

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

KEVIN ALVES ANTUNES

PERFIL FARMACOBOTÂNICO E QUÍMICO DE FOLHAS, CAULES E AMOSTRAS
COMERCIAIS DE *Montevertia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral (CELASTRACEAE) E
SEUS ADULTERANTES

PONTA GROSSA

2022

KEVIN ALVES ANTUNES

PERFIL FARMACOBOTÂNICO E QUÍMICO DE FOLHAS, CAULES E AMOSTRAS
COMERCIAIS DE *Monteverdia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral (CELASTRACEAE) E
SEUS ADULTERANTES

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos, medicamentos e biociências aplicadas à Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em associação ampla com a Universidade Estadual do Centro-Oeste.

Orientadora: Profa. Dra. Jane Manfron Budel

PONTA GROSSA

2022

A636 Antunes, Kevin Alves
Perfil farmacobotânico e químico de folhas, caules e amostras comerciais de *Monteverdia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral (Celastraceae) e seus adulterantes / Kevin Alves Antunes. Ponta Grossa, 2022.
100 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Jane Manfron Budel.

1. Espinheira-santa - adulteração. 2. Anatomia. 3. Celastraceae. 4. Drogas vegetais - controle de qualidade. 5. Espinheira-santa - microscopia. I. Budel, Jane Manfron. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 613.321

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Associação Ampla entre a Universidade Estadual do Centro-Oeste e a
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ponta Grossa, 01 de abril de 2022.

ATA DE EXAME DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS-ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÁRMACOS, MEDICAMENTOS E BIOCÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA NÚMERO 01/2022 DO MESTRANDO KEVIN ALVES ANTUNES REALIZADA NO DIA 01 DE ABRIL DE 2022, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Ao primeiro dia de abril de dois mil e vinte e dois, às 9h00min, por videoconferência, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) em sessão pública sob a presidência da Professora Doutora Jane Manfron reuniu-se a Banca Examinadora de exame de defesa de dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do mestrando Kevin Alves Antunes, na linha de pesquisa: Avaliação química e biológica de produtos naturais, constituída pela Professora Doutora Jane Manfron (UEPG/PR), demais Doutores (membros titulares): Lorene Armstrong (UFPR/PR) e Juliane Nadal Swiech (UNICESUMAR/PR). Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem o exame de defesa de dissertação de Mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição.

O título do trabalho foi: **“Perfil farmacobotânico e químico de folhas, caules e amostras comerciais de *Monteverdia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral (Celastraceae) e seus adulterantes”**. Encerrada a defesa, a banca considerou a dissertação APROVADA, considerado como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente Ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

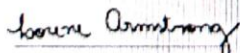
Observações (se necessário): _____

Alteração de título: sim ☐ não ☒

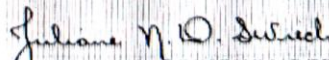
Novo título: _____



Jane Manfron 1 - (PPGCF-UEPG) - Presidente



Lorene Armstrong 2 - (UFPR/PR) – Titular



Juliane Nadal Swiech 3 - (UNICESUMAR/PR) – Titular

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por me proporcionar saúde, me protegendo nesses dois anos de mestrado, dando força e paciência para alcançar meus objetivos e superar todas as adversidades que esse período de pandemia me trouxe;

Ao meu pai Sérgio e mãe Sandra que sempre estiverem ao meu lado e me apoiando tanto no emocional como financeiramente;

A minha irmã Danny e meu irmão Renan, que foram grandes apoiadores para eu concluir essa pesquisa;

A minha namorada Luiza e toda sua família por ter me dado apoio desde que nos conhecemos, sendo pessoas importantes durante toda a etapa da pesquisa;

A minha orientadora Profa. Dra. Jane Manfron, que mesmo com os anos atípicos e de maneira remota, sempre esteve presente para tirar qualquer dúvida que surgisse, mesmo no período de licença especial;

Ao Prof. Dr. Gustavo Heiden, que auxiliou na coleta e identificou as espécies analisadas nesse trabalho;

Ao Prof. Dr. Wilmer Perera, que se dispôs a ajudar nas análises feitas por CCDAE, sendo muito atencioso e prestativo;

A esta Universidade, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, o corpo docente, técnicos, direção e administração, que oportunizaram as ferramentas para aprofundar meus conhecimentos;

Aos meus amigos que foram base para eu levar a pesquisa com um psicológico bom, sempre me divertindo e dando risadas;

A técnica de laboratório de Farmacognosia Luciane Mendes Monteiro, o doutorando Valter Paes de Almeida e o aluno de iniciação científica Irailson Thierry Monchak, que sempre me auxiliaram em várias etapas desse trabalho, facilitando ainda mais a conclusão dessa pesquisa com toda a experiência de laboratório que carregam;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo.”

(Albert Einstein)

RESUMO

A família Celastraceae é constituída de 100 gêneros e 1200 espécies distribuídas pelo mundo, principalmente nos trópicos e subtropicais. Um de seus maiores representantes é o gênero *Monteverdia* sendo a espécie *Monteverdia ilicifolia* (espinheira-santa) uma das mais importantes do gênero devido ao uso na medicina tradicional. A principal indicação popular da espécie é o uso de chás de folhas para tratar gastrites e úlceras gástricas, tratamento este, comprovado cientificamente. Decorrente da comprovação do uso tradicional, houve um aumento da procura por essa espécie medicinal, o que ocorreu sem um planejamento de produção. A indisponibilidade de *M. ilicifolia* no comércio, associada à morfologia similar e ao nome popular designado para as espécies *Monteverdia aquifolia*, *Citronella gongonha*, *Jodina rhombifolia*, *Sorocea bonplandii* e *Zollernia ilicifolia*, faz com que a prática de adulterações seja verificada. Essas adulterações não são facilmente detectadas, pois comumente as espécies medicinais são comercializadas na forma rasurada, triturada ou pulverizada. Dentre os métodos farmacopeicos utilizados para detectar adulterantes em drogas vegetais estão a morfoanatomia que avalia os caracteres morfológicos e anatômicos do vegetal e a cromatografia em camada delgada que mostra o perfil químico de extratos, destacando-se por serem métodos rápidos, eficientes e de baixo custo. Considerando as adulterações de *M. ilicifolia* com *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*, objetivou-se analisar a anatomia foliar e caulinar dessas espécies, utilizando as técnicas usuais de microscopia, bem como determinar o perfil cromatográfico dos extratos dessas espécies e de amostras comerciais por cromatografia em camada delgada de alta eficiência, a fim de fornecer dados microscópicos e cromatográficos que possam auxiliar no controle da qualidade de droga vegetais, plantas medicinais e fitoterápicos. Os caracteres morfoanatômicos de folhas e caules e os perfis cromatográficos dos extratos fornecem subsídios farmacobotânicos e químicos que auxiliam na identificação das espécies, contribuindo para o controle da qualidade de drogas vegetais e fitoterápicos. A análise de dez amostras comerciais demonstrou que somente uma amostra não estava adulterada.

Palavras-chave: Adulteração; Anatomia; Celastraceae; Controle da qualidade; Espinheira-santa; Microscopia.

ABSTRACT

The Celastraceae family consists of 100 genera and 1200 species distributed around the world, mainly in the tropics and subtropics. One of its main representatives is the genus *Monteverdia*, being the species *Monteverdia ilicifolia* (espinheira-santa) one of the most important of the genus due to its use in the traditional medicine. The main popular indication of the species is the use of leaf teas to treat gastritis and gastric ulcers, a treatment that has been scientifically proven. Due to the proof of traditional use, there was an increase in demand for this medicinal species, which occurred without a production planning. The unavailability of *M. ilicifolia* in commerce, associated with the similar morphology and the popular name given to the species *Monteverdia aquifolia*, *Citronella gongonha*, *Jodina rhombifolia*, *Sorocea bonplandii* and *Zollernia ilicifolia*, makes the practice of adulteration verified. These adulterations are not easily detected, as medicinal species are commonly sold in scratched, crushed or pulverized form. Among the pharmacopoeial methods used to detect adulterants in plant drugs are morphoanatomy, which evaluates the morphological and anatomical characters of the plant, and thin layer chromatography, which shows the chemical profile of extracts, standing out for being fast, efficient and low-cost methods. Considering the adulterations of *M. ilicifolia* with *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* and *Z. ilicifolia*, the objective was to analyze the leaf and stem anatomy of these species, using the usual microscopy techniques, as well as determining the chromatography profile of the extracts of these species and commercial samples by high performance thin layer chromatography, in order to provide microscopic and chromatographic data to support the quality control of plant drugs and herbals. The morphoanatomical features of leaves and stems and the chromatographic profiles of the extracts provide pharmacobotanical and chemical subsidies that help in the identification of species, contributing to the quality control of plant and herbal drugs. Analysis of ten commercial samples showed that only one commercial sample was unadulterated.

Keywords: Adulteration; Anatomy; Celastraceae; Espinheira-santa; Quality control; Microscopy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
1.1 OBJETIVO GERAL	11
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO DA LITERATURA	12
3.1 PLANTAS MEDICINAIS	12
3.2 CONTROLE DA QUALIDADE	13
3.2.1 Farmacobotânica	14
3.2.2 Cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE)	15
3.3 FAMÍLIA CELASTRACEAE R. BR.	16
3.4 GÊNERO <i>Monteverdia</i> A. RICH.	16
3.5 <i>Monteverdia ilicifolia</i> (MART. EX REISSEK) BIRAL	18
3.6 ESTUDOS DE OUTRAS ESPÉCIES	22
3.6.1 <i>Monteverdia aquifolia</i> (Mart.) Biral	22
3.6.2 <i>Citronella gongonha</i> (Mart) R.A. Howard	23
3.6.3 <i>Jodina rhombifolia</i> (Hook. & Arn.) Reissek	24
3.6.4 <i>Sorocea bonplandii</i> (Baill.) W.C. Burger <i>et al.</i>	25
3.6.5 <i>Zollernia ilicifolia</i> (Brongn.) Vogel	27
4 MATÉRIAS E MÉTODOS	29
4.1 MATERIAL VEGETAL	29
4.2 AMOSTRAS COMERCIAIS	30
4.3 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA DE LUZ	31
4.4 ANÁLISE HISTOQUÍMICA	31
4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	32
4.6 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR ENERGIA DISPERSIVA (EDX)	32
4.7 PESQUISA DE MATÉRIA ESTRANHA	32
4.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)	33
4.8.1 Reagentes, placa e equipamentos	33
4.8.2 Amostras e padrões e identificação	33
4.8.3 Determinação e validação do método de extração	34
4.8.3.1 Análise densitométrica	36

4.8.3.2 Análise de métodos – fase móvel	36
4.8.4 Análise dos extratos de <i>M. ilicifolia</i> e <i>M. aquifolia</i>	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 ANÁLISE MORFOANATÔMICA	38
5.1.1 Morfologia foliar	38
5.1.2 Anatomia foliar	41
5.1.2.1 Lâmina e nervura central	41
5.1.2.2 Anatomia do pecíolo	49
5.1.2.3 Anatomia caular	52
5.2 ANÁLISE HISTOQUÍMICA	55
5.3 ANÁLISE DE CRISTAIS	62
5.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)	66
5.4.1 Determinação do método de extração	66
5.4.1.1 Análise densitométrica	68
5.4.1.2 Análise de métodos – fase móvel	71
5.4.2 Análise dos extratos de <i>M. ilicifolia</i> e <i>M. aquifolia</i>	78
5.5 CONTROLE DA QUALIDADE DAS AMOSTRAS COMERCIAIS	81
5.5.1 Pesquisa da matéria estranha	81
5.5.2 Análise microscópica	83
5.5.3 Cromatografia em camada delgada em alta eficiência	84
6 CONCLUSÃO	89
REFERÊNCIAS	91

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é uma das formas mais antigas de práticas terapêuticas, objetivando-se a cura, prevenção e tratamento de enfermidades. Cada vez mais estudos visam conhecer os princípios ativos de origem vegetal com potencial farmacológico para a produção de novos medicamentos fitoterápicos (FIRMO *et al.*, 2011). Em se tratando da produção de fitoterápicos, a qualidade é imperativa e o controle da qualidade de drogas vegetais deve ser realizado em todas as etapas de produção de um produto tradicional fitoterápico ou um medicamento fitoterápico, iniciando-se com a identificação da espécie vegetal (MANFRON, 2021).

Os nomes populares são os mais conhecidos pela população e tem se mantido por muitos anos. Comumente, estão relacionadas as atividades farmacológicas, características morfológicas, cultura regional ou ainda origem geográfica da espécie. Não obstante, uma espécie medicinal pode ter vários nomes populares, bem como um nome popular pode ser dado a várias espécies diferentes. Dessa forma, o nome popular dificulta a identificação de uma espécie vegetal e pode facilitar a adulteração de drogas vegetais (MANFRON, 2021).

Além da nomenclatura comum, a morfologia similar de espécies vegetais também pode promover a adulteração de plantas medicinais. A indústria de fitoterápicos enfrenta sérios problemas decorrentes da adulteração por outras similares morfológicamente ou que possuem a mesma denominação popular. A adulteração de drogas vegetais prejudica a efetividade terapêutica das espécies vegetais medicinais, e em alguns casos, podendo levar à intoxicação. (BOCHNER *et al.*, 2012; MANFRON, 2021).

A família Celastraceae é objeto de estudo no ramo da adulteração (ALBERTON *et al.*, 2002; ALBERTON; FALKENBERG; FALKENBERG, 2002; COULAUD-CUNHA; OLIVEIRA; WAISSMANN, 2004). Um dos gêneros importantes dessa família é *Monteverdia* A. Rich., ao qual recentemente teve uma revisão taxonômica, baseada em análise molecular, evidenciando que várias espécies anteriormente classificadas como *Maytenus* Molina, na verdade pertencem ao gênero *Monteverdia*. (BIRAL, 2017).

