as identidades das plantas e as purezas física e microbiológica. Os autores constataram que 62% das amostras apresentavam valores de umidade acima do recomendado, 86% continham impurezas acima do permitido e 81,5% estavam microbiologicamente contaminadas, concluindo que as plantas comercializadas nos mercados públicos de São Luís são de má qualidade. Na cidade de Imperatriz, o mesmo quadro foi descrito por Silva e colaboradores (2017) em um estudo farmacognóstico com 4 espécies comercializadas nos mercados da cidade: carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC], calêndula (*Calendula officinalis* L.), sene (*Senna alexandrina* Miller) e cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC). Todas as amostras foram reprovadas.

Embora haja resoluções que estabeleçam critérios para a qualidade das drogas vegetais, estas ainda têm sido comercializadas fora dos padrões estabelecidos, sem garantia da eficiência terapêutica desejada ou da ausência de riscos à saúde do consumidor. Desta forma, faz-se necessário mais rigor no controle das plantas de uso terapêutico. As plantas medicinais são produtos de venda isenta de prescrição médica, destinados ao consumidor final e assim, elas podem ser utilizadas tanto de forma esporádica quanto de forma contínua, pois a maioria dos usuários julga que elas são produtos naturais e que não apresentariam efeitos colaterais. Em longo prazo, o uso de drogas vegetais sem a qualidade esperada pode provocar sérios danos à saúde (PEREIRA, 2013; SILVA; RIBEIRO; RIBEIRO, 2017; YUNES, 2001).

Uma das plantas medicinais brasileiras mais citadas em pesquisas etnofarmacológicas para o tratamento de úlceras e doenças gástricas é a espinheira-santa, espécie que se tornou conhecida no mundo médico em 1922 quando o professor Aluizio Franca, da Faculdade de Medicina do Paraná, relatou o

sucesso obtido em pacientes portadores de úlcera gástrica (CARLINI; FROCHTENGARTEN, 1988).

A espinheira-santa é uma espécie que está elencada na Lista de Medicamentos Fitoterápicos de Registro Simplificado (LMFRS) da IN nº 02/2014, na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) desde 2007, na Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS (RENISUS) e no Memento Terapêutico da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2016), tendo como principal indicação no tratamento das desordens estomacais, úlceras pépticas e gastrite crônica (BRASIL, 2009b; BRASIL, 2014b; BRASIL, 2017; CARLINI et al, 1998; DUTRA, et al, 2016; JESUS, CUNHA, 2012; NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009; SOUZA-FORMIGONI, 1991).

Devido à importância medicinal da espécie houve aumento no extrativismo das populações naturais e sua busca desordenada no comércio e na natureza quase resultou em sua extinção, sendo considerada em estado vulnerável (VU) segundo a lista vermelha da flora do Rio Grande do Sul (CONSEMA-RS, 2002).

A prática da substituição de plantas medicinais, seja ela proposital ou não, é muito comum no Brasil. A utilização de maneira errônea das espécies botânicas que não sejam a verdadeira espinheira-santa, *M. ilicifolia* Mart ex Reissek, pode acarretar danos sérios e até a morte dos usuários (CIRIO et al, 2003). Esta espécie é comercializada de duas maneiras, uma pelo comércio informal, que é realizado por raizeiros, ervateiros e feirantes (COULAUD-CUNHA et al, 2005) e o formal, realizado em estabelecimentos que possuem uma normatização como mercados, drogarias, farmácias, lojas de produtos naturais, ervanarias e mercados populares (ETHUR et al, 2011; MELO et al, 2007).

### 1.3.1 *Maytenus ilicifolia* Mart ex. Reissek

#### 1.3.1.1 Geral

Esta espécie pertence à família Celastraceae, típica da Mata Atlântica, localizada principalmente nas matas originais. Nativa nas regiões Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), Sudeste (São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) (BRASIL, 2010c), também é distribuída no Paraguai, Bolívia, leste da

Argentina e Uruguai (MARIOT et al, 2008). Tem grande distribuição no Rio Grande do Sul, à exceção da região de planícies costeiras e formações pioneiras (MOSSI; ZANATTA; GERALD, 2000; BIRAL et al, 2017).

A família Celastraceae compreende 50 a 55 diferentes gêneros com 800 a 850 espécies distribuídas nas regiões tropicas e subtropicais. *Maytenus* é o maior gênero de Celastraceae no Novo Mundo. Está representado por aproximadamente 120-140 espécies amplamente distribuídas, com ocorrência desde as regiões subantárticas da Terra do Fogo, no extremo sul do continente, até o sul dos Estados Unidos, nos estados da Flórida e Texas. Ocorrem numa amplitude que vai desde o nível do mar a até 3900m de altitude, em regiões andinas (BIRAL et al, 2017; CARVALHO-OKANO, 1992; RIBEIRO, 2010). As espécies estão presentes em praticamente todos os tipos de vegetação, de florestas a savanas, há espécies presentes em chacos secos e úmidos, salinas, mangues, campos rupestres, afloramentos rochosos e áreas de altitude em geral. Seu centro de diversidade é a América do Sul e o Brasil é o país que possui o maior número de espécies: 49 táxons (dos quais 36 são endêmicos) distribuídos em todos os domínios fitogeográficos e ao longo de todas as unidades da federação e, em recente trabalho na Amazônia (2015), foram identificadas doze espécies para a região (MCKENNA et al, 2011; BFG, 2015).

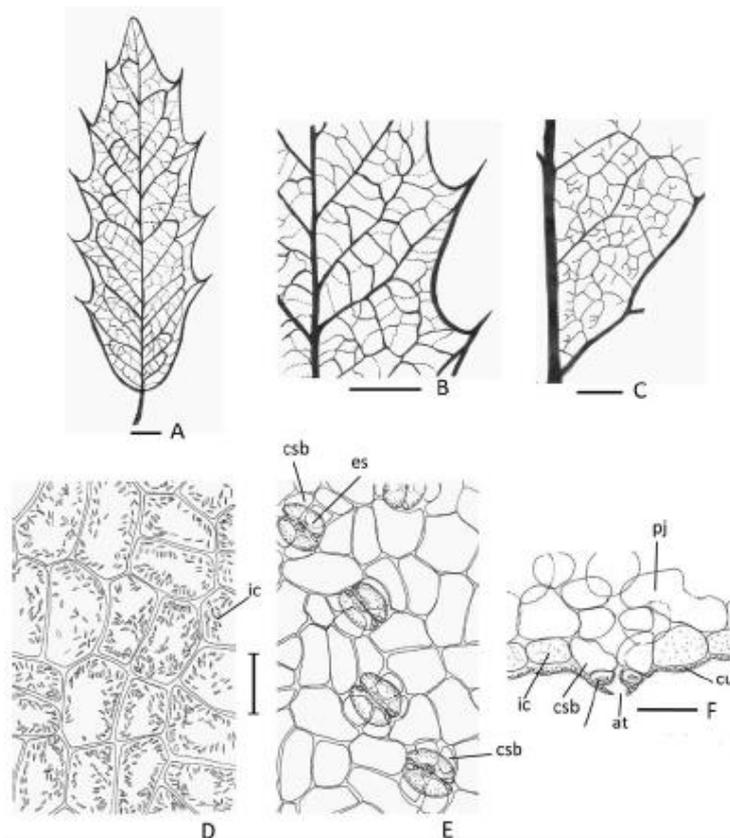
*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek tem, como sinonímia botânica, *Maytenus officinalis* Mabb, *M. muelleri* Schw. e *M. truncata* Ness Reissek (DUARTE, 2005; e BIRAL et al, 2017). Possui como nomes populares vários nomes, sendo espinheira-santa o mais utilizado no Brasil. Outras denominações utilizadas para esta espécie são cancerosa, cancorosa-de-sete-espinhos, cancorosa, cancosa, espinheira-divina, maiteno, erva-cancrosa, erva-santa, erva-cancerosa, congorça, coromilhodo-campo, espinho-de-deus, maiteno e salva-vidas. Denominada *quebrachillo* na Argentina e no Uruguai; *sombra de toro* no Rio da Prata; *concorosa* no Uruguai. Os nomes em espanhol são *congorosa*, *cangorosa*, *capororoca*, *molle espinoso*, *cancerosa*, *sombra de toro* e *quebrachillo* (MOSSI; ZANATTA; GERALD, 2000).

### 1.3.2 Características morfoanatômicas de *M. ilicifolia*

#### 1.3.2. 1 Descrição macroscópica da parte da planta utilizada

As folhas de *M. ilicifolia* ex Reissek são simples, inteiras, de formato oval-lanceolado quando jovens, passando a elíptico-lanceolado com o amadurecimento. Lâmina com 2 a 9 cm de comprimento e 1 a 3 cm de largura, coriáceas a subcoriáceas, glabras, com ápice mucronado, base aguda a obtusa, peninérvias, com nervura principal proeminente na face abaxial. A nervação é do tipo craspedódroma mista, com nervuras secundárias partindo em ângulo agudo em relação à principal, terminando na margem da lâmina, ou ramificando-se em suas proximidades, ou ainda seguindo em direção à margem, onde se reúnem com a superior subsequente, formando arcos. Na margem foliar, tanto as nervuras secundárias quanto as que delas partem unem-se com a nervura marginal, formando projeções pontiagudas na metade apical da lâmina. As aréolas são predominantemente retangulares, com terminações ramificadas e pecíolo curto, com 0,2 a 0,5 cm de comprimento conforme pode ser visto na figura 1. Nas amostras secas, a face adaxial do limbo mostra-se relativamente mais escura que a abaxial, esbranquiçada, (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

Figura 1 - Aspectos macroscópicos e microscópicos em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. **A** – aspecto geral da lâmina foliar; **B** – detalhe da nervação foliar na face adaxial, em vista frontal; **C** – detalhe de porção da lâmina foliar, na face adaxial, em vista frontal, mostrando as aréolas e terminações xilemáticas: aréola (ar); **D** e **E** – detalhe parcial da epiderme adaxial e abaxial, respectivamente, em vista frontal: idioblasto cristalífero (ic); célula subsidiária (csb); estômato (es); **F** – detalhe parcial da lâmina foliar, em secção transversal, mostrando um estômato: parênquima esponjoso (pj); cutícula (cu); átrio supra-estomático (at); célula-guarda (cg); célula subsidiária (csb); idioblasto cristalífero (ic). As escalas correspondem 5 mm em A e B, a 1 mm em C e a 30  $\mu$ m em E e F.



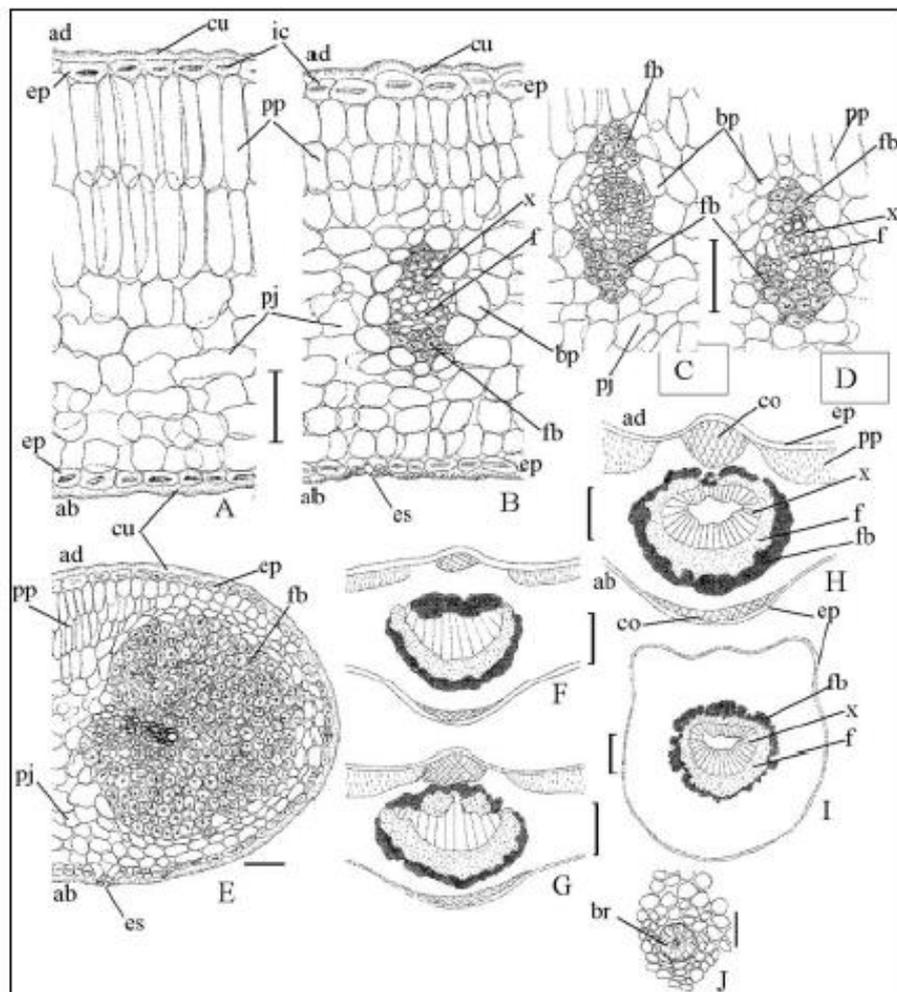
Fonte: (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

### 1.3.2.2 Descrição microscópica da parte da planta utilizada

Apresenta folha hipoestomática e de mesófilo dorsiventral cujos estômatos são do tipo laterocítico, com 1 a 3 células subsidiárias para cada célula-guarda, situados pouco acima ou na mesma altura das demais células epidérmicas. O espessamento interno das células-guardas é proeminente e, devido à espessa cutícula foliar sobre o poro estomático, formam-se projeções. As demais células epidérmicas, em ambas as faces da lâmina, são poligonais, com paredes anticlinais retas, maiores na face adaxial. Em secção transversal observa-se epiderme

uniestratificada, com paredes espessadas, recobertas por camada de cutícula também espessada. Nas células epidérmicas estão presentes estilóides de pequenas dimensões (folhas jovens) ou cristais prismáticos retangulares (folhas maduras), ambos de oxalato de cálcio. O parênquima paliçádico é formado por 2 estratos de células longas e finas, em paliçada típica ou, ainda, por 2 a 3 estratos de células cúbicas ou pouco alongadas, dependendo da amostra analisada. O parênquima esponjoso é formado por 6 a 9 estratos de células com expansões braciiformes curtas, com formação de amplos espaços intercelulares, mais compactado em direção à região abaxial. No mesófilo são comuns células contendo compostos fenólicos, isoladas ou em grupos, com destaque para aquelas pertencentes ao parênquima paliçádico. Na nervura principal, biconvexa em secção transversal, ocorrem colênquima angular junto à face adaxial, as quais reagem positivamente ao cloreto férrico (substâncias fenólicas). O feixe vascular da nervura principal é único, do tipo colateral em arco aberto, circundado por uma bainha de células parenquimáticas de paredes delgadas e com calotas de fibras sobre ambos os pólos de tecidos condutores. O floema apresenta cristais rômnicos de oxalato de cálcio, esclereídes e células subjacentes como apresentado na figura 2 (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

Figura 2 - Aspectos microscópicos em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek. As escalas correspondem a 50  $\mu\text{m}$  em A e B, a 75  $\mu\text{m}$  em C e D, a 35  $\mu\text{m}$  em E, a 120  $\mu\text{m}$  em F, a 180  $\mu\text{m}$  em G, a em 200 $\mu\text{m}$  em H e I e a 50  $\mu\text{m}$  em J. A e B – detalhes parciais do mesófilo em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); idioblasto cristalífero (ic); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); xilema (x); floema (f); bainha parenquimática (bp); fibras (fb); estômato (es). C e D – detalhe de um feixe vascular na porção basal e na porção mediana da lâmina foliar, respectivamente, em secção transversal: fibras (fb); bainha parenquimática (bp); parênquima esponjoso (pj); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f). E – detalhe do bordo foliar, em secção transversal, mostrando a nervura marginal: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); parênquima esponjoso (pj); fibras (fb); estômato (es). F, G e H – esquemas do aspecto geral da porção mediana da nervura principal, em secções transversais, mostrando variações na distribuição do floema, xilema e fibras: face adaxial (ad); face abaxial (ab); colênquima (co); epiderme (ep); parênquima paliçádico (pp); xilema (x); floema (f); fibras (fb). I – esquema do aspecto geral do pecíolo, em secção transversal: epiderme (ep); fibras (fb); xilema (x); floema (f). J – detalhe de um braquiesclereíde do pecíolo, em secção transversal: braquiesclereíde (br).



Fonte: (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

### 1.3.3 Componentes químicos presentes em *Maytenus ilicifolia*

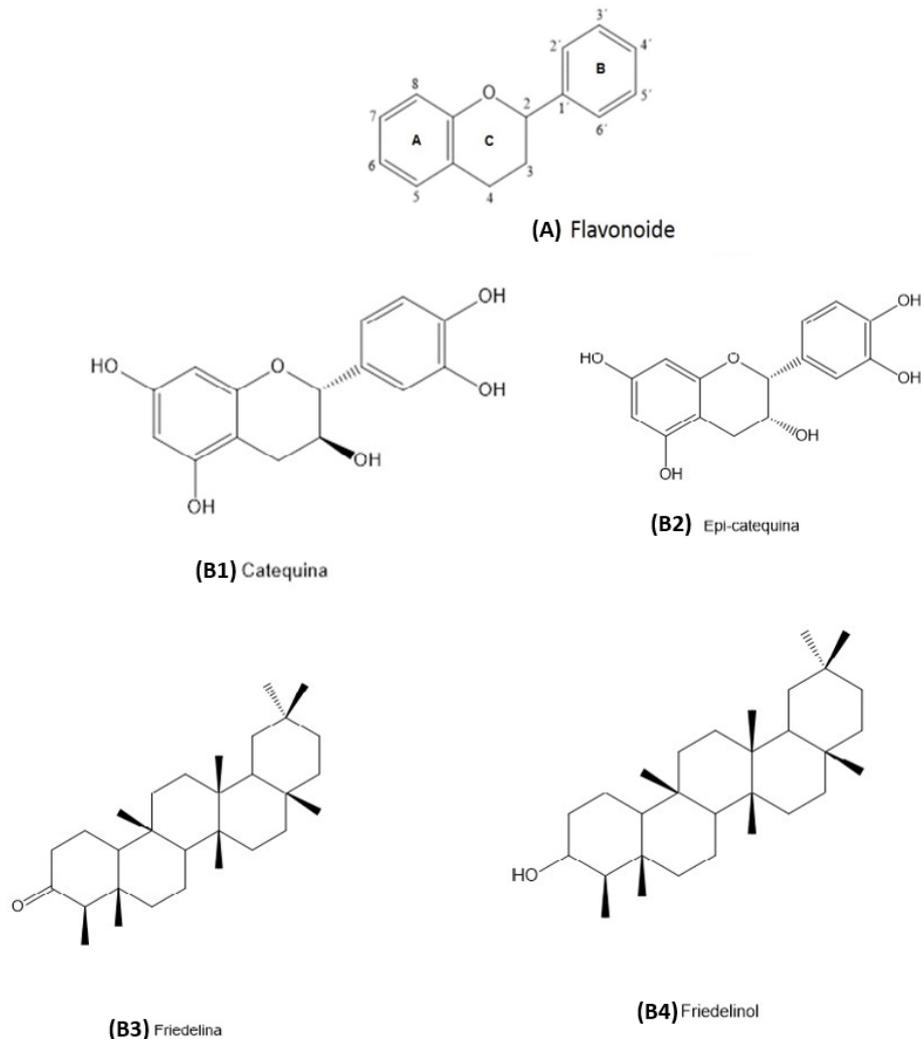
Vários estudos químicos foram realizados com *M. ilicifolia* possibilitando uma visão geral das principais moléculas produzidas pelo metabolismo secundário desta espécie. Entre as classes de substâncias isoladas na espécie, destacam-se os flavonoides (SOUZA et al, 2008), os taninos (MOSSI et al, 2009), os alcaloides (SANTOS et al, 2012) e os triterpenoides quinonametídeos, típicos da família Celastraceae (CORSINO, et al, 2000; BUFFA FILHO, et al, 2004; COPPEDE, et al 2014; GUTIÉRREZ et al, 2007; PAZ, 2016).

Os flavonoides são substâncias largamente encontrados na natureza e com a estrutura básica formada por três anéis (A, B e C), podendo ser agliconas, O-glicosídeos, C-glicosídeos ou ter substituições com outros grupos químicos, figura 3A. Esta variedade de possibilidades estruturais é que define quais atividades biológicas que um determinado flavonoide terá e conseqüentemente a planta que o contém. *M. ilicifolia* apresenta flavonóis 3-O-glicosilados como a rutina, quercitrina, hiperosídeo, isoquercitrina. Souza et al (2008) identificaram em seus estudos com extratos de folhas de *M. ilicifolia*, previamente fracionados por cromatografia e utilizando espectrometria de massas com ionização por *spray* de elétrons (ISE-EM), mono-, di-, tri- e tetra-glicosídeos de flavonol contendo kaempferol, quercetina ou miricetina. Outras investigações químicas de folhas levaram à identificação da catequina, epicatequina, quercetina, kaempferol, epigalocatequina, procianidina B1 e B2, flavonóis glicosilados e taninos condensados (mono-, di-, tri- e tetrâmeros) (MOSSI et al, 2009; PESSUTO et al, 2009; SOARES et al, 2004; XAVIER; D'ANGELO, 1996). Leite et al (2001) identificaram em extratos etanólicos de folhas flavonoides glicosilados como a mauritianina, trifolina, hiperina, um derivado de kaempferol tetra-glicosilado e galactitol.

Outros pesquisadores encontraram, em folhas de *M. ilicifolia*, os glicosídeos ilicifolinosídeo A, ilicifolinosídeo B e ilicifolinosídeo C (ZHU; NIKOLAI; ZHANG, 1998; ROCHA, 2003). Vários metabólitos secundários nitrogenados têm sido isolados em *M. ilicifolia* como os diidro- $\beta$ -agarofuranos, conhecidos por sua enorme diversidade química e amplo espectro de atividades biológicas (GAO et al, 2007). Na década de 1990 foram identificadas, nas cascas de raízes de *M. ilicifolia*, uma série destas substâncias; as congorinas A, B, C D, E, F G, H, I, e J, as cangorininas W-I e W-II e

a cangorinina E30I. Estas substâncias são incluídas na categoria de alcaloides piridínicos sesquiterpênicos (ITOKAWA et al, 1993, 1994; LIÃO, 2003; SHIROTA et al, 1994) e, mais recentemente, foram isolados quatro alcaloides piridínicos denominados ilicifoliuninas A e B, maiteina e aquifoliunina E-I (SANTOS et al, 2012). As principais substâncias envolvidas na atividade gastroprotetora de *M. ilicifolia* são os taninos totais; os flavonoides catequina e epicatequina e os triterpenos friedelan-3-ol e friedelina. O princípio ativo e marcador recomendado pela Farmacopeia Brasileira (2010) é a epicatequina, cuja estrutura está apresentada na figura 3B2.

Figura 3 - **(A)** Estrutura básica do flavonoide formada por três anéis (A, B e C) e **(B)** Princípios ativos importantes de folhas de *Maytenus ilicifolia*. **(B1)** catequina, **(B2)** epi-catequina, **(B3)** friedelina e **(B4)** friedelinol.



Fonte: (Do autor, 2017).

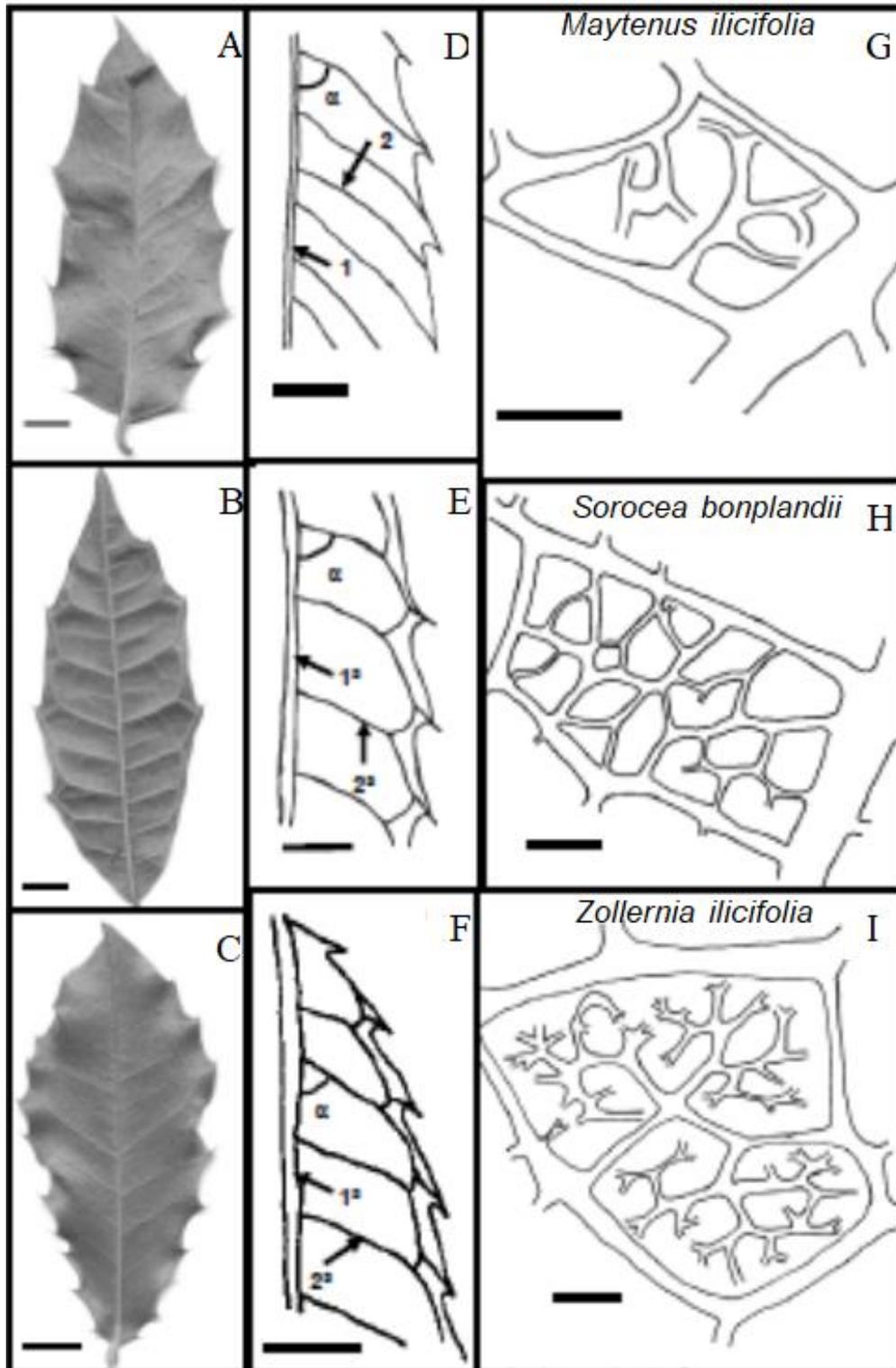
### 1.3.4 Espécies vegetais similares que são comumente utilizadas como adulterantes de *Maytenus ilicifolia*

Várias espécies são utilizadas como adulterantes em *M. ilicifolia*, tais como *Sorocea bonplandii* (Baill) W. C. Burger LANJ. & Wess. Bóer (Moraceae), *Zollernia ilicifolia* (Brongn.) Vogel (Fabaceae), *Jodina rhombifolia* Hook. & Arn. ex Reissek (Santalaceae), *Citronella gongonha* (Mart.) R. A. Howard (Icacinaceae) e outras espécies de *Maytenus* como *M. robusta* Reissek (GILBERT; FERREIRA; ALVES, 2005). No Rio de Janeiro há evidências da prevalência de uso de folhas de *Sorocea bonplandii* como adulterante de *M. ilicifolia*, espécie com características fenotípicas semelhantes à espécie oficial e mais abundante nas matas de proximidade urbana (AZEVEDO; SILVA, 2006; COULAUD-CUNHA et al, 2004, LEITÃO et al, 2009; LEITÃO, et al 2014; PARENTE; ROSA, 2001). É uma espécie que ocorre na região Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, no Paraguai e Nordeste da Argentina. Está presente na Serra da Mantiqueira, nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Habita as áreas com floresta estacional semidecidual e ombrófila densa, muitas vezes em beiras de estradas e trilhas, sendo também muito comum em sub-bosques no interior da mata. Prefere locais úmidos próximos a rios e riachos, em regiões com altitudes até 1900 m. É encontrada com flores nos meses de janeiro e fevereiro e depois de agosto a dezembro e com frutos em janeiro, outubro, novembro e dezembro (BFG, 2015; ROMANIUC NETO et al, 2018).

Algumas características particulares podem ser utilizadas na diferenciação entre a espécie farmacopeica (*M. ilicifolia*) e as principais adulterantes *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*. O formato do limbo, posição dos estômatos, a forma e disposição dos tecidos na nervura, na borda e no pecíolo, são as características taxonômicas mais importantes e podem ser utilizadas na análise diferencial. *M. ilicifolia* possui folhas oblongas estreitas. As de *S. bonplandii* são obovatas oblanceolatas, enquanto as de *Z. ilicifolia* são elípticas estreitas. As folhas das três espécies são bifaciais e hipostomáticas. Apenas *Z. ilicifolia* apresenta uma camada de células sem cloroplastos sob a epiderme na superfície adaxial. Os estômatos são paracíticos em *M. ilicifolia* e *Z. ilicifolia* e anomocíticos em *S. bonplandii*. Ocorrem raios em *Z. ilicifolia* e em *S. bonplandii*, não sendo encontrados em *M. ilicifolia*. Apenas *S. Bonplandii* apresenta canais laticíferos, figura 4, (JACOMASSI; MACHADO, 2003).

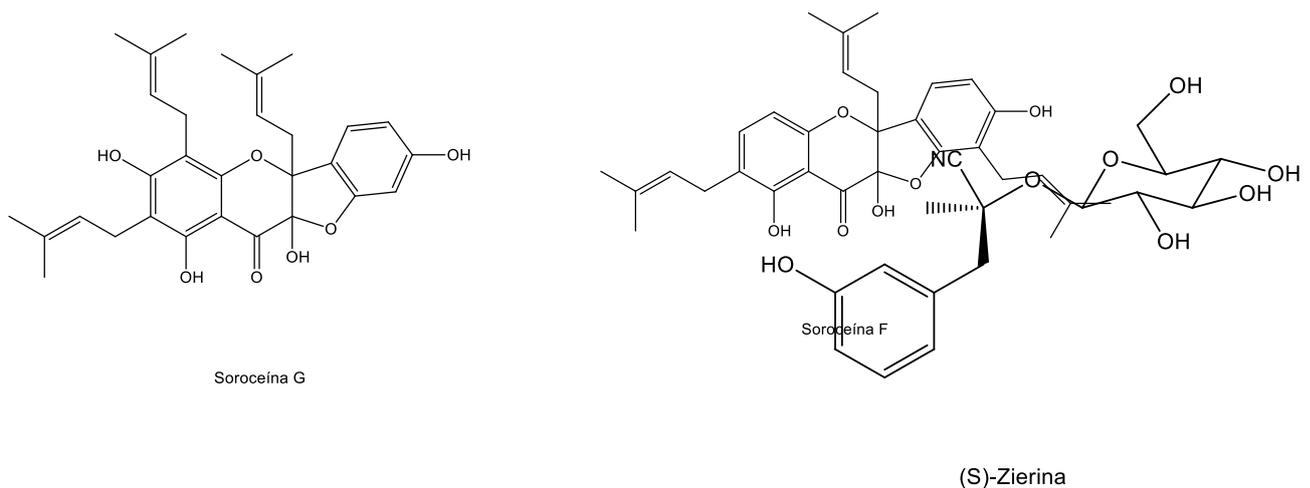
As três espécies apresentam diferenças quanto à forma da lâmina foliar e do ápice, *M. ilicifolia* tem lâmina oblonga estreita e ápice atenuado; *S. bonplandii* tem lâmina obovada oblongolanceolada e ápice acuminado; e *Z. ilicifolia* tem lâmina elíptica estreita e ápice obtuso, com nervação característica, mais salientes em *S. bonplandii* que em *M. ilicifolia* e *Z. ilicifolia*, figura 4 (A, B e C). O ângulo de divergência das nervuras secundárias é distinto nas três espécies, sendo que o menor ocorre em *M. ilicifolia*. Essa espécie também se distingue das demais pelas características do curso das nervuras secundárias, que seguem, a partir da nervura primária, diretamente até o bordo da lâmina foliar, razão que inclui as folhas de *M. ilicifolia* no tipo de nervação craspedódroma simples. Nas outras duas espécies, a nervação é craspedódroma semicraspedódroma, pois as nervuras secundárias encurvam-se abruptamente antes de atingir o bordo foliar, característica importante na distinção de *M. ilicifolia* como apresentado nas figuras 4 D, E e F. *S. bonplandii* apresenta poucas terminações livres nas nervuras e, quando presentes, não são ramificadas. *M. ilicifolia* e *Z. ilicifolia* possuem as terminações de nervuras ramificadas (figura 4: G, H e I), (MACHADO; SANTOS, 2004).

Figura 4 – Vista da face abaxial de folhas. A. *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek; B. *Sorocea bonplandii* Baillon; C. *Zollernia ilicifolia* Vog. (barras – 1 cm); Nervuras das lâminas foliares de: D. *M. ilicifolia*; E. *S. bonplandii*; F. *Z. ilicifolia* (barras: 1 cm). Aréolas formadas pelas nervuras nas folhas de: G. *M. ilicifolia*; H. *S. bonplandii*; I. *Z. ilicifolia* (barras – 400  $\mu$ m). Legenda:  $\alpha$  – ângulo de divergência; 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> – ordens de nervuras.



A ocorrência de adulteração pode ser constatada também pela avaliação do perfil químico obtido por cromatografia em camada delgada (CCD) usando epicatequina, friedelina e friedelinol, presentes em *M. ilicifolia* e ausentes tanto em *S. bonplandii* quanto em *Z. ilicifolia* (ALBERTON et al, 2002). A cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) também pode ser utilizada para avaliação de contaminação por *S. bonplandii* por monitoração do conteúdo de quercetina e kaempferol e seus glicosídeos, utilizando como reagente revelador o NP-PEG. *S. bonplandii* possui como marcadores as soroceínas e a *Zollernia ilicifolia* a (S)-zierina (figura 5), (ALBERTON et al, 2002; ANDRADE et al, 2002; COELHO; DI STASI; VILEGAS, 2003; MACHADO; SANTOS, 2004; WAGNER; BLADT, 1996).

Figura 5 - Constituintes de folhas de *Sorocea bonplandii* (Soroceína G e Soroceína F) e de *Zollernia ilicifolia* (Zierina).



Fonte: (Do autor, 2017).

As espécies *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* são muito parecidas, usadas e estudadas indistintamente são consideradas alógamas, apresentando cruzamento natural. Existe grande proximidade filogenética entre elas, com alelos comuns, o que sugere que podem ter sofrido especiação recentemente e que ainda não tenham sido desenvolvidos mecanismos capazes de isolá-las reprodutivamente. Alguns parâmetros morfoanatômicos são fundamentais para a diferenciação das duas espécies. *M. ilicifolia* mostra a presença de ramos jovens tetra ou multicarenados e angulosos, enquanto em *M. aquifolia* os ramos são arredondados ou achatados e lisos. Além disso, a disposição das folhas nos ramos, em *M. ilicifolia* é de forma helicoidal e em *M. aquifolia* é paralela, (figura 6). A coloração do fruto também auxilia

na separação das duas espécies: o de *M. ilicifolia* é de coloração vermelho-alaranjada, enquanto o de *M. aquifolia* é castanho-amarelada, (CARVALHO-OKANO; LEITÃO-FILHO, 2005; MARIOT et al,2008; PERECIN, 2000).

Vários estudos farmacológicos demonstraram que *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* possuem atividades farmacológicas muito parecidas, principalmente gastroproteção. Por isso, a substituição de uma por outra não caracteriza adulteração. Ambas as espécies são relacionadas na IN nº 02/2014 (BRASIL, 2014b; BERSANI-AMADO et al, 2000; GONZALEZ et al, 2001; JACOMASSI; MACHADO, 2003).

Figura 6 - Partes aéreas de *Maytenus aquifolia* Mart. (A) e de *Maytenus ilicifolia* ex. *Reissek* (B)



Fontes: (A - <https://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/8392-2/>); (B - MONTEIRO, 2017).

#### 1.4 Análise elementar de drogas vegetais no âmbito da saúde pública

As plantas medicinais possuem uma composição química complexa, constituída de água (em torno de 90%), carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio, potássio, cálcio, enxofre, fósforo e magnésio. Apresentando na sua constituição aminoácidos, proteínas, vitaminas, enzimas e microelementos como o B, Cl, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Mo, Na e Zn, que são essenciais para o desenvolvimento das plantas e atuam em diversas atividades metabólicas do homem. Os vegetais possuem grande capacidade de acumular metais essenciais para o seu crescimento a partir do solo e da água como, por exemplo, Mg, Fe, Zn, Cu, Mo e Ni. O cálcio, em concentrações altas, pode ser acumulado em plantas (principalmente aromáticas), bem como os elementos Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn, encontrados naturalmente em matrizes orgânicas. Espécies vegetais também podem acumular metais não essenciais ou tóxicos que não têm função biológica, como Hg, Cr e outros. O acúmulo de metais

tóxicos nos solos é ocasionado por uso descontrolado de agrotóxicos, fertilizantes, incineração de lixo urbano e industrial, poluição atmosférica, água contaminada (irrigação, lençóis freáticos ou chuvas), além de outros fatores climatológicos que também contribuem para uma possível presença de destes metais nas plantas. Dependendo da característica da espécie vegetal pode ocorrer acumulação de contaminantes em todos os tecidos, principalmente nas folhas e com isso, serem transferidos para a cadeia alimentar e causar efeitos nocivos na saúde animal e humana (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007; LEGUIZAMO et al, 2017).