Monteverdia ilicifolia (Mart. ex Reissek) Biral, anteriormente denominada de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, é conhecida na medicina tradicional como espinheira-santa, cancerosa, cancosa, coromilho-do-campo, erva cancerosa, espinho-de-deus, maiteno e salva-vidas (LORENZI; MATOS, 2002). Destaca-se o uso dessa espécie no tratamento de gastrite e úlceras gástricas (CARLINI, 1988; MARIOT; BARBIERI, 2007; FEITOSA FILHO, 2019; DE PAULA *et al.*, 2021). *M. ilicifolia* consta na relação Nacional de Plantas

Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) e o Ministério da Saúde pela Portaria 2.982 publicada em 2009, no seu anexo II, indica as formas de uso da espinheira-santa, sendo elas como cápsula, comprimido, emulsão, solução e tintura. (BRASIL, 2009).

Apresenta grande quantidade de taninos, substâncias com notórias atividades farmacológicas, que desempenham ações como atividade antioxidante, formação de complexos com macromoléculas e íons metálicos, promovendo uma camada protetora sobre a pele ou a mucosa, como no caso de úlceras gástricas, fazendo com que se tenha uma recuperação do local afetado, naturalmente (BRUNETON, 1991; MELLO; SANTOS, 2001).

Devido a eficácia e a popularidade de *M. ilicifolia*, o comércio dessa espécie medicinal aumentou nos últimos anos, sendo uma das mais comercializadas no estado do Paraná. A grande demanda de *M. ilicifolia* favorece as adulterações e substituições da droga no comércio, sendo alguns adulterantes conhecidos, a exemplo de *Monteverdia aquifolia* (Mart.) Biral, *Sorocea bonplandii* (Baill.) W.C. Burger *et al.*, *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek, *Citronella gongonha* (Mart.) R.A. Howard e *Zollernia ilicifolia* (Brongn.) Vogel. A adulteração de *M. ilicifolia* é facilitada devido as semelhanças morfológicas e o nome popular das espécies usadas como adulterantes. A identificação de espécies vegetais no comércio é dificultada, pois as drogas comumente, são comercializadas nas formas rasurada, triturada ou pulverizada (ALBERTON *et al.*, 2002; ALBERTON; FALKENBERG; FALKENBERG, 2002; COULAUD-CUNHA; OLIVEIRA; WAISSMANN, 2004; MARIOT; BARBIERI, 2006; ALONSO; DESMARCHELIER, 2007; GARCIA; OLIVEIRA JR, 2021).

Adicionalmente, o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2021) consideram *M. aquifolia* sinônimo de *M. ilicifolia*, contudo, são espécies diferentes (REFLORA, 2020a). Isso faz com que as duas espécies sejam comercializadas como sucedâneas devido as semelhanças morfológicas das folhas.

Considerando a nomenclatura tradicional e as similaridades morfológicas de *M. ilicifolia* com os adulterantes *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia* utilizados no comércio de drogas vegetais, objetivou-se comparar a microscopia e a histoquímica dessas espécies a fim de fornecer subsídios anatômicos e micromorfológicos para aplicação no controle da qualidade de drogas vegetais, plantas medicinais e fitoterápicos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos morfoanatômicos, histoquímicos e cromatográficos comparativos com as espécies *Monteverdia ilicifolia*, *Monteverdia aquifolia*, *Sorocea bonplandii*, *Jodina rhombifolia*, *Citronella gongonha* e *Zollernia ilicifolia*, bem como com amostras comerciais de *M. ilicifolia*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar anatomicamente e histoquimicamente folhas e caules de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*;

Analisar as características ultraestruturais no microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (FEG) e a composição química elementar dos cristais presentes nas espécies por espectroscopia dispersiva de raio X (EDX) de folhas e caules de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*;

Analisar por cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) os extratos de folhas de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*;

Verificar a presença dos marcadores botânicos e químicos nas amostras comerciais adquiridas no comércio de Ponta Grossa, Paraná;

Fornecer dados botânicos e químicos para o controle da qualidade de drogas vegetais e fitoterápicos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

A utilização de plantas medicinais é uma prática antiga, feita por civilizações com o intuito de cura e prevenção de doenças. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostraram que 65-80% da população de países subdesenvolvidos usam como forma única de tratamento de saúde básica (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005; FIRMO *et al.*, 2011). O comércio dessas plantas vem sendo realizada nos dias atuais por meio de farmácias e lojas de produtos naturais, nas quais se tornaram populares em países desenvolvidos devido ao apelo midiático para o consumo de produtos de origem vegetal (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

Atualmente, observa-se um aumento na pesquisa etnofarmacológica de plantas medicinais na busca da comprovação científica do uso terapêutico tradicional de espécies vegetais (ZARDO *et al.*, 2016; CARNEIRO *et al.*, 2020; MACHADO *et al.*, 2021a; MACHADO *et al.*, 2021b).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais na medicina tradicional é comum, pois desde tempos remotos, os indígenas e posteriormente os colonizadores as utilizavam amplamente para tratamento de diversas doenças, como alimentos e também como cosméticos, sendo que o conhecimento adquirido pelos antepassados foi passado para as gerações seguintes (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001). Devido ao crescente uso de produtos naturais, o país tem desenvolvido ações para ampliar a prática do uso e cuidados da saúde utilizando plantas medicinais. Como exemplo, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que estabelece diretrizes para o desenvolvimento de ações com os objetivos de garantir o acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, com o desenvolvimento de tecnologias e inovações, e também de processos envolvendo a produção e utilização sustentável e correta da biodiversidade brasileira (BRASIL, 2006).

Outro exemplo é a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), que contem plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS), apresentando 71 espécies em sua lista (BRASIL, 2009). Destaca-se também a evolução do registro e da prescrição de fitoterápicos com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26 de 2014 que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos

(BRASIL, 2014); o Memento de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (MFFB), publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que auxilia na orientação a prescrição de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2016), além do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (FFFB2) que contém 85 (oitenta e cinco) monografias de espécies medicinais e um total de 236 formulações indicadas (BRASIL, 2021).

3.2 CONTROLE DA QUALIDADE

A adulteração de drogas vegetais é comum não somente no Brasil, mas no mundo todo, e tem se mostrado um grande problema de saúde pública. A adulteração pode ser intencional ou não intencional, sendo que primeira ocorre quando se quer aumentar o lucro adicionando outras espécies de baixo ou nenhum valor comercial, ou aumentar uma ação farmacológica adicionando uma droga mais potente. A segunda acontece quando a planta é coletada por extrativismo, comum no Brasil, ou quando o coletor não tem o devido conhecimento da espécie vegetal a ser coletada. A adulteração é facilitada porque as drogas vegetais são comercializadas na forma rasurada ou pulverizada e frequentemente ocorrem quando a espécie utilizada como adulterante tem a mesma nomenclatura popular ou quando possui similaridade morfológica (MANFRON, 2021).

Existem vários exemplos clássicos de plantas medicinais que sofrem adulteração devido ao nome popular: *Echinacea angustifolia* DC. e *Parthenium integrifolium* L., ambos são conhecidos como “equinácea”, entretanto somente *E. angustifolia* é medicinal. Da mesma forma, *Actaea racemosa* L., popularmente conhecida como “cimicífuga”, é adulterada com espécies nativas da Ásia, como *Actaea pachypoda* Elliott, *Actaea podocarpa* DC., *Actaea rubra* (Aiton) Willd., *Actaea cimicifuga* L. O problema é que a composição química dos adulterantes é diferente, podendo ser tóxicos para uso humano (UPTON *et al.*, 2011).

No Brasil, há vários exemplos como as espécies conhecidas pelo nome popular de “anador” (AOYAMA; INDRIUNAS, 2015), “carqueja” (BUDEL *et al.*, 2015), “guaco” (ALMEIDA *et al.*, 2017), “maracujá” (WOSCH *et al.*, 2015) e “vassoura” (BOBEK *et al.*, 2016). Nesse caso, as espécies são usadas indistintamente pela população. Por outro lado, uma única espécie pode apresentar diversos nomes populares como é o caso de *Piper amalago* L., conhecida como “jaborandi-manso”, “jaborandi-falso” e “jaborandinhandi” (SANTOS *et*

al., 2015) e *Schinus molle* L., popularmente chamada de “aroeira”, “aroeira- salsa”, “periquita”, “anacauíta” e “molho” (MACHADO *et al.*, 2018).

3.2.1 Farmacobotânica

A Farmacobotânica pode ser considerada uma das áreas da Farmacognosia que estuda espécies vegetais de valor econômico como as plantas medicinais, alimentares e/ou tóxicas. Frequentemente, as espécies medicinais são comercializadas fragmentadas ou pulverizadas. Nesse sentido, a Farmacobotânica evidencia marcadores botânicos que auxiliam na identificação da matéria-prima vegetal. Dentre os procedimentos utilizados para essa finalidade, encontram-se a análise organoléptica, a morfologia externa e a microscopia que são preconizadas pela Farmacopeia brasileira (MANFRON, 2021).

Em se tratando de drogas vegetais comercializadas, na maioria das vezes a análise morfológica não é diagnóstica e a análise organoléptica é subjetiva. Portanto, as análises microscópicas são indispensáveis, pois fornecem importantes marcadores botânicos de identificação do vegetal. As características microscópicas são especialmente valiosas para a análise de materiais vegetais secos, cujas características não são drasticamente alteradas em relação ao material fresco.

A análise microscópica mostra-se eficiente, pois o processo de secagem e fragmentação das plantas não resulta na perda das características microscópicas mais relevantes. Nesse contexto, as características anatômicas são as mais estáveis da planta quando se trata de identificação e na busca por adulterantes e substituintes. A microscopia mostra-se valiosa também na detecção de material inorgânico aderido à matéria-prima vegetal, como a presença de areia, pedras e terra, bem como material orgânico estranho à droga vegetal, como partes da mesma planta ou de plantas diferentes, pedaços de insetos, fezes de animais e pêlos de roedores. Adicionalmente, as análises microscópicas utilizam pequenas quantidades de material para serem realizadas, além de ser relativamente rápidas e de baixo custo. Entretanto, requer um bom conhecimento de anatomia de plantas e habilidade para seccionar o vegetal, permitindo uma boa visualização estrutural dos elementos botânicos (MANFRON, 2021).

3.2.2 Cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE)

A cromatografia é um processo físico-químico de análise e identificação que consiste na separação de componentes em duas fases imiscíveis, tendo uma fase móvel e uma fase estacionária, sendo essa metodologia amplamente utilizada em estudos de componentes químicos em espécies vegetais (PERES, 2002). Rotineiramente, a cromatografia em camada delgada (CCD) é feita em laboratórios de pesquisa e de controle de qualidade utilizando a sílica gel como fase estacionária, pois é uma metodologia relativamente de fácil manuseio e de baixo custo.

Na procura de um método ainda mais rápido, a cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) surgiu com uma proposta de unir a facilidade e eficiência da CCD com algo mais ágil. A CCDAE É um método de impressão digital química, podendo ser usado como uma ferramenta para avaliação rápida da autenticidade de matérias primas vegetais sendo semiautomática ou totalmente automatizada (KRÜGER et al., 2013; RAMAN et al., 2018).

Na CCDAE placa de cromatografia é o elemento central que é movido através das etapas individuais do processo. Em cada etapa do processo, os parâmetros podem ser ajustados à tarefa analítica específica. Quanto maior a exigência no resultado analítico final, maior é o nível de automação necessário. A aplicação de amostras e padrões é o primeiro passo no fluxo de trabalho dessa técnica e afeta significativamente a qualidade do resultado ao final do processo. A escolha da técnica e do dispositivo de aplicação depende dos requisitos de precisão, volumes de amostra, número de análises e grau de automação desejado. A aplicação de bandas pela técnica de *spray-on* permite a aplicação ideal das amostras. As zonas iniciais na forma de bandas estreitas garantem a melhor resolução (CAMAG, 2022).

Muitas farmacopeias internacionais preconizam o uso desta técnica, entretanto a Farmacopeia brasileira ainda traz nas monografias das espécies medicinais, a cromatografia em camada delgada, além da cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia à líquido de alta eficiência (CLAE) como métodos cromatográficos usuais para o controle da qualidade de matérias primas vegetais (BRASIL, 2019).

3.3 FAMÍLIA CELASTRACEAE R. BR.

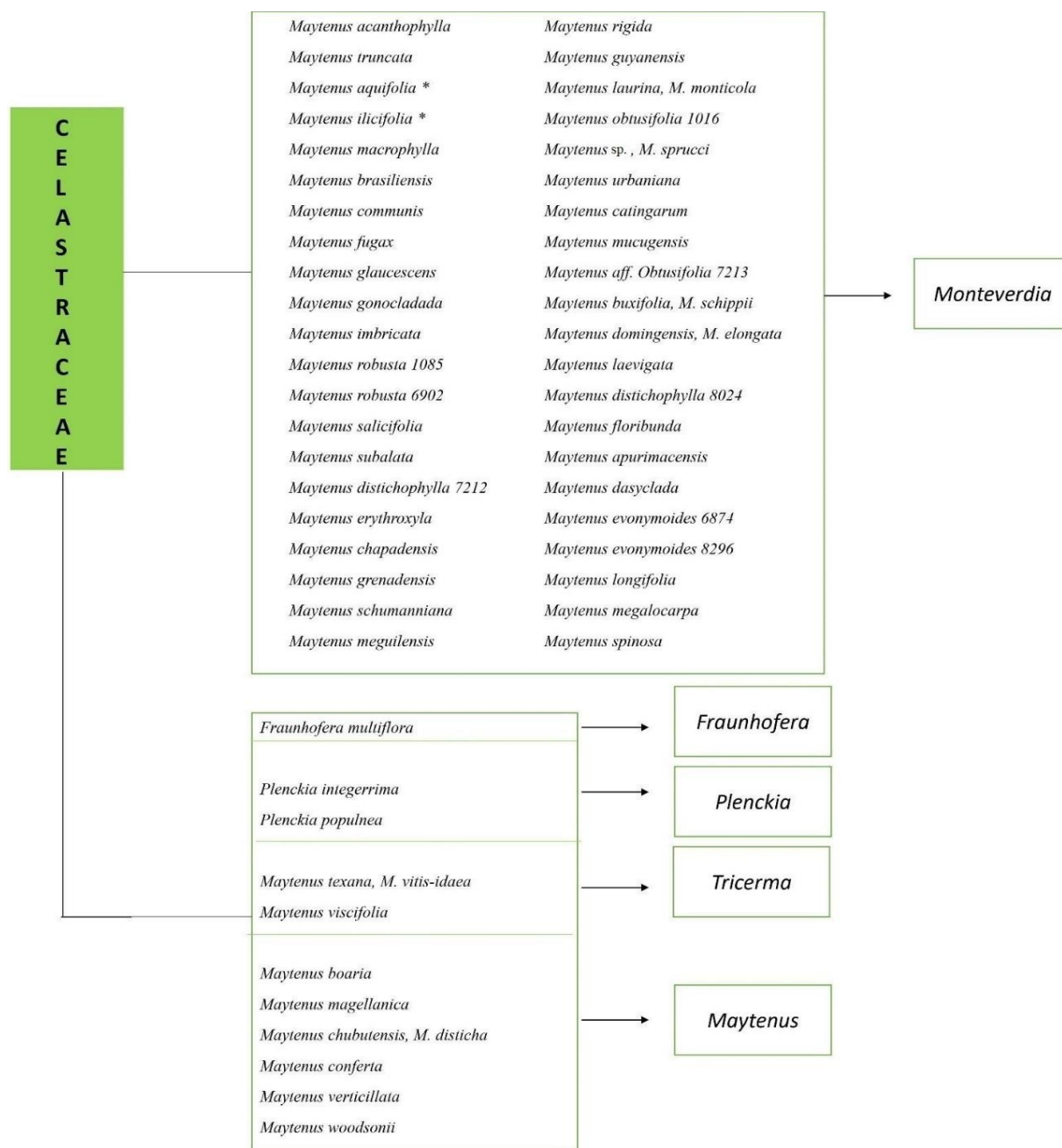
A família Celastraceae possui cerca de 100 gêneros e 1200 espécies e é encontrada em todo o mundo, principalmente nos trópicos e subtropicais (SIMMONS, 2004). É dividida em 5 subfamílias, Celastroideae, Hippocrateoideae, Salacioideae (todas encontradas no território brasileiro), Parnassioideae e Stackhousioideae. (JOFFILY, 2002; LOMBARDI; BIRAL, 2016). Estão presentes em todos os biomas brasileiros sendo que 35 espécies são endêmicas das 48 nativas do país. As espécies dessa família são geralmente árvores, arbustos, subarbustos, ervas e lianas (REFLORA, 2020b). Apresentam folhas alternas de margem inteira ou serrilhada, sendo que em muitas espécies são observados vários espinhos (NÚÑEZ RIVAS, 2004; SANTOS, 2008).

Estudos fitoquímicos indicaram a presença de flavonoides tetraglicosilados, taninos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e alcaloides como metabólitos secundários que aparecem com frequência (NÚÑEZ RIVAS, 2004; VISTUBA, 2014). A família Celastraceae é reconhecida na área medicinal pois muitas espécies, principalmente do gênero *Monteverdia*, que vem sendo cada vez mais estudada por suas atividades biológicas, como antiulcerogênica, antimicrobiana, cicatrizante, antioxidante, antitumoral, antigástrica, entre outras (CARLINI, 1988; BUFFA *et al.*, 2004; MARIOT; BARBIERI, 2007; SANTOS *et al.*, 2011).

3.4 GÊNERO *Monteverdia* A. RICH.

Um dos mais importantes gêneros de Celastraceae é *Monteverdia*. Recentemente, baseado na biologia molecular e sistemática filogenética, espécies de *Maytenus* foram reclassificadas em *Maytenus*, e *Monteverdia*, sendo que *Tricerna* foi separada de *Maytenus* e *Fraunhoferia* e *Plenckia* continuaram na mesma classificação. Portanto, 123 espécies tiveram o nome científico alterado e realocado, como é o caso de *Maytenus aquifolia* Mart. que passou a ser sinônimo de *Monteverdia aquifolia* (Mart.) Biral; *Maytenus rigida* Mart. à *Monteverdia rigida* (Mart.) Biral; bem como *Maytenus robusta* Reissek passou à denominação científica de *Monteverdia robusta* (Reissek) Biral (BIRAL, 2017), conforme demonstrado na Figura 1.

Figura 1 - Realocação de gêneros dentro da família Celastraceae



Fonte: ADAPTADO de BIRAL, 2017.

O gênero *Montevertidia* é reconhecido pela presença de folhas simples com estípulas inconspícuas; inflorescências cimosas; flores pequenas, esverdeadas, geralmente pentâmeras. São encontradas em sua maioria em diversos biomas brasileiros, como por exemplo, a Floresta Amazônica, Floresta Atlântica, Cerrado e Caatinga (CARVALHO- OKANO, 1992).

Pela similitude morfológica, espécies do gênero são conhecidas na medicina tradicional como “espinheira-santa”, entre elas, *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* recebem a mesma denominação (MARIOT; BARBIERI, 2007). O nome popular é um dos fatores que facilita a

prática de adulteração em plantas medicinais, o que preocupa, uma vez que espécies conhecidas como “espinheira-santa” são amplamente utilizadas e comercializadas no Brasil (MANFRON, 2021).

Várias espécies de *Monteverdia* vem chamando cada vez mais a atenção de pesquisadores, devido aos compostos químicos presentes nas folhas das espécies desse gênero, principalmente os taninos e os terpenos. Esses compostos têm apresentado atividades biológicas, a exemplo de antitumoral de *Monteverdia cuzcoina* (Loes.) Biral (GONZALEZ *et al.*, 2000); antileishmania e citotóxica de *Monteverdia macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Biral (PEREZ-VICTORIA *et al.*, 1999; CHÁVEZ ORELLANA *et al.*, 2000) anti-inflamatória e antidiarreica de *Monteverdia rigida* (Mart.) Biral (SANTOS *et al.*, 2007), antioxidante, gastroprotetora e antiulcerogênica de *M. ilicifolia* (VERVLOET, 2003; NEGRI *et al.*, 2007).

3.5 *Monteverdia ilicifolia* (MART. EX REISSEK) BIRAL

Monteverdia ilicifolia (sin. *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) Biral, popularmente conhecida como espinheira-santa, cancerosa, cancrosa, coromilho-do-campo, erva cancerosa, espinho-de-deus, maiteno e salva-vidas (LORENZI; MATOS, 2002), é uma planta originária da América do Sul, habitando os biomas: Pampa (principalmente), Cerrado e Floresta Atlântica, estando mais representada na Região Sul do Brasil (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). Prefere solos úmidos em ambientes ciliares (MAZZA *et al.*, 2011), tendo a chamada plasticidade fenotípica, que é quando a planta é capaz de crescer sob diversas condições de fertilidade e solos muito úmidos com diferentes quantidades de luz fornecidas (RADOMSKI; BULL, 2010).

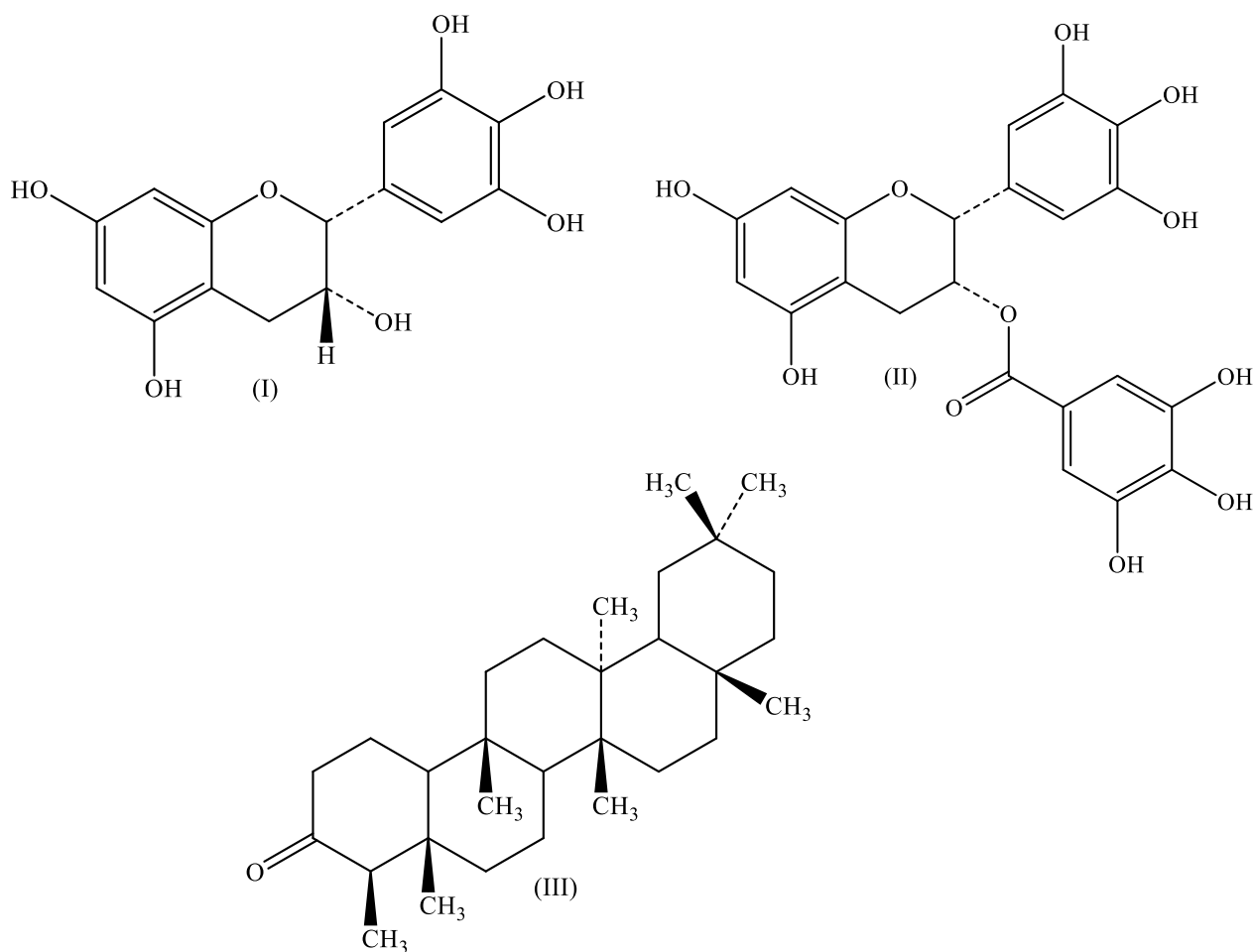
É um arbusto contendo ramos angulosos, tetra a multicarenados.; lâmina com aspecto coriáceo, 2,2-8,9 cm de comprimento e 1,1-3 cm de largura, elíptica a estreitamente elíptica, ápice agudo a acuminado contendo espinho apical, mucronado a aristado, base cuneada a obtusa, margens espinescentes, espinhos um a vários, distribuídos regular ou irregularmente, muitas vezes concentrados na metade superior da lâmina, nervura primária saliente em ambas as faces, nervuras secundárias subsalientes na face abaxial. O pecíolo mede de 0,2-0,5 cm (REFLORA, 2020a). Na Figura 2 está representada *M. ilicifolia* em exsiccata e no hábito.

Utilizada na medicina tradicional principalmente para tratar gastrite e úlceras, *M. ilicifolia* é consumida na forma de chá que corresponde à infusão das folhas. Também é reconhecido seu uso juntamente com erva-mate no chimarrão (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) para combater a azia e a gastrite que podem desencadear os sintomas quando se utiliza a bebida (CARLINI, 1988; MARIOT; BARBIERI, 2007, DE PAULA *et al.*, 2021).

Estudos químicos evidenciaram a presença de flavonoides, triterpenos e taninos, estes responsáveis pela ação antigástrica e antiulcerogênica (CARLINI, 1988; MARIOT; BARBIERI, 2007; LOPES *et al.*, 2010). Os principais ativos responsáveis por essas ações são mostrados na Figura 3, sendo eles os taninos epigalocatequina (I) e epigalocatequina-3-galato (II), com efeito sinérgico entre o triterpeno friedelina (III) e o fridenelol, do óleo essencial, sendo que as estruturas foram desenhadas utilizando o programa *ChemDraw® Professional 15.0* (MING *et al.*, 1998; PEREIRA *et al.*, 1993).

Ainda não é conclusivo o principal mecanismo de ação dos taninos de *M. ilicifolia*, pois mais de um mecanismo foi evidenciado. Um estudo demonstrou que a epigalocatequina atua no mecanismo de inibição competitiva da ATPase de membrana potássio dependente das células da mucosa gástrica, as quais secretam ácido clorídrico (HCl) no estômago (CARLINI; FROCHTENGARTEN, 1988). Outro estudo comprovou a inibição não competitiva de canais de potássio (K^+) causado pela epicatequina (MURAKAMI *et al.*, 1992). Ainda, outro trabalho relatou que o extrato aquoso liofilizado de *M. ilicifolia*, inibe a secreção gástrica pela atividade antagonista em receptores de histamina (H_2), mecanismo similar realizado pelo fármaco cimetidina (FERREIRA *et al.*, 2004; FONSECA *et al.*, 2007).

Figura 3 - Estruturas da epigallocatequina (I); epigallocatequina-3-galato (II); friedelina (III).



Fonte: O autor.

A obtenção de espinheira-santa, na maior parte, se dá pelo extrativismo. Nesse sentido, *M. ilicifolia* é espécie alvo de adulterações e substituições com várias espécies, a exemplo de *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*. Essas práticas são habituais podendo ser intencionais ou não, sendo na maioria das vezes como forma de se aumentar o lucro durante a comercialização das drogas (MARIOT; BARBIERI, 2006; GARCIA; OLIVEIRA JR, 2021; MANFRON, 2021).

Muitos estudos trazem *M. aquifolia* como “espinheira-santa” (GONZALEZ *et al.*, 2001; JACOMASSI; MACHADO, 2003; MARIOT; BARBIERI, 2007; CALOU *et al.*,

2014) entretanto, a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019), indica que a droga vegetal consiste de folhas secas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, contendo no

mínimo, 2,0% de taninos totais, expressos em pirogalol, e, no mínimo, 0,28% de epicatequina. Nessa obra o nome científico ainda não foi atualizado.