Dentre os metais tóxicos conhecidos, o chumbo é provavelmente, aquele com o qual temos mais contato através de materiais cerâmicos, ligas metálicas, pigmentos, fertilizantes e agrotóxicos, dentre outros, sendo encontrado em todos os ambientes humanos – e mesmo naqueles não povoados – e em circulação pelo solo, ar e água (OLIVEIRA, 2007). Na crosta terrestre, o chumbo é um metal abundante, cuja concentração média nos solos varia entre 10-20 mg kg<sup>-1</sup>; na atmosfera, sua concentração natural é estimada em cerca de 0,0005 µg/m<sup>3</sup> e, em águas superficiais, em torno de 0,02 µg L<sup>-1</sup> (BERTOLI, 2011). Devido às ações humana e industrial calcula-se que são despejadas, anualmente, cerca de 330 mil toneladas de chumbo na atmosfera. Deste total, 20% das partículas são dispersas pelo ar, sua principal via de dispersão. Assim, podem ser carregadas pela chuva e serem acumuladas no solo e na água e cerca de 40-70% da deposição do chumbo ocorre por precipitação úmida (LEVANDOWISKI et al, 2009). Abreu e colaboradores (2009) afirmam que a contaminação do solo por metais acontece quando as quantidades expostas ao ambiente superam a capacidade do solo em retê-los, aumentando a probabilidade de absorção das plantas, indo para os lençóis freáticos provocando grandes prejuízos ao desenvolvimento da vida. O meio ambiente, como um todo, vem sofrendo contaminações por resíduos, oriundos de atividades humanas, que podem conter quantidades elevadas de metais tóxicos. O mecanismo de toxidez nas plantas envolve a mobilização e absorção do solo pelas raízes e transporte, sequestro e distribuição no espaço intracelular da planta (WILLIAMS; PITTMAN; HALL, 2000), com efeitos biológicos que podem provocar desequilíbrio na homeostase de metais essenciais (SILVA; SANTOS; GUILHERME, 2015), danos a biomoléculas, estresse oxidativo e, conseqüentemente, efeitos no desenvolvimento

da planta (MORAES et al, 2014). Plantas cultivadas em ambientes com excesso de chumbo têm o crescimento e desenvolvimento afetados (RODRIGUES et al, 2016).

Lésniewicz e colaboradores, em 2006, determinaram os teores totais de macro e micro-nutrientes e suas biodisponibilidades em plantas medicinais nativas. No trabalho foram apresentadas as faixas de ingestão diária recomendada e tolerável para os elementos analisados, considerando as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), que estipula os seguintes limites: a) manganês: de 1.800 a 2.300  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$  (com tolerância de até 11.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$ ); b) ferro: de 8.000 a 18.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$  (com tolerância de até 45.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$ ); c) alumínio: até 70.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$ ; d) cobre: de 900 a 1.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$  (com tolerância de até 10.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$ ); e) zinco: de 8.000 a 11.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$  (com tolerância de até 40.000  $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dia}$ ).

O ferro compreende cerca de 3 a 5 g em peso para um indivíduo adulto, sendo que 2000 mg se concentram na hemoglobina e 8 mg em enzimas, em média. Sua absorção depende do teor diário ingerido, da qualidade da fonte alimentar e de outros minerais co-ingeridos. Embora presente em quantidades diminutas, é indispensável para diversas atividades metabólicas, como o transporte de oxigênio. Sua deficiência no organismo leva a vários distúrbios, dos quais a anemia é a mais comum e a mais conhecida (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

O excesso de ferro é associado principalmente a distúrbios genéticos; no entanto, pode advir por transfusões, automedicação ou mesmo uma anemia erroneamente diagnosticada. O ferro, em concentrações elevadas, pode produzir espécies reativas de oxigênio, levando ao estresse oxidativo. Seu acúmulo ocorre principalmente no coração, no baço e no fígado e leva a perda de funções destes órgãos conhecida como hemocromatose (DEUGNIER; BRISSOT; LORÉAL, 2008).

Quase a metade do cobre consumido na dieta é absorvida. Este metal é levado ao fígado e, então, para os demais tecidos extra-hepáticos. Ele auxilia na mobilização do ferro para a síntese da hemoglobina e sua deficiência pode causar anemia, leucopenia, neutropenia e hipouricemia (falta de ácido úrico), além de retardo no crescimento. Em outro extremo, concentrações elevadas podem causar diarreia, náuseas, vômito, cirrose, anemia e bronquite (ANDRADE; ALVES; TAKASE, 2005).

Depois do ferro, o zinco é o segundo microelemento mais abundante no corpo, correspondendo a cerca de 3 g do peso de um adulto. Encontra-se presente nos tecidos, órgãos e fluidos corporais. Por não ser armazenado, sua ingestão diária é importante. De forma semelhante ao cobre, ele atua na constituição de enzimas e participa de funções imunológicas específicas, como as relacionadas ao crescimento, desenvolvimento e reprodução. De 10 a 40% do zinco ingerido na alimentação é absorvido. Sua deficiência, dentre outros efeitos, pode levar ao retardo no crescimento, perda de apetite e lesões cutâneas (FINAMORE et al, 2008). Em altas concentrações, porém, pode provocar dores de cabeça, náusea e vômitos, além de deficiência de cobre. A presença de outros elementos, como ferro, cálcio e cádmio influencia na absorção deste mineral. Dietas ricas em ferro tendem a causar deficiência de zinco, principalmente quando os indivíduos são submetidos a tratamentos prolongados para anemia. Fica claro, no entanto, que a deficiência deste mineral também ocorre quando outros elementos são ingeridos em quantidades superiores à encontrada em uma dieta normal (TOMAT et al, 2007)

O manganês também é um elemento essencial fundamental para o metabolismo de proteínas e gorduras. Atua na regulação dos níveis de glicemia, na eliminação de radicais livres e na utilização de vitaminas B1 e E, além de ser cofator para diversas enzimas cerebrais e mesmo sendo essencial, mas é também neurotóxico quando em excesso. Sua toxicidade pode levar a alterações de humor, depressão, agitação, dificuldade cognitiva e sintomas do Mal de Parkinson, como tremores e rigidez corporal (ASCHNER et al, 2010).

O alumínio, ao contrário dos demais elementos relacionados, não é considerado essencial. Por isso, sua análise foi realizada apenas com intuito toxicológico. Concentrações elevadas de alumínio afetam diversos processos bioquímicos e estudos demonstraram sua ligação à doenças degenerativas e Alzheimer (FLATEN, 2002). Sua presença na dieta é normalmente baixa, quando comparada aos teores advindos de medicamentos como antiácidos e analgésicos e do próprio ar que respiramos. Algumas plantas, como o chá verde (*Camellia sinensis*), apresentam grande tolerância e facilidade da absorção do alumínio sendo também uma fonte de exposição a este metal (SCHULZKI; NÜBLEIN; SIEVERS, 2017).

Metais como ferro, magnésio, cobre, zinco e manganês são fundamentais no metabolismo biológico, enquanto mercúrio, chumbo e cádmio são tóxicos, mesmo em níveis traço. Dentre os poluentes químicos, o mercúrio assume relevância em saúde pública por ser um metal pesado de efeito cumulativo para o homem, provocando efeitos tóxicos em pulmões, rins, pele e olhos e ainda sobre os sistemas nervoso, digestório e imunológico (QIAN et al, 2009; NIU et al, 2013). O cádmio é um metal muito próximo ao chumbo e ao mercúrio como fonte de alerta toxicológico. Ocorre na natureza associado ao zinco ou ao chumbo e os métodos de extração e processamento destes metais, frequentemente, levam à contaminação do meio ambiente com este elemento (CALDAS; MACHADO, 2004).

A RDC nº42, de 29 de agosto de 2013, que dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, estabelece os parâmetros de qualidade para os chás derivados de *Camelia sinensis* e *Ilex paraguariensis* quanto às concentrações de arsênio, cádmio e chumbo (BRASIL, 2013e), não atribuindo valores específicos para plantas medicinais nativas como *M. ilicifolia* ou outras espécies. Na RDC nº 26/2014, no quesito controle e qualidade de IFAV, a análise de metais pesados é obrigatória, principalmente para chumbo, cádmio e mercúrio (BRASIL, 2014a). A OMS recomenda que não exista mais do que 10 mg kg<sup>-1</sup> de chumbo e 0,3 mg kg<sup>-1</sup> de cádmio em espécies vegetais medicinais. A China, por sua vez, recomenda não mais que 20 ppm de metais pesados e a Coreia do Sul, não mais que 30 ppm. Limites para outros países podem ser obtidos no Guia da OMS com referência a contaminantes e resíduos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007).

No Brasil, é comum e frequente a colheita de plantas em beiras de estradas, locais que se mostram como grande fonte de contaminantes particulados proveniente do trânsito de automóveis. Áreas próximas a mineradoras também se mostram inadequadas para colheitas, tornando a planta medicinal coletada imprópria para consumo. Quanto ao plantio, os problemas estão relacionados com utilização de metodologias rústicas, com pouco ou nenhum controle da qualidade do solo e da água e, por vezes, com utilização de adubação química – uma das fontes de metais pesados como o cádmio –, tornando a situação mais grave com o aumento de espécies de baixa qualidade disponibilizadas no comércio de plantas medicinais,

drogas vegetais e até mesmo dos medicamentos fitoterápicos (FREITAS et al, 2013; GONÇALVES JUNIOR et al, 2013).

Na literatura, vários métodos têm sido propostos para determinação de elementos inorgânicos em plantas medicinais e alimentos. Esta avaliação pode ser realizada através de várias técnicas espectrométricas como a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e, mais recentemente, a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), técnica de alta sensibilidade e capacidade de detecção multielementar (FRANCO et al, 2011). Estas ferramentas são largamente utilizadas para detecção elementar por terem baixos limites de detecção, alto grau de seletividade, precisão e exatidão, rápida detecção das razões isotópicas, pequeno volume de amostras, além da capacidade de análise multielementar. Cerca de 90% dos elementos podem ser determinados com limites de detecção na faixa de 0,1 a 0,001  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ppb) em soluções aquosas (FARMACOPEIA Brasileira, 2010; HUSSAIN et al, 2009; OLIVIER et al, 2012).

Métodos mais rígidos de controle da ANVISA sobre as plantas medicinais e as drogas vegetais são de extrema necessidade. Embora haja parâmetros específicos para a produção e comércio de fitoterápicos, as fraudes e a má qualidade de produtos à base de espinheira-santa e de outras espécies têm preocupado profissionais da área de saúde e da comunidade científica. A baixa qualidade, a adulteração e a utilização incorreta podem interferir na eficácia e até mesmo na segurança do uso do produto pela população (MELO et al, 2007).

A adulteração de plantas medicinais, feita de forma acidental ou intencional, é realidade em todo o território nacional e perdura desde o início de seu uso. Com o passar dos anos, observa-se que o aumento da população que demanda alternativas para o tratamento de seus males leva, talvez proporcionalmente, a um aumento de oferta. Com isso, mais e mais empresas surgem para proporcionar ao consumidor a aquisição de produtos à base de plantas. Em paralelo, as autoridades sanitárias nacionais, ao longo do tempo, também vieram aprimorando a legislação relativa às plantas no sentido de tentar garantir ao consumidor produtos com maior segurança e eficácia – mesmo sabendo-se que tal garantia é de obrigação do produtor. O que se conhecia a respeito dos riscos no consumo de plantas medicinais

há algumas gerações é muito pouco se comparado ao que se conhece hoje. A evolução do conhecimento em agronomia, ecologia, farmacologia/toxicologia e química leva a uma maior compreensão daquilo que leva as plantas a apresentarem como seu repertório de metabólitos e seus efeitos. Assim, buscou-se neste trabalho, a partir de apenas uma espécie, gerar um panorama que mostrasse um retrato das condições de apresentação de produtos à base de *M. ilicifolia* provenientes de diversas origens. A legislação estabelecida para produtos derivados de plantas medicinais não leva em consideração sua origem, apenas se o produto é composto pela planta *in natura* ou um fitoderivado. Evidentemente, não se objetivou neste estudo sugerir que possa haver limites diferenciados em função da origem da matriz botânica, mas sim demonstrar que os rigores podem e devem ser maiores, sempre no sentido de garantir a saúde de quem a consumirá. O país conta com tecnologia suficiente para isso e os produtores devem utilizá-la. O risco no consumo encontra-se intrinsecamente relacionado ao conteúdo químico daquele insumo biológico que, como tal, apresentava seu metabolismo condicionado geneticamente e, também, responsivo ao meio em que aquele organismo se encontrava. Desta forma, a composição de um indivíduo nunca será igual ao de outro, principalmente se considerarmos as diferenças de local de cultivo e coleta (umidade relativa, pluviosidade, altitude, temperatura média e sua amplitude, luminosidade e a presença de insetos e demais plantas). Portanto, sua composição – referendada por sua rotulagem e atendimento à legislação específica – será sempre uma média dos parâmetros observados no estudo dos indivíduos ao longo de determinado tempo. Além da variação da composição, que pode ter um grau de previsibilidade razoável, há ainda o problema de contaminação, química ou biológica, que pode ocorrer de modo fortuito e em diversos graus. Por esta razão, decidiu-se investigar, nas amostras obtidas, não apenas a presença de metais pesados exigida pela RDC nº26/2014 (Cd, As e Pb), mas também outros elementos inorgânicos tendo por base os limites estabelecidos pela ANVISA e pela OMS. Espera-se, com os dados apresentados neste trabalho, que a discussão sobre os rigores necessários a produtos à base de plantas medicinais possa ser enriquecida e aprimorada. Dependendo da espécie e da frequência de seu consumo, há que se prever os riscos relacionados a eventuais efeitos cumulativos de seus metabólitos, ativos ou não, e seus possíveis contaminantes, sob pena de poder levar o consumidor a um

futuro problema de saúde cuja origem não consiga ser associada ao consumo de determinado produto.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a composição mineral e perfil farmacognóstico de produtos à base de espinheira-santa comercializados na forma de droga vegetal.

### 2.2 Objetivos específicos

1. Estabelecer critérios para a seleção das amostras que apresentem *M. ilicifolia* Mart. ex. Reissek como droga vegetal, a partir de informações disponíveis nos compêndios oficiais e legislação nacional e internacional geral para registro e ações de vigilância de alimentos, drogas vegetais e fitoterápicos;
2. Analisar, macro e microscopicamente, as amostras obtidas visando verificar a identidade e autenticidade das amostras comercializadas como espinheira-santa;
3. Realizar ensaios físico-químicos baseados em métodos oficiais visando determinar a presença ou não do marcador farmacopeico da qualidade de cada amostra;
4. Traçar o perfil mineral das amostras de espinheira-santa selecionadas;
5. Estabelecer a similaridade das amostras em relação aos elementos presentes, aplicando tratamentos estatísticos como teste de Kruskal-Wallis, Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) e Análise por Componentes Principais (PCA);
6. Avaliar os resultados obtidos através da elaboração de um painel comparativo que permita estimar possíveis riscos no consumo de produtos que apresentem qualquer grau de não conformidade com as normas vigentes.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Amostras botânicas

Vinte e sete amostras de espinheira-santa foram adquiridas no período de 2014 a 2016 de três formas: uma fornecida por um APL do estado do Rio de Janeiro (Quilombo de Tapera/Petrópolis), duas do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV, PR), treze vendidas a granel, procedentes de ervanarias e mercados (selecionadas aleatoriamente) e onze industrializadas comercializadas em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro. O Quilombo de Tapera está localizado no distrito de Itaipava, Petrópolis (RJ) e fornece drogas vegetais para a Secretaria Municipal de Saúde daquele município que, por sua vez, distribui para as Unidades Básicas de Saúde (UBS) da região. A Fiocruz implementou projetos nesta região gerando conhecimentos e, por meio de cursos de capacitação de agricultores, assistência técnica e fomento à produção, desenvolvimento de tecnologia de secagem e beneficiamento e distribuição da produção de forma articulada com as políticas para o sistema de saúde, ampliou o acesso aos medicamentos, promovendo geração de renda pela produção e processamento de plantas medicinais. Além da assessoria técnica agrônômica, também realiza o controle elementar e farmacognóstico de algumas espécies, inclusive *M. ilicifolia* (figura 7), produzidas neste APL. Esta espécie é cultivada através de práticas de manejo em ecossistemas naturais com fertilização orgânica, ausência de agrotóxicos, colheita e processamento compatíveis e um manejo adequado do meio ambiente.

Figura 7 - Cultivo de espinheira-santa no Quilombo de Tapera/Itaipava.



Fonte: (MONTEIRO, Fiocruz).

Duas amostras foram fornecidas pelo Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV, figura 8), que está localizado na cidade de Foz do Iguaçu (PR) e sedia o projeto Plantas Medicinais do Programa Cultivando Água Boa. Este projeto tem como foco a implantação de um modelo de utilização de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) a partir da produção agrícola familiar e do beneficiamento e produção de fitoterápicos em arranjos produtivos locais. Para esta implantação foram selecionados os municípios de Toledo, Vera Cruz do Oeste, Pato Bragado e Foz do Iguaçu, com perspectivas de desdobramento das ações para os vinte e nove municípios da Bacia Paraná III. A Fiocruz tem um acordo de cooperação com o Ministério do Desenvolvimento Agrário e Itaipu Binacional, no âmbito do Programa Nacional de Plantas Medicinais, firmado através da Portaria nº 49, de 12 de junho de 2013, que possibilita a atuação da Fiocruz, dentre outras atividades, no controle da qualidade das plantas produzidas pelo Programa Água Boa como uma das contrapartidas deste acordo.

Figura 8 – Amostras 2 e 3, provenientes do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV)/PR.



Fonte: (Do autor, 2018).

As amostras comerciais foram catalogadas e adotado um código numérico utilizado ao longo de todo o experimento. Amostras (4 a 14) industrializadas, comercializadas em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro apresentadas na figura 9 e amostras (15 a 27), vendidas a granel, procedentes de ervanarias e mercado popular do mesmo município, figura 10.

O peso/volume real de cada amostra foi determinado e comparado com as informações da embalagem. Alíquotas das plantas na forma de folhas íntegras foram pulverizadas em triturador industrial em inox para a posterior realização dos ensaios.

Figura 9 – Fotos das amostras industrializadas 4 a 14, comercializadas em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.



Fonte: (Do autor, 2018).

Figura 10 – Fotos das amostras 15 a 27, vendidas a granel, procedentes de ervanarias e mercado popular selecionadas aleatoriamente no município do Rio de Janeiro.



Fonte: (Do autor, 2017).

### 3.1.2 Substâncias químicas de referência

As substâncias químicas de referência utilizadas como marcadores químicos foram pirogaloil Merck (99,0%) e epicatequina Biochemika/Fluka ( $\geq 90\%$ , mistura de enantiômeros, CLAE).

### 3.1.3 Reagentes e outros materiais

- Solventes e reagentes de grau analítico: acetato de etila, acetona, ácido acético, ácido clorídrico, ácido fórmico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, butanol-1, carbonato de sódio, cloreto de alumínio, cloreto férrico, clorofórmio, diclorometano, etanol absoluto, gelatina, metanol e vanilina (Vetec e Tedia);

- Solventes de grau cromatográfico: metanol e acetonitrila (Tedia);

- Pó-de-pele Sigma;

- Reagente fosfomolibdotúngstico: foram adicionados, em 75 mL de água, 10 g de tungstato de sódio, 2 g de ácido fosfomolibdico e 5 mL de ácido fosfórico. A mistura foi mantida em refluxo por 2 horas, resfriada e diluída a 100 mL com água, apresentando uma coloração esverdeada;

- Gelatina SR – 2,5 g de gelatina foram dissolvidos em 100 mL de água quente. Ao ser usada após o resfriamento, a reação positiva para taninos totais é indicada pelo aparecimento de precipitado;

- Cloreto férrico metanólico – 1 g de cloreto férrico foi dissolvido em 100 mL de etanol. Formação de coloração cinza escura indica reação positiva para taninos totais;

- Vanilina SR - 1 g de vanilina foi dissolvido em etanol, transferido para um balão volumétrico de 100 mL e avolumado com o mesmo solvente. Nesta solução foram adicionados 2 mL de ácido sulfúrico e homogeneizado com cuidado, sendo utilizada em até 48 horas após o preparo. O aparecimento de uma coloração vermelha indica a presença de taninos condensados;

- Acetato de Chumbo SR – 9,5 g de acetato de chumbo foram solubilizados em 100 mL de água isenta de CO<sub>2</sub>. A solução foi armazenada em frasco âmbar bem fechado. Formação de precipitado esbranquiçado indica presença de taninos;

- Cromatofolhas de sílica gel 60 F254, em alumínio (espessura 0,25 mm, Merck);
- Micropipetas automáticas calibradas (Eppendorf);
- Cartuchos de SPE DSC 18, Supelco Analytical (1 g);
- Coluna cromatográfica Supelcosil LC-18, 250 mm x 4 mm, 5 µm;
- Água deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore), utilizada no preparo de todas as soluções aquosas;
- Vidraria: volumétrica de laboratório, âmbar quando possível.

### 3.1.4 Reveladores para Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Os reveladores utilizados foram preparados conforme descrito em Wagner e Bladt (1996) e seguindo a monografia de *M. ilicifolia* da Farmacopeia Brasileira (2010). A preparação e a forma de detecção após borrifação de cada revelador estão apresentadas a seguir:

- Revelador NP-PEG: ácido difenilboriloxietilamínico 1% (p/v) em metanol (NP) e polietilenoglicol 4000 5% (p/v) em etanol (PEG).

Solubilizou-se 1 g de ácido difenilboriloxietilamínico (NP) em 100 mL de metanol e 5 g de polietilenoglicol 4000 (PEG) em 100 mL de etanol. As duas soluções foram armazenadas em geladeira até o momento do uso. As placas foram reveladas borrifando-as com solução de NP e, em seguida, com solução de PEG. O aparecimento de intensa fluorescência, após secagem ao ar e observada sob luz UV a 365 nm, indica a presença de flavonoides.

- Vanilina 1% (p/v) em etanol e ácido sulfúrico 5% (v/v) em etanol (VAS)

Solubilizou-se 1 g de vanilina em 100 mL de etanol (solução I) e 5 mL de ácido sulfúrico em 100 mL de etanol (solução II). As duas soluções foram armazenadas em geladeira até o momento do uso. As placas foram reveladas borrifando-as com solução I e, em seguida, com solução II. As placas foram secas ao ar e aquecidas por 10 minutos a 100 °C. O aparecimento de manchas de coloração vermelha, após aquecimento e observadas sob luz visível, indica a presença de taninos condensados.

### 3.1.5 Equipamentos

- Banho ultrassônico (1400, Unique);
- Balança analítica (Sartorius);
- Balança semi-analítica com precisão de 0,01 g (TP2KS, Ohaus);
- Bomba de vácuo (WP6111560, Millipore);
- Banho-maria (120/2, Fanem);
- Câmara para revelação de placas equipada com lâmpadas UV de 254 e 365 nm;
- Balança de umidade Marte id 50;
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu Proeminence), composto por desgaseificador DGU-20A5R, bombas quaternárias modelo LC-20ADXR, forno de colunas, injetor automático, detector ultravioleta-visível com arranjo de diodos UV-vis/DAD, (PDA SPD-M20A);
- Espectrofotômetro de absorção no ultravioleta-visível (Shimadzu);
- Estufa a seco (306/1, Fanem);
- Evaporador rotatório (Büchi);
- Liquidificador em aço inox e manifold para extração em fase sólida (SPE) com 24 posições.
- Espectrômetro de emissão atômica com plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), modelo Optima 8300, marca Perkin Elmer.
- Espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS) modelo PinAAcle 900z, marca Perkin Elmer equipado com auto amostrador (AS 900), tubo de grafite recoberto piroliticamente e plataforma de L'Vov integrada.
- Balança marca Mettler Toledo AG204, com resolução de 0,1 mg.
- Microwave SpeedWave marca Berghof.
- Microscópio Carl Zeiss (modelo Jena)

## **3.2 Controle da qualidade da droga vegetal**

### **3.2.1 Secagem, divisão e aspecto da droga vegetal**

Todas as 24 amostras compradas já vieram secas e foram utilizadas para as análises farmacognóstica e elementar sem passar por secagem em estufa. A única amostra que sofreu processo de secagem no laboratório em Farmanguinhos foi a espinheira-santa proveniente do Quilombo de Tapera/RJ (amostra 1). As folhas foram separadas dos galhos e colocadas em estufa de secagem, a 40 °C até peso constante de forma a obter um teor de água final entre 8 a 12 %. O material, depois de seco, foi triturado, tamisado a mesh de 250 µm, identificado e armazenado em recipientes de vidro âmbar hermeticamente fechados (Farmacopeia Brasileira, 2010).

As amostras provenientes do RBBV (2 e 3) passaram pelo processamento primário (obtenção das folhas, lavagem, secagem e embalagem) nos laboratórios do Refúgio Biológico Bela Vista, PR. A poda e o preparo das amostras foram realizados de acordo com o protocolo utilizado pela Itaipu. As folhas foram enxaguadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e deixadas em imersão por 15 minutos. Após este tempo retirou-se o excesso de solução enxaguante e, em seguida, foram colocadas em carrinhos de secagem e levadas para a estufa de ar circulante por 2 dias com temperatura mantida entre 35 e 40 °C. A secagem foi realizada até que a planta atingisse entre 8% e 12% de umidade. Após a secagem, as folhas foram embaladas em sacos de plástico transparente e devidamente vedados ao abrigo de luz e calor (FERREIRA, SHIMABUKU, 2012).

### **3.2.2 Avaliação dos caracteres organolépticos**

As características organolépticas (odor e sabor) das amostras de droga vegetal foram avaliadas de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), item 5.4.1.1.

### 3.2.3 Amostragem

Os procedimentos de amostragem especificados levaram em consideração três aspectos: (a) número de embalagens que contêm a droga; (b) grau de divisão da droga; e (c) quantidade de droga disponível.

As amostras comerciais foram adquiridas diretamente do comércio local, separadas em quantidades determinadas pelas normas da Farmacopeia Brasileira (2010), item 5.4.2.1, e examinadas sob os aspectos de integridade das embalagens e a natureza da droga neles contida. Foi padronizado o número de 12 pacotes de cada marca, quando disponíveis, sendo que a quantidade da droga vegetal em cada pacote variava entre 20 e 30 g. Para as drogas vendidas nas ervanarias e mercado popular, foram adquiridos 500 g de cada estabelecimento.

### 3.2.4 Material estranho

Avaliou-se a presença e a quantidade de material estranho nas amostras comerciais de espinheira-santa de acordo com o método geral de determinação de matéria estranha, item 5.4.2.2 da Farmacopeia Brasileira (2010), na qual se indica valor máximo de 2%. O método utilizado para separação das amostras foi o de quarteamento, pelo qual cada parte foi espalhada em fina camada sobre uma bancada plana, limpa, separada manualmente, inicialmente a olho nu e, em seguida, com auxílio de lupa. A quantidade porcentual de material estranho foi determinada em relação à quantidade total de amostra.

### 3.2.5 Determinação de água das drogas vegetais em balança de umidade

A determinação de água foi avaliada pelo método da refletância de infravermelho. Este método é baseado na espectrometria, no qual uma amostra é irradiada com luz em dois comprimentos de onda diferentes, na região do infravermelho. Um comprimento de onda é absorvido pela água, enquanto o outro é usado como referência e é muito pouco absorvido. Os valores máximos de umidade para drogas vegetais, aceitos nos compêndios nacionais, é de 12% para folhas (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

Cerca de um grama de cada amostra foi pesado e distribuído uniformemente no coletor contido dentro do aparelho. Uma vez que na monografia da espinheira-santa não constam valores limite de tempo e temperatura de secagem, optou-se por usar as condições genéricas dada pela Farmacopeia Brasileira (2010), item 5.2.9, que consiste em submeter o material vegetal a uma temperatura de 105 °C por um minuto. O aparelho foi acionado e o valor da umidade anotado em percentual. O teor de umidade por infravermelho foi verificado em todas as amostras em triplicata.

### 3.2.6 Avaliação Macro e Microscópica das Drogas Vegetais

A autenticidade da amostra foi avaliada através de parâmetros contidos na Farmacopeia Brasileira (2010) e na literatura específica por meio de análises morfoanatômicas e as estruturas microscópicas observadas, comparadas com a descrição da droga na literatura específica e com espécies padrão, fornecidas pelo Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ) (HARBORNE, 1994; TESKE; TRENTINI, 1997; MELO et al, 2004; JOFFILY; VIEIRA, 2005).

As análises foram realizadas no Laboratório de Botânica Estrutural e Funcional da Universidade Federal Fluminense sob coordenação da Dra Ana Joffily.

A morfologia externa das folhas secas foi analisada e fotografada com o auxílio de microscópio estereoscópico. Para a observação anatômica, uma porção de cada amostra foi hidratada em água glicerinada a 50% durante um período mínimo de uma semana. As folhas hidratadas foram cortadas transversalmente, à mão livre, na nervura mediana e submetidas à coloração com safrablau (30% de safranina e 70% de azul de astra). Foram confeccionadas lâminas permanentes e semi-permanentes que foram, então, observadas e fotografadas com o microscópio Carl Zeiss (modelo Jena), acoplado à máquina fotográfica.

A identidade, pureza e qualidade das amostras vegetais foram estabelecidas mediante detalhado exame visual, macro e microscópico. A identificação macroscópica das drogas, quando inteiras, foi baseada na forma, tamanho, cor, superfície, textura e estes posteriormente comparados com a descrição farmacopeica e com a literatura específica (JACOMASSI, 2000; MACHADO; SANTOS, 2004).

### 3.2.7 Testes de identificação e doseamento

A 5ª edição da Farmacopeia Brasileira (2010) orienta que seja realizada a quantificação de taninos totais, por espectrofotometria (UV/Vis) e de epicatequina por CLAE, conforme os métodos presentes na monografia de *M. ilicifolia*. A droga vegetal é constituída pelas folhas secas da espécie contendo, no mínimo, 2,0% de taninos totais, expressos em pirogalol ( $C_6H_6O_3$ ; 126,11), dos quais no mínimo 2,8 mg  $g^{-1}$  equivalem à epicatequina ( $C_{15}H_{14}O_6$ ; 290,3).

#### 3.2.7.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

##### Preparo das soluções para análise:

A solução da amostra, denominada S1, foi preparada através da extração por refluxo de 5 g da droga moída (250  $\mu m$ ), acrescida de 50 mL de água destilada durante 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, esta solução foi filtrada sob pressão reduzida, transferida para balão volumétrico de 50 mL e seu volume aferido com água destilada.

A solução S2, chamada solução-padrão, foi preparada a partir de 2,004 mg (pesados exatamente) de epicatequina SQR, solubilizados em 10 mL de metanol, resultando em uma solução 0,2 mg  $mL^{-1}$ .

A solução S1 preparada anteriormente foi utilizada também para a realização dos testes de complexação do item 3.2.7.2.

##### Eluição e revelação das amostras

##### Epicatequina

Utilizando cromatofolha de sílica-gel F254, com espessura de 250  $\mu m$ , como fase estacionária e mistura de acetato de etila, ácido fórmico e água nas proporções de 90:5:5 (v/v/v) como fase móvel, foi realizada a cromatografia em camada delgada das vinte e sete amostras de espinheira-santa. Foram aplicadas à placa cromatográfica, em forma de bandas com auxílio de micropipeta automática, 10  $\mu L$  da S1 e 3  $\mu L$  da solução-padrão recém preparadas. Após a eluição, as placas foram secas em capela de exaustão, examinadas sob luz ultravioleta (254 nm) e, em

seguida, nebulizadas com vanilina sulfúrica SR e colocadas em estufa a 110 °C por 10 minutos, sendo posteriormente fotografadas.

#### Flavonoides e fenólicos simples

Para a análise dos flavonoides presentes nas amostras outra placa foi preparada e eluída utilizando-se o sistema de Wagner e Bladt (1996) seguindo o mesmo procedimento anterior, utilizando como fase móvel a mistura de solventes acetato etila/ácido fórmico/ácido acético e água nas proporções de 100:11:11:27 (v/v/v/v) e nebulizada com o reagente NP/PEG (item 3.1.4) para posterior observação sob luz ultravioleta a 365 nm.

#### 3.2.7.2 Testes de precipitação

**A.** Duas gotas de ácido clorídrico SR mais dez gotas de gelatina SR foram adicionados a 2 mL do extrato obtido no preparo da S1, até precipitação. O aparecimento de um precipitado nítido indica reação positiva para taninos totais.

**B.** 10 mL de água e duas gotas de solução de cloreto férrico a 1% (p/v) em etanol foram adicionados a 2 mL do extrato obtido no preparo da S1. O desenvolvimento de coloração cinza-escura indica reação positiva para taninos totais.

**C.** Foram adicionados a 2 mL do extrato obtido no preparo da S1 0,5 mL de vanilina a 1% (p/v) em metanol e 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O desenvolvimento de coloração vermelha indica reação positiva para taninos condensados.

**D.** Foram adicionados a 5 mL do extrato obtido no preparo da S1, 10 mL de ácido acético 2 mol L<sup>-1</sup> e 5 mL de acetato de chumbo SR. O aparecimento de precipitado esbranquiçado indica presença de taninos.

#### 3.2.7.3 Doseamento de Taninos Totais

##### Preparo das amostras

Cerca de 750 mg de cada amostra (250 µm) foram pesados em duplicata e, então, transferidos para um erlenmeyer com 150 mL de água destilada e deixado em decocção durante 30 minutos em banho-maria à temperatura de 60 °C. Após

resfriamento em água corrente, o conteúdo de droga vegetal foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL e o volume completado com água destilada. Cerca de 80 mL do extrato foram filtrados, desprezando-se os primeiros 50 mL. O filtrado obtido foi denominado solução-estoque (SE).

Para a determinação de polifenóis totais (PT), 5 mL da SE foram diluídos com água destilada em balão volumétrico de 25 mL. Dois mililitros desta solução foram transferidos volumetricamente com 1 mL de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água deionizada para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v) e armazenada em local escuro, gerando uma solução denominada de A1. Após 30 minutos da adição da última solução foi medida a absorbância a 760 nm em espectrofotômetro, empregando-se a água destilada como branco.

Para determinação de polifenóis não adsorvidos por pó de pele (PNAPP), 10 mL da SE foram transferidos com 100 mg de pó-de-pele para um béquer e agitou-se por 60 minutos. Após esse processo, a solução foi filtrada e 5 mL do filtrado diluído com água destilada para 25 mL em balão volumétrico. Dois mililitros desta solução foram transferidos volumetricamente com 1 mL de solução de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água deionizada para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v). Após 30 minutos da adição da última solução foi lida a absorbância a 760 nm, empregando-se novamente a água destilada como branco. Esta solução foi denominada de A2.

#### Preparo da solução padrão

50 mg de pirogallol foram solubilizados em água destilada, transferidos para balão volumétrico de 100 mL e avolumados utilizando o mesmo solvente, resultando na solução denominada A3. Desta solução, 5 mL foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado e aferido com água destilada. Dois mililitros desta solução foram transferidos volumetricamente com 1 mL de solução de reagente fosfomolibdotúngstico e 10 mL de água deionizada para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com solução de carbonato de sódio 29% (p/v). Após 30 minutos da adição da última solução, foi lida a absorbância a 760 nm, empregando-se novamente a água destilada para ajuste do zero. O teor em

porcentagem de taninos (droga seca) é expresso em pirogalol, seguindo a expressão da equação 1.

$$\text{Taninos Totais} = (62,5 \times (A1 - A2) \times m2) / (A3 \times m1) \quad (\text{equação 1})$$

Nesta expressão, A1 corresponde à absorvância da solução-amostra para polifenóis totais, A2 à absorvância da solução amostra para polifenóis não adsorvidos em pó de pele, A3 à absorvância da solução-padrão, m1 é a massa da amostra utilizada no ensaio (g), considerando a determinação de água e m2 é a massa de pirogalol (g).

A solução padrão (A3) foi preparada e utilizada imediatamente antes do uso e todas as operações foram realizadas ao abrigo da luz e utilizando vidraria âmbar, quando possível.

#### *3.2.7.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência*

As análises utilizando cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) seguiram as condições determinadas pela Farmacopéia Brasileira (2010), item 5.2.17.4.

Foi utilizado cromatógrafo provido de detector na região do ultravioleta a 210 nm; pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm); fluxo da fase móvel de 0,8 mL/minuto; fase móvel composta de eluente A [mistura de água e ácido trifluoroacético a 0,05% (v/v)] e eluente B [mistura de acetonitrila e ácido trifluoroacético a 0,05% (v/v)], quadro 1 .

Quadro 1 - Gradiente da fase móvel: eluente A: mistura de água e ácido trifluoracético a 0,05% (v/v); eluente B: mistura de acetonitrila e ácido trifluoracético a 0,05% (v/v).

<b>Tempo (min.)</b>	<b>Eluente A (%)</b>	<b>Eluente B (%)</b>	<b>Eluição</b>
0-13	82 → 75	18 → 25	gradiente linear
13-16	75 → 66	25 → 34	gradiente linear
16-20	66 → 58	34 → 42	gradiente linear
20-23	58 → 35	42 → 65	gradiente linear
23-25	35 → 82	65 → 18	gradiente linear
25-28	82	18	isocrática

Fonte: (Do autor, 2017)

#### Preparo das soluções-amostra

Cerca de cinco gramas de cada amostra pulverizada (250 µm) foram transferidos para balão de fundo redondo de 100 mL e boca esmerilhada, com 50 mL de água destilada. Foi realizado o refluxo durante 15 minutos. Após resfriamento da solução extrativa, esta foi filtrada sob pressão.