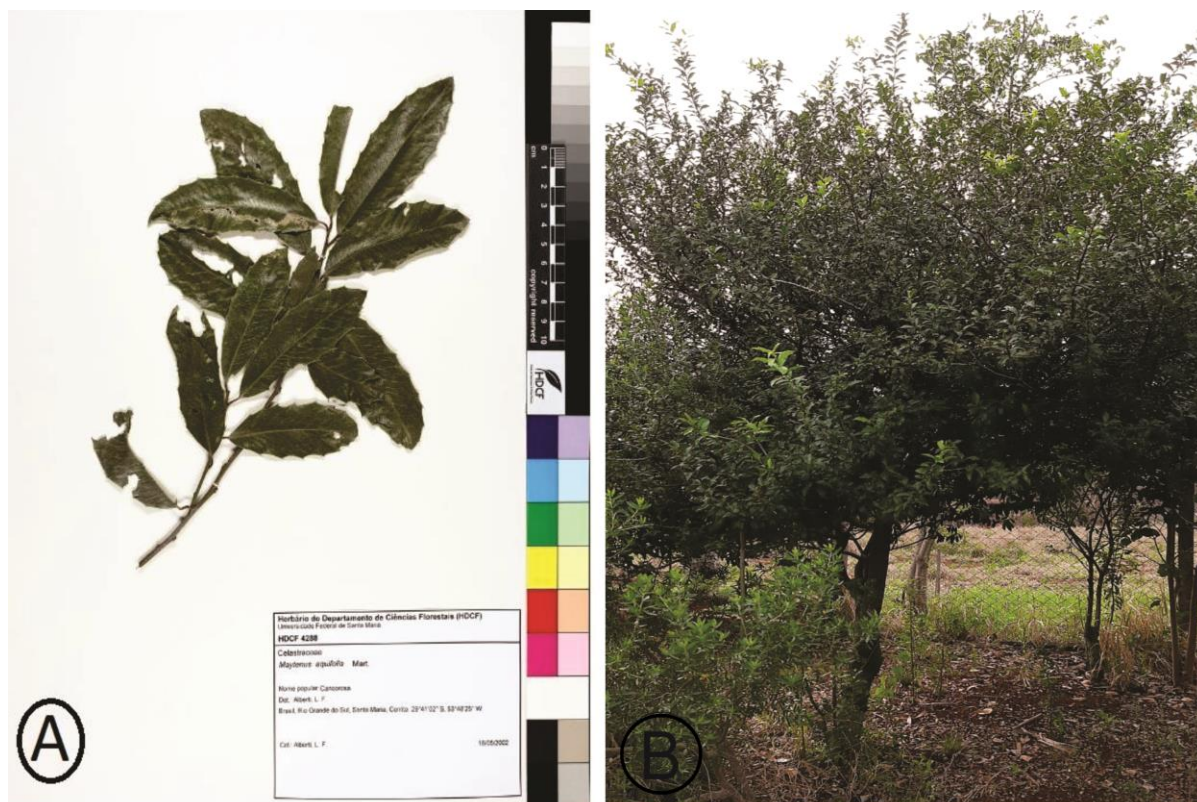
3.6 ESPÉCIES CONSIDERADAS ADULTERANTES

3.6.1 *Monteverdia aquifolia* (Mart.) Biral

Assim como *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, por meio de estudos de biologia molecular, foi realocada para o gênero *Monteverdia*. (BIRAL, 2017). É uma árvore de até 15 m de altura com folhas dispostas de forma dísticas com aspecto coriáceo e margem espinescente podendo apresentar de seis a doze espinhos, apresentando tamanho de 5-10 cm de comprimento e 2-3 cm de largura, elípticas a oblongo-elípticas, ápice agudo a acuminado contendo espinho apical, base aguda a obtusa e pecíolo medindo de 0,4-0,7 cm. Não é endêmica no Brasil, sendo predominante na região Sul e Sudeste do Brasil (REFLORA, 2020c).

Monteverdia aquifolia e *M. ilicifolia* apresentam folhas morfologicamente similares, e da mesma forma apresentam perfil químico semelhante, sendo que os triterpenos 3 β -friedelanol, friedelina (friedelano) e epigallocatequina são encontrados em ambas as espécies (CORSINO *et al.*, 2000, 2003). Na Figura 4 está representada *M. aquifolia* na exsicata e no hábito.

Figura 4 - *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae). A. Espécime herborizado; B. Espécie no habitat.



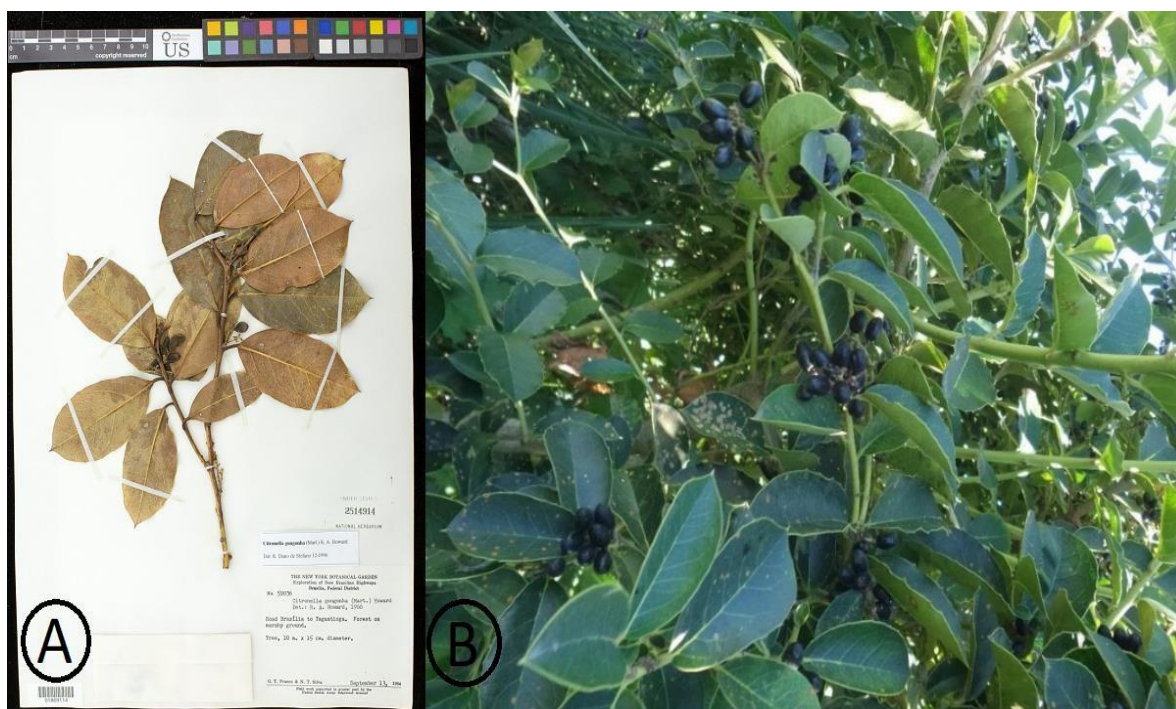
Fonte: A. (REFLORA, 2020c).
B. O autor.

3.6.2 *Citronella gongonha* (Mart) R.A. Howard

Essa espécie pertence à família Cardiopteridaceae, apresentando-se como árvore, com folhas subcoriáceas de comprimento de 7-12 cm e 2,5-6 cm de largura, com ápice mucronado a cuspidado. Está distribuída geograficamente pelas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do Brasil, não sendo endêmica. Seus nomes populares são congonha, congonha-de-bugre, congonha-do-sertão, congonha-falsa, erva-de-anta, falso-mate, inhanê e yapon (REFLORA, 2020d). O nome de falso-mate ocorre pois é utilizada como substituta da erva-mate (*I. paraguariensis*) (SCHORI, 2016). A espécie é encontrada principalmente em solos hidromórficos (SILVA *et al.*, 2007).

Estudos morfológicos e de análise biológica são escassos, servindo de alerta para o controle de qualidade de drogas vegetais. Na Figura 5 está representada *C. gongonha* na exsicata e no hábito.

Figura 5 - *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae). A. Espécime herborizado; B. Espécie no habitat.



Fonte: A. (VIRTUAL HERBARIA, 2004).

B. (DUARTE C.I, 2020).

3.6.3 *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek

Espécie vegetal da família Santalaceae, sendo a única espécie do gênero. Apresenta-se na forma de árvore, com folhas alternas contendo acúleos em cada ângulo, característica esta que justifica o nome popular de cancorosa de três pontas. Não é endêmica no Brasil, ocorrendo no Sul do país (Rio Grande do Sul e Santa Catarina) (REFLORA, 2020e).

Foram identificados vários metabólitos secundários na espécie, dentre estes, alcaloides, taninos, flavonoides e triterpenos (HOPKINS; CHISHOLM.; CODY, 1969; SPITZER *et al.*, 1994; ALICE *et al.*, 1991; CARABALLO DELA PEÑA, 2015).

Um estudo demonstrou que administração oral do extrato aquoso e hidroetanólico de folhas de *J. rhombifolia* diminuiu o índice de úlcera gástrica em ratos. Por meio da cromatografia líquida em coluna (CLC), observou-se a presença de C- glicosilflavonoides, todavia o mecanismo da atividade anti-ulcerogênica não foi elucidado (MONTANHA *et al.*, 2009). Atividade antibacteriana também foi evidenciada em extratos aquoso metanólico de folhas de *J. rhombifolia* (SOBERÓN *et al.*, 2014), além das atividades inseticida (SOARES, 2013), antidiarreica, antiespasmódica (TEVES *et al.*, 2020), citotóxica (BEIRA, 2000) e

antiproliferativa (NACHTIGAL, 2011). Na Figura 6 está representada *J. rhombifolia* na exsicata e no hábito.

Figura 6 - *Jodina rhombifolia* (Santalaceae). A. Espécime herborizado; B. Espécie no habitat.



Fonte: A., B. (POWO, 2021).

3.6.4 *Sorocea bonplandii* (Baill.) W.C. Burger *et al.*

Sorocea bonplandii é uma espécie vegetal pertencente à família Moraceae que se apresenta nas formas de árvore. Ocorre nas regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste do Brasil, embora não seja endêmica no país. Seus nomes populares são sorocaba, soroco e mata-olho. As folhas são simples, alternas dísticas, com aspecto subcoriáceo, contendo acúleos e medem de 5-20 cm de comprimento e 2-5 cm de largura, apresentam ápice acuminado a cuspidado contendo espinho apical, base aguda a obtusa, margens espinescentes, contendo de nove a dezenove espinhos. Vários estudos fitoquímicos e farmacológicos foram desenvolvidos, constatando a presença de flavonoides que desempenham ações analgésicas e antiulcerogênicas (ALICE *et al.*, 1995; GONZALEZ *et al.*, 2001; REFLORA, 2020f). Foram encontrados triterpenos pentacíclicos derivados do oleano, ursano e lupano nos extratos metanólico e hexânico de folhas de *S. bonplandii* (ANDRADE; VILEGAS, 1998).

Um estudo demonstrou que *S. bonplandii* tem grande potencial para o manejo e conservação da Floresta Atlântica pela alta diversidade e estabilidade genética populacional da espécie, servindo de manejo florestal sustentável (BITTENCOURT *et al.*, 2007).

Vários estudos demonstram que *S. bonplandii* é amplamente utilizada como adulterante na comercialização da espinheira-santa. Mesmo sendo de outro gênero, a morfologia da folha é semelhante, passando despercebida pela população que consome produtos com o nome de espinheira-santa. Um estudo demonstrou por meio de Cromatografia de Camada Delgada (CCD), que em um total de 8, 5 amostras de *M. ilicifolia* estavam contaminadas por *S. bonplandii* (ALBERTON, 2002). Na Figura 7 está representada *S. bonplandii* na exsicata e no hábito.

Figura 7 - *Sorocea bonplandii* (Moraceae). A. Espécime herborizado; B. Espécie no habitat.



Fonte: A., B. (POWO, 2021).

3.6.5 *Zollernia ilicifolia* (Brongn.) Vogel

Zollernia ilicifolia é uma árvore pertencente à família Fabaceae e que atinge de 5 a 20 metros de altura. Apresenta folhas simples coriáceas, elíptica a oblongo-elípticas com cerca de 8-14 cm de comprimento e 3-8 cm de largura, com ápice acuminado a mucronado, base obtusa, margens espinoscentes contendo de seis a doze espinhos. Distribuída nos biomas Caatinga, Cerrado e Floresta Atlântica, é encontrada principalmente nas regiões nordeste, sudeste e sul do Brasil, não sendo endêmica no país. Conhecida popularmente com os nomes de laranjeira-do-mato, mossetaiba, mocitaiba, pau-de-jantar, pau-santo e pitomba- preta (REFLORA, 2020g). Está representada na Figura 8 na exsicata e no hábito.

Um estudo demonstrou atividade antiulcerogênica e analgésica do extrato aquoso metanólico de folhas de *Z. ilicifolia* quando induzida por indometacina/betanecol em camundongos. O mesmo não foi visto quando induzida por etanol. Contudo o estudo também mostrou que o extrato causou morte de camundongos, além de outros sintomas, como por exemplo, irritabilidade, frequência respiratória, ptose palpebral, perda do reflexo corneano e diminuição da atividade motora (GONZALEZ *et al.*, 2001).

Outro estudo indicou que o extrato metanólico de folhas de *Z. ilicifolia* apresentou um glicosídeo cianogênico, a zierina. A presença desse composto demonstra preocupação, uma vez que é sabido que muitos glicosídeos cianogênicos são tóxicos, podendo levar o indivíduo à morte (VETTER, 2000; COELHO *et al.*, 2003). Além de serem empregadas como adulterantes de espinheira-santa, como demonstrado em alguns estudos, *Z. ilicifolia* também é utilizada pela população em forma de decocto para tratar diversas enfermidades, como por exemplo, artrite, dores abdominais e lombares, tumor de esôfago e úlceras (ALBERTON *et al.*, 2002; TOMAZI *et al.*, 2014).