Numa outra etapa, o filtrado foi particionado com três porções de 50 mL de acetato de etila em funil de separação de 250 mL. Para total separação das fases, a fração orgânica foi colocada em repouso à temperatura de -18 °C durante 5 minutos. As fases em acetato de etila foram reunidas e submetidas à filtração com 5 g de sulfato de sódio anidro e evaporadas em evaporador rotatório sob pressão reduzida até resíduo. Este resíduo foi pesado e ressuspendido em 5 mL da mistura de metanol e água (2:8), processado em cartucho de extração em fase sólida empacotado com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (55 µm, 70 Å), previamente acondicionada com 8 mL de mistura de metanol e água (2:8), para balão de 100 mL. Procedeu-se à eluição com 10 mL de metanol e água (2:8) para o mesmo balão e completou-se o volume com metanol e água (2:8), originando a solução 1 (S1). 5 mL da S1 foram transferidos volumetricamente para balão volumétrico 25 mL e o volume completado com metanol e água (1:1), originando a Solução S2 que, após filtração em membrana de PTFE (0,5 µm), foi injetada (20 µL) no cromatógrafo. As amostras foram armazenadas em frasco âmbar em freezer até o dia da análise.

Preparo da solução padrão de epicatequina:

4,002 mg de epicatequina foram exatamente pesados e solubilizados em 10 mL de mistura composta por metanol e água na proporção de 1:1 (v/v), obtendo solução a 0,4002 mg/mL.

Procedimento experimental

Foram injetadas separadamente, 20 µL das soluções padrão para a curva analítica e o mesmo volume para a solução das amostras (duplicata). A concentração da epicatequina presente nas amostras foi calculada através da equação 2 e o resultado expresso pela média das determinações em mg g<sup>-1</sup> de droga vegetal.

$$EC = VLR \times 500/1000 \times m \quad (\text{equação 2})$$

EC = epicatequina;

VLR = valor obtido (µg mL<sup>-1</sup>) de epicatequina/mL em S2, a partir da equação da reta;

500 = fator de diluição;

1000 = valor de conversão de µg para mg;

m = massa (g) de droga vegetal considerando a determinação de água.

### 3.2.8 Avaliação do perfil mineral das drogas vegetais de espinheira-santa

A quantificação dos elementos inorgânicos foi avaliada em vinte e uma amostras. As folhas das amostras (5g) de espinheira-santa foram trituradas em gral de porcelana com nitrogênio líquido até chegarem ao estado de pó e armazenadas em recipiente apropriado até serem analisados.

Todo o procedimento analítico foi realizado no Setor de Elementos Inorgânicos do Laboratório de Alimentos do Departamento de Química, INCQS.

As metodologias analíticas utilizadas foram validadas de acordo com os documentos DOQCGCRE-008 revisão 5 do INMETRO, o capítulo 233 da USP 39 (2016) e a Norma ABNT 17025 da Organização Internacional para Padronização (ABNT, 2005)

Todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura, deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore). Os reagentes foram adquiridos da empresa Merck e utilizados dentro dos respectivos prazos de validade. Os padrões analíticos contendo as concentrações para construção das curvas analíticas foram preparados a partir da diluição de soluções estoque marca Perkin Elmer, Estados Unidos da América, usando como conservante 1 % v/v de HNO<sub>3</sub>. Uma solução com 1% v/v de HNO<sub>3</sub> sem adição dos elementos foi preparada e utilizada como branco.

#### Preparo e análises das amostras

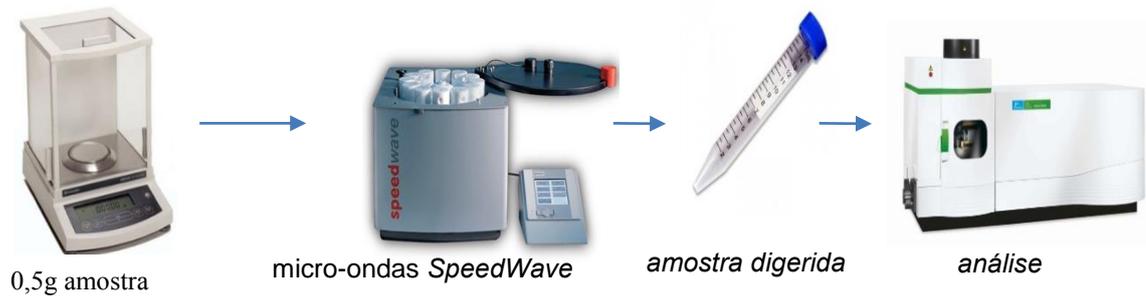
Aproximadamente 0,50 g de amostra foi exatamente pesada em recipiente apropriado, à qual foi adicionado 5 mL de ácido nítrico 65% (p/v) e 3 mL de peróxido de hidrogênio 35%, após a adição dos reagentes as amostras foram digeridas por sistema fechado, micro-ondas *SpeedWave* (Berghof, Alemanha) (Figura 11). Um programa específico de temperatura, pressão e potência foi selecionado conforme no descrito-POP nº 65.3120.159 revisão 01 do Setor de Elementos Inorgânicos do INCQS (INCQS, 2017), quadro 2, figura 11.

Quadro 2 - Condições do programa do micro-ondas *SpeedWave* (Berghof, Alemanha).

Etapas	1	2	3	4	5
Temperatura °C	170	190	210	50	50
Pressão	50	50	50	0	0
Rampa (minutos)	2	2	2	1	1
Tempo (minutos)	3	10	15	10	1

Fonte: (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE E SAÚDE, 2017).

Figura 11 – Preparo e análise das amostras de espinheira-santa



Fonte: (Do autor, 2018)

Após a digestão, a solução com a amostra digerida foi transferida para tubo falcon, com capacidade de 15 mL, e o volume completado com água deionizada. Todas as análises foram feitas em duplicata de amostra e o resultado foi calculado pela média das duplicatas.

#### Quantificação dos Elementos Inorgânicos (Fe, Ca, Al, Mg, K, Na e Mn)

A espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) propicia uma análise multielementar simultânea rápida, aliada à alta sensibilidade sendo possível utilizá-la tanto em análises qualitativas quanto quantitativas, por gerar sinais analíticos proporcionais às concentrações das espécies presentes nas amostras.

A escolha dos comprimentos de onda utilizados foi feita baseada em linhas espectrais descritas na tabela de comprimento de ondas do manual do equipamento (PERKIN ELMER CORPORATION, 1998).

No quadro 3 estão listados os elementos selecionados para o estudo e os seus respectivos comprimentos de onda, assim como o intervalo de trabalho para cada elemento e no quadro 4 as condições operacionais do ICP OES.

Quadro 3 - Elementos selecionados para o estudo, seus respectivos comprimentos de onda e intervalo de trabalho.

<b>Elementos</b>	<b>Comprimento de onda (<math>\lambda</math>) nm</b>	<b>Intervalo de trabalho (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Ferro	238,204	0,5-10,0
Cálcio	317,933	5,0-30,0
Alumínio	396,153	0,2-3,0
Magnésio	285,213	5,0-30,0
Potássio	766,490	10,0-80,0
Sódio	589,592	0,2-3,0
Manganês	257,610	0,2-3,0
Bário	233,527	0,2-3,0
Cobre	327,393	0,5-10,0
Cromo	267,716	0,2-3,0
Lítio	670,784	0,2-3,0
Níquel	231,604	0,2-3,0
Zinco	206,200	0,2-3,0

Fonte: (PERKIN ELMER CORPORATION, 1998).

Quadro 4 - Parâmetros operacionais empregados nas análises por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

<b>ICP OES</b>	<b>Condição Operacional</b>
Potência de radiofrequência	1300 W
Fluxo no nebulizador	0,55 L/min
Fluxo do gás auxiliar	0,2 L/min
Fluxo de argônio (plasma)	15,0 L/min
Medida do sinal	área
Leitura por replicata	3
Retardamento da leitura	45 s
Vazão da bomba peristáltica	1,5 mL/min
Pressão do gás de argônio	100 psi
Plano de visão	Axial

Fonte: (Do autor, 2018).

Para a análise de Cd, As e Pb foi utilizada a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), modelo PinAAcle 900Z, da marca Perkin Elmer, equipado com auto amostrador (AS 900), tubo de grafite recoberto piroliticamente e plataforma de L'Vov integrada, com aquecimento transversal, correção do sinal de fundo baseado no Efeito Zeeman e campo magnético aplicado 0,8T. O volume de amostra introduzido no tubo de grafite através do auto amostrador

foi de 20 µL e o volume de modificador químico foi de 5 µL. Embora seja uma técnica monoelementar, a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS) permite detectar níveis de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , quadro 5. No quadro 6 estão descritas as condições operacionais usadas no experimento para quantificar As, Cd e Pb. Nos quadros 7-9 estão descritos os programas de temperaturas específicos para cada elemento estudado (As, Cd e Pb) por FG AAS.

Quadro 5 - Elementos selecionados para o estudo, seus respectivos comprimentos de onda e intervalo de trabalho.

Forno de grafite	Comprimento de onda ( $\lambda$ ) nm	Intervalo de trabalho ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Arsênio	193,7	2-20
Cádmio	228,8	0,5-5
Chumbo	238,31	5-50

Fonte: (Do autor, 2018).

Quadro 6 - Condições operacionais para análise de arsênio (As), chumbo (Pb) e cádmio (Cd) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS).

Condições operacionais	Arsênio	Chumbo	Cádmio
Comprimento onda (nm)	193,70	283,3	228,80
Corrente lâmpada (mA)	380	380	240
Fenda (nm)	0,7	0,7	0,7
Tempo de leitura (s)	5	5	5
Leitura Ainst/s	Área do pico	Área do pico	Área do pico
Volume forno ( $\mu\text{L}$ )	20	20	20
Intervalo de trabalho ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2 - 20	5 - 50	0,5 - 5
Modificador químico	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,006mg) + $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (1%v/v)	

Fonte: (Do autor, 2018).

Quadro 7 - Programa de temperatura para determinação de arsênio (As) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), usando  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  (0,003 mg) +  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  (0,005 mg) como modificador químico.

Etapa	Temp, °C	Rampa	Tempo	Fluxo do gás inerte	Gás	Leitura
1	110	1	30	250	N	
2	130	15	30	250	N	
3	1200	10	20	250	N	
4	2300	0	5	0	-	X
5	2450	1	3	250	N	

N= Nitrogênio

Fonte: (Do autor, 2018).

Quadro 8 - Programa de temperatura para determinação de chumbo (Pb) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), usando  $Mg(NO_3)_2$  (0,006 mg) +  $NH_4H_2PO_4$  (1% v/v) como modificador químico.

Etapa	Temp, °C	Rampa	Tempo	Fluxo do gás inerte	Gás	Leitura
1	110	1	30	250	N	
2	130	15	30	250	N	
3	850	10	20	250	N	
4	1600	0	5	0	-	X
5	2450	1	3	250	N	

Fonte: (Do autor, 2018).

Quadro 9 - Programa de temperatura para determinação de cádmio (Cd) por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (FG AAS), usando  $Mg(NO_3)_2$  (0,006 mg) +  $NH_4H_2PO_4$  (1% v/v) como modificador químico.

Etapa	Temp, °C	Rampa	Tempo	Fluxo do gás inerte	Gás	Leitura
1	110	1	30	250	N	
2	130	15	30	250	N	
3	750	10	20	250	N	
4	1500	0	5	0	-	X
5	2450	1	3	250	N	

Fonte: (Do autor, 2018).

### 3.3 Análises estatísticas

Para a análise da variação do teor de epicatequina e taninos totais nas vinte e sete amostras foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis que avalia medianas com o auxílio do software livre R, versão 3.3.3 e considerou-se o nível de significância de 5%.

Para o agrupamento por similaridade, os resultados da análise elementar e os dados físico-químicos das vinte e sete amostras foram avaliados pela Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA). Para a PCA uma matriz de dados foi construída tal que as amostras foram organizadas em linhas e as respostas (teores de impurezas, umidade, taninos totais, epicatequina, chumbo e manganês) em colunas.

Com o objetivo de melhor visualização do teor dos elementos e dos resultados das análises físico-químicas, os dados obtidos em todos os experimentos foram transformados utilizando a equação de escore z (equação 3), para que as

variáveis tenham o mesmo peso e assim serem avaliadas de forma correta pela análise de PCA.

$$z = \text{escore bruto} - \text{média} / \text{desvio padrão} \quad (\text{equação 3})$$

O programa estatístico JMP versão 8.0 foi empregado para a realização das análises estatísticas de PCA.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Amostras botânicas

Todas as amostras foram obtidas no período de 2014 a 2016. Cada uma recebeu uma codificação numérica de 1 a 27.

Amostra 1 - Quilombo de Tapera/Petrópolis (fresca 1kg)

Amostra 2 e 3 - Refúgio Biológico Bela Vista/PR (500g de cada)

Amostras 4 a 14 - lojas de produtos naturais (12 pacotes de cada = 360g de cada)

Amostras 15 a 27 – vendidas a granel (500g de cada)

As amostras de 4 a 14 vieram em embalagens de plástico transparente, todas apresentaram rótulos só que mais de 50 % não apresentavam dados sobre a espécie botânica (7, 9, 10, 11,12, 14). 25% destas apresentavam especificação do peso e logomarca da empresa com dados de CNPJ, inscrição estadual, informações sobre número de SAC e data de validade, porém nenhuma informação sobre conservação adequada, formas de uso, recomendação para adultos ou crianças ou ambos. É importante destacar que, a embalagem representa um objeto de contato direto entre o produto e o usuário e, além de cumprir funções técnicas, estéticas e informativas, deve obedecer à legislação vigente e a conceitos éticos e morais, a fim de contribuir para a eficácia e a segurança no uso do medicamento. Contudo, surpreendentemente não foi encontrado nestes três anos de coleta de material.

Não há uma resolução específica para rotulagem de embalagens de chás medicinais, a resolução nº 26/2014 regula somente as embalagens dos medicamentos fitoterápicos e os PTFs. Nas amostras adquiridas observamos que as empresas utilizam as normas para chás considerados alimentos como o chá verde (*Thea sinensis*), mate (*Ilex paraguariensis*), hibisco (*Hibiscus sabdariffa*), laranja amarga (*Citrus aurantium*) dentre outros presente na RDC nº 219/2006 (BRASIL, 2006c).

Os chás com finalidade medicamentosa ou terapêutica, qualquer que seja a forma como se apresentam ou o modo como são ministrados devem ter uma resolução que normatize os rótulos de forma a facilitar a sua utilização pelos

consumidores. Da mesma forma que a rotulagem dos medicamentos industrializados (MF ou PTF) são normatizados pela RDC nº 71/2009, os chás medicinais também precisam de uma norma que obrigue os empresários a colocar informações importantes nos rótulos como nomenclatura botânica, indicando espécie (Gênero + epíteto específico) para sua a denominação genérica; a quantidade total de peso, a restrição de uso por faixa etária, na face principal, incluindo a frase, em caixa alta, "USO ADULTO", "USO ADULTO E PEDIÁTRICO, data de fabricação e data de validade (BRASIL, 2009d).

Do comércio atacadista (ervanarias e mercado popular) foram adquiridas 13 amostras obtidas neste mesmo intervalo de tempo e estas apresentaram-se muito heterogêneas (trituradas, grande quantidade de galhos e outras espécies), os rótulos só apresentavam o nome popular da espinheira-santa e data de validade.

As amostras 24, 25, 26 e 27, obtidas de um grande mercado atacadista, apresentaram problemas piores: das dezessete lojas que comercializam plantas medicinais e ritualísticas, somente quatro tinham espinheira-santa e estas não possuíam qualquer informação de procedência, além de serem acomodadas no chão ou penduradas nos boxes e com contaminação por fungos. Para a aquisição das amostras escolhemos os melhores exemplares que estavam dispostos pendurados na banca do mercado.

## **4.2 Controle da qualidade da droga vegetal**

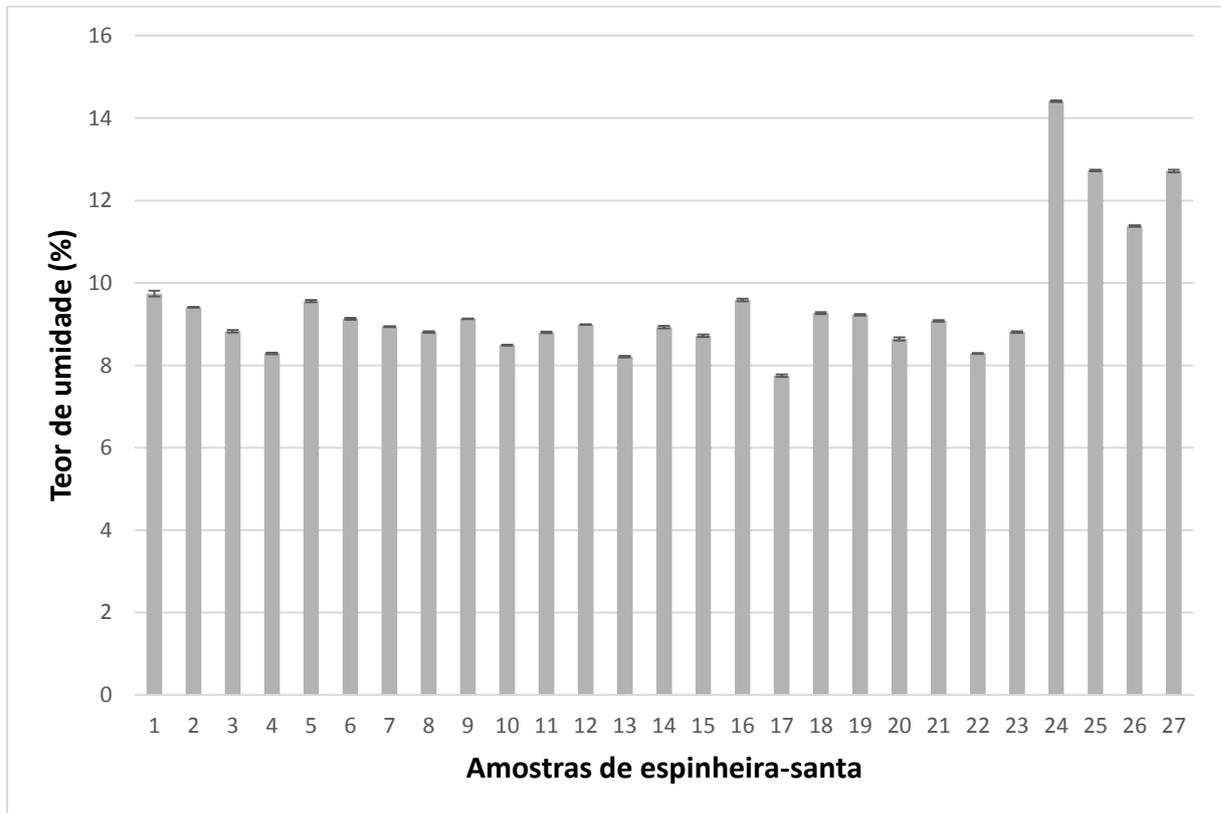
### **4.2.1 Determinação de água e material estranho nas drogas vegetais**

Analisando os resultados obtidos, verificou-se que 89% das amostras analisadas apresentaram valores para umidade dentro do estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (2010), cujo limite permitido para folhas é de, no máximo, 12%.

A amostras que apresentaram valores acima do recomendado pela norma foram as obtidas do mercado popular: 24 (14,41%), 25 (12,73%) e 27 (12,72%), apresentadas na figura 12. A presença de quantidade excessiva de água em drogas vegetais propicia, principalmente, o desenvolvimento de microrganismos, a infestação por insetos e a hidrólise de princípios ativos, além de influir sobre sua

massa. A ação deletéria da água é conhecida há várias décadas, mas somente nos últimos anos este controle se tornou obrigatório nas indústrias químicas, farmacêuticas e alimentícias. Em um estudo semelhante com produtos à base de espinheira-santa, realizado na região de Umuarama (PR), se verificou um percentual alto de não conformidade no quesito umidade. Um total de 90% das amostras analisadas estava com os teores de umidade acima do determinado pela norma (YOKOTA et al, 2010). Hoje, devido à grande preocupação das empresas com os aspectos relativos à qualidade, este conceito vem sendo aplicado ao controle de alterações indesejáveis na produção e armazenamento de alimentos e insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAVs). O excesso de umidade em matérias primas vegetais favorece a ação enzimática, podendo acarretar na degradação de constituintes químicos importantes, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias. As modificações enzimáticas e químicas podem ocorrer de maneira lenta, ao contrário da degradação provocada por microrganismos, que normalmente ocorrem de uma maneira mais rápida e podem comprometer a qualidade medicinal de espécies estocadas (AMARAL et al, 2003; COSTA; GUIMARÃES; VIEIRA, 2014; MARCHESI; FIGUEIRA, 2005; MACIEL; STEPPE, 2017).

Figura 12 - Teor de umidade (em %) nas amostras in natura de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL (Petrópolis, RJ), 1; do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV, PR), 2 e 3; de lojas de produtos naturais (4 a 14) e adquiridas em ervanarias e mercado popular, 15 a 27.



Fonte: (Do autor, 2017).

No quesito material estranho, apenas duas amostras provenientes do RBBV apresentaram somente folhas e nenhum material estranho dentre as 26 analisadas. A amostra 7 apresentou pedaços de *Sphagnum* sp, *Selaginela* sp e frutos de *Sorocea* sp. As amostras 16, 18 e 20 apresentaram gemas apicais com estípulas, indicando se tratar de indivíduos da família Moraceae, com muitos pedaços de caule e folhas com manchas escuras e presença de musgos. Algumas folhas da amostra 25 estavam contaminadas por fungos e a 27 contendo *Microgramma vacciniifolia*, Polypodiaceae conhecida como cipó-cabeludo.

Um total de 65% das amostras foram reprovadas, pois os índices de material estranho superaram o limite permitido pela Farmacopeia Brasileira (2010) que é de, no máximo, 2% para a maioria das drogas vegetais (quadro 1). Um total de 50% das amostras apresentou teor de impurezas (caules, musgos, outras espécies) acima de

20%, o que equivale a dez vezes mais do que o permitido pela Farmacopeia Brasileira (2010). Vários autores relataram quadro parecido em todo o Brasil. Bochner et al (2012), através de um trabalho exploratório, verificaram a presença de vários contaminantes, insetos, outras espécies vegetais e fungos nas plantas medicinais comercializadas em um grande mercado popular do Rio de Janeiro, inclusive espinheira-santa. Yokota et al (2010), em uma avaliação de amostras de espinheira-santa no Paraná, verificaram a presença de contaminantes orgânicos em mais de 50% das amostras, prevalecendo pedaços de galhos triturados e ausência do marcador farmacopeico em 72% das drogas vegetais analisadas, indicando não ser *M. ilicifolia*, sendo consideradas inapropriadas para consumo como medicamento. Silva et al (2012) avaliaram amostras de espinheira-santa adquiridas em farmácias de manipulação e em vendedores ambulantes da cidade de Votuporanga (SP) e verificaram que 100% das amostras estavam com impurezas muito acima dos níveis farmacopeicos, sendo então reprovadas. A alta contaminação de drogas vegetais deve-se, possivelmente, a problemas de manejo, limpeza e separação inadequada; porém, para a espinheira-santa, o alto teor de impurezas deve-se principalmente à inclusão de caules, um indicativo de adulteração intencional como demonstrado por Melo (2004).

A amostra proveniente do Quilombo de Tapera foi processada no nosso laboratório e, por isso, não entrou na avaliação de determinação de impurezas realizada para as outras 26 amostras (quadro 10).

Quadro 10 - Porcentagem de impurezas nas amostras 2 a 27 de espinheira-santa analisadas in natura.

Amostra	Quantidade de contaminantes (g)
2	0% (apenas folhas secas)
3	0% (apenas folhas secas)
4	8% de galhos
5	12% de galhos
6	9% de galhos e líquens
7	5% de galhos e presença de musgos e frutos de <i>Sorocea</i> sp
8	12% de galhos
9	19% de galhos
10	24% de galhos
11	50% de galhos
12	6% de galhos
13	32% de galhos
14	7% de galhos
15	14% de galhos
16	32% de galhos, apresentaram gemas apicais com estípulas, indicando se tratar de indivíduos da família Moraceae
17	28% de galhos
18	14% de galhos; presença de frutos de <i>Sorocea</i> sp
19	12% de galhos
20	39% de galhos, apresentaram gemas apicais com estípulas, indicando se tratar de indivíduos da família Moraceae. Presença de pedaços de caule e folhas com manchas escuras e musgos
21	27% de galhos
22	45% de galhos e líquens
23	62% de galhos
24	42% de galhos
25	54% de galhos e folhas contaminadas por fungos
26	29% de galhos
27	27% galhos, presença de <i>Microgramma vacciniifolia</i> (cipó cabeludo)

Fonte: (Do autor, 2017).

#### 4.2.2 Avaliação botânica das drogas vegetais

##### 4.2.2.1 Morfoanatomia foliar

No estudo morfoanatômico das amostras 1 a 27, identificou-se aspectos importantes para a caracterização da espécie oficial e da detecção de possível fraude. Foram analisados, neste estudo, as características da filotaxia, forma da lâmina foliar, ápice, pecíolo, padrão de venação, presença de tricomas, natureza das fibras e forma da nervura central.

Todas as vinte e sete amostras analisadas apresentaram folhas com margem dentada espinhosa. A amostra 14 apresentou-se muito fragmentada, o que dificultou a análise macroscópica do limbo foliar.

A amostra proveniente do Quilombo de Tapera (RJ) (1), foi coletada ainda com os galhos, apresentando folhas com filotaxia alterna espiralada, simples e inteiras, coriáceas, lâminas elípticas, ápice agudo, com margens dentadas espinhosas (6 pares), com base arredondada e padrão de nervação craspedódromo. As margens apresentaram poucos dentes espinhosos, característicos de *M. ilicifolia*. Após a secagem, as folhas apresentaram uma coloração da face adaxial mais escura que a abaxial (esbranquiçada). Descrição semelhante foi realizada por Duarte e Debur (2005) e Machado e Santos (2004), ressaltando principalmente o padrão de nervação, que se distingue pelas características do curso das nervuras secundárias (craspedódroma simples), formato e consistência da lâmina foliar e ausência de tricoma na amostra, o que também é citado por Sousa et al (1999) como característica importante na identificação de *M. ilicifolia*, figura 13.

Figura 13 – Folhas de espinheira-santa proveniente do Quilombo de Tapera/APL Petrópolis/RJ (amostra 1). Detalhe do tipo de nervação craspedódroma simples, característica da face abaxial de *M. ilicifolia*. Barra – 5mm.

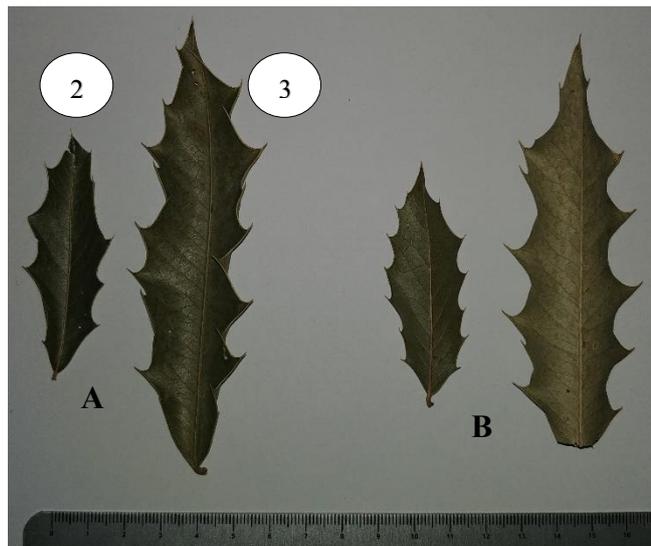


Fonte: (Do autor, 2017).

A amostra 2, proveniente do RBBV, apresentou características morfo-anatômicas de *M. ilicifolia*, descritas por Duarte e Debur (2005), como folhas simples e inteiras, lanceoladas, ápice agudo e base aguda a obtusa, medindo cerca de 5 cm de comprimento e 2 cm de largura. A margem apresentou dentes espinhosos e o pecíolo curto. A superfície foliar é coriácea e glabra e a nervura central é mais proeminente no lado abaxial. As nervuras secundárias apresentaram um padrão de nervação do tipo craspedódromo simples, descrito também por Machado e Santos (2004).

A amostra 3 apresentou folhas membráceas, glabras, com limbo medindo entre 10 a 15 cm de comprimento e 2 a 5 cm de largura, forma elíptica, ápice agudo, base truncada, nervura primária proeminente em ambas as faces, margem serreada com muitos espinhos, nervuras secundárias subsalientes, tipo craspedódroma simples sugerindo grande similaridade com *M. aquifolia* (figura 14). Características similares do limbo foram descritas para *M. aquifolia* por Perecin e Kageyama (2002). Santos (2016) descreveu características importantes na identificação e diferenciação de folhas de *M. aquifolia* e *M. ilicifolia*, como ápice agudo com espinho apical, cartáceas, nervura primária plana na face adaxial proeminente na face abaxial, nervuras secundárias em ambas as faces, de 8 a 24 pares de espinhos em toda a margem do limbo. Estas características comuns foram identificadas nesta amostra.

Figura 14 – Análise macroscópica das folhas das amostras 2 e 3 provenientes do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV/PR). A – face adaxial; B – face abaxial.

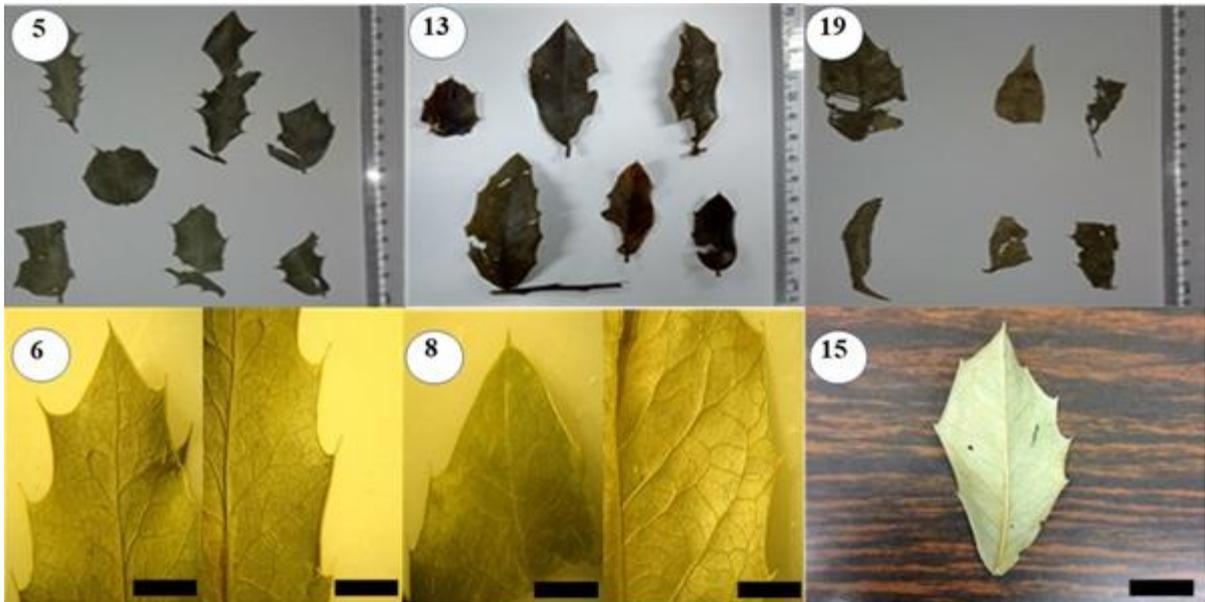


Fonte: (Do autor, 2017).

As amostras 4, 5, 6, 8, 13, 15, 17 e 19 apresentaram folhas simples e inteiras, lanceoladas, ápice agudo e base arredondada, espinhos na margem e pecíolo curto. Superfície foliar coriácea e glabra e sua nervura central mais proeminente no lado abaxial. Parâmetros morfo-anatômicos semelhantes foram descritos por Duarte e Debur (2005) em um estudo com folhas de *M. ilicifolia* proveniente do Paraná. Machado e Silva (2004) descreveram algumas características morfológicas para a verificação da autenticidade da *M. ilicifolia*, como ângulos de divergência das

nervuras secundárias e de origem das nervuras terciárias. As terminações de nervuras e as aréolas podem ser utilizadas como ferramentas para diferenciação taxonômica, descrição semelhante também realizada por Santos (2016). Com base nestes resultados, pode-se sugerir que estas amostras sejam autênticas (figura 15).

Figura 15 - Análise macroscópica das folhas das amostras 5, 6, 8 e 13, provenientes de lojas de produtos naturais, e 15 e 19, adquiridas de ervanarias e mercado popular. Nervação classificada craspedódroma simples. Barra – 5 mm.

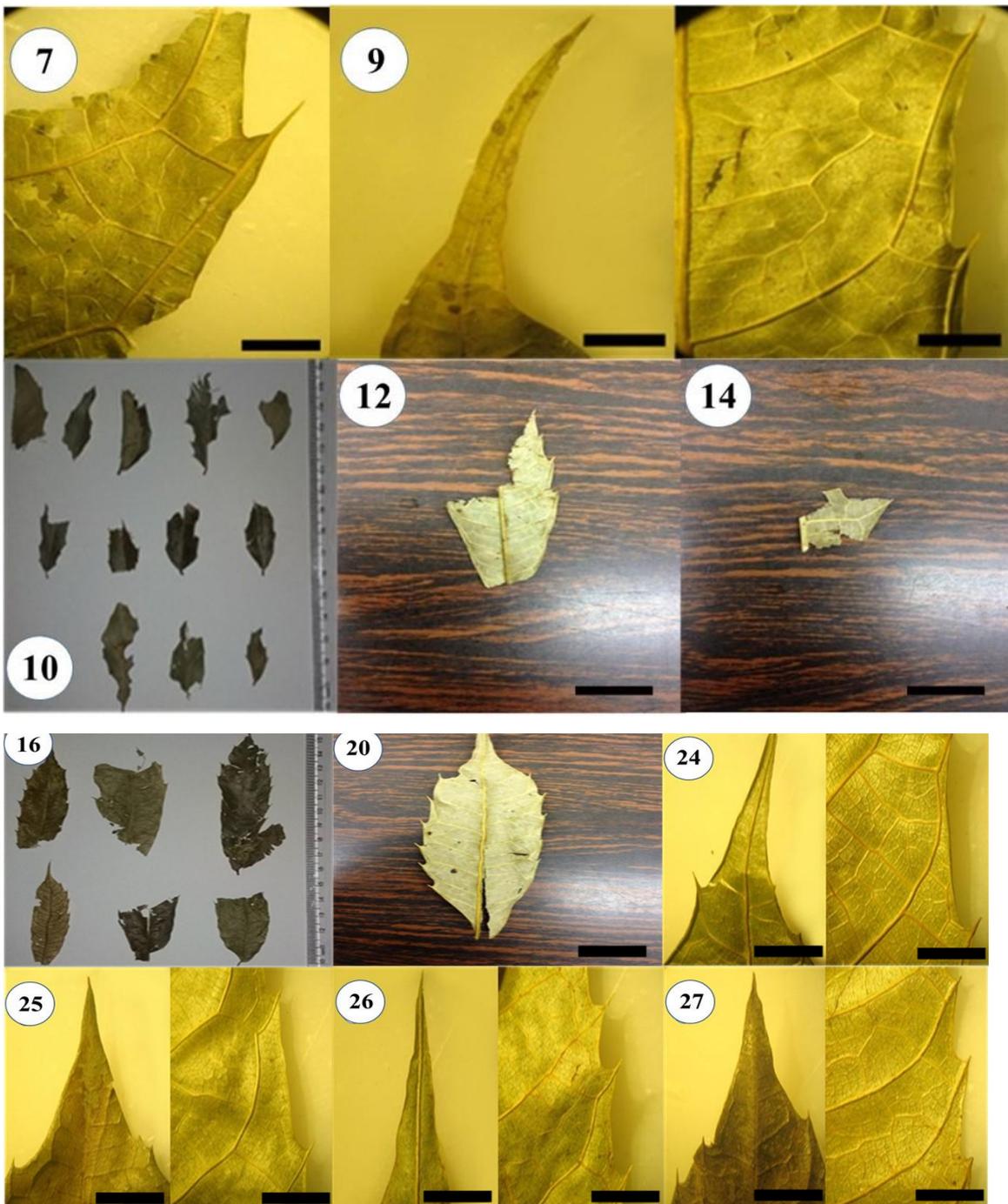


Fonte: (Do autor, 2017).

As amostras 7, 9, 10, 11, 12 e 14, provenientes de lojas de produtos naturais, e 16, 20, 24, 25, 26 e 27, oriundas de ervanarias e mercado popular (figura 16), apresentaram características semelhantes entre si como folhas simples, membranáceas, com lâminas obovadas oblongolanceoladas e ápice acuminado. O ângulo de divergência das nervuras secundárias encurva-se abruptamente antes de atingir o bordo foliar, sendo classificada como semicraspedódromo, não possuindo ramificações. Estas características já foram relatadas em vários trabalhos de morfo-anatomia comparativa de espinheira-santa, como o de Marques et al (1977), Barreira e Meza (1977), Machado e Santos (2004) e Duarte e Debur (2005), evidenciando semelhanças com *Sorocea bonplandii* confirmando que as amostras acima sejam esta espécie. A amostra 14 estava muito fragmentada e impossibilitou uma análise completa do ápice e do limbo, mas apresentou nervuras secundárias encurvando-se abruptamente antes de atingir o bordo foliar, caracterizando suas folhas no tipo de

nervação craspedódroma semicraspedódroma, padrão de nervação característico de *Sorocea bonplandii*.