Figura 8 - *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae). A. Espécime herborizado; B. Espécie no habitat.



Fonte: A. (REFLORA, 2020g).
B. (POWO, 2021).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

Amostras de partes aéreas floridas de espécies de *Monteverdia ilicifolia*, *Monteverdia aquifolia*, *Sorocea bonplandii*, *Jodina rhombifolia*, *Citronella gongonha* e *Zollernia ilicifolia* foram coletadas em cidades na região Sul do Brasil. As folhas foram fotografadas ainda frescas para uma melhor identificação e visibilidade. As amostras de *M. ilicifolia* (1-4), *M. aquifolia*, *J. rhombifolia* e *S. bonplandii* foram coletadas pelo taxonomista Dr. Gustavo Heiden, pesquisador de botânica e recursos genéticos e curador do Herbário da Embrapa Clima Temperado (ECT). As amostras de *C. gongonha* e *Z. ilicifolia* foram coletadas pela Profa. Dra. Jane Manfron, pesquisadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Amostras com o nome de *M. ilicifolia* UEPG e *M. aquifolia* UEPG foram coletas pelo autor do trabalho no horto medicinal do curso de Farmácia, localizado da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). O acesso ao material botânico foi autorizado e licenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/SISGEN), registrado sob o número AE6D3C6. As amostras vegetais foram submetidas à confecção de exsicata, identificadas por especialistas e depositadas em Herbário. Códigos locais e códigos de registro, local e coordenadas das espécies de espinheira-santa estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1. Informações sobre as coletas das espécies vegetais.

AMOSTRA	Código*	Local	COORDENADAS
<i>M. ilicifolia</i> 1	BGE 59	Encruzilhada do Sul - RS	30° 32' 22.995" S 52° 31' 21.868" W
<i>M. ilicifolia</i> 2	BGE 104	Esmeralda - RS	28° 3' 12.000" S 51° 11' 30.970" W
<i>M. ilicifolia</i> 3	BGE 105	Vacaria - RS	28° 30' 10.824" S 50° 56' 13.896" W
<i>M. ilicifolia</i> 4	BGE 107	Esmeralda - RS	28° 3' 12.000" S 51° 11' 30.970" W
<i>M. ilicifolia</i> UEPG	-	Ponta Grossa - PR	25° 5' 40.723" S 50° 6' 9.667" W
<i>M. aquifolia</i>	BGES 106	Esmeralda - RS	28° 3' 20.000" S 51° 5' 38.000" W
<i>M. aquifolia</i> UEPG	-	Ponta Grossa - PR	25° 5' 40.723" S 50° 6' 9.667" W
<i>J. rhombifolia</i>	ECT0008978	Pelotas - RS	31° 37' 18.498" S 52° 31' 28.524" W
<i>S. bonplandii</i>	ECT0008979	Pelotas - RS	31° 37' 18.221" S 52° 31' 8.483" W
<i>C. gongonha</i>	UPCB 30838	Curitiba - PR	25° 42' S 49° 27' W
<i>Z. ilicifolia</i>	MBM 568533	Antonina - PR	25° 42' S 48° 71' W

*Código local ou código de registro.

Fonte: O autor.

4.2 AMOSTRAS COMERCIAIS

Nove amostras de drogas vegetais comercializadas com o nome de espinheira-santa foram obtidas no comércio farmacêutico no município de Ponta Grossa, Paraná no mês de fevereiro de 2021, sendo três delas a granel e seis em embalagens de diferentes pesos. Uma das amostras de embalagem era comercializada em sachês prontos para chá e outra vendida em forma de cápsulas. Uma amostra foi adquirida no comércio online dos Estados Unidos no mês de setembro de 2021 na forma de cápsulas.

As amostras vegetais foram identificadas por números sequenciais de acordo com o momento de obtenção das amostras, sendo os números de “AM1” a “AM10”.

4.3 PREPARAÇÃO PARA A MICROSCOPIA DE LUZ

Partes vegetativas aéreas das espécies *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia* foram fixadas em solução de FAA 70 (JOHANSEN, 1940) por cinco dias e lavadas em água destilada. Posteriormente, as espécies foram armazenadas em etanol 70% (BERLYN; MIKSCHE, 1976). O material vegetal foi seccionado com lâminas de barbear, à mão livre, nos sentidos transversal e longitudinal e submetidos à coloração de azul de astra e fucsina básica (ROESER, K. R., 1972) e de azul de toluidina (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964). As secções foram, então, montadas em lâminas de vidro com uma gota de glicerina diluída a 50% (BERLYN; MIKSCHE, 1976) e para lutagem foi utilizado esmalte incolor (BEÇAK; PAULETE, 1976).

Para a análise das características epidérmicas da folha, as espécies foram mergulhadas em solução de hipoclorito de sódio a 50% (alvejante doméstico) até ficarem translúcidos. As amostras foram lavadas com água destilada e coradas com safranina (FUCHS, 1963).

As matérias-primas adquiridas no comércio de Ponta Grossa também foram submetidas à análise microscópica.

4.4 ANÁLISES HISTOQUÍMICAS

Foram realizados cortes transversais, à mão livre, utilizando lâminas de barbear do material vegetal previamente fixado. As principais classes de metabólitos secundários foram investigadas utilizando os seguintes reativos: floroglucina clorídrica para identificação de tecidos lignificados (SASS, 1951), Sudam III (FOSTER, 1949) e Sudam Black (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983) para verificar a presença de substâncias lipofílicas, solução de cloreto férrico a 2% (JOHANSEN, 1940) e dicromato de potássio a 10% (GABE, 1968) para demonstração de compostos fenólicos, vanilina clorídrica para detecção de taninos condensados (GARDNER, 1975), azul brilhante de Coomassie para detecção de proteínas (FISHER, 1968), vermelho de Rutênio para detecção de pectinas e mucilagem (GREGORY; BAAS, 1989) e lugol a 1% para identificar o amido (BERLYN; MIKSCHE, 1976).

Os resultados da microscopia de luz e dos testes histoquímicos foram analisados através de fotomicrografias usando uma máquina fotográfica acoplada ao microscópio ótico

(modelo Olympus CX 31 com unidade de controle C 7070) do laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para as análises de MEV, as amostras fixadas em FAA foram previamente desidratadas em uma série crescente de soluções de etanol (70%, 80%, 90% e 100%). Após essa etapa, as amostras foram submetidas ao ponto crítico em aparelho Balzers CPD-030, utilizando CO₂ líquido. As amostras totalmente secas foram fixadas em stubs de alumínio com fitas adesivas de dupla face e depois revestidas com ouro, usando um aparelho de revestimento por pulverização Quorum SC7620 para tornar as amostras condutivas. As amostras foram analisadas e fotografadas usando um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo Mira 3 Tescan em modo de alto vácuo a uma voltagem de aceleração de 15 kV.

4.6 ESPECTROSCOPIA DE RAO X POR ENERGIA DISPERSIVA (EDX)

Microanálises qualitativas e quantitativas por raios X foram realizadas em cristais selecionados aleatoriamente e usando um detector EDX ligado ao MEV. As análises MEV e EDX foram realizadas no laboratório multiusuário c- LABMU da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

4.7 PESQUISA DE MATÉRIA ESTRANHA

As nove amostras comerciais foram submetidas a uma triagem separando as folhas de outros órgãos e sujidades, visando à identificação de materiais estranhos. O material amostrado foi disposto sobre uma superfície plana, onde foi examinado, retirados os fragmentos e resíduos estranhos, seguindo-se cálculo da porcentagem de elementos estranhos em relação ao total em massa descrito no rótulo (GIL *et al.*, 2005).

4.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)

4.8.1 Reagentes, placa e equipamentos

Para as análises dos extratos de todas as espécies do estudo e também das amostras comerciais por CCDAE foram utilizados os reagentes metanol, água, ácido fórmico, acetato de etila, ácido sulfúrico e etanoato de butila da Sigma-Aldrich, ácido acético glacial da Supelco e anisaldeído da ACROS. A placa utilizada foi a *HPTLC glass 20x10 cm, Si 60 F₂₅₄* da Merck. Os equipamentos utilizados foram o amostrador automático TLC 4, câmara automática de desenvolvimento ADC 2, visualizador, câmara de saturação, derivatizador, placa de aquecimento e scanner 4 da CAMAG, vórtex da VWR e centrífuga da SAMPLE Scientific. Foi utilizado também o UHM (Universal HPTLC Mix), que é uma mistura de substâncias desenvolvido pela CAMAG para assegurar a garantia da qualidade na execução da CCDAE.

4.8.2 Amostras e padrões de identificação

A Tabela 2 apresenta informações do preparo dos extratos de todas as espécies do estudo coletadas em diferentes locais, porcentagens de contaminação crescente em *M. ilicifolia* com *M. aquifolia* (20%, 30% e 50%) e das dez amostras comerciais.

Tabela 2 – Informações gerais de amostras e padrões de identificação utilizados nas análises por cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

Descrição das amostras	Data de aquisição
AM ₁₀ , 450 mg x 100 cápsulas	03/09/2021
<i>Monteverdia ilicifolia</i> 1	19/11/2021
<i>Monteverdia ilicifolia</i> 2	19/11/2021
<i>Monteverdia ilicifolia</i> 3	19/11/2021
<i>Monteverdia ilicifolia</i> 4	19/11/2021
<i>Monteverdia aquifolia</i>	19/11/2021
<i>Sorocea bonplandii</i>	19/11/2021
<i>Citronella gongonha</i>	19/11/2021
<i>Jodina rhombifolia</i>	19/11/2021
<i>Zollernia ilicifolia</i>	19/11/2021
AM ₁ , 30 g, folhas	19/11/2021
AM ₂ , 500 mg x 60 cápsulas	19/11/2021
AM ₃ , 20 g folhas	19/11/2021

AM ₄ , 10 g x sachê	19/11/2021
AM ₅ , 10 g folhas	19/11/2021
AM ₆ , 100 g folhas	19/11/2021
AM ₇ , 30 g folhas	19/11/2021
AM ₈ , 100 g folhas	19/11/2021
AM ₉ , 30 g folhas	19/11/2021
<i>M. aquifolia</i> MA1	16/12/2021
<i>M. aquifolia</i> MA2	16/12/2021
<i>M. aquifolia</i> MA3	16/12/2021
<i>M. ilicifolia</i> M.I 1	16/12/2021
<i>M. ilicifolia</i> M.I 2	16/12/2021
<i>M. ilicifolia</i> M.I 3	16/12/2021
M.I + M.A 20%	16/12/2021
M.I + M.A 30%	16/12/2021
M.I + M.A 50%	16/12/2021

Fonte: O autor.

Foram utilizados padrões e reagentes para o procedimento. Entre eles, temos a epicatequina, epigallocatequina, epicatequina galato da Sigma Aldrich, ácido clorogênico, quercetina, rutina da USP, Quercetina-3-*O*-galactosídeo da Fluka, kaempferol e o padrão universal de ervas desenvolvido pela CAMAG.

4.8.3 Determinação e validação do método de extração

No presente estudo, a análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE) foi utilizada com o objetivo de mostrar um método mais eficiente que a cromatografia em camada delgada (CCD), preconizada pela Farmacopeia Brasileira 6^a edição (BRASIL, 2019).

Para a validação do método, transferiu-se a metodologia de CCD utilizada pela Farmacopeia brasileira para a CCDAE de *Monteverdia ilicifolia*, comparando-se os diferentes métodos de extração e verificando-se a concentração de epicatequina nas amostras.

Foram coletadas e identificadas três amostras de *M. ilicifolia*, sendo obtidas de três regiões diferentes da cidade de Ponta Grossa, Paraná. Para cada amostra, foram realizadas três diferentes extrações para determinar qual metodologia era mais eficiente, sendo estas demonstradas no Quadro 1.

Quadro 1 - Diferentes metodologias de extração de *Monteverdia ilicifolia* utilizadas na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

Extrato 1	5 g de folhas de <i>M. ilicifolia</i> previamente moídas foram sonicadas com 50 mL de água destilada por 15 min. Após o resfriamento, a solução foi filtrada por algodão e, em seguida, a solução foi seca em rotaevaporador.
Extrato 2	5 g de folhas de <i>M. ilicifolia</i> previamente moídos foram sonicadas com 50 mL de metanol por 15 min. Após o resfriamento, a solução foi filtrada por algodão e, em seguida, a solução foi seca em rotaevaporador.
Extrato 3	1 g de folhas de <i>M. ilicifolia</i> foi suspenso em 200 mL de metanol: água (8: 2, v / v) e sonificado por 10 min, e então centrifugado por 5 min a 10.000 rpm. A solução foi seca usando um rotaevaporador.

Fonte: O autor.

Uma solução de 10 mg/mL foi preparada a partir de cada extrato. Para a preparação do padrão foi utilizado uma solução 1 mg/mL de epicatequina em metanol e, posteriormente, diluída a 100 µg/mL para análises nos laboratórios da CAMAG.

As amostras foram aplicadas em placas de Silica gel 60 F₂₅₄, 20 × 10 cm (Merck), usando um amostrador automático (Automatic TLC Sampler 4, CAMAG) contendo seringa (microlitro), faixa de aplicação de 8,5 mm, distância entre as faixas de 11,4 mm, distância das bordas laterais 15 mm e distância da borda inferior 8 mm. A posição da aplicação foi em X: 20 mm e Y: 8 mm, com diferentes volumes de aplicação, tanto de amostras como também o padrão de referência (epicatequina), como mostra a Tabela 3.

Tabela 3 - Descrição do volume e posição das amostras de *Monteverdia ilicifolia* e do padrão epicatequina utilizados na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

Identificação	Descrição	Volume (µl)	Tipo
1	Epicatequina 100µg/mL	2.0	Referência
2	Epicatequina 100µg/mL	5.0	Referência
3	Extrato 1A 10 mg/mL	2.0	Amostra
4	Extrato 1B 10 mg/mL	2.0	Amostra
5	Extrato 1C 10 mg/mL	2.0	Amostra
6	Extrato 2A 10 mg/mL	2.0	Amostra
7	Extrato 2B 10 mg/mL	2.0	Amostra
8	Extrato 2C 10 mg/mL	2.0	Amostra
9	Extrato 3A 10 mg/mL	2.0	Amostra
10	Extrato 3B 10 mg/mL	2.0	Amostra
11	Extrato 1A 10 mg/mL	5.0	Amostra
12	Extrato 2A 10 mg/mL	5.0	Amostra
13	Extrato 2C 10 mg/mL	5.0	Amostra
14	Epicatequina 100µg/mL	5.0	Referência
15	Epicatequina 100µg/mL	10.0	Referência

Fonte: O autor.