Figura 16 – Análise macroscópica das folhas das amostras 7, 9, 10, 11, 12, 14 (provenientes de lojas de produtos naturais), 16, 20, 24, 25, 26 e 27 (adquiridas de ervanarias e mercado popular). Nervação classificada craspedódroma-semicraspedódroma. Barra – 5 mm.



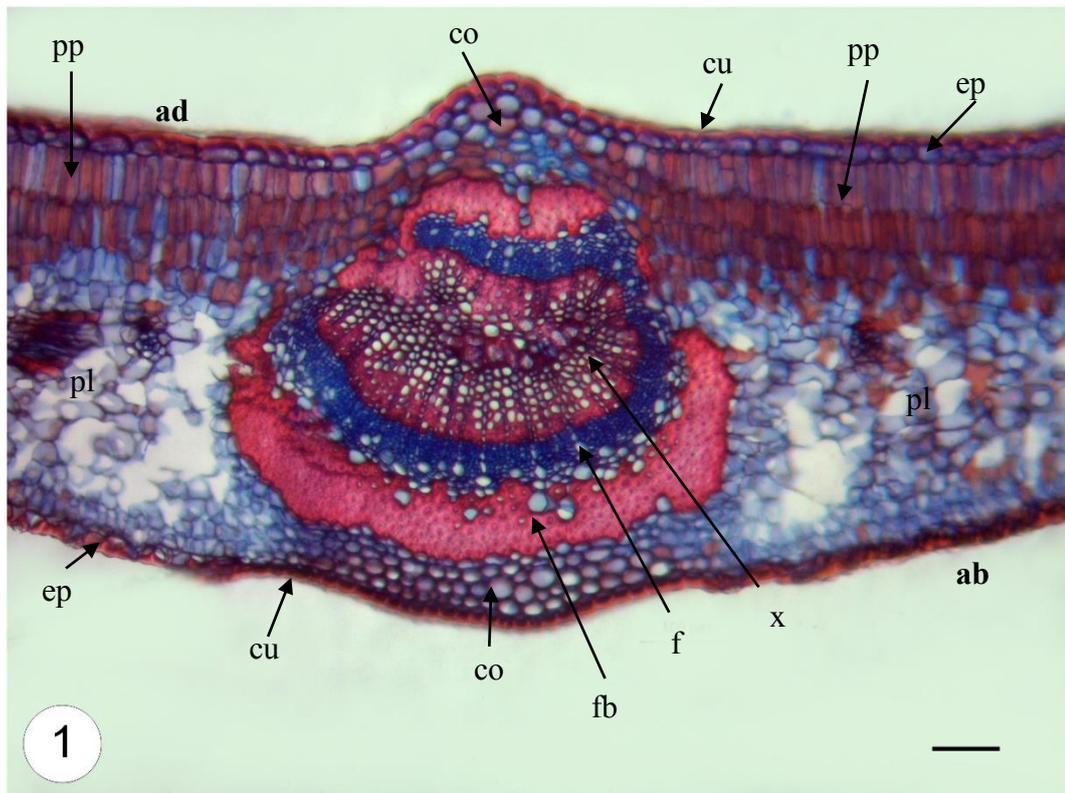
Fonte: (Do autor, 2017).

#### 4.2.2.2 Anatomia foliar

*M. ilicifolia* tem, como principais características anatômicas, possuir folhas dorsiventrais, com o mesófilo constituído de parênquimas paliçádico e esponjoso e presença de células epidérmicas com paredes retas, característica de grande importância taxonômica da espécie como citado por Barreira e Meza (1977).

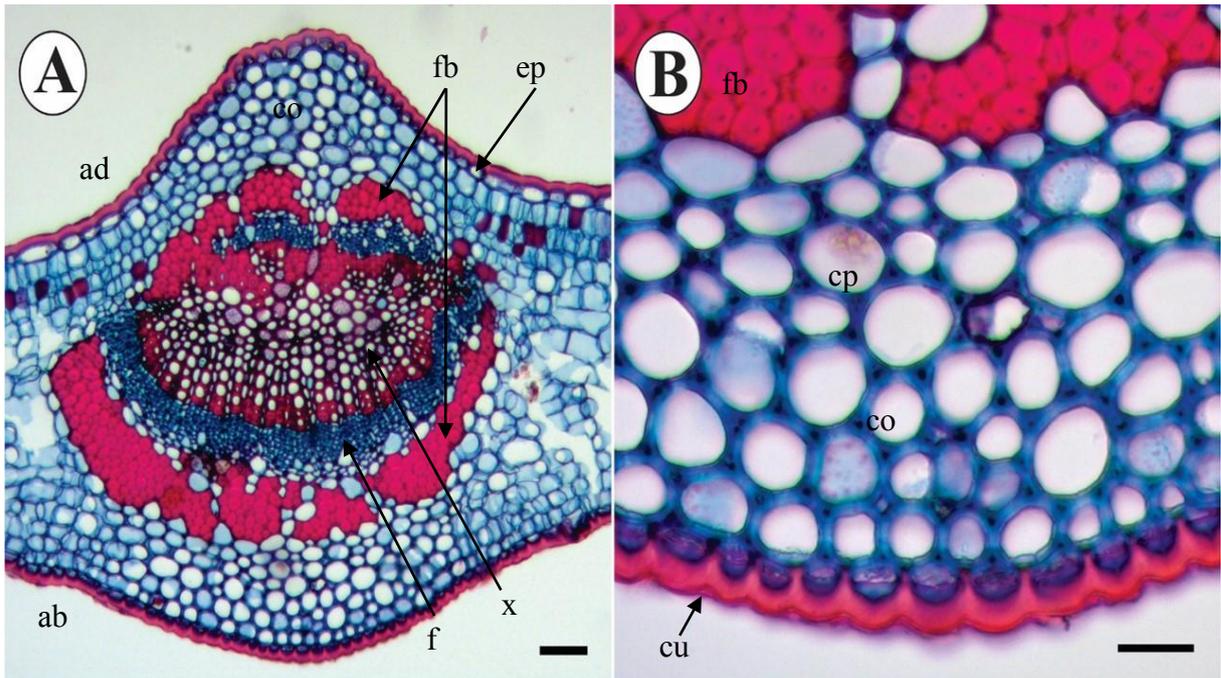
A análise das secções transversais das folhas das amostras 1 (proveniente do Quilombo de Tapera/APL Petrópolis, figura 17), da 2 (figura 18) e 3 (figura 19), provenientes do RBBV, apresentou várias semelhanças anatômicas como presença de parênquima paliçádico bisseriado, cutícula espessa em ambas as superfícies e glabra. Apresentaram também, na região da nervura central, formato biconvexo com uma proeminência na região adaxial, com curvatura menos acentuada na face abaxial nas amostras 1 e 2. Todas apresentaram epidermes glabras e unisseriadas, com células isodiamétricas a achatadas, e cobertas por cutícula espessa com feixe vascular concêntrico, apresentando com formato achatado em 1 e 2, caracterizando *M. ilicifolia*, e cilíndrico em 3 típico, de *Maytenus aquifolia*. Apresentou fibras externas ao feixe, formando uma bainha descontínua e internamente, interpondo-se entre o xilema e o floema, bem como entre as células parenquimáticas da região central. As características anatômicas das amostras avaliadas neste estudo conferem com a descrição realizada por Jacomassi (2000) no estudo de caracterização de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia* e *S. bonplandii* e com o trabalho realizado por Duarte e Debur (2005) com espécies de *M. ilicifolia* proveniente do Paraná, corroborando os dados deste trabalho, indicando fortemente serem amostras autênticas de *M. ilicifolia* e *M. aquifolia*.

Figura 17 – Seção transversal na região da nervura central da folha da amostra 1, proveniente do Quilombo de Tapera/APL Petrópolis (RJ). Formato biconvexo, com uma proeminência na região adaxial, sendo a curvatura menos acentuada na face abaxial e feixe vascular anficrival com formato achatado. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); parênquima paliçádico (pp); parênquima lacunoso (pl); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb). Barra – 100  $\mu$ m.



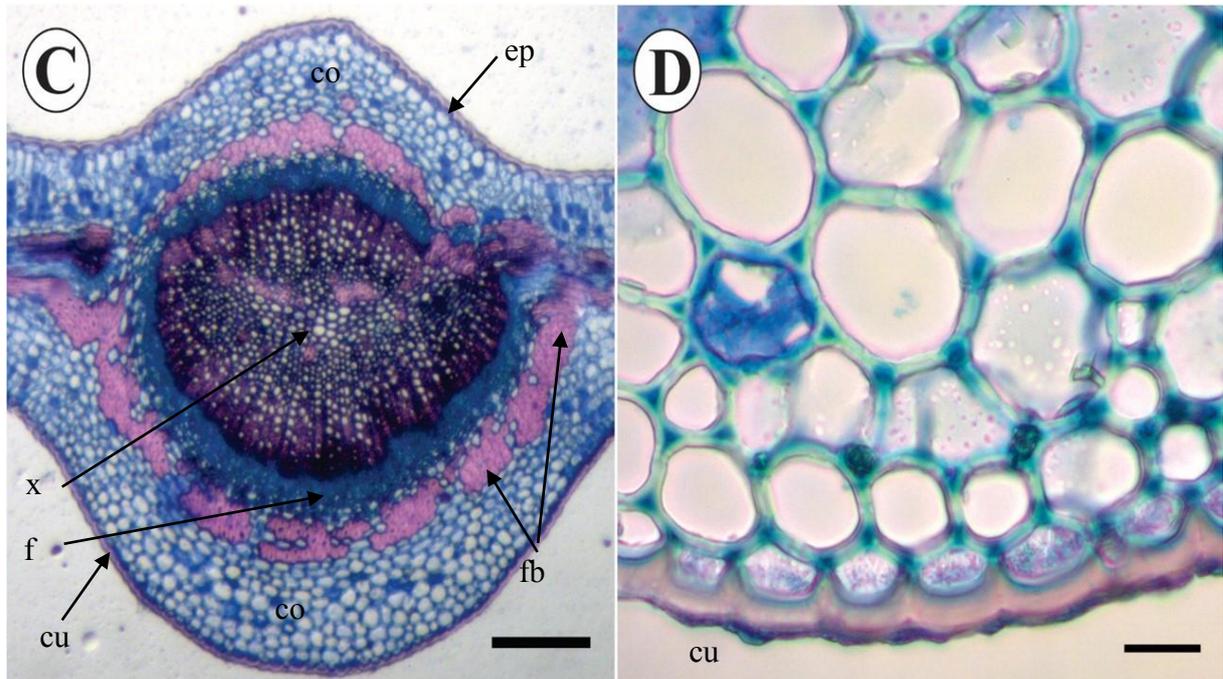
Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 18 - Seção transversal na região da nervura central da folha da amostra 2 proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista (PR). A: formato biconvexo com curvatura menos acentuada na face abaxial e feixe vascular anficrival com formato achatado (barra = 50  $\mu\text{m}$ ); B: cutícula espessa formando flanges e colênquima angular. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb); cristais prismáticos (cp) e colênquima (co). Barra – 20  $\mu\text{m}$ .



Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 19 - Seção transversal na região da nervura central da folha da amostra 3 proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista (PR). C: formato biconvexo com curvatura menos acentuada na face abaxial e feixe vascular anficrival com formato cilíndrico delimitado por uma bainha de fibras de paredes fortemente espessadas (Barra – 200  $\mu\text{m}$ ); D: cutícula espessa formando flanges e colênquima angular lamelar subepidémico. Barra – 20  $\mu\text{m}$ .



Fonte: (Do autor, 2017).

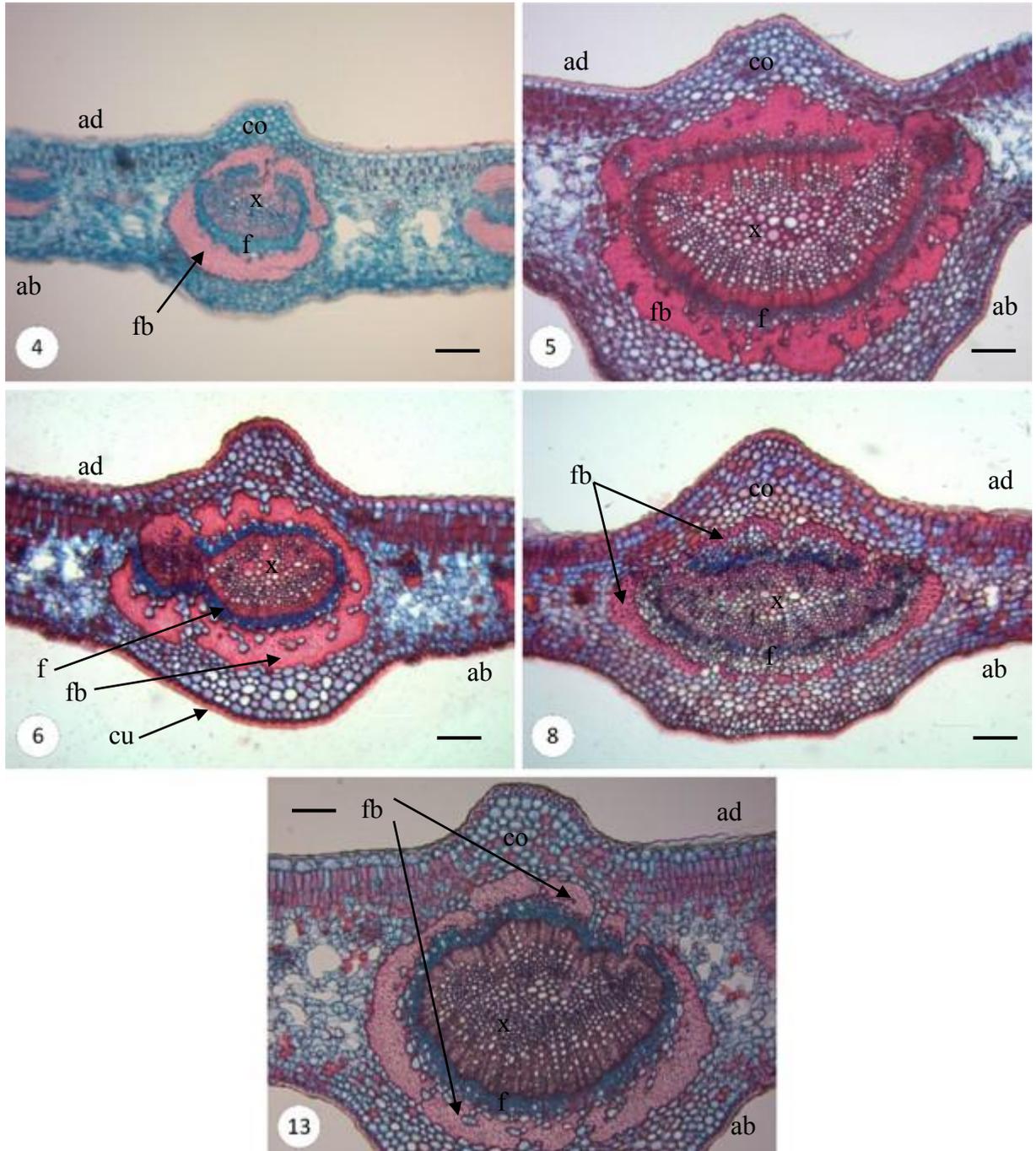
O panorama das amostras obtidas do comércio apresentou-se um pouco diferenciado. Das amostras obtidas das lojas de produtos naturais, 45% eram a espécie oficial *M. ilicifolia*.

As amostras 4, 5, 6, 8 e 13, provenientes de lojas de produtos naturais (figura 20), e 15, 17 e 19 (figura 21), provenientes de ervanarias e mercado popular, foram avaliadas quanto ao parâmetro anatomia foliar. A secção transversal do limbo mostrou-se dorsiventral com epiderme unisseriada e cutícula espessa em ambas as superfícies. O parênquima clorofiliano apresentou duas camadas de células em paliçada e de 7 a 8 camadas de células com formato irregulares, constituindo o parênquima lacunoso. No bordo, apresentou cutícula mais espessa do que nas outras partes do limbo e uma ampla bainha de fibras. A nervura principal na face adaxial é formada por cinco camadas de células parenquimáticas clorofiladas abaixo do colênquima e, na face abaxial, foram observadas de 3 a 4 camadas de células

com espessamento irregular, um sistema vascular constituído por um feixe colateral, em forma de arco, circundado por um anel de fibras e presença de monocristais prismáticos em todas as células epidérmicas.

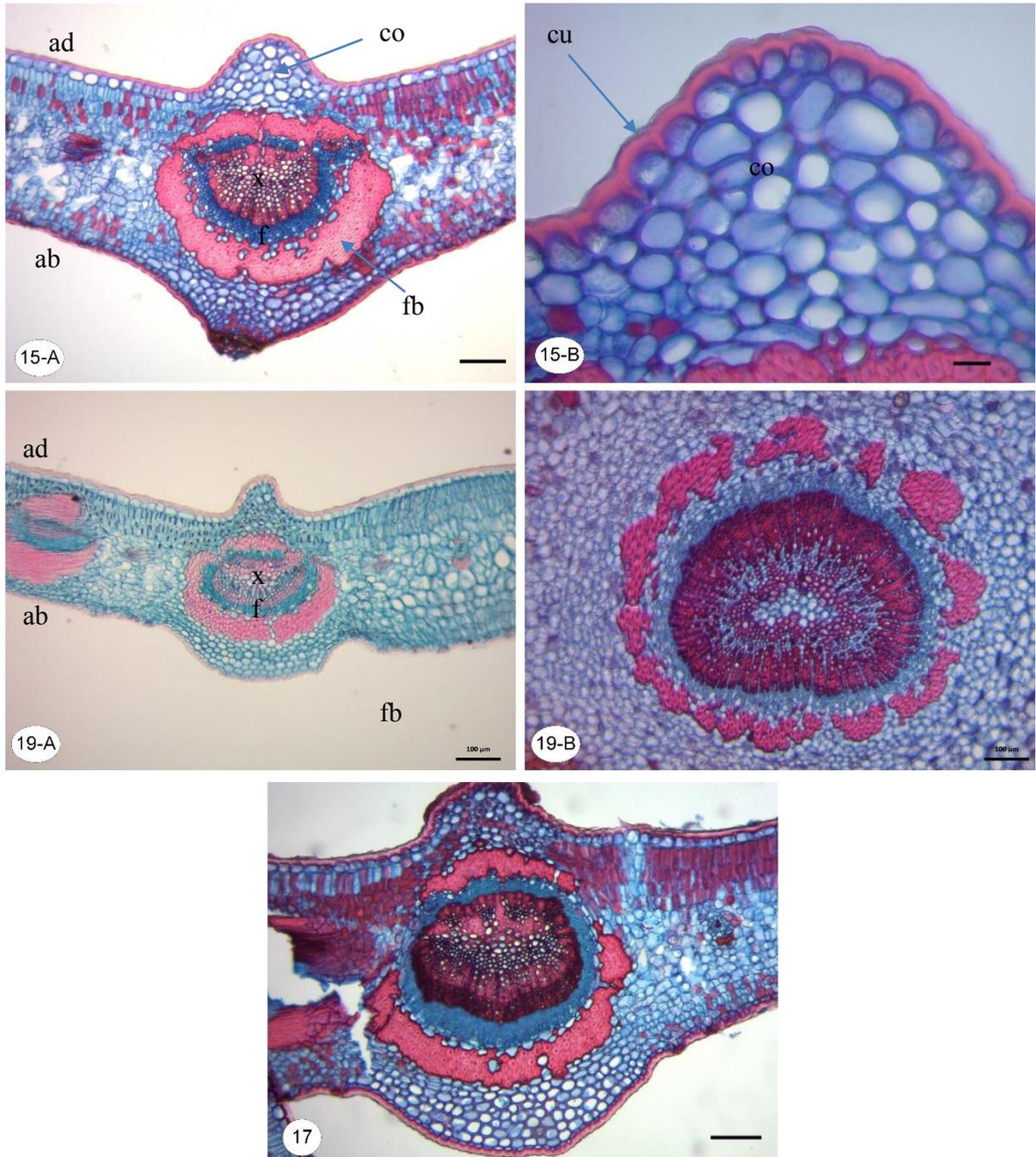
Em análise comparativa com a literatura encontrou-se estudos que confirmam as características descritas para as amostras comerciais como sendo *M. ilicifolia* (DUARTE; DEBUR, 2005; JACOMASSI, 2000; MACHADO; SANTOS, 2004).

Figura 20 - Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 4, 5, 6, 8 e 13 provenientes de lojas de produtos naturais. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb), colênquima (co). Barra – 100 µm.



Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 21 - Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 15 (A e B), 17 (barra – 50  $\mu\text{m}$ ) e 19 (A e B) provenientes de ervanarias e mercado popular (barra – 100  $\mu\text{m}$ ). Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); cutícula (cu); xilema (x); floema (f); bainha de fibras (fb) e colênquima (co).



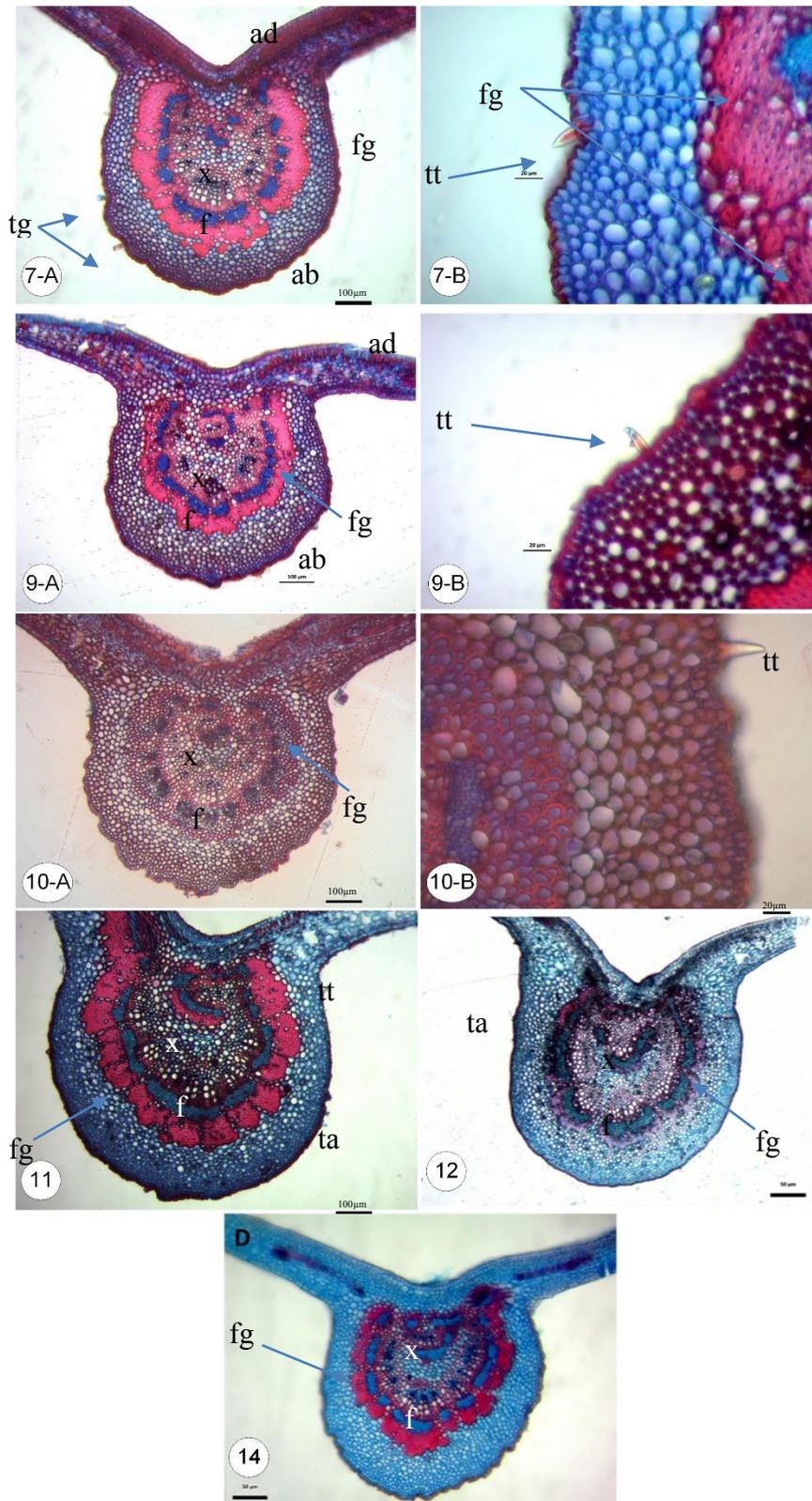
Fonte: (Do autor, 2017).

Observou-se um valor muito reduzido de espécies verdadeiras nas amostras obtidas nas ervanarias e mercado popular, somente 23% das drogas vegetais eram *M. ilicifolia*.

As amostras 7, 9, 10, 11, 12 e 14 (figura 22) e 16, 18, 20 – 27 (figura 23) seguiram a mesma metodologia de análise das amostras anteriores. Todas as amostras apresentaram epiderme uniestratificada, com conformação das paredes celulares anticlinais, sinuosas, característica taxonômica importante na identificação de *Sorocea bonplandii*, descrito por Metcalfe; Chalk (1950) e confirmada por Machado e Santos (2004) (figura 22), característica com importante valor taxonômico. Diversas pesquisas têm demonstrado a variação das características da epiderme, diretamente relacionada com a irradiação solar. Estas informações são importantes, considerando que *S. bonplandii* encontrava-se sempre em locais sombreados enquanto *M. ilicifolia* se desenvolve em locais ensolarados.

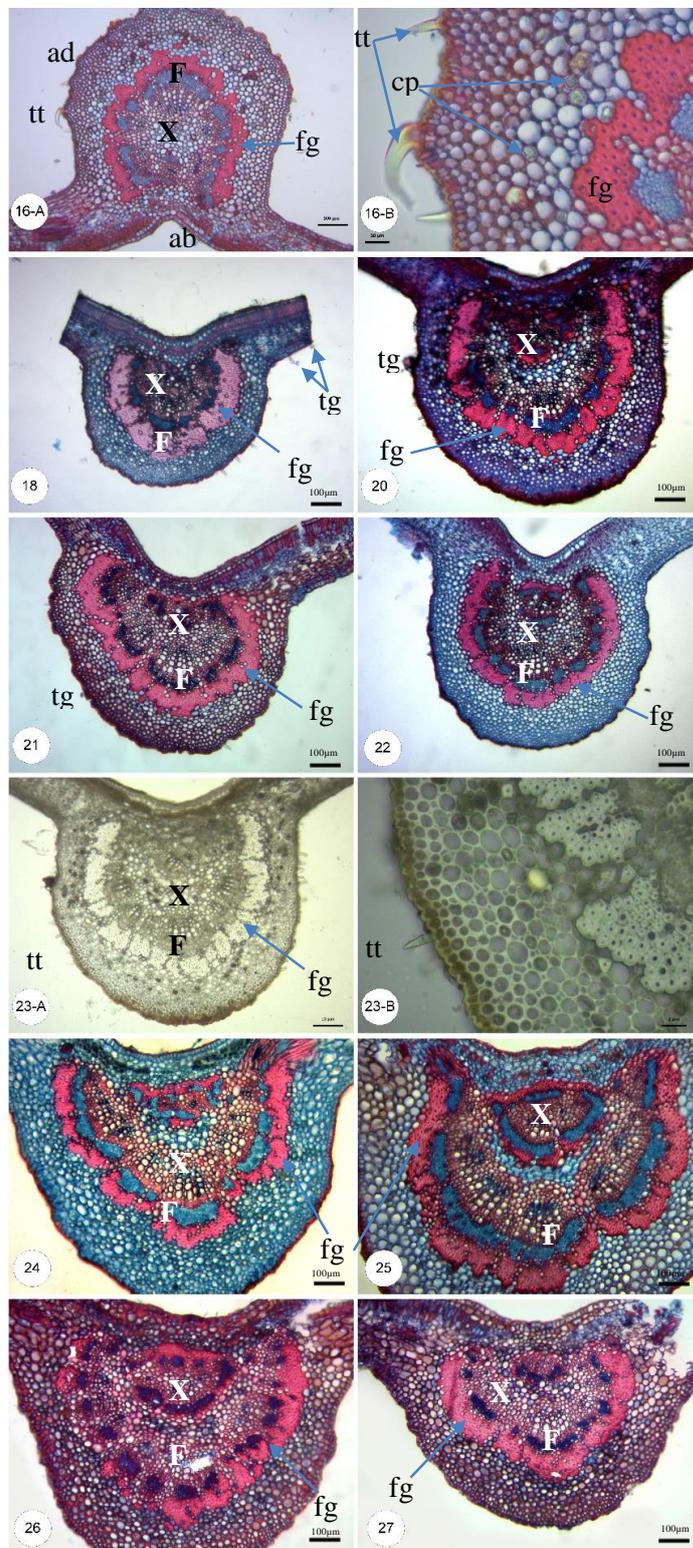
A nervura mediana, em secção transversal, mostrou-se com a face adaxial côncava e a face abaxial com acentuada convexidade. O sistema vascular na nervura mediana é do tipo concêntrico em forma de “U”, na face abaxial, e outro feixe plano, em posição inversa, na face adaxial. Sob a epiderme foi observado colênquima, em ambas as faces, do tipo angular que, na face adaxial, avança internamente determinando uma interrupção do clorênquima como observado na figura 22 (amostras 7A, 9A, 10A, 11, 12, 13 e 14) e amostras 16A, 18, 20 a 27 (figura 23). Verificou-se a presença de cristais de oxalato de cálcio em várias partes da folha, nas células do colênquima e do parênquima e presença de tricomas tectores, figura 22 (7B, 9B e 10B) e nas amostras 16B e 23 B (figura 23). Marques et al (1977) citaram a importância dos tipos e a localização dos cristais para classificação taxonômica. Em *S. bonplandii*, são prismáticos e encontrados na forma de drusas, contornando os feixes vasculares. O bordo possui, sob a epiderme, cerca de três camadas de clorênquima e, mais ao centro do bordo, uma pequena quantidade de fibras.

Figura 22 – Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 7, 9, 10, 11, 12 e 14 provenientes de lojas de produtos naturais. Barra – 100 µm. 7B e 9B: presença de cristais prismáticos (cp) e tricoma tector unicelular (tt). Barra – 20 µm. Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); xilema (x); floema (f); tricoma glandular (tg); fibras gelatinosas (fg).



Fonte: (Do autor, 2017).

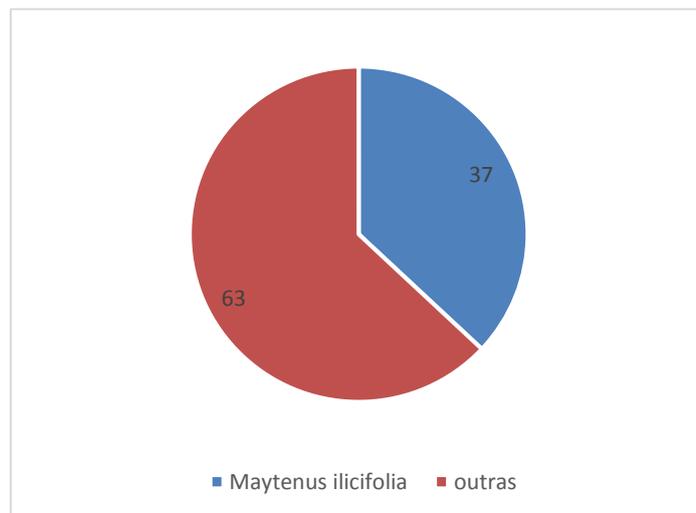
Figura 23 - Seção transversal na região da nervura central das folhas das amostras 16, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 e 27. Detalhe de tricomas tectores (tt) em 16-B e 23-B (barra – 20  $\mu\text{m}$ ) e glandular (tg) em 20 (barra – 100  $\mu\text{m}$ ). Detalhes parciais em secções transversais: face adaxial (ad); face abaxial (ab); epiderme (ep); xilema (x); floema (f); cristais prismáticos (cp) e fibras gelatinosas (fg).



Fonte: (Do autor, 2017).

Por meio das análises macroscópicas (figuras 13 a 16) e da análise anatômica (figuras 17 a 23) das amostras de espinheira-santa, foi possível traçar um panorama do percentual de drogas adulteradas no intervalo de avaliação de março de 2014 a novembro de 2016. Das vinte e sete amostras adquiridas, 63% não eram a espécie oficial – *M. ilicifolia* – e, de acordo com os resultados, indicam fortemente serem *Sorocea bonplandii*, pois apresentam características da morfo-anatomia da lâmina foliar, nervura e pecíolo bastante distintos, próprias desta espécie (figura 24) (DUARTE; DEBUR, 2005; JACOMASSI; MACHADO; SANTOS, 2004; SANTOS, 2012).

Figura 24 - Percentual de drogas adulteradas no intervalo de avaliação do controle da qualidade de amostras de espinheira-santa no período de março de 2014 a novembro de 2016.



Fonte: (Do autor, 2017).

Azevedo e Silva, em 2006, realizaram um estudo em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, com o objetivo de elencar quais espécies eram comercializadas e qual a procedência desta. Neste trabalho as famílias mais utilizadas foram Asteraceae e Lamiaceae e os autores relataram que 64,3% das espécies comercializadas eram provenientes do extrativismo e que a coleta era realizada principalmente em remanescentes de Mata Atlântica (83%), áreas que fazem parte ou circundam Unidades de Conservação, contribuindo para a vulnerabilidade das mesmas. A disponibilidade regional e sazonal das espécies favorece a ocorrência de falsificações, propiciando o comércio de espécie similares em substituição de outra

rara ou mesmo não disponível naquele local ou período do ano. Este é o caso da espinheira-santa (*M. ilicifolia* e *M. aquifolia*), que devido ao excesso de exploração no Brasil vem sendo substituída pela *Sorocea bonplandii*, espécie com maior densidade de indivíduos por hectare em florestas, possui sementes com germinação rápida, viabilidade e teor de água elevados, bem como, intolerância à dessecação, o que torna uma melhor opção para adulteração das espécies oficiais (ALMEIDA; ALBUQUERQUE, 2002; COULAUD-CUNHA et al, 2004; LEONHARDT, C. et al, 2011; LEITÃO et al, 2009; RUSCHEL; NODARI, 2008; SILVA; PEIXOTO, 2009; STEENBOCK et al, 2003).

#### 4.2.3 Testes de identificação e doseamento

##### 4.2.3.1 Cromatografia em camada delgada

###### Método da Farmacopeia Brasileira (2010)

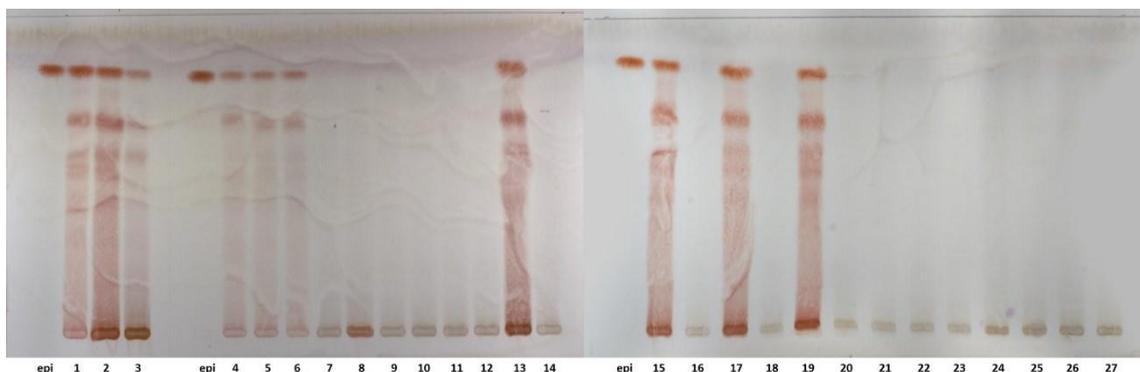
*M. ilicifolia* é uma das poucas espécies medicinais nativas cujos constituintes químicos foram exaustivamente avaliados em termos farmacológicos, inclusive em testes clínicos como a avaliação realizada por TABACH, DUARTE-ALMEIDA e CARLINI (2017) com 24 voluntários (12 mulheres e 12 homens) entre 20 e 40 anos de idade, administrando até 2 g do extrato de *M. ilicifolia*/dia, que resultou em poucas alterações nos parâmetros bioquímicos, hematológicos ou psicomotores, e sem reações adversas significativas.

A atividade anti-ulcerogênica da droga deve-se à presença, principalmente, de taninos e flavonoides (CHIMIN et al, 2008; LEITE et al, 2010). No presente trabalho, a substância marcadora desta espécie, a epicatequina (padrão farmacopeico indicado na RDC nº 26/2014), monômero dos taninos condensados presentes nos extratos desta planta, foi identificada por cromatografia em camada delgada. Esta identificação foi feita pela verificação da presença desta substância, com Rf aproximado de 0,82 e mancha de coloração bordô após reação com vanilina sulfúrica, co-eluída com o padrão de epicatequina nas mesmas condições, conforme mostra a figura 25 (BRASIL, 2014a; FARMACOPEIA Brasileira, 2010; SOUZA et al, 2008).