4.8.3.1 Análise densitométrica

Análise densitométrica foi feita a partir do uso de um equipamento (Scanner 4, CAMAG) utilizando comprimento de onda de 280 nm e obtendo-se assim o perfil dos picos.

4.8.3.2 Análise de métodos – fase móvel

A Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019) utiliza a cromatografia em camada delgada (CCD). Dessa forma, sugeriu-se a conversão da metodologia para a cromatografia em camada delgada de alta eficiência utilizando os parâmetros descritos para a metodologia da USP (United States Pharmacopoeia), a Farmacopeia Americana 2015.

A fase móvel da Farmacopeia brasileira que utiliza acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5, v/v/v) (10ml) também foi alterada para a fase móvel ao qual utiliza etanoato de butila, metanol, água e ácido fórmico (7.5:2:1:1, v/v), pois há um relato na literatura de que

essa fase móvel consegue separar melhor metabólitos secundários, como por exemplo, flavonoides, que são de interesse para o estudo (PERERA *et al.*, 2021).

4.8.4 Análise dos extratos de *M. ilicifolia* e *M. aquifolia*

O Quadro 2 demonstra de início a aplicação dos padrões e de amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia* e as duas Monteverdias com grau de contaminação, sendo crescente a porcentagem do contaminante no extrato.

Quadro 2 - Descrição das amostras de *M. aquifolia*, *M. ilicifolia*, *M. ilicifolia* adulterada com diferentes porcentagens de *M. aquifolia* e os padrões de referência utilizadas na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

Identificação	Descrição	Volume (µl)	Tipo
1	UHM (02/09/2021)	2.0	Referência
2	Epicatequina 28µg/mL/Epigallocatequina 100µg/mL	5.0/5.0	Referência/Referência
3	Ácido clorogênico, quercetina e rutina em 100 µg/mL/Epicatequina galato 100 µg/mL	5.0/5.0	Referência/Referência
4	Epicatequina 100 µg/mL	5.0	Referência
5	UHM (02/09/2021)	2.0	Referência
6	<i>Monteverdia aquifolia</i> 1	5.0	Amostra
7	<i>Monteverdia aquifolia</i> 2	5.0	Amostra
8	<i>Monteverdia aquifolia</i> 3	5.0	Amostra
9	<i>Monteverdia ilicifolia</i> 1	5.0	Amostra
10	<i>Monteverdia ilicifolia</i> 2	5.0	Amostra
11	<i>Monteverdia ilicifolia</i> 3	5.0	Amostra
12	<i>Monteverdia ilicifolia</i> com <i>Monteverdia aquifolia</i> 20%	5.0	Amostra
13	<i>Monteverdia ilicifolia</i> com <i>Monteverdia aquifolia</i> 30%	5.0	Amostra
14	<i>Monteverdia ilicifolia</i> com <i>Monteverdia aquifolia</i> 50%	5.0	Amostra
15	UHM (02/09/2021)	2.0	Referência

Fonte: O autor.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE MORFOANATÔMICA

5.1.1 Morfologia foliar

As características morfológicas foliares estão sumarizadas no Quadro 3. As folhas de *Monteverdia ilicifolia* apresentam lâmina coriácea de 1,8-8,4 cm de comprimento e 0,9-2,6 cm de largura, elíptica a estreitamente elíptica, ápice agudo a acuminado contendo espinho apical mucronado a aristado, base cuneada a obtusa, margens espinescentes, sendo 1-12 espinhos distribuídos regular ou irregularmente e pecíolo de 0,2-0,5 cm (Figura 9a). A lâmina foliar de *Monteverdia aquifolia* é coriácea, apresentando tamanho de 4,6-10,4 cm de comprimento e 1,7-3 cm de largura, elípticas a oblongo-elípticas, ápice agudo a acuminado contendo espinho apical, base aguda a obtusa, margens espinescentes, podendo apresentar de 6-12 espinhos e pecíolo medindo de 0,3-0,8 cm (Figura 9b). *Citronella gongonha* tem folhas que medem entre 5,9- 12,3 cm de comprimento e 2,3-7,8 cm de largura, elípticas a obovadas, com ápice mucronado a cuspidado e contendo espinho apical, base obtusa a oblíqua, margens espinescentes, contendo em média 7-9 espinhos e pecíolo de 0,9-1,8 cm (Figura 9c). Em *Jodina rhombifolia*, as folhas são coriáceas, medindo de 3,4-5,2 cm de comprimento e 1,8-2,3 cm de largura, lanceolada, ápice agudo a acuminado contendo espinho apical, base acunheada, margens espinescentes, contendo 3 espinhos nas extremidades e pecíolo medindo aproximadamente 0,5 cm (Figura 9d). *Sorocea bonplandii* apresenta folhas oblongas medindo de 4,8-18,8 cm de comprimento e 2,3-5,2 cm de largura, apresentam ápice acuminado a cuspidado contendo espinho apical, base aguda a obtusa, margens espinescentes, contendo de 9-19 espinhos e pecíolo de 0,6-1,4 cm (Figura 9e). *Zollernia ilicifolia* apresenta folhas coriáceas, elíptica a oblongo- elípticas, de 6,7-14,4 cm de comprimento e 3,2-6,1 cm de largura, com ápice acuminado a mucronado, base obtusa, margens espinescentes contendo de 6-12 espinhos e pecíolo de 0,5- 1 cm (Figura 9f). Concordando com a literatura, observa-se que as espécies conhecidas como espinheira-santa aqui descritas, são morfológicamente similares, e provavelmente, *M. aquifolia*, *C. congonha*, *S. bonplandii*, *J. rhombifolia* e *Z. ilicifolia* são utilizadas como adulterantes de *M. ilicifolia* não somente pela similaridade na morfologia foliar e nomenclatura popular, mas também pela textura coriácea ou subcoriácea das folhas. Observa-se também que, de alguma forma, todas possuem espinhos como verificado em *M.*

ilicifolia, o que dificulta a detecção do adulterante e ludibria o consumidor, especialmente quando a droga está fragmentada.

Quadro 3. Características foliares das espécies *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia*

	MI	MA	CG	JR	SB	ZI
Aspecto da lâmina	Coriácea	Coriácea	Subcoriácea	Coriácea	Subcoriácea	Coriácea
Tamanho em comprimento/largura	1,8-8,4 cm de comprimento e 0,9-2,6 cm de largura	4,6-10,4 cm de comprimento e 1,7-3 cm de largura	5,9-12,3 cm de comprimento e 2,3-7,8 cm de largura	3,4-5,2 cm de comprimento e 1,8-2,3 cm de largura	4,8-18,8 cm de comprimento e 2,3-5,2 cm de largura	6,7-14,4 cm de comprimento e 3,2-6,1 cm de largura
Forma	Elíptica a estreitamente elíptica	Elíptica a oblongo-elíptica	Elíptica a obovada	Lanceolada	Oblonga	Elíptica a oblongo-elíptica
Ápice	Agudo a acuminado contendo espinho apical	Agudo a acuminado contendo espinho apical	Ápice mucronado a cuspidado contendo espinho apical	Ápice agudo a acuminado contendo espinho apical	Ápice acuminado a cuspidado contendo espinho apical	Ápice acuminado a mucronado
Base	Cuneada a obtusa	Aguda a obtusa	Obtusa a oblíqua	Cuneada	Aguda a obtusa	Obtusa
Margens	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes	Espinescentes
Quantidade de espinhos	1-12	6-12	7-9	3	9-19	6-12
Tamanho pecíolo	0,2-0,5 cm	0,3-0,8 cm	0,9-1,8 cm	0,5 cm	0,6-1,4 cm	0,5-1 cm

Fonte: O autor.

Notas: MI (*M. ilicifolia*); MA (*M. aquifolia*); CG (*C. gongonha*); JR (*J. rhombifolia*); SR (*S. bonplandii*); ZI (*Z. ilicifolia*).

5.1.2 ANATOMIA FOLIAR

5.1.2.1 Lâmina e nervura central

As principais características anatômicas evidenciadas nesse estudo estão sumarizadas no Quadro 4.

Na análise anatômica da lâmina foliar, em vista frontal, as células epidérmicas de *M. ilicifolia* apresentam parede anticlinal reta e espessa em ambas as faces (Figura 9g, 9t), contendo pequenos cristais estiloides, prismáticos e piramidais de oxalato de cálcio (Figura 9g). Parede anticlinal reta e espessa também é encontrada em ambas epidermes de *M. aquifolia* (Figuras 9h, 9u), enquanto em *C. gongonha* evidencia paredes anticlinais levemente ondeadas e delgadas em ambas as faces (Figuras 9i, 9v). Em *J. rhombifolia* (Figuras 9j, 9w) e *Z. ilicifolia* (Figuras 9l, 9y), as paredes são retas e delgadas, enquanto que *S. bonplandii* possui paredes anticlinais sinuosas e delgadas em ambas as faces (Figuras 9k, 9x). A cutícula recobre as células epidérmicas das espécies estudadas, sendo que em *C. gongonha* é estriada (Figuras 9i, 9o, 9v, 9b'-d'), enquanto que todas as demais são lisas, em ambas as faces (Figuras 9g-h, 9m-n, 9t-u, 9z-a', 9j-l, 9q-s, 9w-y, 9e'-i').

Monteverdia ilicifolia possui estômatos anomocíticos somente na face abaxial, caracterizando a folha como hipoestomática. Esta característica é observada em todos os adulterantes, entretanto os estômatos encontrados foram, anomocíticos em *M. ilicifolia* (Figuras 9t, 9z), *M. aquifolia* (Figuras 9u, 9a'), *C. gongonha* (Figuras 9v, 9b') e *J. rhombifolia* (Figuras 9w, 9e'), actinocíticos em *S. bonplandii* (Figuras 9x, 9f') e anomocíticos, anisocíticos e ciclocíticos em *Z. ilicifolia* (Figuras 9y, 9i'). Em se tratando da posição do estômato em relação as células epidérmicas, em *M. ilicifolia*, os estômatos se encontram ao mesmo nível das células epidérmicas (Figura 9z), em *M. aquifolia* (Figura 9a') e *C. gongonha* (Figura 9b'), os estômatos se encontram abaixo das demais células epidérmicas, *J. rhombifolia* apresenta estômatos muito abaixo das células epidérmicas (Figuras 9e'), enquanto *S. bonplandii* (Figura 9f') e *Z. ilicifolia* (Figura 9i'), mostram os estômatos posicionados levemente acima das células epidérmicas.

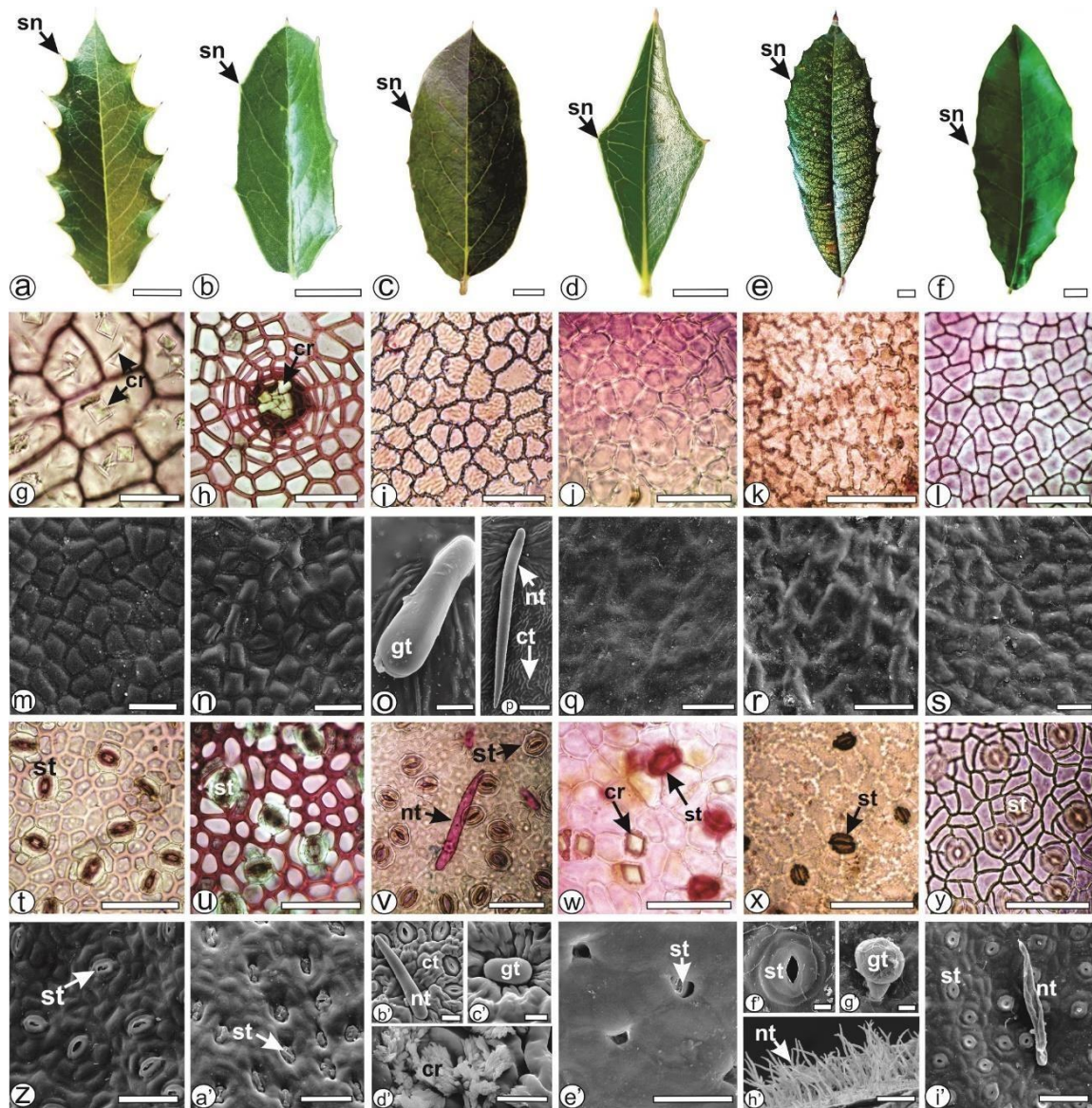
No presente estudo, *M. ilicifolia*, *M. aquifolia* e *J. rhombifolia* não evidenciam tricomas, enquanto que *C. gongonha* apresenta tricoma tector simples e dois tipos de tricomas glandulares, capitado (Figuras 9o, 9v, 9b') e em forma de clava (Figura 9p), *S. bonplandii*

mostrou tricoma tector simples (Figura 9h') e glandular capitado (Figura 9g') e *Z. ilicifolia* exibiu tricoma tector simples (Figura 9i').