Dentre as amostras analisadas por CCD, utilizando condições de análise farmacopeicas, apenas 37% do total das amostras apresentaram identificação positiva para *M. ilicifolia*. A identificação foi feita pela comparação dos Rf. As amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 13, 15, 17 e 19 apresentaram bandas características do padrão, com Rf coincidente ao da amostra padrão e coloração bordô, confirmando a identidade das amostras (figura 25).

A amostra 8, proveniente de loja de produtos naturais, apesar de ser identificada como *M. ilicifolia* pela análise botânica (item 4.2.3.1), não apresentou, no seu perfil cromatográfico, mancha característica em Rf 0,82, referente à epicatequina. Em estudos realizados por Mossi et al (2009), foi descrita a redução dos teores de substâncias fenólicas contidas nos extratos de *M. ilicifolia* influenciados por mudanças ambientais, tais como a temperatura, podendo sofrer redução de até 95% da concentração dos flavonoides e dos taninos. Há outros fatores que contribuem para a degradação ou redução dos teores dos princípios ativos da droga, como características do solo onde essa planta está sendo cultivada, local de plantio (altitude), a técnica de colheita (manual ou mecânica), a secagem da planta (quente e frio) e o processamento pós-colheita. A ação de tais fatores pode gerar variações nas concentrações das substâncias ativas (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009).

Figura 25 - Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais de espinheira-santa provenientes de APL e RBBV. Padrão epicatequina ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), segundo condições da Farmacopeia Brasileira (2010). Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico/água na proporção de 90:5:5 (v/v/v) e revelação com vanilina sulfúrica.



Fonte: (Do autor, 2017).

### Método para identificação substâncias fenólicas

As mesmas amostras foram avaliadas seguindo metodologia de Wagner e Bladt (1996), com o uso do revelador difenilboriloxietilamina (NP), utilizado na revelação de substâncias fenólicas, que reage formando complexos derivados fluorescentes. Este revelador é muito utilizado devido à sua sensibilidade e especificidade, reagindo ao padrão de substituição do anel B dos flavonoides (figura 3A, pag. 30) e gerando colorações laranja fluorescente para moléculas contendo duas hidroxilas adjacentes (como em derivados da quercetina) ou amarelo-esverdeado para moléculas com uma hidroxila livre, como acontece nos derivados do kaempferol. Os derivados fenólicos simples apresentam uma coloração azul-clara intensa frente a este agente cromogênico. A solução de polietilenoglicol (PEG) é geralmente utilizada como intensificador da fluorescência, observada sob luz ultravioleta no comprimento de onda de 365 nm.

A análise do perfil cromatográfico das amostras foi realizada pela comparação das cores das bandas observadas nas placas, após revelação, com as das classes descritas na literatura específica, utilizando fase móvel e reveladores descritos (WAGNER; BLADT, 1996).

A análise mostrou a presença de derivados de quercetina (bandas laranja-fluorescente) em 41% das amostras nas espécies que são *M. ilicifolia* identificadas pela análise morfoanatômica e pela CCD com co-eluição do padrão farmacopeico epicatequina (figura 26) (SOUZA et al, 2009; SOUZA et al, 2016).

As amostras identificadas como *Sorocea bonplandii*, discutidas no item 4.2.3.1, apresentaram bandas azul-fluorescente quando reveladas com NP/PEG, indicativo de presença de ácidos fenólicos (figura 27). Com relação à identificação de metabólitos secundários de *S. bonplandii*, os artigos disponíveis são escassos. Ferrari e Delle Monache (1995) isolaram soroceína I, uma flavanona prenilada e glicosídeos fenólicos de indivíduos desta espécie proveniente de Pernambuco. Outros estudos destes mesmos autores demonstraram o isolamento e identificação de outras soroceínas (E, F e G), (FERRARI; MESSANA, 1995; FERRARI; DELLE MONACHE, 2001).

As principais classes de substâncias isoladas e identificadas a partir de folhas de *M. ilicifolia* são os flavonoides glicosilados, dos quais os glicosídeos compostos por oligossacarídeo contendo glicose ou galactose ligada à quercetina ou

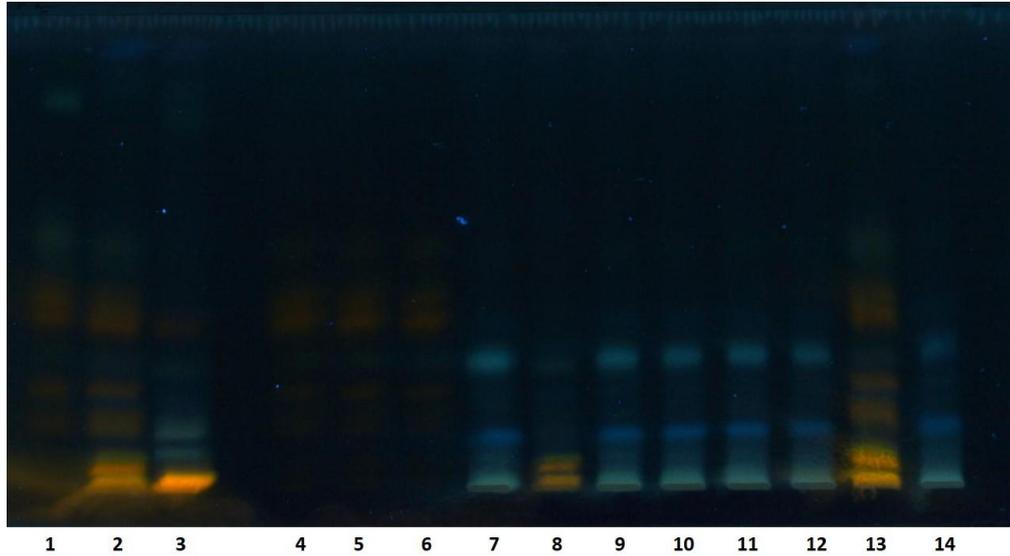
kaempferol na posição O-3 são majoritários (SOUZA et al, 2009; SOUZA et al, 2016; TIBERTI et al, 2007); taninos condensados (SOUZA et al, 2008; MOSSI et al, 2009; PESSUTO et al, 2009), catequina, epicatequina e triterpenos derivados do núcleo friedelano (ITOKAWA et al, 1991; OHSAKI et al, 2004; MOSSI et al, 2009; VILEGAS; LANÇAS; CERVI, 1994) também foram descritos para a espécie.

Tiberti et al, em 2007, realizaram um estudo comparativo entre *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* quanto ao perfil flavonoídico das espécies utilizando análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detectores de ultravioleta e de espectrometria de massas (CLAE/UV/EM), descreveu dezenove flavonóides nos extratos de *Maytenus*, dos quais nove eram derivados da quercetina, outros nove do kaempferol e um era derivado de isoramnetina.

A amostra 3 apresentou um perfil diferente das outras amostras, com bandas próximas à origem, indicando a presença de substâncias muito polares de coloração laranja fluorescente, flavonóis glicosilados derivados de quercetina e verde fluorescente, sugestivo de derivado de kaempferol. Substâncias presentes em estudo de Yariwake et al (2005) em extrato de folhas de *M. aquifolia*.

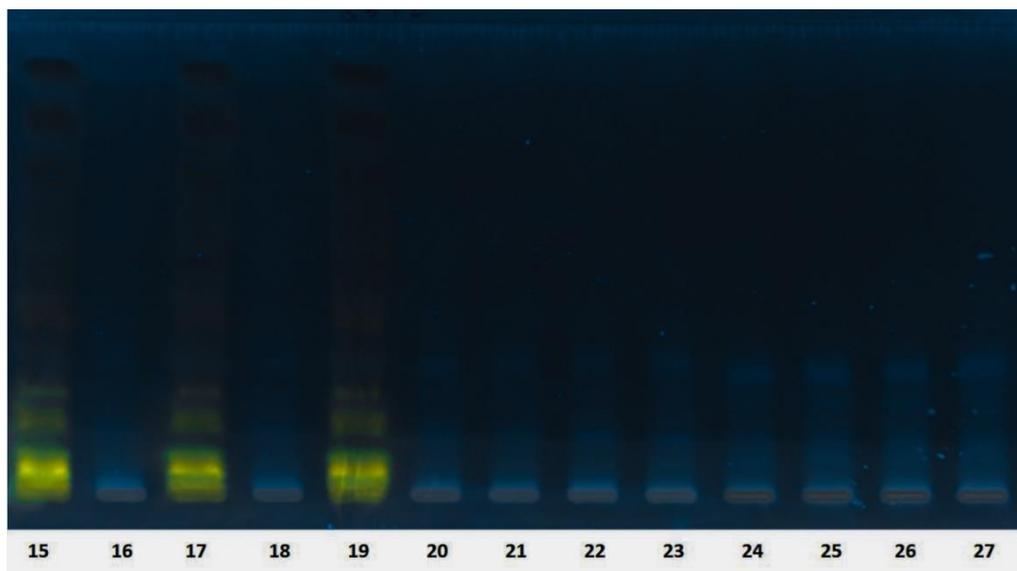
Vilegas et al (1999) relataram anteriormente a presença de flavonoides tetraglicosilados (derivados de isohamnetina) em extratos de folhas de *Maytenus* e ausente em *Sorocea bonplandii*. Tiberti et al (2007) identificaram nesta mesma espécie outros flavonoides, dois derivados de quercetina triglicosilados, dois derivados do kaempferol triglicosilado e um derivado kaempferol diglicosilado.

Figura 26 - Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL (Petrópolis, 1), do RBBV (2 e 3) e das lojas de produtos naturais (4-14), segundo condições de Wagner e Bladt (1996). Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico/ácido acético/água na proporção de 100:11:11:27, (v/v/v). Revelação realizada com NP/PEG e observação sob UV a 365 nm.



Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 27 - Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais de espinheira-santa provenientes de ervanarias e mercado popular (15-27), segundo condições de Wagner e Bladt (1996). Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico/ácido acético/água na proporção de 100:11:11:27 (v/v/v) com revelação realizada com NP/PEG e observação sob UV a 365 nm.



Fonte: (Do autor, 2017).

O uso de medicamentos à base de *Maytenus* é bastante frequente e evidencia o potencial de utilização dos marcadores farmacopeicos no controle de qualidade de fitoterápicos que apresentam esta espécie como ingrediente ativo. Apesar dos dados deste trabalho não serem necessariamente representativos do mercado de drogas vegetais e chás medicinais como um todo, os resultados obtidos são um alerta contra a falta de cuidados para garantir a qualidade das matérias-primas vegetais utilizadas. Além disso, a análise de espinheira-santa por CCD tem seu valor confirmado por ser um método eficaz e barato, acessível também a pequenos laboratórios e farmácias.

#### 4.2.3.2 Testes de precipitação

No teste com a gelatina, descrito na seção 3.2.7.2 notou-se o aparecimento de um precipitado nítido em 36% das amostras, indicando resultado positivo para taninos totais. Neste teste de identificação ocorre a formação de complexos entre a gelatina e os taninos, tanto de forma reversível quanto de forma irreversível. A gelatina é composta por 18 aminoácidos, sendo a glicina e a prolina os mais abundantes. Os taninos reversíveis são estabelecidos via ligações hidrogênio e interações hidrofóbicas, enquanto que os irreversíveis ocorrem em condições oxidativas via ligações covalentes. As ligações hidrogênio são provavelmente formadas entre as hidroxilas fenólicas dos taninos e os grupos amida das proteínas. As interações hidrofóbicas ocorrem entre os núcleos aromáticos dos taninos e as cadeias laterais alifáticas ou aromáticas dos aminoácidos protéicos. Os complexos irreversíveis entre taninos e a gelatina ocorrem por reações de oxidação quando os complexos reversíveis de tanino-proteína são expostos ao ar ou são mantidos em soluções de pH alto (HASLAM, 1989).

Para a identificação de taninos hidrolisáveis e condensados, no teste com cloreto férrico descrito na seção 3.2.7.2 B observou-se o desenvolvimento de uma coloração cinza-escura em 28% das amostras, caracterizando-as como positiva para taninos hidrolisáveis e condensados. Isso se deve à complexação do  $\text{Fe}^{+3}$  com as hidroxilas fenólicas dos taninos condensados e hidrolisáveis, podendo ocorrer em qualquer hidroxila.

A reação com vanilina, (seção 3.2.7.2 C) foi utilizada para a identificação de taninos condensados, pelo surgimento de coloração vermelha, indicando sua presença. Esta reação ocorre pela especificidade da vanilina por meta-difenóis, gerando o complexo colorido (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001).

No teste de identificação utilizando acetato de chumbo, (seção 3.2.7.2 D), pode-se observar a formação de um precipitado esbranquiçado nos mesmos 28% das amostras, reforçando assim a presença de taninos. Essa característica é importante devido à propriedade de complexação dos taninos com metais, sendo que muitos desses complexos metálicos são importantes em diversos sistemas biológicos, quadro 11.

Foi observado nesta análise que as amostras 7, 16, 20, 21, 22, 23, identificadas como *S. bonplandii* por outras técnicas (itens 4.2.3.1 e 4.3.3.1), apresentou resultado positivo com o  $\text{FeCl}_3$  e gelatina, mostrando a não especificidade desta técnica, tornando-se necessário a associação de técnicas complementares como análises anatômicas e cromatográficas, para garantir as Boas Práticas de Fabricação para produtos que utilizem drogas vegetais como insumo com bom nível de confiabilidade em uma análise de baixo custo financeiro (GONZALEZ et al, 2001; MACHADO; SANTOS, 2004; MATOS, 1997). Frente aos resultados obtidos teríamos dados suficientes para considerar como “reprovadas” todas as amostras em uma análise de controle de qualidade, sem a necessidade de utilizar métodos mais refinados e, conseqüentemente, de maior custo.

Quadro 11 - Resultados dos testes de precipitação realizados com amostras de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL, RBBV e comerciais (lojas de produtos naturais e ervanarias e mercado popular) de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).

Código amostra	Gelatina HCl 5M precipitado	FeCl <sub>3</sub> precipitado	Vanilina/ HCl coloração avermelhada	Acetato chumbo/ácido acético 2M precipitado esbranquiçado
1	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++
7	NR	Pouco	NR	NR
8	NR	Pouco	NR	Pouco
9	NR	NR	NR	NR
10	NR	NR	NR	NR
11	NR	NR	NR	NR
12	NR	NR	NR	NR
13	NR	NR	NR	NR
14	NR	NR	NR	NR
15	+++	+++	NR	Pouco
16	NR	Pouco	NR	NR
17	+++	+++	NR	+++
18	NR	NR	NR	NR
19	Pouco	+++	Pouco	Pouco
20	Pouco	NR	NR	NR
21	Pouco	NR	NR	NR
22	Pouco	NR	NR	NR
23	Pouco	NR	NR	NR
24	NR	NR	NR	NR
25	NR	NR	NR	NR
26	NR	NR	NR	NR
27	NR	NR	NR	NR

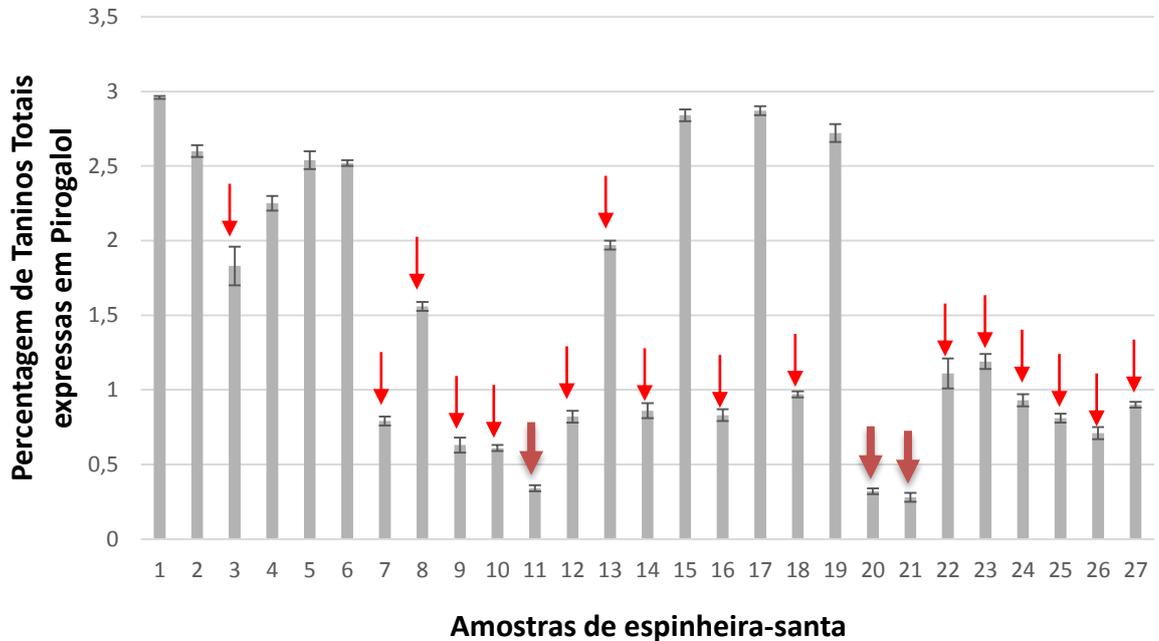
Fonte: (Do autor, 2017).

#### 4.2.3.3 Doseamento de Taninos Totais – Método farmacopeico

*M. ilicifolia* é uma das principais drogas que contêm taninos. Bernardi e Wasicky (1959) foram os primeiros autores a descrever a presença destas substâncias nesta espécie. Vários estudos demonstram a relação direta do teor dos taninos com a atividade terapêutica da planta. O uso e venda de *M. ilicifolia* são normatizados pela ANVISA, através da RDC nº 26/2014 e IN nº 02/2014, que preconizam o uso da espécie para o tratamento de gastrites e úlceras duodenais

mediante a prévia a padronização de seus derivados pelo conteúdo de taninos expressos em pirogalol (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014 b). Os valores encontrados para taninos totais nas diferentes amostras analisadas variou entre 0,28 e 2,96%, sendo 2 % o valor mínimo preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010). As amostras apresentaram valores acima do recomendado pela norma oficial, sendo a amostra 1, proveniente do Quilombo de Tapera, a que mostrou o maior teor de taninos totais (2,96 mg g<sup>-1</sup>), figura 28. Dos 70 % das amostras que apresentaram desvios dos teores (3,7, 8, 9, 10-14, 16, 18 e 20-27), a maior parte encontrava-se no grupo de amostras provenientes de ervanarias e mercados populares e foram identificadas como sendo provavelmente *Sorocea bonplandii*, pelas análises botânica e cromatográfica realizadas anteriormente. Os taninos condensados são os eleitos como constituintes químicos majoritários em extratos aquosos de *M. ilicifolia* e são utilizados como marcadores no controle da qualidade de extratos e medicamentos fitoterápicos, por diversas técnicas de avaliação e desenvolvimento tecnológico (SOARES et al, 2004). O baixo teor de taninos totais apresentado pelas amostras testadas pode estar relacionado a diversos fatores como condições edafoclimáticas, ciclo circadiano ou relacionados com a fisiologia das plantas como idade, órgão da planta coletado, época e local de coleta associado às más práticas de manejo e armazenamento da espinheira-santa e adulteração com partes ou substituição por outra espécie, (MELLO et al, 1996a, 1996b, 1999; GOBBO-NETO; LOPES, 2007, ZHANG et al, 2012).

Figura 28 - Doseamento de taninos totais expresso em percentual de pirogalol das amostras do Quilombo de Tapera/APL, RBBV e comerciais (lojas de produtos naturais, ervanarias e mercado popular). Sinalização das amostras que estão abaixo do mínimo de 2,0 %, preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010).



Fonte: (Do autor, 2017).

#### 4.2.3.4 Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência

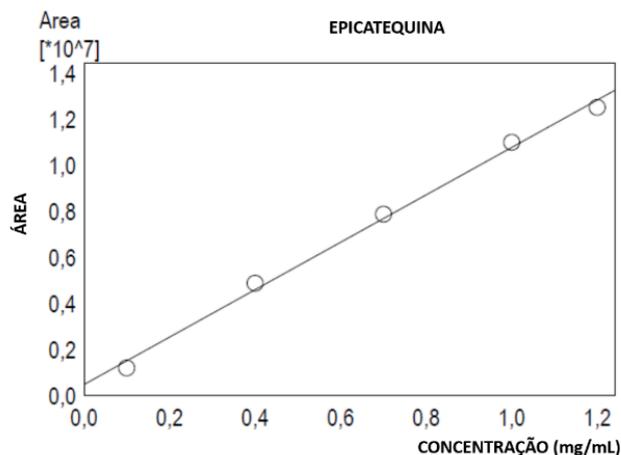
Vários métodos foram estudados para a determinação da qualidade dos produtos de derivados de *M. ilicifolia*, como descrito por Cordeiro, Vilegas e Lanças (1999), Leite e colaboradores (2001), Braga e colaboradores (2005) e Souza e colaboradores (2016). Apesar de apresentarem bons resultados qualitativos e quantitativos, ainda são métodos caros e que apresentam várias limitações que dificultam seu uso rotineiro. Diagone e colaboradores, em 2012, realizaram um estudo utilizando *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* e demonstrou a eficiência das técnicas de cromatografia a líquido de alta eficiência e eletroforese capilar de zona, ambas com detecção no UV em equipamento com rede de fotodiodos, para a quantificação de flavonoides derivados da quercetina e kaempferol nestas espécies. A eletroforese, segundo conclusão dos autores, ofereceu algumas vantagens frente ao método clássico, como maior eficiência e resolução, separação mais curta e o fato de que a

técnica eletroforética não requer limpeza dos extratos e gera menos poluentes ao meio ambiente.

O método farmacopeico utilizado para a análise das amostras de espinheira-santa se mostrou simples, reproduzível, eficiente e conveniente para a análise desta espécie. Uma etapa imprescindível para a boa resolução da análise foi a retirada dos taninos condensados por meio da partição líquido-líquido com acetato de etila e a filtração por SPE. Esta limpeza otimizou as condições cromatográficas para a determinação da epicatequina (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

No trabalho realizado obteve-se uma curva analítica linear. Na quantificação da epicatequina por CLAE/UV, a equação da reta obtida por regressão linear para a curva padrão foi  $y = 102978 \cdot x + 487198$  (figura 29), onde y representa a área dos sinais (mAU) e x a concentração de epicatequina ( $\text{mg mL}^{-1}$ ). O coeficiente de correlação da análise de regressão linear (r) obtido foi de 0,99785, sugerindo comportamento linear na faixa de concentração de 10-120  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (EP).

Figura 29 - Curva de calibração da epicatequina.



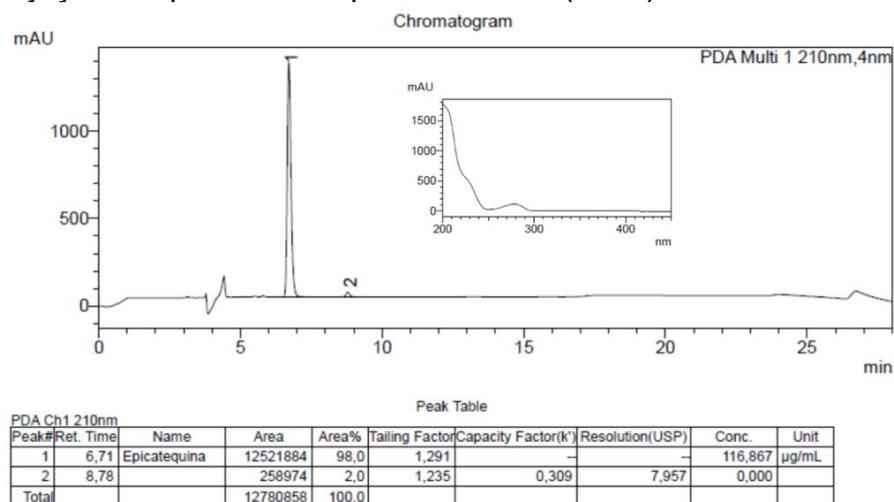
Fonte: (Do autor, 2017).

As vinte e sete amostras de espinheira-santa provenientes do Quilombo de Tapera/APL, RBBV e comerciais (lojas de produtos naturais e ervanarias e mercado popular) foram preparadas e analisadas utilizando CLAE seguindo as condições e metodologia preconizadas pela Farmacopeia Brasileira (2010). Um total de 37% das amostras analisadas apresentou o sinal característico do padrão farmacopeico epicatequina, no tempo de retenção de 6,8 min, conforme pode ser observado na figura 30. Lopes e colaboradores (2010) realizaram um estudo de quantificação de

epicatequina em folhas de *M. ilicifolia* em condições similares às realizadas neste trabalho e obtiveram perfis semelhantes, apresentando o tempo de retenção nas condições de análise de 7 minutos, inferior aos valores farmacopeicos.

Neste estudo, a análise por CLAE/UV resultou em um padrão com sinal de intensidade mais alta no tempo de retenção de 6,8 min, como exemplificado no cromatograma da amostra 1, figura 30. Apesar do tempo de retenção ser menor que o descrito para o padrão segundo a metodologia da Farmacopeia Brasileira (2010), que é de 8 min, a curva analítica da epicatequina apresentou boa linearidade ( $R^2 > 0,9957$ ) e o sinal de identificação foi baseado na comparação do tempo de retenção e por co-cromatografia com a substância de referência. Apesar do tempo de retenção ser menor que o descrito para o padrão na metodologia da Farmacopeia Brasileira (2010), que é de 8 min, a curva analítica da epicatequina apresentou boa linearidade ( $R^2 > 0,9957$ ) e o sinal de identificação foi baseado na comparação do tempo de retenção e por co-cromatografia com a substância de referência. Esta diferença pode ser devida a alguns fatores, como a natureza das partículas da fase estacionária, performance da bomba, desgaste de coluna, temperatura do ambiente onde a análise foi executada e o volume morto do sistema empregado, dentre outras.

Figura 30 - Perfil cromatográfico de epicatequina, padrão farmacopeico de *Maytenus ilicifolia*. Cromatograma obtido por CLAE/UV e detecção a 210 nm. Condições: coluna Supelcosil LC-18 (250 mm x 4,0 mm d.i, 5  $\mu$ m); fase móvel: água/TFA (0,05 %) e acetonitrila/TFA (0,05 %), em gradiente); temperatura: 30° C; fluxo: 0,8 mL/min; volume de injeção: 20  $\mu$ L. Farmacopeia Brasileira (2010).

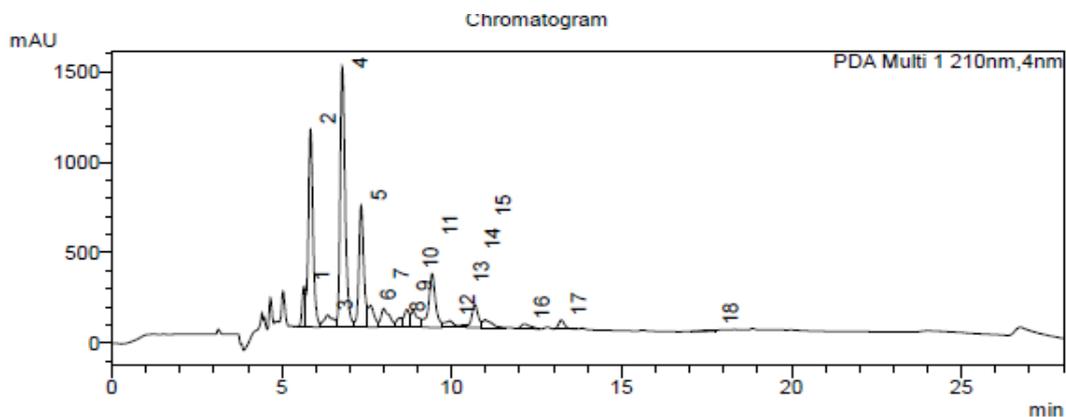


Fonte: (Do autor, 2017).

Cada amostra exibiu um perfil similar, revelando vários componentes principais e uma série de sinais. Os tempos de retenção, tanto para o padrão farmacopeico quanto para as amostras, apresentaram-se com valores diferentes do descrito na metodologia oficial, conforme já mencionado anteriormente.

A amostra 1, proveniente do APL, apresentou sinal característico da epicatequina no tempo de retenção de 6,78 minutos (figura 31), com valores no teor de epicatequina bem superiores às demais (15,53 mg/g), seguido pela amostra 2, proveniente do RBBV (7,7 mg/g), e das industrializadas 4, 5 e 6 (5,74, 6,20 e 6,93 mg/g, respectivamente). As amostras 15 e 17 apresentaram valores menores (2,60 e 3,72 mg/g, respectivamente), mas dentro do mínimo exigido pela Farmacopeia Brasileira (2010). Cipriani e colaboradores (2008) identificaram catequina e epicatequina em folhas de *M. ilicifolia* Martius ex Reissek por CG-EM e quantificaram por CLAE e encontraram 1,6 e 1,7% em peso seco. Em 2007, Baggio e colaboradores verificaram a presença destas substâncias em concentrações um pouco maiores: 2% para catequina e 3,1% para a epicatequina.

Figura 31 - Perfil cromatográfico da amostra 1 proveniente do Quilombo de Tapera/APL. O sinal com o tempo de retenção de 6,78 min corresponde à epicatequina.



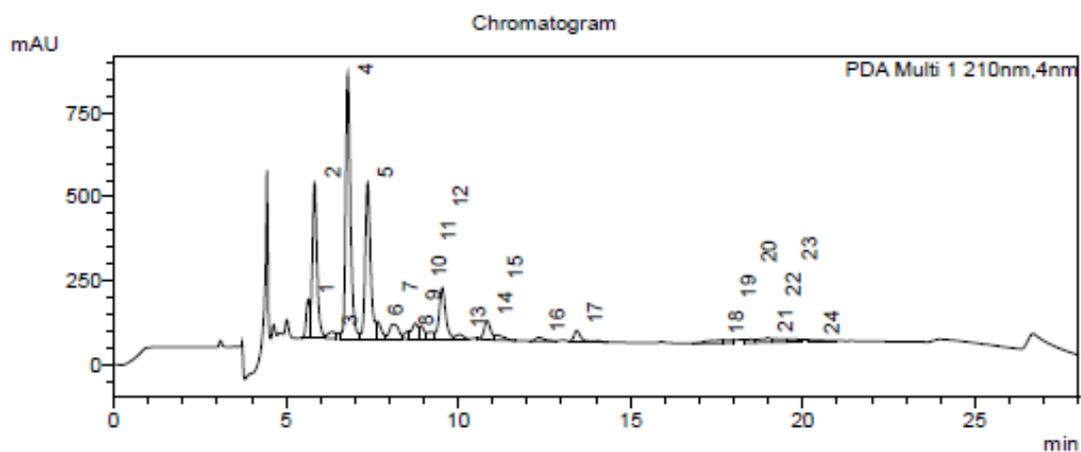
Peak Table

Peak#	Ret. Time	Name	Area	Area%	Tailing Factor	Resolution(USP)	Capacity Factor(k')	Conc.	Unit
1	5,66		1570920	3,1	--	--	--	0,000	
2	5,84		10398941	20,7	--	0,644	0,034	0,000	
3	6,35		1262263	2,5	--	1,045	0,123	0,000	
4	6,78	Epicatequina	14935572	29,8	1,385	0,879	0,199	70,153	µg/mL
5	7,33		6933841	13,8	--	2,027	0,297	0,000	
6	7,61		1442114	2,9	--	0,542	0,346	0,000	
7	8,00		1785477	3,5	--	0,626	0,415	0,000	
8	8,47		576651	1,1	--	0,688	0,498	0,000	
9	8,68		1128255	2,2	--	0,317	0,536	0,000	
10	8,87		1367816	2,7	--	0,359	0,569	0,000	
11	9,42		4246006	8,5	--	1,229	0,667	0,000	
12	9,94		666133	1,3	--	1,055	0,760	0,000	
13	10,34		170842	0,3	--	0,371	0,830	0,000	
14	10,68		1686297	3,4	--	0,359	0,889	0,000	
15	10,99		800907	1,6	--	0,611	0,944	0,000	
16	12,14		472316	0,9	1,511	2,081	1,148	0,000	
17	13,22		583248	1,2	1,285	2,806	1,340	0,000	
18	17,69		177031	0,4	--	4,245	2,129	0,000	
Total			50182628	100,0					

Fonte: (Do autor, 2017).

As amostras 2 e 3 revelaram a presença de epicatequina, com tempos de retenção de 6,79 e 6,80 min, respectivamente (figuras 32 e 33).

Figura 32 - Perfil cromatográfico da amostra 2, proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista/PR, com indicação do sinal da epicatequina no tempo de retenção de 6,79 min.

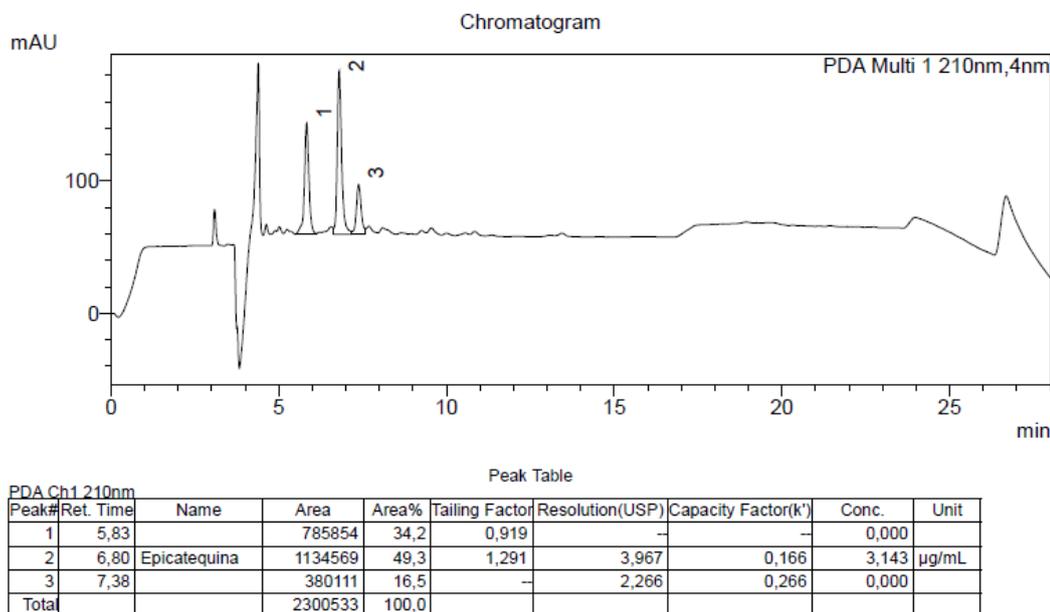


Peak Table

Peak#	Ret. Time	Name	Area	Area%	Tailing Factor	Resolution(USP)	Capacity Factor(k')	Conc.	Unit
1	5,64		844102	3,2	--	--	--	0,000	
2	5,83		4377893	16,4	--	0,596	0,033	0,000	
3	6,34		315661	1,2	--	1,246	0,124	0,000	
4	6,79	Epicatequina	7741986	29,0	1,333	1,096	0,204	35,225	µg/mL
5	7,37		5053116	19,0	--	2,108	0,306	0,000	
6	7,66		541053	2,0	--	0,390	0,357	0,000	
7	8,10		804662	3,0	--	0,528	0,435	0,000	
8	8,54		233475	0,9	--	0,468	0,514	0,000	
9	8,75		572302	2,1	--	0,220	0,551	0,000	
10	8,92		399180	1,5	--	0,257	0,562	0,000	
11	9,20		283115	1,1	--	0,227	0,630	0,000	
12	9,53		2014941	7,6	--	0,340	0,690	0,000	
13	10,05		207823	0,8	--	1,263	0,781	0,000	
14	10,84		761618	2,9	--	1,910	0,921	0,000	
15	11,13		262415	1,0	--	0,531	0,974	0,000	
16	12,34		192354	0,7	1,470	2,034	1,188	0,000	
17	13,44		473307	1,8	2,496	2,897	1,383	0,000	
18	17,55		263026	1,0	--	1,110	2,111	0,000	
19	17,89		164795	0,6	--	0,058	2,171	0,000	
20	18,50		187540	0,7	--	0,190	2,280	0,000	
21	18,99		312547	1,2	--	0,243	2,366	0,000	
22	19,21		247998	0,9	--	0,063	2,405	0,000	
23	19,67		209341	0,8	--	0,125	2,487	0,000	
24	20,32		193578	0,7	--	0,246	2,602	0,000	
Total			26657826	100,0					

Fonte: (Do autor, 2017).

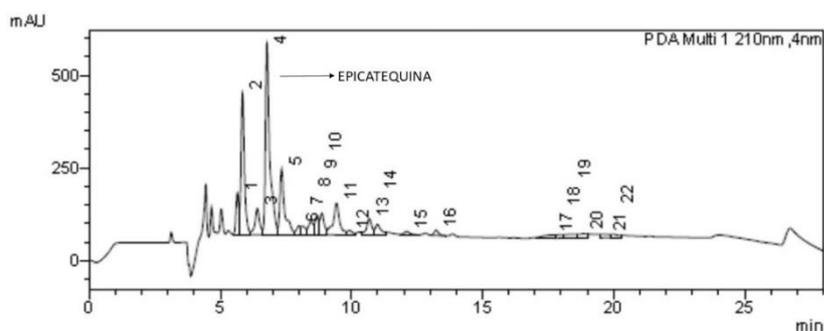
Figura 33 - Perfil cromatográfico da amostra 3, proveniente do Refúgio Biológico Bela Vista/PR, com indicação do sinal da epicatequina no tempo de retenção de 6,80 min.



Fonte: (Do autor, 2017).

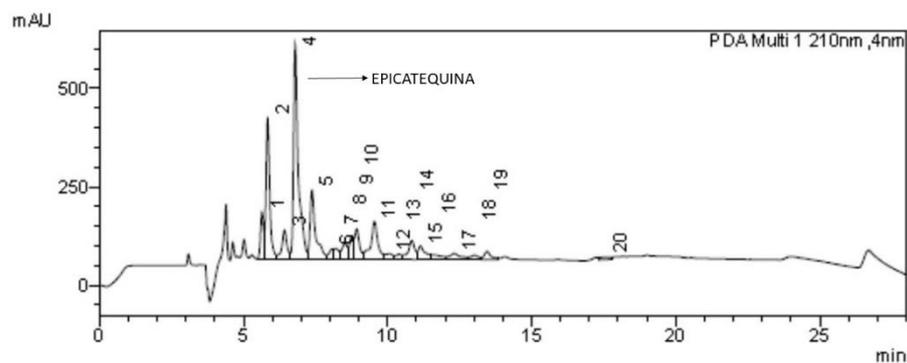
Nas figuras 34 a 40 são mostrados os perfis cromatográficos semelhantes das amostras comerciais 4, 5, 6 e 13, provenientes de lojas de produtos naturais, e 15, 17 e 19, adquiridas de ervanarias e mercado popular, com indicação da presença do padrão epicatequina, confirmando serem espécies autênticas de *M. ilicifolia*.

Figura 34 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 4, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.



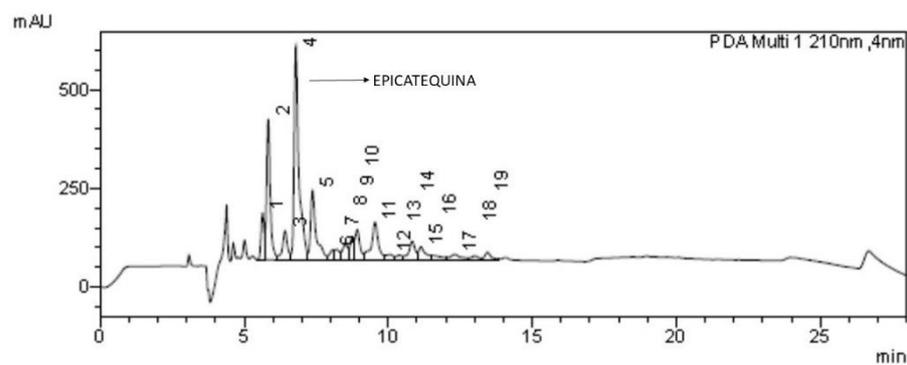
Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 35 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 5, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.



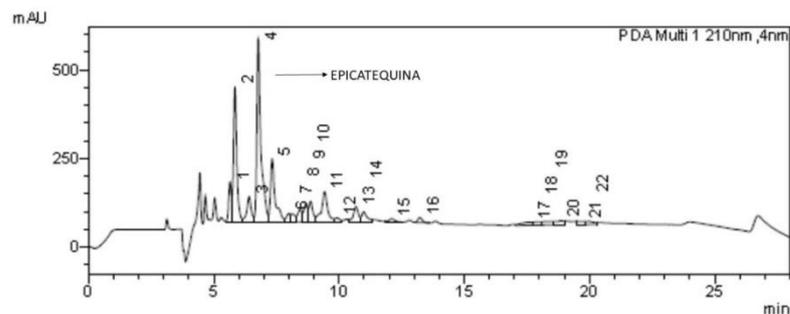
Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 36 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 6, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.



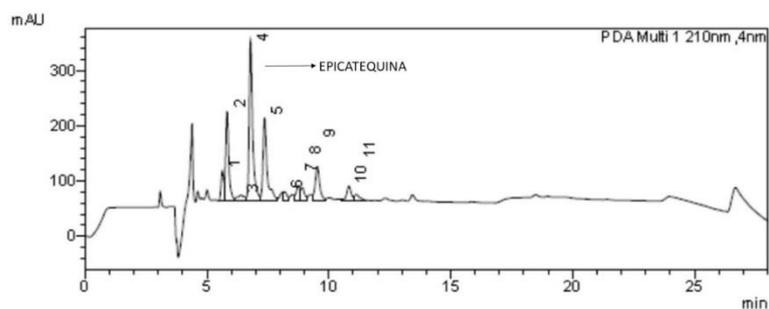
Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 37 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 13, comercializada em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro.



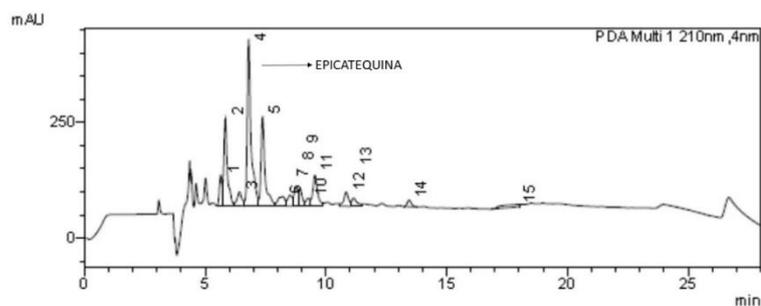
Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 38 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 15, proveniente de ervanaria e mercado popular do município do Rio de Janeiro.



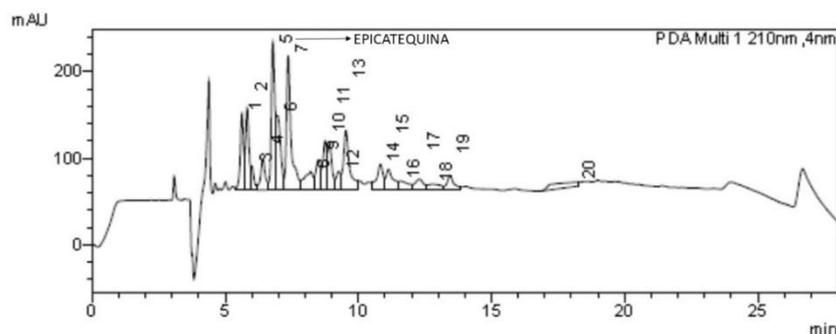
Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 39 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 17, proveniente de ervanaria e mercado popular do município do Rio de Janeiro.



Fonte: (Do autor, 2017).

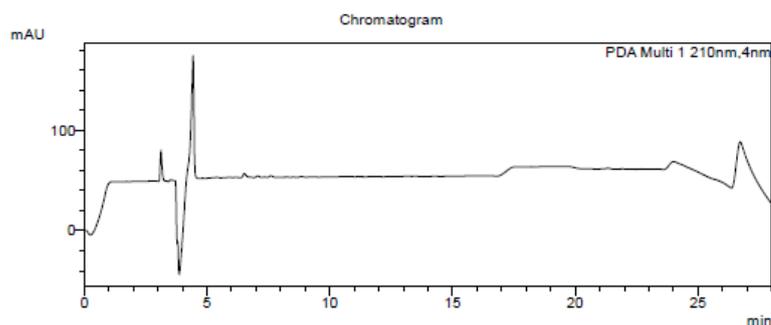
Figura 40 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 19, proveniente de ervanaria e mercado popular do município do Rio de Janeiro.



Fonte: (Do autor, 2017).

As amostras 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18 e 20-27, representando 63% do total analisado, não demonstraram nenhum sinal indicativo de presença do padrão, corroborando os outros resultados experimentais deste trabalho indicando que estas não são *M. ilicifolia*, apresentando um perfil similar ao da amostra 27, figura 41.

Figura 41 - Cromatograma de alta eficiência da amostra 27, identificada como *Sorocea bonplandii*, proveniente de mercado popular do município do Rio de Janeiro.



Fonte: (Do autor, 2017).

### 4.3 Avaliação elementar

Em geral a proporção de constituintes orgânicos e inorgânicos encontrados nas ervas e ingeridos pelo homem na forma de cápsulas e/ou chá é responsável

pela sua aplicação medicinal e varia com o tipo de planta, a forma de beneficiamento, a parte da planta utilizada e com as características do plantio, como teor de matéria orgânica e pH do solo. Normalmente a concentração destes metais nos vegetais são baixas, mas as variações relativamente pequenas de alguns elementos podem causar sérios danos aos seres humanos e outros organismos, sendo as medidas de controle da qualidade uma importante ferramenta para a saúde da população que consome derivados vegetais em forma de chás (droga vegetal) ou medicamentos fitoterápicos (FRANCO et al, 2011).

Neste trabalho, todas as amostras de espinheira-santa comercializadas como droga vegetal foram processadas, mas somente 21 foram analisadas em relação aos teores minerais uma vez que 6 amostras tiveram problemas no processo de digestão devido a sua natureza físico-química que mostrou necessidade do uso de diferente técnica de digestão.

Foram analisados alumínio (Al), bário (Ba), cálcio (Ca), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), lítio (Li), magnésio (Mg), manganês (Mn), níquel (Ni), potássio (K); sódio (Na); zinco (Zn) utilizando a espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Destes, só foram quantificadas 07, uma vez que os elementos bário (Ba), cromo (Cr), cobre (Cu), lítio (Li), níquel (Ni) e zinco (Zn) apresentaram teores abaixo do LOQ do método. Os resultados para os metais quantificados encontram-se descritos no quadro 12.

Os valores para o Ca nas amostras digeridas variaram entre 25,9 a 20.320,8 mg kg<sup>-1</sup>; para o Mg, variaram de 1493,8 a 7729,8 mg kg<sup>-1</sup>; Al, ficaram entre 60,5 a 2120,3, O elemento sódio apresentou variação de 41,1 a 604,3 mg kg<sup>-1</sup>, potássio encontraram-se valores de 7327,5 a 21.634,7 mg kg<sup>-1</sup> e ferro entre 349,2 a 2131,6 mg kg<sup>-1</sup>. Estes valores são considerados altos comparados com os dados relatados no estudo de Leal et al (2013) que analisou espinheira-santa (*M. ilicifolia*), Boldo (*Peumus boldus*), Castanha da Índia (*Aesculus hippocastanum*), Chá Verde (*Camelia sinensis*), Erva Cidreira (*Melissa officinalis*), Guaraná (*Paullinia cupana*), Maracujá (*Passiflora* sp.), Mulungu (*Erythrina velutina*), Sene (*Cassia angustifolia*) and Valeriana (*Valeriana officinalis*) provenientes do mercado central de Belo Horizonte. Os valores obtidos foram: Al (31-1364 mg kg<sup>-1</sup>), Ba (LD-23 mg kg<sup>-1</sup>), Ca (<LD-9877 mg kg<sup>-1</sup>), Cr (1,4-5,3 mg kg<sup>-1</sup>), Fe (<LD-240 mg kg<sup>-1</sup>), Mg (<LD-901 mg kg<sup>-1</sup>), Mn (1,2-188 mg kg<sup>-1</sup>) e Na (<LD-670 mg kg<sup>-1</sup>) e Zn (2,9-22 mg kg<sup>-1</sup>).

O alumínio é um elemento muito abundante e amplamente distribuído e é encontrado na maioria das rochas, solos, águas, ar e alimentos. Sempre haverá algum grau de exposição a baixos níveis de alumínio por ingestão de alimentos, água potável e ar respirável.

Pereira (2010), em análise de nove espécies medicinais quanto ao teor elementar, verificou a tendência de distribuição de  $Fe > Al$  e  $Mn > Zn > Cu$ . Em duas amostras de espinheira-santa os valores de Mn encontrados (284-599 mg kg<sup>-1</sup>) ficaram muito abaixo do detectado no presente trabalho, que apresentou valores máximos de 2504,3 mg kg<sup>-1</sup>.

Um artigo de revisão sobre elementos traços nas folhas de algumas espécies (canela e chá verde) resume dados publicados na literatura nos últimos 50 anos, incluindo teores de alumínio, arsênio, cádmio, cobre e chumbo no chá cultivado sob várias condições. Karak e Bhagat (2010), apresentaram resultados de estudos experimentais com *C. sinensis* (infusão e folhas secas) descrevendo a presença de uma quantidade significativa de oligoelementos não essenciais em folhas desta espécie alertando que o hábito de se tomar chá várias vezes ao dia, por muitos anos, pode eventualmente ocasionar a intoxicação dos consumidores desta bebida tão difundida no mundo. Alguns elementos descritos para as folhas de *C. sinensis* foram Al (13 a 11971 mg kg<sup>-1</sup>), Mn (LD-3154 mg kg<sup>-1</sup>) e Ni (LD-0,16 mg kg<sup>-1</sup>) dentre outros com valores acima do encontrado neste trabalho.

Quadro 12 - Concentração (mg kg<sup>-1</sup>) de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e K nas folhas digeridas de amostras de espinheira-santa provenientes de APL (RJ), RBBV (PR), lojas de produtos naturais, farmácias, ervanarias e mercado popular no município do Rio de Janeiro.

Amostra	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )						
	Al	Ca	Fe	Mg	Mn	Na	K
1	160,1	11.415,2	513,2	1.493,8	36,5	49,2	13.253,5
2	257,1	10.973,2	1.097,4	3.820,8	5,0	42,7	15.887,0
3	60,5	12.873,3	349,2	4.110,6	15,4	41,1	20.632,9
4	72,5	13.543,2	410,2	2.575,3	121,9	52,2	10.750,9
5	110,6	12.044,5	610,9	3.010,8	92,0	56,4	8.607,3
7	304,6	8.040,8	1.044,2	3.767,1	1.648,8	272,8	9.492,7
8	644,0	15.776,8	1.583,2	7.729,8	42,8	49,6	21.634,7
10	300,0	11.782,3	1.153,5	2.697,2	653,5	320,5	12.732,8
11	2.120,3	19.305,8	1.828,7	3.539,9	569,0	362,3	11.544,0
14	200,8	19.850,7	905,3	2.446,8	451,1	301,1	9.724,8
15	142,3	10.593,4	528,1	3.445,4	192,1	49,3	12.417,4
16	238,9	12.683,9	1.263,7	3.227,4	1.719,0	205,9	13.388,6
17	146,2	9.815,5	702,8	2.890,1	299,3	70,2	7.850,5
18	748,3	7.274,3	2.131,6	3.463,3	819,9	603,7	12.931,1
19	162,0	12.921,9	801,7	3.135,7	300,2	70,8	7.327,5
20	309,6	10.144,3	1.390,2	3.295,5	988,9	604,3	11.781,1
21	369,4	10.556,1	1.394,0	3.199,3	1.276,4	354,0	15.510,8
22	340,6	10.492,8	1.579,8	4.436,4	2.504,3	402,3	9.233,2
23	471,4	13.164,6	1.697,0	3.307,8	1.668,3	209,3	10.690,5
26	355,0	19.548,4	1.608,4	6.134,7	1.660,2	392,2	14.370,1
27	394,4	20.320,8	1.653,6	5.491,2	1.573,2	492,9	10.945,5

Fonte: (Do autor, 2017).

No Brasil poucos trabalhos descrevem a presença de elementos não essenciais nos infusos e decoctos, principalmente para espécies nativas. Não foram encontrados trabalhos que façam uma avaliação mais detalhada de absorção de metais em *Sorocea bonplandii*, por exemplo, que contamina cerca de 63 % das amostras avaliadas, sendo necessária a realização de estudos aprofundados com esta espécie, que vem sendo largamente consumida para tratamento de distúrbios gástricos conjuntamente ou mesmo em substituição à espécie autêntica. Assim, torna-se urgente e necessário proceder a tal tipo de análise para conhecer os benefícios e malefícios que essas plantas têm a proporcionar para seus consumidores no que se refere a elementos inorgânicos Cd Pb e As. Os resultados mostraram a presença de alumínio e manganês em grandes concentrações. A diversidade de elementos encontrados, mesmo em baixos níveis de concentração,

considerando o de plantas medicinais e produtos relacionados, são importantes e reforçam a necessidade de melhorar a implementação de boas práticas por produtores e comerciantes e levantando a hipótese de falta de controle da qualidade em produtos vegetais.

Foi realizada a avaliação das mesmas amostras para verificação quanto à presença de chumbo, cádmio e arsênio utilizando a espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (FG AAS). Todas as amostras apresentaram concentrações de As e Cd inferiores ao máximo determinado pela resolução RDC nº 42/2013, que dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos (BRASIL, 2013). Os valores obtidos variaram de 0,1 a 0,27 mg kg<sup>-1</sup> para o arsênio e 0,025 a 0,076 mg kg<sup>-1</sup> para o cádmio nas amostras. Dados similares encontrados por Duboc (2015) em um estudo com folhas de *Camelia sinensis* tendo como concentrações de arsênio valores entre 0,03 a 0,36 mg kg<sup>-1</sup> e para cádmio 0,01 a 0,09 mg kg<sup>-1</sup>.

Dos elementos tóxicos analisados, o mais abundante foi o chumbo (Pb), que apresentou valores que variaram entre 0,25 e 29 mg kg<sup>-1</sup>. Um total de 46 % das amostras apresentou valores superiores ao máximo tolerado, que é de 0,6 mg kg<sup>-1</sup>. A amostra 23, identificada como *Sorocea bonplandii*, foi a que apresentou um valor discrepante e 48 vezes maior que o permitido pela norma, seguido pelas amostras 11, 16, 20 e 21, com concentrações de 1,8; 1,4; 1,4; 2,6 e 1,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente (tabela 1). A presença de metais como o chumbo em espécies vegetais é, geralmente, em decorrência da contaminação do solo por água contendo esgotos provenientes de indústrias, fertilizantes e material particulado. Atualmente, está presente em praticamente todos os ambientes. Ele se difundiu devido às inúmeras atividades industriais e agrícolas que fazem uso deste metal e que, desta forma, o tornam disseminado em todos os ecossistemas, o que aumenta consideravelmente o risco de contaminação das populações presentes nos diferentes ambientes (PAOLIELLO; CHASIN, 2001). Abou-Arab; Abou (1999), após a análise de vários decoctos e infusos de diferentes espécies medicinais, observaram que a grande contaminação dos chás ocorria principalmente nos decoctos e esta era proveniente das raízes e folhas das plantas que absorviam do ambiente (ar e solo) os metais, inclusive o chumbo. Vulcano, Silveira e Alvarez-Leite (2008) avaliaram os níveis de chumbo e cádmio em camomila e chá mate (droga vegetal e infusão)

provenientes da região metropolitana de Belo Horizonte através de análise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Os níveis médios de Pb e Cd encontrados nesse estudo estavam dentro dos valores máximos, mas a droga vegetal da erva-mate apresentou valores quatro vezes maiores do que os preconizados pela RDC nº 42/2013 (BRASIL, 2013e).

A maioria dos estudos sobre presença de substâncias inorgânicas em plantas medicinais na literatura refere-se às matérias-primas secas e raramente são lixiviadas para as infusões, onde encontram-se concentrações muito baixas destes elementos, conforme informado por Santos e colaboradores (2015) em estudo realizado com amostras comerciais de *Camelia sinensis* e folhas de erva mate (SANTOS et al, 2017).

A figura 42 apresenta gráfico de barras com as concentrações de As, Cd e Pb das amostras analisadas. O gráfico mostra que o elemento químico que se apresenta em concentrações muito acima do permitido pelas normas é o chumbo. Das amostras de espinheira-santa analisadas (droga vegetal) 50 % apresentaram valores muito acima do recomendado pela RDC nº 42/2013, que é  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ . A amostra 23 apresentou uma concentração de  $29 \text{ mg kg}^{-1}$  de chumbo, valor muito acima do descrito para espécies vegetais na literatura. Esta amostra foi identificada neste estudo (por análises farmacognósticas e cromatográficas) como sendo a espécie adulterante *S. bonplandii*. Pelo elevado teor de chumbo, a contaminação foi advinda provavelmente de fonte externa e aleatória. Tripathy et al (2015) apresentam um extenso trabalho sobre contaminação por metais pesados, dentre outros contaminantes em drogas vegetais provenientes de vários países, inclusive em *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* comercializadas no Brasil e teve como resultado das análises concentrações de chumbo que variaram de  $(3,37 \pm 0,25)$  a  $(7,03 \pm 0,51) \mu\text{g g}^{-1}$ , valores superiores ao encontrado neste trabalho.

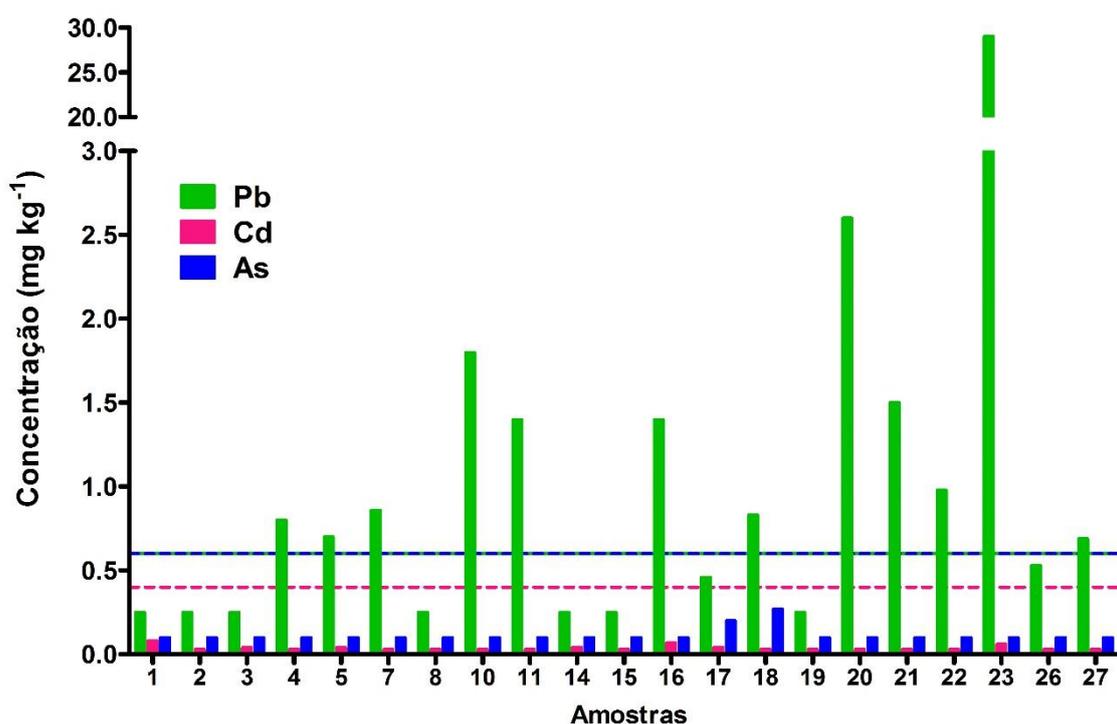
Tabela 1 - Concentração ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de chumbo (Pb), cádmio (Cd) e arsênio (As) nas folhas digeridas de amostras de espinheira-santa das provenientes de APL (RJ), RBBV (PR); comercializadas em lojas de produtos naturais e farmácias no município do Rio de Janeiro e ervanarias e mercado popular do mesmo município.

Amostras	Elementos inorgânicos em amostras de espinheira-santa ( $\text{mg kg}^{-1}$ )		
	Chumbo (Pb)	Cádmio (Cd)	Arsênio (As)
1	<0,25	0,076±0,003	<0,1
2	<0,25	<0,25	<0,1
3	<0,25	0,037±0,003	<0,1
4	0,80±0,03	0,028±0,003	<0,1
5	0,7±0,1	0,038±0,003	<0,1
7	0,86±0,19	<0,025	<0,1
8	<0,25	<0,025	<0,1
10	1,8±0,3	<0,025	<0,1
11	1,4±0,3	<0,025	<0,1
14	<0,25	0,044±0,004	<0,1
15	<0,25	<0,025	<0,1
16	1,4±0,3	0,070±0,004	<0,1
17	0,46±0,13	0,044±0,004	<0,2
18	0,83±0,12	<0,25	0,27±0,10
19	<0,25	<0,025	<0,1
20	2,60±0,05	<0,025	<0,1
21	1,5±0,7	0,028±0,003	<0,1
22	0,98±0,20	<0,025	<0,1
23	29±1	0,061±0,001	<0,1
26	0,53±0,05	<0,25	<0,1
27	0,69±0,07	<0,025	<0,1

Valores de referência: Pb =  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Cd =  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ ; As =  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$  (BRASIL, 2013e); ND = Não detectável

Fonte: (Do autor, 2017).

Figura 42 – Gráfico com as concentrações ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de chumbo (Pb), cádmio (Cd) e arsênio (As) nas folhas digeridas de amostras de espinheira-santa das provenientes de APL (RJ), RBBV (PR) e comercializadas em lojas de produtos naturais, farmácias, ervanarias e mercado popular no município do Rio de Janeiro. Valores de referência de acordo com a RDC nº42/2013: Pb =  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Cd =  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$ ; As =  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ .



Fonte: (Do autor, 2018).

#### 4.4 Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) e Análise por Componentes Principais (PCA)

Alguns parâmetros físico-químicos farmacopeicos (umidade, impurezas, teor de taninos totais e de epicatequina) e elementar (teor chumbo e manganês) foram utilizados no controle da qualidade das amostras de espinheira-santa. Diferenças entre as amostras foram obtidas e uma análise por componentes principais (PCA) que foi aplicada aos dados experimentais, com o objetivo de identificar quais parâmetros são responsáveis por determinar a autenticidade destas amostras, tabela 2.

Os resultados da variância proporcional demonstraram que o primeiro componente explica 53,07 % da variância total dos dados obtidos e o segundo e terceiro componentes principais (CP2 e CP3) explicam, respectivamente 19,13 e 16,06 %, cujo somatório dos três corresponde a 88,26 % do valor total de variação. Dados da literatura indicam que, em uma análise por componentes principais na qual dois ou três reúnam um valor percentual acima de 80 % da variação total, possa ser considerado como um esclarecimento da variabilidade despontada entre as diferenças avaliadas (GOTELLI; ELLISON, 2011). Três componentes atendem a esta premissa, ou seja, foram satisfatórios para elucidar 88,26 % da variância total disponível entre os parâmetros farmacopeicos, sendo, portanto, aceitáveis como delineadores dos resultados de variância e co-variância total dos dados obtidos dos gráficos de *scores* (Figura 43) e *loadings* (Figura 44). Através dos gráficos de *loading* é possível verificar a influência das variáveis sobre as amostras no gráfico de *scores*.

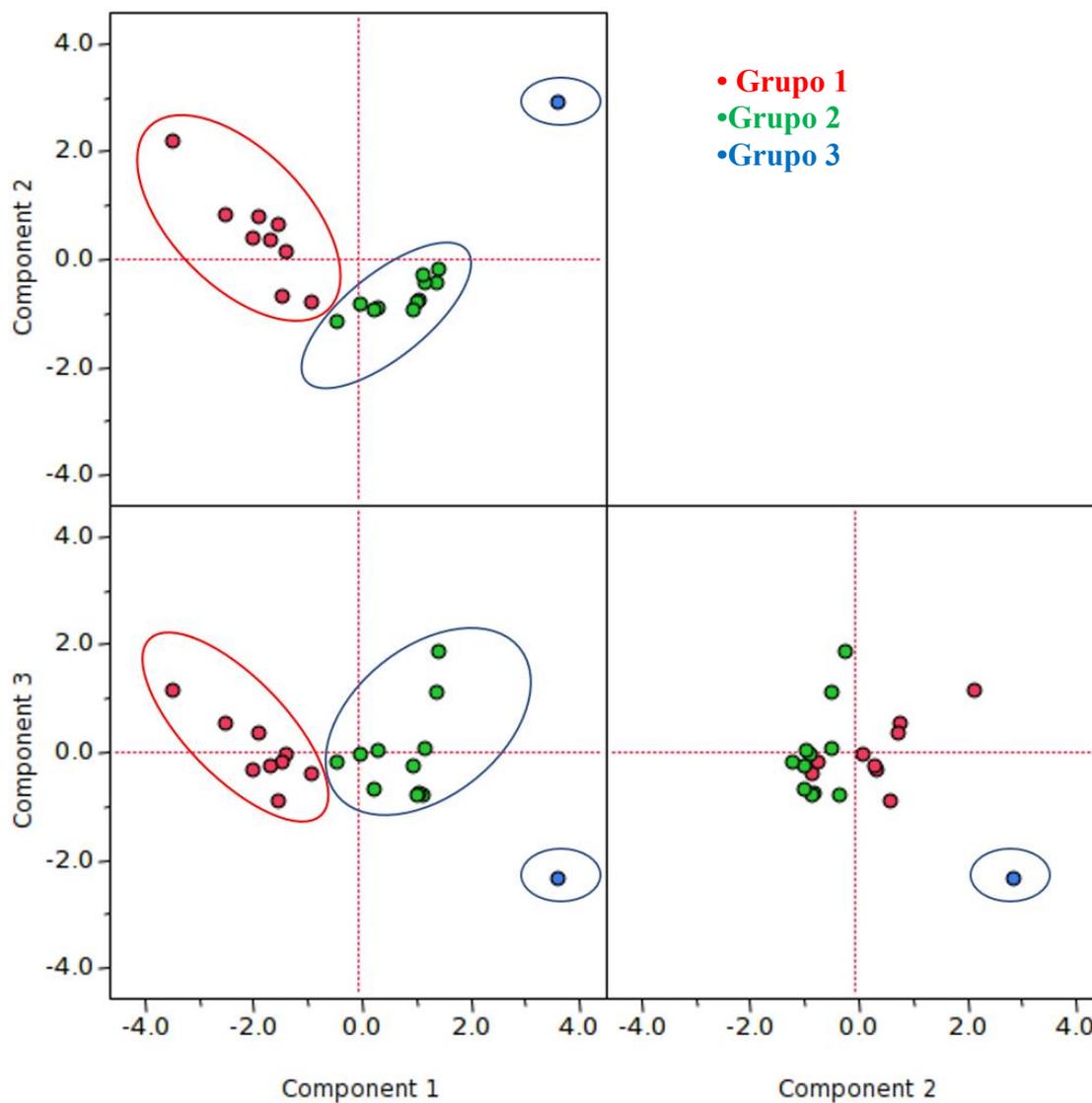
O primeiro componente (CP1) apresentou forte influência entre os parâmetros teor de epicatequina e taninos totais. Verificou-se que as amostras do grupo 1 (1, 2, 5, 4, 3, 8, 15, 19 e 17), estão discriminadas neste componente e correspondem a 55,97 % da variância e co-variância total. Este grau de semelhança pode estar relacionado à autenticidade destas amostras, pois uma característica principal das folhas de *Maytenus ilicifolia* é possuir, como marcador, a epicatequina e a presença de taninos dentro dos valores mínimos, levando a sugerir que todas as amostras do grupo 1 presentes no CP1 foram agrupadas por serem amostras autênticas de espinheira-santa. No componente 2 (CP2) observou-se que todas as amostras (7, 10, 14, 18, 20, 16, 21, 22, 26, 27) apresentaram altos índices de impurezas e umidade e ausência do marcador epicatequina e taninos. São amostras provenientes de um mercado de plantas medicinais e ritualísticas que comercializam grandes quantidades de plantas medicinais cuja origem não é rastreada e as condições de armazenamento e manipulação são precárias (BOCHNER et al, 2012) – um forte indicativo de falta de condições sanitárias adequadas, manuseio e acondicionamento incorreto demonstrado pela alta umidade, parâmetro que influenciou este agrupamento. Os grupos 1 e 2 encontram-se mais divergentes. As amostras do grupo 2 não apresentam teor detectável de epicatequina e índices de impurezas consideráveis, o que pode indicar presença de outra espécie utilizada

como adulterante da *Maytenus ilicifolia*. Este fato é largamente discutido na literatura mostrando que, devido à pequena distribuição regional e a excessiva exploração no país desta espécie, que quase foi extinta, ocorreu a facilitação do comércio de adulterantes morfológicamente parecidos e disponíveis, como as espécies *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia* que, apesar de serem também conhecidas como espinheira-santa, não apresentam epicatequina mas sim flavanonas preniladas como a soroceína e o glicosídeo cianogênico zierina como marcadores (Alberton et al, 2002; Coulaud-Cunha, 2005; Maioli-Azevedo et al, 2007; Almeida et al, 2017).

Tabela 2 - Compilação dos resultados obtidos para os parâmetros da qualidade de impurezas, umidade, teor de taninos totais (em percentuais), de epicatequina ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) e teores de alumínio, chumbo e manganês ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ), das vinte e sete amostras de espinheira-santa das amostras provenientes de APL (RJ) e RBBV (PR); comercializadas em lojas de produtos naturais, farmácias, ervanarias e mercado popular do município do Rio de Janeiro

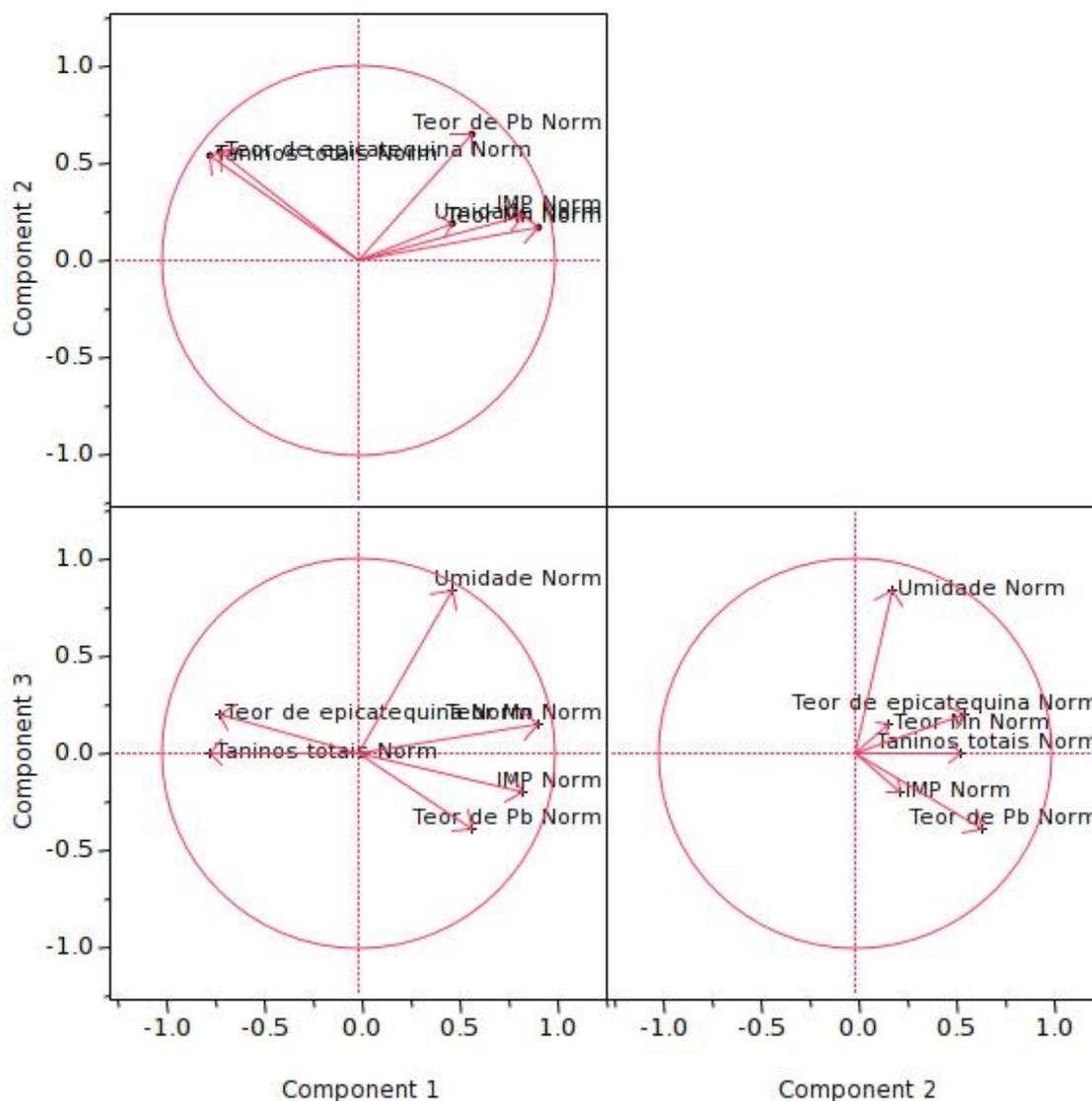
Amostra	IMP (%)	Teor Mn $\text{mg.kg}^{-1}$	Teor Al $\text{mg.kg}^{-1}$	Teor Pb $\text{mg.kg}^{-1}$	Umidade (%)	Taninos totais (%)	Teor EPI	IMP Norm	Teor Mn Norm	Teor de Pb Norm	Umidade Norm	Taninos totais Norm	Teor de EPI Norm
1.00	0,00	36,50	160,10	0,25	9,74	2,96	15,53	-1,29	-1,01	-0,31	0,17	1,68	3,73
2.00	0,00	5,00	257,10	0,25	9,41	2,60	7,77	-1,29	-1,05	-0,31	-0,04	1,29	1,61
3.00	0,00	15,40	60,50	0,25	8,83	1,83	0,69	-1,29	-1,04	-0,31	-0,42	0,44	-0,33
4.00	8,00	121,90	72,50	0,80	8,29	2,25	5,74	-0,83	-0,89	-0,22	-0,77	0,90	1,05
5.00	12,00	92,00	110,60	0,70	9,56	2,54	6,20	-0,60	-0,93	-0,24	0,05	1,22	1,18
6.00	9,00	.	.	.	9,13	2,52	6,93	-0,77	.	.	-0,22	1,20	1,38
7.00	5,00	1648,80	304,60	0,86	8,94	0,79	0,00	-1,00	1,14	-0,21	-0,35	-0,71	-0,52
8.00	12,00	42,90	644,00	0,25	8,81	1,56	0,00	-0,60	-1,00	-0,31	-0,43	0,14	-0,52
9.00	19,00	.	.	.	9,13	0,63	0,00	-0,20	.	.	-0,22	-0,89	-0,52
10.00	24,00	653,50	300,00	1,80	8,49	0,61	0,00	0,08	-0,19	-0,06	-0,64	-0,91	-0,52
11.00	50,00	569,00	2120,30	1,40	8,80	0,34	0,00	1,57	-0,30	-0,12	-0,44	-1,21	-0,52
12.00	6,00	.	.	.	8,99	0,82	0,00	-0,94	.	.	-0,32	-0,68	-0,52
13.00	32,00	.	.	.	8,21	1,97	1,07	0,54	.	.	-0,82	0,59	-0,23
14.00	7,00	451,10	200,80	0,25	8,93	0,86	0,00	-0,89	-0,45	-0,31	-0,35	-0,64	-0,52
15.00	14,00	192,10	142,30	0,25	8,72	2,84	2,60	-0,49	-0,80	-0,31	-0,49	1,55	0,19
16.00	32,00	1719,00	238,90	1,40	9,59	0,83	0,00	0,54	1,24	-0,12	0,07	-0,67	-0,52
17.00	28,00	299,30	146,20	0,46	7,75	2,87	3,72	0,31	-0,66	-0,27	-1,12	1,58	0,50
18.00	14,00	819,90	748,30	0,83	9,27	0,97	0,00	-0,49	0,04	-0,21	-0,13	-0,51	-0,52
19.00	12,00	300,20	162,00	0,25	9,23	2,72	1,27	-0,60	-0,66	-0,31	-0,16	1,42	-0,17
20.00	39,00	988,90	309,60	2,60	8,64	0,32	0,00	0,94	0,26	0,07	-0,54	-1,23	-0,52
21.00	27,00	1276,40	369,40	1,50	9,08	0,28	0,00	0,25	0,65	-0,11	-0,26	-1,28	-0,52
22.00	45,00	1668,30	471,40	0,98	8,29	1,11	0,00	1,28	1,17	-0,19	-0,77	-0,36	-0,52
23.00	62,00	2504,30	340,60	29,00	8,81	1,19	0,00	2,25	2,28	4,34	-0,43	-0,27	-0,52
24.00	42,00	.	.	.	14,41	0,93	0,00	1,11	.	.	3,20	-0,56	-0,52
25.00	54,00	.	.	.	12,73	0,81	0,00	1,79	.	.	2,11	-0,69	-0,52
26.00	29,00	1660,20	355,00	0,53	11,38	0,71	0,00	0,37	1,16	-0,26	1,23	-0,80	-0,52
27.00	27,00	1573,20	394,40	0,69	12,72	0,90	0,00	0,25	1,04	-0,24	2,10	-0,59	-0,52

Figura 43 - Gráfico dos scores das PC1 versus PC2 versus PC 3 obtido para as amostras do Quilombo de Tapera/APL (1), RBBV (2 e 3) e comerciais [lojas de produtos naturais (4-14) e ervanarias e mercado popular (15-27)].