Morfológicamente, os tricomas são classificados como tectores, terminados em ponta e glandulares, apresentando glândula secretora (CORTEZ *et al.*, 2016). De uma maneira geral, os tricomas são os anexos epidérmicos mais úteis na diagnose de drogas vegetais, pois apresentam uma imensa variedade de formas e são fáceis de serem encontrados mesmo quando a droga vegetal está na forma de pó. Em espécies conhecidas popularmente como “boldo”, somente a análise do tipo de tricomas foi capaz de diferenciar a espécie *Peumus boldus* Molina (boldo-do-chile) de seus adulterantes *Plectranthus barbatus* Andr. (bolso-nacional) e *Plectranthus neochilus* Schltr (boldinho) (MACHADO *et al.*, 2021a).

Apesar dos cristais estarem internamente nas células epidérmicas, é possível observá-los em vista frontal, devido ao grande número e tamanho que apresentam em *M. ilicifolia* (Figura 9g) e *M. aquifolia* (Figura 9h) e, mesmo estando no mesofilo, também podem ser vistos frontalmente pela grande dimensão em *J. rhombifolia* (Figura 9w). *C. gongonha* apresenta cristais amorfos, contudo, sobre a epiderme (Figura 9d'). Nas demais, não foram observados cristais na epiderme.

Figura 9 – Morfoanatomia foliar de espécies de *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).



Fonte: O autor.

Notas: Lâmina foliar (a, b, c, d, e, f). Face adaxial (g, h, i, j, k, l, m, n, o, p, q, r, s). Face abaxial (t, u, v, w, x, y, z, a', b', c', d', e', f', g', h', i'). *M. ilicifolia* (a, g, m, t, z); *M. aquifolia* (b, h, n, u, a'); *C. gongonha* (c, i, o, p, v, b', c', d'); *J. rhombifolia* (d, j, q, w, e'); *S. bonplandii* (e, k, r, x, f', g', h'); *Z. ilicifolia* (f, l, s, y, i'). cr: cristal; ct: cutícula; gt: tricoma glandular; nt: tricoma tector; sn: espinho; st: estômato. Barra de escala: a-f = 1 cm; m, n, r, t-a', e', h', i' = 50 µm; g-l = 25 µm; o, s, b' = 20 µm; q, c', d', g' = 10 µm; f' = 5 µm.

As lâminas foliares, em secção transversal, apresentam epiderme unisseriada em *M. ilicifolia* (Figuras 10a, 10g, 10h'), *M. aquifolia* (Figuras 10b, 10h, 10i') *C. gongonha* (Figuras 10c, 10j, 10j') e *S. bonplandii* (Figuras 10e, 10m, 10n), enquanto que *J. rhombifolia* (Figuras 10d, 10k) exibe duas camadas subepidérmicas em ambas as faces e *Z. ilicifolia* possui uma camada subepidérmica na face adaxial (Figuras 10f, 10o). A cutícula que recobre a epiderme é espessa e se estende entre as paredes anticlinais das células adjacentes formando flanges em *M. ilicifolia* (Figuras 10a, 10g, 10h') e *M. aquifolia* (Figuras 10b, 10h, 10i'), nas demais a cutícula é relativamente delgada (Figuras 10c, 10j, 10j', 10e, 10m, 10n, 10d, 10k, 10f, 10o). Confirma-se a presença dos cristais, previamente relatados anteriormente para as células epidérmicas, em secção transversal de *M. ilicifolia* (Figura 10g) e *M. aquifolia* (Figura 10h).

A organização dos parênquimas fotossintetizantes mostra mesofilo isobilateral em *J. rhombifolia* (Figura 10d) e dorsiventral em *M. ilicifolia* (Figura 10a), *M. aquifolia* (Figura 10b), *C. gongonha* (Figura 10c), *S. bonplandii* (Figura 10e) e *Z. ilicifolia* (Figura 10f). *J. rhombifolia* é a única espécie que apresenta mesofilo isobilateral. Ela possui duas camadas de parênquima paliçádico em ambas as faces e cerca de quatro camadas de parênquima esponjoso (Figura 10d). *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* possuem gotículas de óleo nas células do mesofilo, especialmente no parênquima paliçádico adaxial (Figura 10i), estando em maior quantidade e mais evidentes em *M. aquifolia*.

Em se tratando das espécies que tem mesofilo dorsiventral, *M. ilicifolia* (Figura 10a) e *M. aquifolia* (Figura 10b) apresentam 2-3 camadas de parênquima paliçádico na face adaxial, e cerca de oito camadas de parênquima esponjoso (Figura 10a); *C. gongonha* exibe duas camadas de parênquima paliçádico e várias camadas de parênquima bráquiforme (Figuras 10c, 10j); *S. bonplandii* possui uma camada de parênquima paliçádico e cerca de seis estratos de parênquima esponjoso (Figura 10e), *Z. ilicifolia* mostra duas camadas de parênquima paliçádico e aproximadamente nove camadas de parênquima esponjoso (Figura 10f).

Feixes vasculares de pequeno porte estão mergulhados na região mediana do mesofilo e são envoltos por bainha parenquimática. Fibras esclerenquimáticas foram observadas apostas ao floema e ao xilema nos feixes de pequeno porte de *C. gongonha* (Figura 10c). Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas e prismáticos são observados próximos aos feixes vasculares de *C. gongonha* (Figura 10d'), inúmeras drusas e cristais romboides estão presentes em *J. rhombifolia* (Figuras 10d, 10k, 10l) e cristais piramidais estão presentes em *S. bonplandii*. Não foram observados cristais no mesofilo de *Z. ilicifolia*.

A nervura central, em secção transversal, mostra formato biconvexo em *M. ilicifolia* (Figuras 10p, 10v) e *M. aquifolia* (Figuras 10q, 10w), levemente convexo na face adaxial e

convexo na face abaxial em *C. gongonha* (Figuras 10r, 10x), praticamente plano-convexa em *J. rhombifolia* (Figuras 10s, 10y), *S. bonplandii* (Figuras 10t, 10z) e *Z. ilicifolia* (Figuras 10u, 10a').

Geralmente, o formato da nervura central tem valor diagnóstico, como relatado por Wosch *et al.* (2015) para espécies de *Passiflora* e Budel *et al.* (2018) para espécies de *Baccharis*. No presente estudo, a forma da nervura central auxilia na diferenciação das espécies.

A epiderme apresenta as mesmas características anteriormente descritas para a lâmina foliar em todas as espécies. Subjacente à epiderme, colênquima angular está presente em *M. ilicifolia* (Figuras 10b', 10h'), *M. aquifolia* (Figuras 10c', 10i'), *C. gongonha* (Figuras 10d', 10j') e *S. bonplandii* (Figuras 10f', 10l'), enquanto que nas demais espécies observa-se a presença de clorênquima (Figuras 10e', 10g', 10k', 10m'). Nas espécies *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* as células do colênquima aparecem repletas de compostos fenólicos (Figuras 10b', 10c', 10h' e 10i').

O sistema vascular é representado por um feixe vascular colateral em arco aberto e dois feixes dorsais em *M. ilicifolia* (Figuras 10p, 10v, 10b'), um feixe vascular em arco aberto e um feixe dorsal em *M. aquifolia* (Figuras 10q, 10w, 10c'), um feixe vascular em forma de C voltado para a face adaxial em *C. gongonha* (Figuras 10r, 10x, 10d'), um feixe

vascular único em *J. rhombifolia* (Figuras 10s, 10y, 10k'), um feixe em U, cerca de cinco feixes dorsais e um feixe medular em arco aberto em *S. bonplandii* (Figuras 10t, 10z, 10f', 10l') e um feixe em arco aberto com as extremidades invaginadas e um feixe dorsal em

Z. ilicifolia (Figuras 10u, 10a', 10m'). Fibras esclerenquimáticas aparecem apostas ao floema, sendo contínuas somente em *S. bonplandii* (Figuras 10z, 10f', 10l') e *Z. ilicifolia* (Figuras 10a', g', 10m'). A maneira como esses tecidos se organizam podem auxiliar na diferenciação de espécies vegetais (WOSCH *et al.*, 2015). No presente estudo, diferentes organizações do sistema vascular foram encontradas, tornando essa característica diagnóstica para as espécies desse estudo.

Figura 10 – Microscopia da lâmina foliar e nervura central, em secção transversal, das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).



Fonte: O autor.

Notas: Microscopia de luz, coloração com azul de astra e fucsina básica e coloração de azul de toluidina (a-m'). *M. ilicifolia* (a, g, p, v, b', h'); *M. aquifolia* (b, h, i, q, w, c', i'); *C. gongonha* (c, j, r, x, d', j'); *J. rhombifolia* (d, k, l, s, y, e', k'); *S. bonplandii* (e, m, n, t, z, f', i'); *Z. ilicifolia* (f, o, u, a', g', m'). cm: câmara subestomática; co: colênquima; cr: cristal; ct: cutícula; ep: epiderme; fi: fibra; gp: parênquima fundamental; gt: tricoma glandular; ob: gotícula de óleo; pc: célula fenólica; ph: floema; pp: parênquima paliçádico; sl: camada subepidérmica; sp: parênquima esponjoso; st: estômato; vb: feixe vascular; xy: xilema; Barra de escala: c, p-u = 500 µm; a' = 300 µm; f = 250 µm; d, z = 200 µm; a, b, e, h, k, l, j, o, v-y, b'-m' = 50 µm; g, m, n = 25 µm; i = 10 µm.

Quadro 4. Características anatômicas foliares das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardioppteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

(continua)

	MI	MA	CG	JR	SB	ZI
Parede anticlinal	Reta e espessa em ambas as faces	Reta e espessa em ambas as faces	Levemente ondeada e delgada em ambas as faces	Reta e delgada em ambas as faces	Sinuosa e delgada em ambas as faces	Reta e delgadas em ambas as faces
Cutícula	Lisa em ambas as faces	Lisa em ambas as faces	Estriada	Lisa em ambas as faces	Lisa em ambas as faces	Lisa em ambas as faces
Classificação dos estômatos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos	Anomocíticos	Actinocíticos	Anomocíticos, anisocíticos e ciclocíticos
Presença de estômatos	Hipoestomática	Hipoestomática	Hipoestomática	Hipoestomática	Hipoestomática	Hipoestomática
Posição dos estômatos em relação à epiderme	Mesmo nível	Mesmo nível	Abaixo	Muito abaixo	Levemente acima	Levemente acima
Tricoma tector	Ausente	Ausente	Simples	Ausente	Simples	Simples
Tricoma glandular	Ausente	Ausente	Capitado e em forma de clava	Ausente	Capitado	Ausente
Cristais na epiderme	Presente	Presente	Ausentes (mas visíveis em vista frontal)	Ausentes (mas visíveis em vista frontal)	Ausente	Ausente

Quadro 4. Características anatômica foliares das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardioppteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

(conclusão)

Características	MI	MA	CG	JR	SB	ZI
Epiderme das Lâminas foliares	Unisseriadas	Unisseriadas	Unisseriadas	Duas camadas subepidérmicas em ambas as faces	Unisseriadas	Uma camada subepidérmica na face adaxial
Mesofilo / nº de camadas de parênquima	Dorsiventral (2-3 camadas de parênquima paliçádico na face adaxial e cerca de oito camadas de parênquima esponjoso)	Dorsiventral (2-3 camadas de parênquima paliçádico na face adaxial e cerca de oito camadas de parênquima esponjoso)	Dorsiventral (duas camadas de parênquima paliçádico e várias camadas de parênquima bracicforme)	Isobilateral (duas camadas de parênquima paliçádico em ambas as faces e cerca de quatro camadas de parênquima esponjoso)	Dorsiventral (uma camada de parênquima paliçádico e cerca de seis estratos de parênquima esponjoso)	Dorsiventral (duas camadas de parênquima paliçádico e aproximadamente 9 camadas de parênquima esponjoso)
Forma da nervura central	Biconvexa	Biconvexa	Levemente convexo na faceadaxial e convexo na face abaxial	Plano-convexa	Plano-convexa	Plano-convexa
Sistema vascular	Um feixe vascular colateral em arco aberto e dois feixes dorsais	Um feixe vascular em arco aberto e um feixe dorsal	Um feixe vascular em forma de C voltado para a face adaxial	Um feixe vascular único	Um feixe em U, cerca de cinco feixes dorsais e um feixe medular em arco aberto	Um feixe em arco aberto com as extremidades invaginadas e um feixe dorsal
Presença de bainha esclerenquimática	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Contínua	Contínua

Fonte: O autor.

Notas: MI (*M. ilicifolia*); MA (*M. aquifolia*); CG (*C. gongonha*); JR (*J. rhombifolia*); SR (*S. bonplandii*); ZI (*Z. ilicifolia*).

5.1.2.2 Anatomia do pecíolo

Todas as espécies presentes no estudo são pecioladas, sendo que as características anatômicas estão descritas no Quadro 5.