Fonte: (Do autor, 2018).

Figura 44 - Gráfico de loadings PC1 versus PC 2 versus PC3 para as amostras do Quilombo de Tapera/APL (1), RBBV (2 e 3) e comerciais [lojas de produtos naturais (4-14) e ervanarias e mercado popular (15-27)].



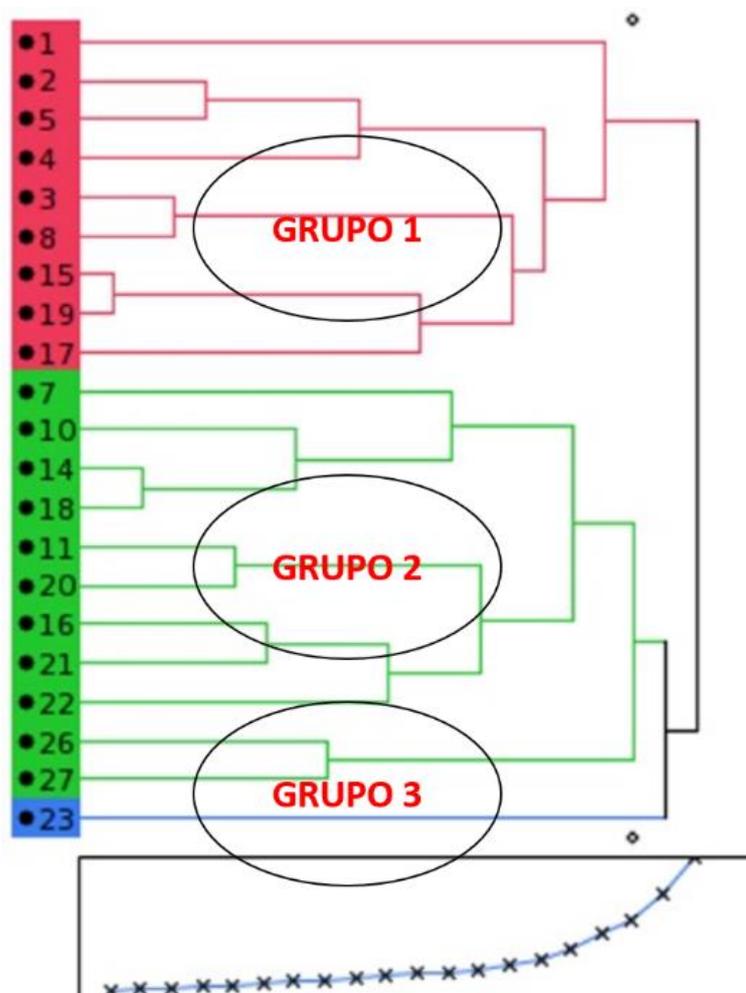
Fonte: (Do autor, 2018).

O dendrograma (HCA), figura 45, confirma os aspectos discutidos em scores e loadings, destacando que a formação dos grupos 1 com as amostras (1, 2, 5, 4, 3, 8, 15, 19 e 17), grupo 2 (7, 10, 14, 18, 20, 16, 21, 22, 26, 27) e o menor constituído de uma amostra a 23, apresentam suas similaridades peculiares entre si. O grupo 3 está numa discriminação à parte do restante das amostras, podendo ser influenciados pelo valor discrepante no teor de chumbo do que os outros. Uma característica comum entre os componentes do grupo 1 é que são todos constituídos

pelo gênero *Maytenus*. A amostra 3 é a única *M. aquifolia* e a amostra 8 apesar de ser espécie autêntica não apresenta a epicatequina, substância importante na caracterização da espécie.

A partir desses resultados, percebe-se a importância das análises estatísticas para a determinação de padrões da qualidade de plantas medicinais comercializadas na sua forma de drogas vegetais, uma vez que vários fatores influenciam na obtenção e comercialização deste produto.

Figura 45 - Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA) das amostras do Quilombo de Tapera/APL (1), RBBV (2 e 3) e comerciais [lojas de produtos naturais (4-14) e ervanarias e mercado popular (15-27)].



Fonte: (Do autor, 2018).

Mesmo os órgãos fiscalizadores podem ter dificuldade em diferenciar espécies morfologicamente semelhantes, uma vez que apenas partes das plantas

são comercializadas, geralmente secas, o que impossibilita até mesmo a identificação botânica. As chances de adulteração são elevadas e a rotulagem industrial nas preparações vegetais não constitui uma garantia. As ações de vigilância sanitária devem ser enfatizadas para o monitoramento e a avaliação das drogas vegetais comercializadas em forma de “chás medicinais”, principalmente das espécies que estão na IN nº 02/2014, na Farmacopeia Brasileira ou no FFFB, comercializadas livremente sem nenhum tipo de controle de qualidade, mesmo sendo exigido pela norma. A espinheira-santa tem uma grande reputação como gastroprotetora e útil no tratamento de úlceras, em todo o Brasil, mas é uma espécie que está prestes a ser extinta, favorecendo o uso de outras plantas morfológicamente semelhantes – como é o caso da *S. bonplandii* que, por não ter sido estudada em seus efeitos adversos pelo uso ou em sua toxidez a longo prazo, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas), pode trazer ao usuário sérios danos à saúde.

Assim, evidencia-se a necessidade de promover ações que reforcem a importância de que plantas medicinais, na forma de droga vegetal, passem por processos criteriosos de validação de segurança, eficácia, toxicidade e segurança microbiológica, visando extinguir a ideia de que são isentas de riscos. Usuários, profissionais de saúde e pesquisadores devem, cada vez mais, atentar-se sobre a importância de estudos que elucidem riscos e benefícios inerentes à utilização de plantas medicinais como alternativa terapêutica

## 5 CONCLUSÕES

Os produtos comercializados na forma de chás industrializados e a granel, disponíveis em ervanarias e mercado popular apresentaram baixa qualidade. Através da análise farmacognóstica, verificou-se a presença de *Sorocea bonplandii* em 63 % das amostras, uma espécie largamente usada como adulterante. As amostras provenientes de cultivo por APL e do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV) apresentaram as espécies autênticas, *Maytenus ilicifolia* e *M. aquifolia*, com os valores de princípio ativo dentro dos limites preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010) mostrando-se, então, apropriadas para a distribuição nas Unidades Básicas de Saúde (UBSs).

As análises físico-químicas realizadas com as amostras revelaram altos índices de impurezas para a maioria das amostras, que devem estar relacionados a problemas de manejo, limpeza e separação inadequada de produtos à base de plantas medicinais. Contudo, especialmente para a espinheira-santa, o alto teor de impurezas deveu-se, principalmente, à inclusão de caules, o que indica contaminação intencional. Um total de 46 % das amostras apresentou teor de impurezas (caules) dez vezes maior do que o permitido. Quanto ao conteúdo inorgânico, 57 % das amostras apresentaram contaminação por chumbo.

A avaliação cromatográfica das amostras de espinheira-santa através da cromatografia em camada delgada utilizando condições farmacopeicas, apenas 37 % das amostras apresentaram identificação positiva para *M. ilicifolia*, realizada através da comparação dos  $R_f$ . Somente as amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 13, 15, 17 e 19 apresentaram bandas características e com  $R_f$  coincidentes aos da amostra padrão e coloração bordô, confirmando a identidade das amostras. Um resultado semelhante também foi observado no perfil por CLAE, com um total de 37 % das amostras analisadas apresentando sinal característico do padrão farmacopeico epicatequina, no tempo de retenção de 6,8 min, confirmando se tratar da espécie oficial.

A análise de componentes principais (PCA) proporcionou uma interpretação multivariada dos resultados, demonstrando que o primeiro componente (CP1) apresentou forte influência no teor de epicatequina e taninos totais. Verificou-se que as amostras do grupo 1 (1, 2, 5, 4, 3, 8, 15, 19 e 17) estão discriminadas neste

componente e correspondem a quase 56 % da variância e co-variância totais. Este grau de semelhança pode estar relacionado à autenticidade destas amostras, pois uma das características principais das folhas de *Maytenus ilicifolia* é possuir, como marcadores, a epicatequina e a presença de taninos, levando a sugerir que todas as amostras deste grupo, por avaliação do CP1, sejam amostras autênticas de espinheira-santa através de confirmação pela análise hierárquica (HCA).

A eficácia e a segurança de um medicamento estão, dentre outros fatores, também diretamente relacionadas ao controle da sua qualidade. Partindo-se do princípio de que produtos contaminados ou adulterados nem sempre apresentam alterações organolépticas, visuais ou sensoriais, fica evidenciado um maior risco para o usuário o consumo de produtos impróprios por não suspeitar de que haja alguma não conformidade. Portanto, é urgente a necessidade de implementação de uma legislação mais rígida, clara e efetiva para o controle da produção e consumo de drogas vegetais que reforce a necessidade da adoção de boas práticas em todas as etapas do processo produtivo.

O alinhamento entre o Formulário Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira, a própria Farmacopeia Brasileira e a ANVISA se faz necessário, para adequar suas monografias de drogas vegetais à realidade do mercado brasileiro de chás medicinais.

## REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025**: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibrações. Rio de Janeiro, 2005.
- ABOU-ARAB, A.A.K. et al. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medical plants in the Egyptian market. **Food Chem.**, v.67, p.357-363, 1999.
- ABREU, M. M. et al. Capacidade de absorção do chumbo por plantas do género *Cistus* espontâneas em ambientes mineiros. **Rev. de Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S087118X2009000100016](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S087118X2009000100016)>. Acesso em: 09 jan. 2017.
- AGRA, M. D. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p. 472-508, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300023>>. Acesso em: 04 abr. 2015.
- ALBERTON, M. D. et al. Identificação de marcadores cromatográficos de *Zollernia ilicifolia* e *Sorocea bonplandii* para o controle da qualidade de espinheira-santa. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 12, p. 9-10, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v12s1/a05v12s1.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2013.
- ALMEIDA, C.F.C.B.R.; ALBUQUERQUE, U.P. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (nordeste do Brasil): um estudo de caso. **Interciencia**, v. 27, n. 6, p. 276-285, 2002.
- ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. 3. ed. Salvador: EDUFBA, 2011.
- ALMEIDA, M. R.; MARTINEZ, S. T.; PINTO, A. C. Química de produtos naturais: plantas que testemunham histórias. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 1117-1153, 2017. Disponível em: <<http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v9n3a17.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2017.
- ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina**: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis Ediciones, 1998. 1039 p.

ALVES, L. F.; PONTES, T. V. C. Pesquisa com química e farmacologia de produtos naturais no Brasil: uma comparação com 70 países selecionados de 5 continentes. **Rev. Virtual Quim.**, v. 9, n. 4, p. 1394-1433, 2017.

AMARAL, F.M.M. et al. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n.1, p. 27-30, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v13s1/a11v13s1.pdf>>. Acesso em: 13 abr. 2013.

ANDRADE, F.D.P. et al. Use of online for rapid investigation of flavonoids from *Sorocea bomplandii*. **Journal of Chromatography A**, v. 953, p 287-291, 2002.

ANDRADE, E. C. B.; ALVES, S. P; TAKASE, I. Avaliação do uso de ervas medicinais como suplemento nutricional de ferro, cobre e zinco. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 591, 2005.

ASCHNER, M. et al. Manganese: Recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 221, p. 131, 2007.

AZEVEDO, S.K.S.; SILVA, I.M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Bot. Bras.** v. 20, p.185-194, 2006.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 992-1000, 2010. DOI 10.1590/S0102-695X2010005000031.

BARBOSA, M.C.S. et al. Avaliação da qualidade de folhas de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) comercializadas em Curitiba, PR. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n. 1, p. 1-4, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v11n1/a01v11n1.pdf>>. Acesso em: 17 abr. 2013.

BARREIRA, M. E.; MEZA, P. I. Analisis de la cutícula foliar de espécies chilenas del gênero *Maytenus*. **Mol. Bol. Mus. Nac. De Hist. Nac.**, v.8, p. 31-39, 1977.

BERNARDI, H. H.; WASICKY, M. **Algumas pesquisas sobre a “Espinheira Santa” ou “Cancerosa” *M. ilicifolia* Martius, usada como remédio popular no Rio Grande do Sul.** Santa Maria: UFRGS, 1959. 46p

BERSANI-AMADO, C. A. et al. Antiulcer effectiveness of *Maytenus aquifolium* spray dried extract, **Phytother. Res.** v.14, p. 543–545, 2000.

BERTOLI, A. C. **Efeitos do cádmio e do chumbo no crescimento, translocação e teor de nutrientes tomateiro (*Lycopersicum esculentum*) cultivado em solução nutritiva.** 2011. 95p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

BFG – The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia** v. 66, n. 4, p. 1085-113, 2015.

BIRAL, L. et al. **Systematic Botany**, v. 42, n. 4, p. 680-693, 2017. DOI 10.1600/036364417X696456.

BOCHNER, R. et al. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.14, n.3, p.537-547, 2012.

BONET, M.A. Estudi etnobotànic del montseny aspectes metodològics. **Ponències, anuari del centre d "Estudis de Granollers**, p. 133-158, 1998.

BRAGA, S. M. Development and validation of a method for the quantitative determination of aflatoxin contaminants in *Maytenus ilicifolia* by HPLC with fluorescenc detection. **Phytochem Anal.**, v. 16, p. 267-271, 2005.

BRANDÃO, M. G. L.; FREIRE, N.; VIANNA-SOARES, C. D. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.14, n.3, p. 613-616, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1998000300018>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

BRANDÃO, M.G.L. et al. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.5, n. 1, p. 56-59, 2002.

BRASIL. Portaria nº 22 de 30 de outubro de 1967. Estabelece normas para o emprego de preparações fitoterápicas, de 30 de outubro de 1967. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 nov. 1967. Seção 1, p. 45-46.

\_\_\_\_\_. Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 1973. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1970-1979/lei-5991-17-dezembro-1973-358064-publicacaooriginal-1-pl.html>>. Acesso em: 17 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 1976. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33864/284972/lei\\_6360.pdf/5330c06d-1c17-4e1e-8d21-d7e3db4d3ce4](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33864/284972/lei_6360.pdf/5330c06d-1c17-4e1e-8d21-d7e3db4d3ce4)>. Acesso em: 17 abr. 2013

\_\_\_\_\_. Portaria nº 6/MS/SNVS, de 31 de janeiro de 1995. Instituir e normatizar o registro de produtos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 1995.

\_\_\_\_\_. Portaria nº 33/MS/SVS, de 13 de janeiro de 1998. *Recommended Dietary Allowances* (RDA). Ingestão diária recomendada (IDR) de vitaminas, minerais e proteínas. **Secretaria de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 1998.

\_\_\_\_\_. RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 2000. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29RDC\\_17\\_2000\\_CO MP.pdf/f04082aa-d129-49c0-b6d0-0041b9a9c007](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29RDC_17_2000_CO MP.pdf/f04082aa-d129-49c0-b6d0-0041b9a9c007)>. Acesso em: 18 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 3.931, de 10 de outubro de 2001. Altera o Decreto 79.094/77. **Presidência da República**, Brasília, DF, 2001.

\_\_\_\_\_. RDC nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2004a. Disponível em: <<https://www.cpqba.unicamp.br/plmed/docs/Resolucao%20RDC%2048%20de%2016032004.PDF>>. Acesso em: 18 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. RE nº 88, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2004 b. Disponível em: <<https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro41784/resolu%C3%A7%C3%A3o%20anvisa%20n%C2%BA%2088,%20de%2016-03-2004.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. RE nº 89, de 16 de março de 2004. Determina a publicação da Lista de registro simplificado de fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2004c.

\_\_\_\_\_. RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. "Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais". **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2005.

\_\_\_\_\_. Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS, de 04 de maio de 2006. **Ministério da Saúde**, Brasília, 2006a. Disponível em:  
<[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971\\_03\\_05\\_2006.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html)>. Acesso em: 20 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 5813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e dá outras providências, de 23 de junho de 2006. **Portal da Legislação**, Brasília, 2006b. Disponível em:  
<[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2006/decreto/d5813.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/decreto/d5813.htm)>. Acesso em: 20 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. RDC nº 219 de 22 de dezembro de 2006. Aprova a inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás constante da Tabela 1 do Anexo desta Resolução em complementação as espécies aprovadas pela Resolução ANVISA RDC nº. 267, de 22 de setembro de 2005. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2006c.

\_\_\_\_\_. IN nº 5, de 11 de dezembro de 2008. Determina a publicação da lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2008 a. Disponível em:  
<[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/int0005\\_11\\_12\\_2008.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/int0005_11_12_2008.html)>. Acesso em: 20 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. RDC nº 37 de 06 de julho de 2009. Trata da admissibilidade de farmacopeias internacionais. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2009a. Disponível em:  
<[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0037\\_06\\_07\\_2009.pdf/be487de-4eb5-413d-913b-4c71b3109ec6](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0037_06_07_2009.pdf/be487de-4eb5-413d-913b-4c71b3109ec6)>. Acesso em: 20 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **MS elabora relação de plantas medicinais de interesse ao SUS**. Brasília, 2009b. Disponível em:  
<[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms\\_relacao\\_plantas\\_medicinais\\_sus\\_0603.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf)>. Acesso em: 20 abr. 2013.

\_\_\_\_\_. IN nº 17, de 27 de maio de 2009. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília, 2009c.

\_\_\_\_\_. RDC nº 79, de 22 de dezembro de 2009. Estabelece regras para a rotulagem de medicamento junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2009d.

\_\_\_\_\_. RDC nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2010a.

\_\_\_\_\_. RDC nº 14 de 30 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2010b.

\_\_\_\_\_. IN nº 05, de 31 de março de 2010. Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de medicamentos fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2010c.

\_\_\_\_\_. RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2010d.

\_\_\_\_\_. RDC nº. 55, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2010e.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2011. 126p.

\_\_\_\_\_. RDC nº 13, de 14 de março de 2013. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Produtos Tradicionais Fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2013a.

\_\_\_\_\_. RDC nº 14, de 14 de março de 2013. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos de Origem Vegetal. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2013b.

\_\_\_\_\_. RDC nº 18, de 3 de abril de 2013. Dispõe sobre as boas práticas de processamento e armazenamento de plantas medicinais, preparação e dispensação de produtos magistrais e oficinais de plantas medicinais e fitoterápicos em farmácias vivas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2013c.

\_\_\_\_\_. Decreto nº 8.077, de 14 de agosto de 2013. Regulamenta as condições para o funcionamento de empresas sujeitas ao licenciamento sanitário, e o registro, controle e monitoramento, no âmbito da vigilância sanitária, dos produtos de que trata a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 15 ago. 2013d.

\_\_\_\_\_. RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2013e.

\_\_\_\_\_. RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2014a.

\_\_\_\_\_. IN nº 02, de 13 de maio de 2014. Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado e a Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2014b.

\_\_\_\_\_. Portaria nº 650, de 29 de maio de 2014. Aprova e promulga o regimento interno da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 2014c.

\_\_\_\_\_. IN nº 04, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, 2014d.

\_\_\_\_\_. **Consolidado de Normas da COFID (Versão V)**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 2015. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/f8183a004707cee086319741cdd33a01/Consolidado+COFID+V.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 08 set. 2016.

\_\_\_\_\_. RDC nº. 84, de 17 de junho de 2016. Aprova o Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2016.

\_\_\_\_\_. Portaria nº 1.897, de 26 de julho de 2017. Estabelece a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais - Rename 2017 no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) por meio da atualização do elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais. Ministério da Saúde, Brasília, 2017. 210 p. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao\\_nacional\\_medicamentos\\_rename\\_2017.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_nacional_medicamentos_rename_2017.pdf)>. Acesso em: 23 out. 2017.

BUFFA FILHO, W. et al. In vitro propagation of *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) as potential source for antitumoral and antioxidant quinomethide triterpenes production. A rapid quantitative method for their analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatograp. **Arkivoc**, v. 2004, n. 6, p. 137-146, 2004.

BUSSMANN, R.W. et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **J Ethnopharmacol.**, v.137, n. 1, p.121-40, 2011.

CALDAS, E.; MACHADO, L. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 599- 603, 2004.

CARLINI, E. A.; FROCHTEN GARTEN, M. L. In. Monografia Central de Medicamentos (Brasil). Estudo de ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras (*Maytenus ilicifolia* "espineira-santa" e outras), Central de Medicamentos (Brasil), p.67-73, 1988.

CARLINI, E. L. A.; BRAZ, S. Efeito protetor do liofilizado obtido do abafado de *Maytenus* sp (espineira-santa) contra úlcera gástrica experimental em ratos. In: CARLINI, E. L. A.; BRAZ, S. **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia* (espineira-santa) e outras**. Brasília: Central de Medicamentos, p. 21-35, 1998.

CARVALHO-OKANO, R.M. **Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico**. 1992. 215f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1992.

CARVALHO-OKANO, R.M.; LEITÃO FILHO, H.F. O gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico. In: REIS, M.S.; SILVA, S.R. **Conservação e uso sustentável de Espineira-Santa**. Brasília: Ibama, 2005. p. 11-51.

CARVALHO, A.C.B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 2, p. 314-9, 2008.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras. Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras**, v. 3. Brasília, DF; Colombo, PR; Embrapa Florestas 2008.

CARVALHO, A.C.B. **Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil**. 2011. 318 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

CARVALHO, A.C.B et al. Regulation of herbal medicines in Brazil: advances and perspectives. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p.467-473, 2011.

CALDAS, E. D.; MACHADO, L. L. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 599–603, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fct.2003.11.004>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

CHIMIN, A. et al. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa) comercializadas no Estado do Paraná. **Latin America Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 27, n. 4, p. 591-597, 2008.

CIPRIANI, T. R. et al. Acidic heteroxlans from medicinal plants and their anti-ulcer activity. **Carbohydr. Polym.**, v. 74, p. 274–278, 2008.

CÍRIO, G. M. et al. Interrelação de parâmetros agronômicos e físicos de controle da qualidade de *Maytenus ilicifolia*, Mart. ex. Reiss (espinheira-santa) como insumo para a indústria farmacêutica. **Visão acadêmica**, v. 4, p. 67-76, 2003. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/academica/article/view/525/438>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

COELHO, R. G. DI STASI, L. C.; VILEGAS, W. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 58, n. 1-2, p. 47-52, 2003.

COPPEDE, J. S. et al. Cell cultures of *Maytenus ilicifolia* Mart. are richer sources of quinone-methide triterpenoids than plant roots in natura. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 118, n. 1, p. 33-43, 2014.

CORDEIRO, P. J. M; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. HRGC-MS Analysis of terpenoids from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium* (espinheira santa). **J Braz Chem Soc**, v.10, p. 523-526, 1999.

CORSINO, J. et al. Biosynthesis of friedelane and quinonemethide triterpenoids is compartmentalized in *Maytenus aquifolium* and *Salacia campestris*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 741-748, 2000.

COSTA, R. P. C.; GUIMARÃES, A. L. A.; VIEIRA, A. C. M. Avaliação da qualidade de amostras de plantas medicinais comercializadas no Brasil. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 35, n. 3, p. 425-433, 2014. Disponível em: <[http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/view/3001/1607](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/view/3001/1607)>. Acesso em: 23 abr. 2017.

COULAUD-CUNHA, S.; OLIVEIRA, R.S.; WAISSMANN, W. Venda livre de *Sorocea bomplandii* Bailon como espinheira-santa no município de Rio de Janeiro-RJ. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n. 1, p.51-3, 2004.

DEUGNIER, Y.; BRISSOT, P; LORÉAL, O. Iron and the liver: Update 2008. **Journal of Hepatology**, v. 48, p 113, 2008.

DE SETA, M. H.; OLIVEIRA, C. V. S.; PEPE, V. L. E. Health protection in Brazil: the National Sanitary Surveillance System. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3225-3234, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320172210.16672017>>. Acesso em 20 mar. 2016.

DUARTE, M. R.; LIMA, M.P. Análise farmacopeica de amostras de camomila – *Matricaria recutita* L., Asteraceae. **Revista Visão Acadêmica**, v.4, n.2, p. 89-92, 2003.

DUARTE, M. R; DEBUR, M. C. Stem and leaf morphoanatomy of *Maytenus ilicifolia*. **Fitoterapia**, v.76, p.41-59, 2005. DOI 10.1016/j.fitote.2004.10.003.

DUBOC, P. P. 2015. Determinação de arsênio, cádmio e chumbo nas folhas e na infusão de chás de *Camellia sinensis* comercializados no Rio de Janeiro, Brasil. Trabalho de conclusão (Residência em Vigilância Sanitária), Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. 2015.

DUTRA, R.C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v.112, p. 4-29, 2016.

ELEMENTAL impurities - limits. In: THE UNITED States Pharmacopeia 39. National formulary 34. Rockville:U.S. Pharmacopeia, 2016. p. 268.

ETHUR, L.Z. et al. Comércio formal e perfil de consumidores de plantas medicinais e fitoterápicos no município de Itaqui – RS. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 121-128, 2011.

FARMACOPEIA Brasileira. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. 2 v.

FERNANDES, T. M. **Plantas medicinais**: memória da ciência no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2004. 260 p.

FERRARI, F.; MESSANA, I. Prenylated flavanones from *Sorocea ilicifolia*. **Phytochemistry**, v. 38, n. 1, p. 251-254, 1995.

FERRARI, F.; DELLE MONACHE, F. Phytochemical communication Sorocein I, a new Diels-Alder type adduct from *Sorocea ilicifolia*. **Fitoterapia**, v. 72, n.3, p. 301-303, 2001.

FERREIRA, S.M.C.; SHIMABUKU Jr, R.S. **Cartilha informativa – Projeto de plantas medicinais**. Itaipu Binacional, p. 3, 2012.

FINAMORE, A. et al. Zinc deficiency induces membrane barrier damage and increases neutrophil transmigration in Caco-2 cells. **J Nutr.**, v. 138, n. 9, p. 1664–1670, 2008.

FISCHER, D.C.H.; OHARA, M.T.; SAITO, T. Contaminação microbiana em medicamentos fitoterápicos sob a forma sólida. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 29, n. 2, p. 81-88, 1993.

FLATEN, T. P. Aluminium in tea concentrations, speciation and bioavailability. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 228, p. 385, 2002.

FORMULÁRIO Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2011. 126 p. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/conteudo/Formulario\\_de\\_Fitoterapicos\\_da\\_Farmacopeia\\_Brasileira.pdf](http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/conteudo/Formulario_de_Fitoterapicos_da_Farmacopeia_Brasileira.pdf)>. Acesso em: 1 jul. 2017

FORZZA, R.C. et al. New Brazilian floristic list highlights conservation challenges. **Bioscience**, v. 62, p.39–45, 2012.

FRANCO, M. J; et al. Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 121-127, 2011

FREITAS, N.M.; SANTOS, A.M.C.M.; MOREIRA, L.R.M.O. Avaliação fitoquímica e determinação de minerais em amostras de *Hibiscus sabdariffa* L (vinagreira). **Cad. Pesq.**, v. 20, n. 3, 2013.

GAO, J.-M. et al. The dihydro- $\beta$ -agarofuran sesquiterpenoids. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 5, p. 1153-1189, 2007.

GILBERT, B.; FERREIRA J.L.P.; ALVES, L.P. **Monografias de plantas medicinais brasileiras e aclimatadas**. Curitiba: ABIFISA; 2005.

GIULIETTI, A.M. et al. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conserv. Biol.** v. 19, p. 632– 639, 2005.

GOBBO-NETO, L. E.; LOPES, N.P. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-331, 2007.  
GONÇALVES JUNIOR, A.C. et al. Teores de nutrientes e metais em *Hyssopus officinalis* cultivado em solo argiloso com fertilização orgânica e mineral. **Científica**. Jaboticabal, v. 41, n. 2, p. 251- 261, 2013.

GONZALEZ, F. G. et al. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 77, n. 1, p. 41-47, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00268-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00268-9)>. Acesso em: 18 mai. 2017.

GOTELLI, N. J.; ELLISON, A. M. **Princípios de estatística em ecologia**. Porto Alegre: Artmed, 527 p., 2011.

GUTIÉRREZ, F. et al. Terpenoids from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 6, p. 1049-1052, 2007.

HARDY, K. et al. Neanderthal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. **Naturwissenschaften**, v. 99, p. 617–626, 2012.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids: advances in research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1994.

HASLAM, E. **Plant Polyphenols, Vegetable Tannins Revisited**. Cambridge University Press, Cambridge, 1989.

HUSSAIN, J. et al. Assessment of herbal products and their composite medicinal plants through proximate and micronutrients analyses. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n.12, p. 1072-1077, 2009

INCQS. **POP 65.3120.159**: Decomposição de amostras por micro-ondas. Rev. 01. Rio de Janeiro, 2017. 4p. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

ITOKAWA, H. et al. Oligo-nicotinated sesquiterpene polyesters from *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 9, p. 1479-1485, 1993.

ITOKAWA, H. et al. Five additional oligo-nicotinated sesquiterpene polyesters from *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 4, p. 460-470, 1994.

JACOMASSI, E.; MACHADO, S. R. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Maytenus aquifolia* Mart.) e mata-olho (*Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg. Lanj. & Bôer.) utilizadas no controle da qualidade da matéria-prima. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 6, p. 84-96, 2003.

JESUS, W.M.M.; CUNHA, T.N. Estudo das propriedades farmacológicas da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) e de duas espécies adulterantes. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 2, n. 1, 2012.

JOLY, C. A.; SPEGLICH, E. Programa Biota/FAPESP: um novo paradigma no estudo da conservação e do uso sustentável da biodiversidade. **Revista Ciência e Cultura**, n. 3, p. 12-16, 2003.

JÚNIOR, J. C. F. M.; MAGALHÃES, W. L. E. Antracologia de fogueiras paleoíndias do Brasil central: considerações tecnológicas e paleoetnobotânicas sobre o uso de recursos florestais no abrigo rupestre Lapa do Santo, Minas Gerais, Brasil. **Antipod. Rev. Antropol. Arqueol.**, n. 22, p. 137-161, 2015.

KARAK, T.; BHAGAT, R. M. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review- **Food Research International**, v.43, p.2234-2252, 2010.

LEAL, A. S. et al. Determination of metals in medicinal plants highly consumed in Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 599-607, 2013.

LEGUIZAMO, M.A.O. et al. Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands. A review. **Chemosphere**, v. 168, p. 1230-1247, 2017.

LEITÃO, F. S. et al. Urban ethnobotany in Petropolis and Nova Friburgo (Rio de Janeiro, Brazil), **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p.333-342, 2009.

LEITÃO, F. et al. Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: an overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 225-247, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2014.04.005>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

LEITE, J. P. V. et al. Isolation and HPLC quantitative analysis of flavonoid glycosides from Brazilian beverages (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 3796-3801, 2001.

LEONHARDT, C. et al. Comportamento germinativo de sementes de *Sorocea bonplandii* (Baill.) W.C. Burger, Lanjouw & Boer – Moraceae. **Iheringia**, v. 66, n. 1, p. 133- 138, 2011. Disponível em: <[http://www.fzb.rs.gov.br/upload/20140328105149ih66\\_1\\_p133\\_138.pdf](http://www.fzb.rs.gov.br/upload/20140328105149ih66_1_p133_138.pdf)>. Acesso em: 28 fev. 2016.

LEWANDOWSKI, H. et al. Análise de água pluvial e de precipitação em campo aberto e floresta. **Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 7, n. 2, p. 157-164, 2009

LIÃO, L. M. Sesquiterpene pyridine alkaloids. In: CORDELL, G. A. (Ed.). **Alkaloids: chemistry and biology**. San Diego: Academic Press, 2003. v. 60, chap. 5, p. 287-343.

LISTA de espécies Flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, [S.d.]. Disponível em: <<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CodigoTaxonCP>>. Acesso em: 10 nov. 2016.

LOPES, G. C. Development and validation of an HPLC method for the determination of epicatechin in *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch., Celastraceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 5, p. 789-795, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2008.

MACHADO, H. et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MACHADO, A. V.; SANTOS, M. Morfo-anatomia foliar comparativa de espécies conhecidas como espinheira-santa: *Maytenus ilicifolia* (celastraceae), *Sorocea bomplandii* (moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (leguminosae). **Insula**, n. 3, p. 1-19, 2004.

MACIEL, P. F.; STEPPE, M. Determination of water content in tea samples of *Cymbopogon citratus* S., *Matricaria recutita* L., *Mentha* spp. and *Pimpinella anisum* L. through Gravimetric and Thermogravimetric methods. *Drug Anal Res*, v. 1, n. 2, p. 53-60, 2017.

MCKENNA, M.J. et al. Delimitation of the segregation genera of *Maytenus*. **Systematic Botany**, v. 36. n. 4, p. 922- 933, 2011.

MADALENO, I. M. Contributo dos jesuítas para o estudo da flora brasileira, no Séc. XVI—Anchieta e Cardim. **Revista Interdisciplinar em Cultura e Sociedade (RICS)** São Luís. v. 3, p. 31-46, 2017.

MARCHESE, J.A.; FIGUEIRA, G.M. O uso de tecnologias pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MARQUES, M. C. et al. O gênero *Sorocea* A. Saint Hilaire (Moraceae) no estado o Rio de Janeiro: anatomia e taxonomia. **An. Acad. Bras. Ciências**, v. 48, p.31-19, 1977.

MARQUES, L. C.; PETROVICK, P. R. Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil. In: Schmitt, F. P.; Da Silva, P.R. (Ed.). **Farmacognosia da planta medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. p. 327-70.

MASSEY, R.; TAYLOR, S. 1991. **Aluminium in Food and the Environment**. Royal Society of Chemistry, London.

MARIOT, M.P et al. Variabilidade em matrizes de acessos de espinheira-santa. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.351-7, 2008.

MELO, J. G. et al. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata de vaca (*Bauhinia spp.*) e ginko (*Ginkgo biloba* L.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n. 2, 111-120, 2004.

MELO, J. G. **Controle de qualidade e prioridades de conservação de plantas medicinais comercializadas no Brasil**. 2007.75 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

MELO, J.G. et al. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 21, n.1, p. 27-36, 2007.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford Clarendon Press, v.1, p. 387-97, 1950.

MILLS, S.; BONE, K. **Principles and practice of phytotherapy**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2000.

MORAES, C. L. et al. Alterações fisiológicas e ultraestruturais de plântulas de tomate induzidas por chumbo. **IHERINGIA, Série Botânica**, v. 69, n. 2, p. 313-322, 2014.

MOSSI, A.J.; ZANATTA, R.S.; GERALD, L.T.S. (Ed.). On the distribution of *Maytenus* species in Rio Grande do Sul. In: LATIN-AMERICAN SYMPOSIUM, 1., 2000. **Acta Horticulturae**, v. 569. p. 29-32.

MOSSI, A J. et al. Chemical variation of tannins and triterpenes in Brazilian populations of *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 69, n. 2, p. 339-345, 2009.

MOSSI, A.J. et al. Chemical variability of volatile and semi-volatile organic compounds in native populations of *Maytenus ilicifolia*. **Química Nova**, v.33, n. 5, p.1067-70, 2010.

NEGRI, M.L.S.; POSSAMAI, J.C.; NAKASHIMA, T. Antioxidant activity of "espinheira-santa"- *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. Leaves dried in different temperatures. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n. 5, p.553-62, 2009.

NEVES, E.G. **Arqueologia da Amazônia**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editor, 2006.

NOGUEIRA, C.M.D. et al. Determinações de Elementos Minerais em Plantas Medicinais. **Anais Assoc. Bras. Quím.**, v. 47, n. 1, p. 22-24, 1998.

NIU, Z. et al. The linear accumulation of atmospheric mercury by vegetable and grass leaves: Potential biomonitors for atmospheric mercury pollution. **Environ Sci Pollut Res Int**, v. 20, n. 9, p. 6337-43, 2013.

OLIVEIRA, M. R. **Investigação da contaminação por metais pesados da água e do sedimento de corrente nas margens do rio São Francisco e tributários, a jusante da represa da CEMIG, no município de Três Marias, Minas Gerais**. 2007. 149p. Tese (Doutorado em Geologia) - Instituto de Geociências, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

OLIVEIRA, D. R.; OLIVEIRA, A. C. D; MARQUES, L. C. O estado regulatório dos fitoterápicos no Brasil: um paralelo entre a legislação e o mercado farmacêutico (1995–2015). **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência e Tecnologia**, v. 4, p. 139-148, 2016.

OLIVIER, J. et al. Comparison of the mineral composition of leaves and infusions of traditional and herbal teas. **South African Journal of Science**, v.108, n.1, p. 1-7, 2012.

OHSAKI, A. et al. Four new triterpenoids from *Maytenus ilicifolia*. **J Nat Prod**, v. 67, p. 469-471, 2004.

PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN, A. A. M. **Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos**. Salvador: CRA, 2001. 144p

PEREIRA, S. S. T. C. **Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais oficializados pelo Ministério da saúde no Brasil: regulamentação sanitária abrangência e qualidade dos pré-clínicos e clínicos**, 2013. 344 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

PARENTE, C.E.T., ROSA, M.M.T. Plantas comercializadas como medicinais no Município de Barra do Pirai, RJ. **Rodriguesia**, v. 52, p. 47-59, 2001.

PAZ, T. A. **Contribuição dos estudos proteômicos de células de *Maytenus ilicifolia* Mart. (Celastraceae) para o entendimento da regulação do metabolismo secundário com foco nos triterpenos quinonametídeos**. 2016. Tese (Doutorado em Química) -Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

PERECIN, M. B. **Diversidade genética em populações naturais de espécies de espinheira-santa, *Maytenus aquifolia* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss**. 2000. 134 f. Tese (Doutorado Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

PERECIN, M. B.; KAGEYAMA, P. Y. Variabilidade enzimática em populações naturais de espinheira-santa e suas implicações par o manejo da conservação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 42, n. 2, p. 81-90, 2002.

PESSUTO, M. B. et al. 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.

QIAN, J. et al. Distribution of mercury pollution and its source in the soils and vegetables in Guilin area, China. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 83, n. 6, p. 920-5, 2009.

RECH, K. S. et al. Brazilian panorama about the registration and use of herbal medicines. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 16, n. 6, p. 556-569, 2017.

RIBEIRO M. V. et al. Genetic diversity of "espinheira-santa" (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reis.) accessions collected in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 12, n. 4, p. 443-51, 2010.

RICARDO, L. M. Plants from the Brazilian Traditional Medicine: species from the books of the Polish physician Piotr Czerniewicz (Pedro Luiz Napoleão Chernoviz, 1812–1881). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 388–400, 2017.

ROCHA, C. S. **Estudo comparativo farmacognóstico e atividade biológica de *Maytenus rigida* Mart. *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reissek.** 2003. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, PB, 2003.

RODRIGUES, A. C. D. et al. Mecanismos de Respostas das Plantas à Poluição por Metais Pesados: Possibilidade de Uso de Macrófitas para Remediação de Ambientes Aquáticos Contaminados. **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, n. 1, p. 262-276, 2016.

ROMANIUC NETO, S. C. et al. **Moraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Rio de Janeiro: Jardim Botânico. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB31440>>. Acesso em: 10 de fev. 2018.

RUSCHEL, A.R.; NODARI, R.O. Colheita foliar da cancorosa [*Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg., Lanj. & W. Boer]: uma espinheira-santa da Mata Atlântica. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.10, n.4, p.43-50, 2008.

SANTOS, V. F. F. M. et al. Antiprotozoal sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 991-995, May 2012.

SANTOS, L. M. G. et al. Determination of Arsenic, Cadmium and Lead Concentration in Teas, Commercialized in Rio De Janeiro, Brazil, and Their Transfer to Tea Infusion. **Biological and Chemical Research**, p. 179-186, 2015.

SANTOS, L. M. G.; NETO, S. A. V.; IOZZI, G.; JACOB, S. C. Arsenic, cadmium and lead concentrations in Yerba mate commercialized in Southern Brazil by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Ciência Rural*, v.47, n.12, p. 1-6, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170202>>. Acesso em: 15 jan. 2018.

SANTOS, L. B. **Sistemática e filogenia de *Maytenus molina* (celastraceae) na região neotropical.** 2016. 350 fs. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, São Paulo, 2016.

SANTOS-OLIVEIRA, R.; COULAUD-CUNHA, S.; COLAÇO, W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas **Revista Brasileira de Farmacognosia** v.19, n.2B, p. 650-659, 2009.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: A review. **Animal feed Science and technology**, v. 91, p. 21-40, 2001.

SCHULZKI, G.; NÜBLEIN, B.; SIEVERS, H.; Transition rates of selected metals determined in various types of teas (**Camellia sinensis** L. Kuntze) and herbal/fruit infusions. **Food Chemistry**, v. 15, p. 22-30, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.093>>. Acesso em: 03 dez. 2017.

SHIROTA, O. et al. Sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus ilicifolia*. **Heterocycles**, v. 38, n. 2, p. 383-389, 1994.

SILVA, P. A. J. et al. Análise farmacognóstica de amostras de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. (Celastraceae) comercializadas em farmácias e banca popular de Votuporanga, São Paulo. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 4, p. 457-462, 2012.

SILVA, E.; SANTOS, P. S.; GUILHERME, M. F. S. Chumbo nas plantas: uma breve revisão sobre seus efeitos, mecanismos toxicológicos e remediação. **Agrarian Academy, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.2, n. 3; p. ,2015.

SILVA, F. C.; RIBEIRO, A. B.; RIBEIRO, P. R. S. Avaliação da qualidade de plantas medicinais comercializadas no município de Imperatriz, Maranhão. **Scientia plena**, v. 13, n.2, p. 1-9, 2017. DOI 10.14808/sci.plena.2017.024501

SOARES, L. A. L. et al. Development and validation of a LC-method for determination of catechin and epicatechin in aqueous extractives from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, n. 4, p. 787-790, 2004.

SOUSA, O. V. et al. Avaliação da qualidade de matérias-primas de ruibarbo utilizadas em formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p.30- 34, 2003.

SOUZA, L. M. et al. HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 47, n. 1, p. 59-67, 2008.

SOUZA, L. M. et al. Heart-cutting two-dimensional (size exclusion reversed phase) liquid chromatography mass spectrometry analysis of flavonol glycosides from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **J. Chromatogr. A**, v. 1216, p. 99–105, 2009.

SOUZA, L. M. et al. Differentiation of flavonol glucoside and galactoside isomers combining chemical isopropylidenation with liquid chromatography–mass spectrometry analysis **J. Chromatogr. A**, v. 1447, p. 64–71, 2016.

SOUZA-FORMIGONI, M. L. Antiulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **J. Ethnopharmacol.**, v. 34, p. 21-27, 1991.

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

STEENBOCK, W. et al. Avaliação de características fenotípicas para determinação do rendimento foliar em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.1, p.71-6, 2003.

TABACH, R.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; CARLINI, E. A. Pharmacological and Toxicological Study of *Maytenus ilicifolia* Leaf Extract. Part II – Clinical Study (Phase I). **Phytother. Res.** v. 31, p. 921–926, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ptr.5816>>. Acesso em: 09 jul. 2017.

TAPPIN, M. R. R.; LUCCHETTI, L. Sobre a legislação de registro de fitoterápicos. on the legal requirements for the registration of phytomedicines. **Revista Fitos**, v. 3, n.1, p. 17-30, 2007.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium**: compêndio de fitoterapia. Paraná: Herbarium Laboratório Botânico , 1997.

TIBERTI, L. A. et al. Identification of flavonols in leaves of *Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium* (Celastraceae) by LC/UV/MS analysis, **J. Chromatogr. B**, v. 846, p. 378-384, 2007.

TOMAT, A. L. et al. Zinc deficiency during growth: Influence on renal function and morphology. **Life Sciences**, v. 80, p. 1292, 2007.

TU, Y. Y. The discovery of artemisinin (*qinghaosu*) and gifts from Chinese medicine. **Nature Medicine**, v. 17, p. 1217-1220, 2011.

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

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 308-313, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200027>. Acesso em 08 de mar. 2017.

VILEGAS, J. H. Y; LANÇAS, F. M.; CERVI, A. C. High resolution gas chromatography analysis of "espinheira santa" (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*): analysis of crude drug adulterations. **Phytotherapy Research**, v. 8, n. 4, p.241-244, 1994.

VILEGAS, W. et al. Isolation and structure elucidation of two new flavonoid glycosides from the infusion of *Maytenus aquifolium* leaves. Evaluation of the antiulcer activity of the infusion, **J. Agric.Food Chem.** v. 47, p. 403-406, p. 1999.

VULCANO, I. R. C.; SILVEIRA, J. N.; ALVAREZ-LEITE, E. M.. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 3, 2008.

XAVIER, H. S.; D'ANGELO, L. C. A. Perfil cromatográfico dos componentes polifenólicos de *Maytenus ilicifolia* Mart. (CELASTRACEAE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 1, p.20-8, 1996.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**: a thin layer chromatography atlas. Berlin: Springer, 1996.

WILLIAMS, L. E.; PITTMAN, J. K; HALL, J. L. Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1465, p. 104-126, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00133-4](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00133-4)>. Acesso em 21 jun. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Iron deficiency anaemia**: assessment, preventing, and control. A guide for programme managers. Geneva, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO traditional medicine strategy 2002-2005**. Geneva, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues**. Geneva: WHO, 2007. Disponível em: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s14878e/s14878e.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Mercury and health**. 2017. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs361/en/>. Acesso em: 20 mai. 2017.

YARIWAKE, J. H. et al. Variabilidade sazonal de constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 162-168, 2005.

YOKOTA, A. A. et al. Avaliação da qualidade de produtos contendo *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek – Celastraceae (espinheira-santa) comercializados na cidade de Umuarama – PR. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 159-168, 2010.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V.C. Fármacos e fitoterápicos: Necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZARONI, M. et al. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n.1, p. 29-39, 2004.

ZHANG, J. et al. Quality of herbal medicines: Challenges and solutions. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 20, p. 100-106, 2012.

ZHU, N.; NIKOLAI, S.; ZHANG, J. Three glucosides from *Maytenus ilicifolia*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 2, p. 265-268, 1998.

ZUCCOLOTTO, T.; APEL, M.; RATES, S. M. K. Avaliação da qualidade de produtos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre- RS. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 58, n. 2, p. 25-31, 1999.

## GLOSSÁRIO

**Chá medicinal:** é a droga vegetal com fins medicinais a ser preparada por meio de infusão, decocção ou maceração em água pelo consumidor (BRASIL, 2014a; BRASIL, 2013d).

**Contaminantes:** são impurezas indesejadas de natureza química, microbiológica ou de corpos estranhos, introduzidos nas matérias-primas ou produtos intermediários durante a produção, amostragem, embalagem ou reembalagem, armazenamento ou transporte (BRASIL, 2010e).

**Controle de qualidade:** é o conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos, que satisfaçam às normas de identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

**Decocção:** preparação, destinada a ser feita pelo consumidor, que consiste na ebulição da droga vegetal em água potável por tempo determinado. Método indicado para partes de drogas vegetais com consistência rígida, tais como cascas, raízes, rizomas, caules, sementes e folhas coriáceas ou que contenham substâncias de interesse com baixa solubilidade em água (BRASIL, 2014a).

**Derivado vegetal:** produto da extração da planta medicinal fresca ou da droga vegetal, que contenha as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, podendo ocorrer na forma de extrato, óleo fixo e volátil, cera, exsudato e outros (BRASIL, 2014a).

**Doença de baixa gravidade:** doença auto-limitante, de evolução benigna, que pode ser tratada sem acompanhamento médico (BRASIL, 2014a).

**Droga vegetal:** planta medicinal, ou suas partes, que contenham as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta/colheita, estabilização, quando aplicável, e secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada (BRASIL, 2014a).

**Ensaio clínico:** qualquer pesquisa que, individual ou coletivamente, envolva o ser humano, de forma direta ou indireta, em sua totalidade ou partes dele, incluindo o manejo de informações ou materiais (BRASIL, 2014a).

**Ervanaria:** é o estabelecimento que realiza dispensação de plantas medicinais e não precisa de profissional farmacêutico e nem autorização para o

funcionamento. As plantas comercializadas não podem conter indicações terapêuticas (BRASIL, 1973).

**Exsudato:** material produzido pelas plantas, associado à sua seiva, excretado de forma natural ou provocada, como látex, resinas, óleos-resinas e gomas (BRASIL, 2009c).

**Extrato:** é a preparação de consistência líquida, sólida ou intermediária, obtida a partir de material animal ou vegetal. O material utilizado na preparação de extratos pode sofrer tratamento preliminar, tais como inativação de enzimas, moagem ou desengorduramento. O extrato é preparado por percolação, maceração ou outro método adequado e validado, utilizando como solvente álcool etílico, água ou outro solvente adequado (Farmacopeia Brasileira, 2010; FFFB, 2011).

**Extrato fluido:** é a preparação líquida obtida de drogas vegetais por extração com líquido apropriado ou por dissolução do extrato seco correspondente, em que, exceto quando indicado de maneira diferente, uma parte do extrato, em massa ou volume, corresponde a uma parte, em massa, da droga seca utilizada na sua preparação. Se necessário, os extratos fluidos podem ser padronizados em termos de concentração do solvente, teor de constituintes ou de resíduo seco. Se necessário, podem ser adicionados conservantes inibidores do crescimento microbiano. Devem apresentar teor de princípios ativos e resíduos secos prescritos nas respectivas monografias (FARMACOPEIA Brasileira, 2010; FFFB, 2011).

**Extrato seco:** é a preparação sólida obtida por evaporação do solvente utilizado na sua preparação. Apresenta, no mínimo, 95% de resíduo seco, calculado como porcentagem de massa. Podem ser adicionados de materiais inertes adequados. Os extratos secos padronizados têm o teor de seus constituintes ajustado pela adição de materiais inertes adequados ou pela adição de extratos secos obtidos com o mesmo fármaco utilizado na preparação (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

**Farmacopeia:** Código Oficial Farmacêutico do país, onde estão estabelecidos os critérios de qualidade dos medicamentos em uso, tanto manipulados quanto industrializados, compondo o conjunto de normas e monografias de farmacoquímicos estabelecidos para o país (FFFB, 2011).

**Fitocomplexo:** conjunto de todas as substâncias, originadas do metabolismo primário ou secundário, responsáveis, em conjunto, pelos efeitos biológicos de uma planta medicinal ou de seus derivados (BRASIL, 2014a).

**Fitoterápico:** produto obtido de matéria-prima ativa vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, podendo ser simples, quando o ativo é proveniente de uma única espécie vegetal medicinal, ou composto, quando o ativo é proveniente de mais de uma espécie vegetal (BRASIL, 2014a).

**Folheto informativo:** folheto que acompanha os produtos tradicionais fitoterápicos contendo informações de composição e uso do produto para instruir o consumidor (BRASIL, 2014a).

**Forma farmacêutica:** é o estado final de apresentação dos princípios ativos farmacêuticos após uma ou mais operações farmacêuticas executadas com a adição ou não de excipientes apropriados a fim de facilitar a sua utilização e obter o efeito terapêutico desejado, com características apropriadas a uma determinada via de administração (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

**Infusão:** preparação, destinada a ser feita pelo consumidor, que consiste em verter água potável fervente sobre a droga vegetal e, em seguida, tampar ou abafar o recipiente por tempo determinado pela Farmacopeia Brasileira (2010). Método indicado para partes de drogas vegetais de consistência menos rígida, tais como folhas, flores, inflorescências e frutos, ou com substâncias ativas voláteis ou ainda com boa solubilidade em água (BRASIL, 2014a).

**Instrução Normativa (IN):** ato que expressa decisão de caráter normativo da Diretoria Colegiada, para fins de detalhamento de regras e procedimentos de alcance externo estabelecidos em Resolução de Diretoria Colegiada (BRASIL, 2014c).

**Insumo farmacêutico ativo vegetal (IFAV):** é a matéria-prima ativa vegetal, ou seja, a droga ou o derivado vegetal, utilizada no processo de fabricação de um fitoterápico (BRASIL, 2014a).

**Marcador:** substância ou classe de substâncias (ex.: alcaloides, flavonoides, ácidos graxos, etc.) utilizada como referência no controle da qualidade da matéria-prima vegetal e do fitoterápico, preferencialmente tendo correlação com o efeito terapêutico. O marcador pode ser do tipo ativo, quando relacionado com a atividade

terapêutica do fitocomplexo, ou analítico, quando não demonstrada, até o momento, sua relação com a atividade terapêutica do fitocomplexo (BRASIL, 2014a).

**Matéria-prima vegetal:** compreende a planta medicinal, a droga vegetal ou o derivado vegetal (BRASIL, 2014a).

**Medicamento:** produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico (BRASIL, 2010d).

**Medicamento fitoterápico (MF):** medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela constância de sua qualidade. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, 2014a).

**Nomenclatura botânica:** espécie (gênero + epíteto específico), (BRASIL, 2014a).

**Nomenclatura botânica completa:** espécie, autor do binômio, variedade, quando aplicável, e família (BRASIL, 2014a).

**Notificação:** prévia comunicação à ANVISA informando se pretende fabricar, importar e comercializar produtos tradicionais fitoterápicos (BRASIL, 2014a).

**Número do Lote:** combinação definida de números e/ou letras que identifica de forma única um lote em seus rótulos, documentação de lote, certificados de análise correspondentes, entre outros (BRASIL, 2010d).

**Perfil cromatográfico:** padrão cromatográfico de constituintes característicos, obtido em condições definidas, que possibilite a identificação da espécie vegetal em estudo e a diferenciação de outras espécies (BRASIL, 2014a).

**Planta medicinal:** espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos (BRASIL, 2014a).

**Prazo de validade:** é o tempo durante o qual o produto poderá ser usado, caracterizado como período de vida útil e fundamentada nos estudos de estabilidade específicos. O prazo de validade deverá ser indicado nas embalagens primárias e secundárias. Quando indicar mês e ano, entende-se como vencimento do prazo o último dia desse mês. As condições especificadas, pelo fabricante, de armazenamento e transporte devem ser mantidas (FARMACOPEIA Brasileira, 2010).

**Produto a granel:** qualquer produto que tenha passado por todas as etapas de produção, sem incluir o processo de embalagem (BRASIL, 2010d).

**Produto acabado:** Produto que tenha passado por todas as fases de produção e acondicionamento, pronto para venda (Brasil, 2001).

**Produto acabado ou terminado:** produto que tenha passado por todas as etapas de produção, incluindo rotulagem e embalagem final (BRASIL, 2010d).

**Produto tradicional fitoterápico:** aquele obtido com emprego exclusivo de matérias-primas vegetais, cuja segurança e efetividade seja alicerçada no longo histórico de utilização demonstrado em documentação técnico-científica, sem evidências conhecidas ou informadas de risco à saúde do usuário e que seja caracterizado pela constância de sua qualidade (BRASIL, 2014a).

**Rasura:** droga vegetal seca e seccionada, de granulometria definida, com diâmetro acima de 0,315 mm, destinada a chás medicinais como infusos, decoctos ou macerações (BRASIL, 2013 d).

**Registro:** instrumento por meio do qual o Ministério da Saúde, no uso de sua atribuição específica, determina a inscrição prévia no órgão ou na entidade competente, pela avaliação do cumprimento de caráter jurídico-administrativo e técnico-científico relacionada com a eficácia, segurança e qualidade destes produtos, para sua introdução no mercado e sua comercialização ou consumo (Brasil, 2001).

**Resolução (RE):** ato que expressa decisão administrativa para fins autorizativos, homologatórios, certificatórios, cancelatórios, de interdição e de imposição de penalidades previstas na legislação sanitária e afim (BRASIL, 2014c).

**Resolução de Diretoria Colegiada (RDC):** ato que expressa decisão colegiada para edição de normas sobre matérias de competência da Agência, com previsão de sanções em caso de descumprimento (BRASIL, 2014c).

**Uso tradicional:** aquele alicerçado no longo histórico de utilização no ser humano demonstrado em documentação técnico-científica, sem evidências conhecidas ou informadas de risco à saúde do usuário (BRASIL, 2014a).

## ANEXO A - Lista SUS (RENAME 2017)

Denominação genérica	Concentração/ Composição	Forma farmacêutica/ Descrição	Componente
alcachofra ( <i>Cynara scolymus</i> L.)	24 mg a 48 mg de derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico (dose diária)	cápsula	Básico

Denominação genérica	Concentração/ Composição	Forma farmacêutica/ Descrição	Componente
alcachofra ( <i>Cynara scolymus</i> L.)	24 mg a 48 mg de derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico (dose diária)	comprimido	Básico
	24 mg a 48 mg de derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico (dose diária)	solução oral	Básico
	24 mg a 48 mg de derivados de ácido cafeoilquínico expressos em ácido clorogênico (dose diária)	tintura	Básico
aroeira ( <i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi)	1,932 mg de ácido gálico (dose diária)	gel vaginal	Básico
	1,932 mg de ácido gálico (dose diária)	óvulo vaginal	Básico
babosa [ <i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.]	10-70% gel fresco	creme	Básico
	10-70% gel fresco	gel	Básico
cáscara-sagrada ( <i>Rhamnus purshiana</i> DC.)	20 mg a 30 mg de derivados hidroxiantracênicos expressos em cascarosídeo A (dose diária)	cápsula	Básico
	20 mg a 30 mg de derivados hidroxiantracênicos expressos em cascarosídeo A (dose diária)	tintura	Básico

## ANEXO A - Lista SUS (RENAME 2017)(continuação)

Denominação genérica	Concentração/ Composição	Forma farmacêutica/ Descrição	Componente
espinheira-santa ( <i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek)	60 mg a 90 mg de taninos totais expressos em pirogalol (dose diária)	cápsula	Básico
	60 mg a 90 mg de taninos totais expressos em pirogalol (dose diária)	tintura	Básico
	60 mg a 90 mg de taninos totais expressos em pirogalol (dose diária)	suspensão oral	Básico
	60 mg a 90 mg de taninos totais expressos em pirogalol (dose diária)	emulsão oral	Básico
garra-do-diabo ( <i>Harpagophytum procumbens</i> DC. ex Meissn.)	30 mg a 100 mg de harpagosídeo ou 45 a 150 mg de iridoides totais expressos em harpagosídeos (dose diária)	cápsula	Básico
	30 mg a 100 mg de harpagosídeo ou 45 a 150 mg de iridoides totais expressos em harpagosídeos (dose diária)	comprimido	Básico
	30 mg a 100 mg de harpagosídeo ou 45 a 150 mg de iridoides totais expressos em harpagosídeos (dose diária)	comprimido de liberação retardada	Básico

## ANEXO A - Lista SUS (RENAME 2017)(continuação)

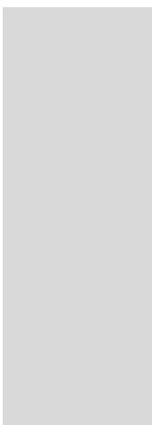
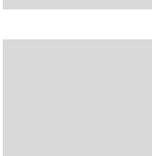
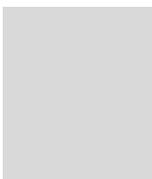
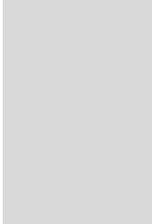
Denominação genérica	Concentração/ Composição	Forma farmacêutica/ Descrição	Componente
guaco ( <i>Mikania glomerata</i> Spreng.)	0,5 mg a 5 mg de cumarina (dose diária)	tintura	Básico
	0,5 mg a 5 mg de cumarina (dose diária)	xarope	Básico
	0,5 mg a 5 mg de cumarina (dose diária)	solução oral	Básico
hortelã ( <i>Mentha x piperita</i> L.)	60 a 440 mg de mentol e 28 a 256 mg de mentona (dose diária)	cápsula	Básico
isoflavona-de-soja [ <i>Glycine max</i> (L.) Merr.]	50 mg a 120 mg de isoflavonas (dose diária)	cápsula	Básico
	50 mg a 120 mg de isoflavonas (dose diária)	comprimido	Básico
plantago ( <i>Plantago ovata</i> Forssk.)	3 g a 30 g (dose diária)	pó para dispersão oral	Básico
salgueiro ( <i>Salix alba</i> L.)	60 mg a 240 mg de salicina (dose diária)	comprimido	Básico
	60 mg a 240 mg de salicina (dose diária)	elixir	Básico
	60 mg a 240 mg de salicina (dose diária)	solução oral	Básico
unha-de-gato [ <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.)]	0,9 mg de alcaloides oxindólicos pentaclílicos	cápsula	Básico
	0,9 mg de alcaloides oxindólicos pentaclílicos	comprimido	Básico
	0,9 mg de alcaloides oxindólicos pentaclílicos	gel	Básico

Fonte: (Brasil, 2017).

**ANEXO B - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS PERTENCENTES ÀS LISTAS DA RENAME, RENISUS E NA LISTA DE MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS DE REGISTRO SIMPLIFICADO E A LISTA DE PRODUTOS TRADICIONAIS FITOTERÁPICOS DE REGISTRO SIMPLIFICADO DA IN Nº02/14.**

Nome científico	Nome popular	Listas oficiais		RENAME (2017) SUS
		RENISUS (2009)	LMFRS IN02/2014	
<i>Achillea millefolium</i> L.	Mil-folhas			
<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Castanha-da-índia			
<i>Allium sativum</i> L.	Alho			
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. = <i>Aloe barbadensis</i> Mill	Babosa			
<i>Alpinia speciosa</i> (Blume) D. Dietr.* = <i>Etingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm	Lírio-do-brejo			
<i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm.	Jardineira			
<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr	Abacaxi			
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Cajueiro			
<i>Arrabidaea chica</i> (Bonpl.) B. Verl.* = <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G.Lohmann.	Crajiuru			
<i>Artemisia absinthium</i> L.	Artemísia			
<i>Arctium lappa</i> L..	Bardana			
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng	Uva-ursi			
<i>Arnica montana</i> L.	Arnica			
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC. * = <i>Baccharis genistelloides</i> (Lam.) Pers.	Carqueja			
<i>Bauhinia aculeata</i> L. = <i>Bauhinia affinis</i> Vogel	Pata-de-vaca			
<i>Bauhinia forficata</i> Link = <i>Bauhinia candicans</i> Benth	Pata-de-vaca			
<i>Bauhinia variegata</i> L.	Pata-de-vaca			
<i>Bidens pilosa</i> L.	Picão			
<i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken = <i>Bryophyllum calycinum</i> Salisb.* = <i>Kalanchoe pinata</i> (Lam.) Pers.*	Folha-da-fortuna			
<i>Caesalpinia ferrea</i> C. Mart.	Jucá			
<i>Calendula officinalis</i> L.	Calêndula			
<i>Capsicum annuum</i> L.	Pimentão			
<i>Carapa guianensis</i> Aubl.	Andiroba			
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	Guaçatonga			
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb.	Centela			
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.* = <i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants	Erva-de-santamaria			
<i>Cimicifuga racemosa</i> (L.) Nutt. * = <i>Actaea racemosa</i> L.	Cimicifuga			
<i>Copaifera</i> spp	Copaíba			
<i>Cordia verbenacea</i> D.C.* = <i>Cordia curassavica</i> (Jacq.) Roem. & Schult.	Erva-baleeira			
<i>Costus scaber</i> Ruiz & Pav.	Pacová			
<i>Costus spicatus</i> (Jacq.) Sw.	Pacová			
<i>Croton cajucara</i> Benth.	Sacaca			
<i>Croton zehntneri</i> Pax & K. Hoffm	Canelinha			
<i>Curcuma longa</i> L.	Açafrão			
<i>Cynara scolymus</i> L.* = <i>Cynara cardunculus</i> subsp. <i>flavescens</i> Wiklund	Alcachofra			
<i>Dalbergia subcymosa</i> Ducke	Verônica			

<i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench	Equinácea		
<i>Eleutherine plicata</i> Herb.* = <i>Eleutherine bulbosa</i> (Mill.) Urb.	Marupazinho		
<i>Equisetum arvense</i> L.	Cavalinha		
<i>Erythrina verna</i> Vell. = <i>Erythrina mulungu</i> Benth.*	Mulungu		
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Eucalipto		
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitanga		
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Erva-doce ou funcho		
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Ginkgo		
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Soja		
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Alcaçuz		
<i>Hamamelis virginiana</i> L.	Hamamélis		
<i>Harpagophytum procumbens</i> DC. ex Meisn.	Garra-do-diabo		
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Erva-de-são-joão		
<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	Pinhão-roxo		
<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.	Chambá		
<i>Lamium album</i> L.	Urtiga-branca		
<i>Lippia sidoides</i> Cham.	Alecrim-pimenta		
<i>Malva sylvestris</i> L.	Malva		
<i>Matricaria recutita</i> L. * = <i>Matricaria chamomilla</i> L.	Camomila		
<b><i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek = <i>Maytenus officinalis</i> Mabb. e <i>Maytenus aquifolia</i> Mart.</b>	Espinheira-santa		
<i>Melissa officinalis</i> L.	Melissa		
<i>Mentha pulegium</i> L.	Poejo		
<i>Mentha crispata</i> L. = <i>Mentha spicata</i> L.	Hortelã		
<i>Mentha × piperita</i> L.	Hortelã-pimenta		
<i>Mentha × villosa</i> Huds.	Hortelã-rasteira		
<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Guaco		
<i>Mikania laevigata</i> Sch. Bip. ex Baker	Guaco		
<i>Momordica charantia</i> L.	Melão-de-são caetano		
<i>Morus</i> spp	Amora		
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Alfavaca		
<i>Orbignya speciosa</i> (Mart. ex Spreng.) Barb. Rodr. = <i>Attalea speciosa</i> Mart.	Babaçu		
<i>Panax ginseng</i> C.A. Mey.	Ginseng		
<i>Passiflora alata</i> Curtis	Maracujá		
<i>Passiflora edulis</i> Sims	Maracujá-azedo		
<i>Passiflora incarnata</i> L.	Maracujá		
<i>Paullinia cupana</i> Kunth	Guaraná		
<i>Persea americana</i> Mill.	Abacate		
<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm.	Salsa		
<i>Peumus boldus</i> Molina	Boldo-do-chile		
<i>Pimpinella anisum</i> L.	Anis/erva-doce		
<i>Piper methysticum</i> G. Forst.	Kava kava		
<i>Plantago ovata</i> Forssk. Blonde	psyllium		
<i>Plantago major</i> L.	Tanchagem		
<i>Plectranthus barbatus</i> Andrews	Boldo-nacional		
<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn.	Quebra-pedra		
<i>Phyllanthus niruri</i> L.	Quebra-pedra		
<i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb.	Quebra-pedra		

<i>Phyllanthus urinaria</i>	Quebra-pedra		
<i>Polygala senega</i>	Polígala		
<i>Polygonum acre</i> Lam. = <i>Polygonum punctatum</i> Elliott = <i>Persicaria punctata</i> (Elliott) Small	Erva-de-bicho		
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx.	Erva-de-bicho		
<i>Portulaca pilosa</i> L.	Amor-crescido		
<i>Psidium guajava</i> L.	Goiabeira		
<i>Punica granatum</i> L.	Romanzeira		
<i>Rhamnus purshiana</i> DC.	Cáscara-sagrada		
<i>Ruta graveolens</i> L.	Arruda		
<i>Salix alba</i> L.	Salgueiro-branco		
<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	Aroeira-da-praia		
<i>Senna alexandrina</i> Mill.	Sene		
<i>Serenoa repens</i> (W. Bartram) Small	Serenoa		
<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Cardo mariano		
<i>Solanum paniculatum</i> L.	Jurubeba		
<i>Solidago microglossa</i> DC.	Arnica-falsa		
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville = <i>Stryphnodendron barbatimam</i> Mart.	Barbatimão		
<i>Symphytum officinale</i> L.	Confrei		
<i>Syzygium jambolanum</i> (Lam.) DC. = <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	Jambolão		
<i>Tabebuia avellaneda</i> Lorentz ex Griseb.	Ipê-roxo		
<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Bip.	Macela-da-serra		
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	Dente-de-leão		
<i>Tagetes minuta</i> L.	Cravo-de-defunto		
<i>Trifolium pratense</i> L.	Trevo-dos-padros		
<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) DC.	Unha-de-gato		
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	Mirtilo		
<i>Valeriana officinalis</i> L.	Valeriana		
<i>Vernonia condensata</i> Baker = <i>Gymnanthemum amygdalinum</i> (Delile) Sch.Bip. ex Walp.	Boldo-baiano		
<i>Vernonia ruficoma</i> Schlttdl. ex Baker	Assa-peixe		
<i>Vernonia polyanthes</i> (Spreng.) Less. = <i>Vernonanthura phosphorica</i> (Vell.) H. Rob.	Assa-peixe		
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Gengibre		

Fonte: (BRASIL, 2009); (BRASIL, 2014b); (BRASIL, 2017).

**ANEXO C - COMPILAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PARA OS PARÂMETROS DA QUALIDADE (<sup>A</sup>MÉDIA ± <sup>B</sup>DESVIO PADRÃO) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (CV) DE IMPUREZAS (IMP), UMIDADE (UMI) E TEORES DE TANINOS TOTAIS (TT) E DE EPICATEQUINA (TE, AMBOS EM mg g<sup>-1</sup>) DAS VINTE E SETE AMOSTRAS DE ESPINHEIRA-SANTA DAS AMOSTRAS PROVENIENTES DE APL (RJ), RBBV (PR) E AS COMERCIALIZADAS EM LOJAS DE PRODUTOS NATURAIS, FARMÁCIAS, ERVANARIAS E MERCADO POPULAR DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO.**

Amostra	IMP (%)	UMI (%)	CV (%)	TT (%)	CV (%)	TE
1	0,00	9,74 ± 0,07	0,71	2,96 ± 0,01	0,34	15,53
2	0,00	9,41 ± 0,01	0,11	2,60 ± 0,04	1,53	7,77
3	0,00	8,83 ± 0,03	0,34	1,83 ± 0,13	0,69	0,69
4	8,00	8,29 ± 0,02	0,24	2,25 ± 0,05	2,23	5,74
5	12,00	9,56 ± 0,03	0,31	2,54 ± 0,06	2,67	6,20
6	9,00	9,13 ± 0,02	0,22	2,52 ± 0,02	0,79	6,93
7	5,00	8,94 ± 0,01	0,11	0,79 ± 0,03	3,80	0,00
8	12,00	8,81 ± 0,02	0,23	1,56 ± 0,03	1,92	0,00
9	19,00	9,13 ± 0,01	0,11	0,63 ± 0,05	7,94	0,00
10	24,00	8,49 ± 0,01	0,12	0,61 ± 0,02	3,28	0,00
11	50,00	8,80 ± 0,02	0,23	0,34 ± 0,02	5,88	0,00
12	6,00	8,99 ± 0,01	0,11	0,82 ± 0,04	4,89	0,00
13	32,00	8,21 ± 0,02	0,24	1,97 ± 0,03	1,52	1,07
14	7,00	8,93 ± 0,03	0,34	0,86 ± 0,05	5,81	0,00
15	14,00	8,72 ± 0,03	0,34	2,84 ± 0,04	1,41	2,60
16	32,00	9,59 ± 0,03	0,31	0,83 ± 0,04	4,82	0,00
17	28,00	7,75 ± 0,03	0,39	2,87 ± 0,03	1,04	3,72
18	14,00	9,27 ± 0,02	0,21	0,97 ± 0,02	2,06	0,00
19	12,00	9,23 ± 0,02	0,22	2,72 ± 0,06	2,20	1,27
20	39,00	8,64 ± 0,04	0,46	0,32 ± 0,02	6,25	0,00
21	27,00	9,08 ± 0,02	0,22	0,28 ± 0,03	10,71	0,00
22	45,00	8,29 ± 0,01	0,12	1,11 ± 0,10	9,00	0,00
23	62,00	8,81 ± 0,02	0,23	1,19 ± 0,05	4,20	0,00
24	42,00	14,41 ± 0,02	0,14	0,93 ± 0,04	4,30	0,00
25	54,00	12,73 ± 0,02	0,16	0,81 ± 0,03	3,70	0,00
26	29,00	11,38 ± 0,02	0,17	0,71 ± 0,04	5,63	0,00
27	27,00	12,72 ± 0,03	0,23	0,90 ± 0,02	2,22	0,00
Média	22,56	9,48		1,44		1,91
Mín.	0	7,75		0,28		0,00
Máx.	62	14,41		2,96		15,53
FB	≤2	8-12		≥2		≥2,8
(2010)						

Fonte: (Do autor, 2018).