Na análise anatômica, em secção transversal, as espécies *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* apresentam pecíolo biconvexo, com curvatura mais acentuada na face abaxial e com duas projeções na face adaxial (Figuras 11a, 11b). Em *C. gongonha*, o formato é côncavo-convexo (Figura 11c), em *J. rhombifolia* é plano-convexo, evidenciando duas projeções laterais (Figura 11d), enquanto que *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia* o formato é praticamente circular com pequena concavidade na superfície adaxial (Figuras 11e, 11f). A epiderme de todas as espécies apresenta as mesmas características previamente citadas para a lâmina foliar.

O sistema vascular em ambas as espécies de *Monteverdia* evidenciam um feixe vascular anficrival único, formando uma região medular (Figuras 11a, 11b, 11m, 11n). *Zollernia ilicifolia* apresenta as mesmas características dos feixes das espécies de *Monteverdia*, contudo, em forma de coração (Figuras 11f, 11r). *Citronella gongonha* apresenta um feixe vascular colateral em formato de C com a abertura voltada para a face adaxial e dois pequenos feixes nas extremidades superiores (Figuras 11c, 11o). *Jodina rhombifolia* possui um feixe vascular colateral em arco aberto (Figuras 11d, 11p), *S. bonplandii* exhibe cerca de 10 feixes vasculares colaterais livres em círculo e um feixe medular (Figuras 11e, 11q).

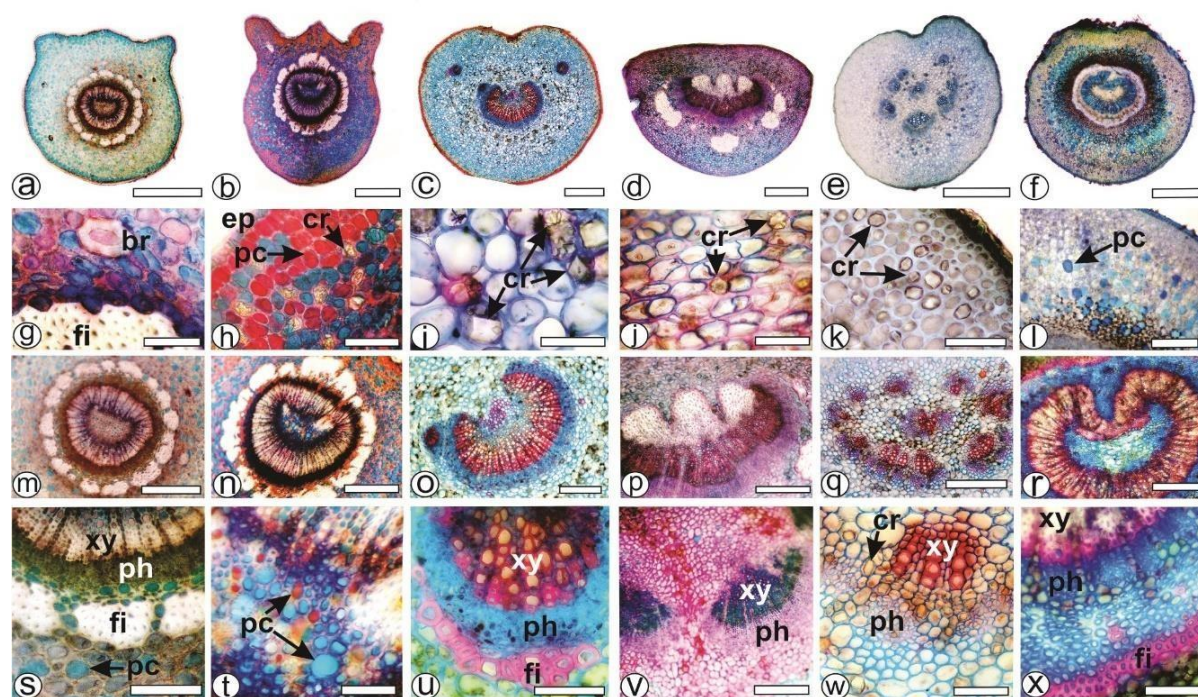
Uma bainha esclerenquimática formada por mais de uma camada de células lignificadas, envolve o feixe vascular de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia* e *Z. ilicifolia*. Todavia, mostrando-se descontínua nas espécies de *Monteverdia* (Figuras 11m, 11n, 11s, 11t) e contínua em *Z. ilicifolia* (Figuras 11o, 11u). Calotas de fibras perivasculares são observadas sem *J. rhombifolia* (Figura 11p) e raramente em *C. gongonha* (Figura 11u). Bainha ou calotas de fibras não estão presentes em *S. bonplandii* (Figura 11q). Células pétreas isoladas foram encontradas no parênquima fundamental de *M. ilicifolia* (Figura 11g) e *M. aquifolia* e também no floema de *Z. ilicifolia* (Figura 11x).

Células contendo compostos fenólicos estão presentes subjacentemente à epiderme (Figuras 11a, 11b, 11h), no parênquima fundamental (Figuras 11g, 11m, 11n) e em células do tecido vascular em *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* (Figuras 11m, 11n, 11s, 11t) e no parênquima fundamental e nas células próximas à bainha esclerenquimática de *Z. ilicifolia* (Figuras 11f, 11l). Contudo, em grande quantidade nas espécies de *Monteverdia*.

As características microscópicas peciulares muito contribuem para a identificação e diferenciação de espécies vegetais e podem ser consideradas bons marcadores anatômicos, como observado em estudos de diversos gêneros botânicos, a exemplo de *Tinospora* (PARVEEN *et al.*, 2020) e *Passiflora* (WOSCH *et al.*, 2015).

Figura 11 – Microscopia do pecíolo das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

Fonte: O autor.



Notas: Microscopia de luz, coloração com azul de astra e fucsina básica e coloração de azul de toluidina (a-x). *M. ilicifolia* (a, g, m, s); *M. aquifolia* (b, h, n, t); *C. gongonha* (c, j, o, u); *J. rhombifolia* (d, j, p, v); *S. bonplandii* (e, k, q, w); *Z. ilicifolia* (f, l, r, x). br: Célula pétrea; cr: cristal; ep: epiderme; fi: fibra; pc: célula fenólica; ph: floema; xy: xilema Barra de escala: a-f = 500 µm; l-r, v = 200 µm; g-k, s-u, w, x = 50 µm.

Quadro 5. Características peciulares das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

Características	MI	MA	CG	JR	SB	ZI
Presença de pecíolo	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Epiderme	Unisseriada	Unisseriada	Unisseriada	Duas camadas subepidérmica em ambas as faces	Unisseriada	Uma camada subepidérmica na face adaxial
Formato	Biconvexo	Biconvexo	Côncavo-convexo	Plano-convexo	Praticamente circular com pequena concavidade na superfície adaxial	Praticamente circular com pequena concavidade na superfície adaxial
Célula pétrea	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Cristais	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Tricoma tector	Ausente	Ausente	Simples	Ausente	Simples	Simples
Tricoma glandular	Ausente	Ausente	Capitado e em forma de clava	Ausente	Capitado	Ausente
Fibras/Disposição do feixe vascular/quantidade de feixes vasculares	Descontínua/anficrival/único	Descontínua/anficrival/único	Calotas de fibras perivasculares colateral/feixe central com 2 feixes vasculares menores.	Calotas de fibras perivasculares/colateral/1-3 feixes	Não estão presentes/colateral/6-10 feixes e um feixe medular	Contínua/Anficrival/único
Formato do feixe vascular	Forma uma região medular	Forma uma região medular	Formato de C com a abertura voltada para a face adaxial	Arco aberto	Círculo	Coração

Fonte: O autor.

Notas: MI (*M. ilicifolia*); MA (*M. aquifolia*); CG (*C. gongonha*); JR (*J. rhombifolia*); SR (*S. bonplandii*); ZI (*Z. ilicifolia*).

5.1.2.3 Anatomia caulinar

Em secção transversal, o caule é ovalado em *M. ilicifolia* (Figura 12a) e arredondado nas espécies *M. aquifolia* (Figura 12b), *C. gongonha* (Figura 12c), *J. rhombifolia* (Figura 12d), *S. bonplandii* (Figura 12e) e *Z. ilicifolia* (Figura 12f). Em *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* encontram-se de 4-5 protuberâncias arredondadas, onde o esclerênquima ocupa o maior volume (Figuras 12a, 12b, 12g, 12h, 12m, 12n). A epiderme caulinar de *M. ilicifolia* e *C. gongonha* é unisseriada (Figuras 12g, 12i), enquanto que em *M. aquifolia*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia* observa-se a presença de camadas subepidérmicas (Figuras 12h, 12j, 12k, 12l).

Em *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *J. rhombifolia* e *S. bonplandii*, o caule em crescimento secundário, evidencia a presença de súber (Figuras 12n, 12q). Alguns estratos de parênquima cortical contendo amiloplastos e compostos fenólicos são vistos no córtex, que é delimitado internamente por um anel esclerenquimático quase contínuo e composto por fibras e células pétreas em *M. ilicifolia* (Figuras 12g, 12s, 12y), *M. aquifolia* (Figuras 12h, 12t, 12z), *C. gongonha* (Figuras 12i, 12o, 12u, 12a'), *S. bonplandii* (Figuras 12k, 12q, 12w, 12c') e *Z. ilicifolia* (Figuras 12l, 12r, 12x, 12d'). Enquanto que em *J. Rhombifolia*, grupos de células esclerenquimáticas estão dispersos no córtex (Figuras 12j, 12p, 12v, 12b'). Em ambas as espécies de *Monteverdia* compostos fenólicos estão presentes em grande quantidade em todo o córtex e no floema. (Figuras 12s, 12t).

Em todas as espécies estudadas, no cilindro vascular, o câmbio produz floema para fora e xilema, para dentro. Raios medulares de uma a duas camadas estão presentes em *M. ilicifolia* (Figura 12s), *M. aquifolia* (Figura 12t), *J. rhombifolia* (Figura 12v), *S. bonplandii* (Figura 12w) e *Z. ilicifolia* (Figura 12x). Esses raios podem ter grãos de amido e conter compostos fenólicos nas espécies de *Monteverdia*.

No xilema, os elementos de vaso, distribuídos em fileiras ordenadas, costumam ser solitários e circundados por fibras em todas as espécies (Figuras 12s, 12t, 12u, 12w, 12x), com exceção de *J. rhombifolia* que apresenta os elementos de vaso em grupos e maior quantidade de fibras (Figura 12v), em relação as demais espécies.

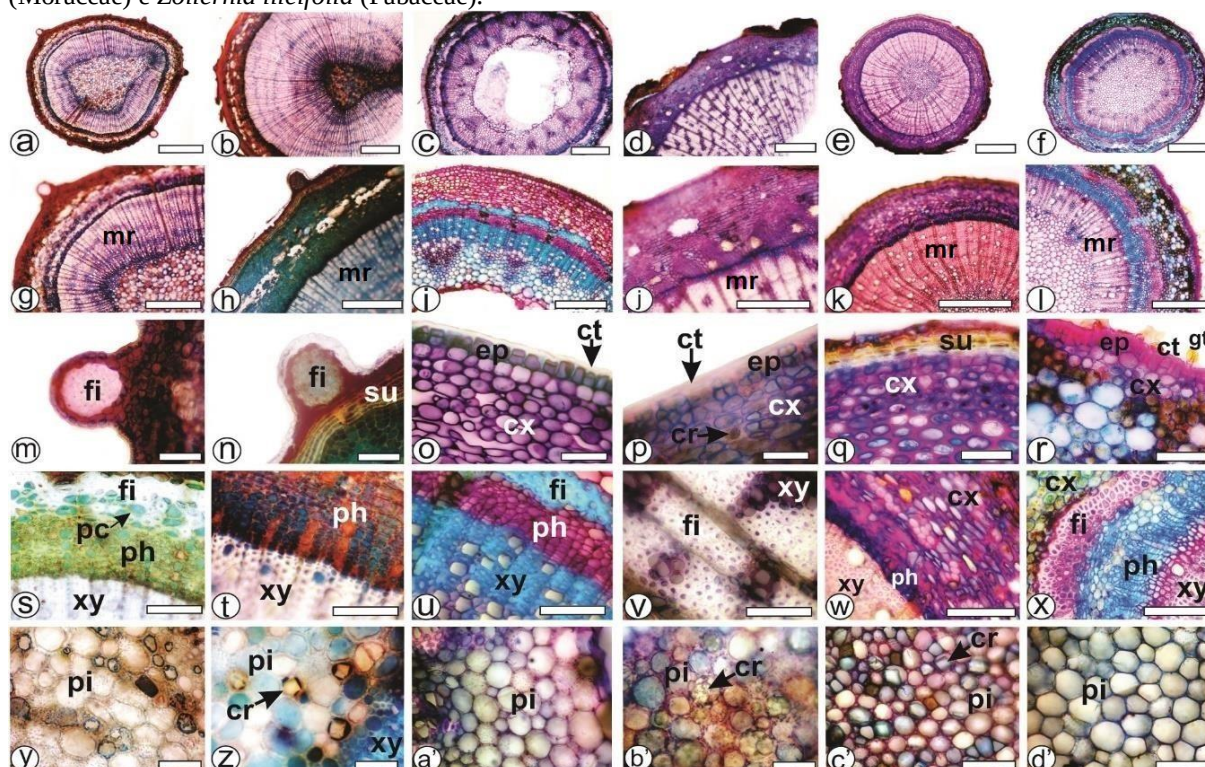
A medula, circundada pelo xilema, está presente no centro do caule em todas as espécies (Figuras 12s, 12t, 12u, 12v, 12w, 12x), mostrando-se bem delicada e rompendo-se facilmente ao seccionamento manual em *C. gongonha*. A medula é formada por células

parenquimáticas, que podem ser lignificadas, conter compostos fenólicos e apresentar pontuações simples evidentes.

Cristais, observados também na lâmina foliar e no pecíolo, são vistos no córtex de *M. ilicifolia* e *Z. ilicifolia* (Figura 12s), na medula de *C. gongonha* e *S. bonplandii* (Figura 12a', 12c') e no córtex e na medula de *M. aquifolia* e *J. rhombifolia* (Figuras 12z, 12b').

Apesar do farmacógeno de *M. ilicifolia* ser a folha, nesse estudo foram também analisados os caules, pois a presença deste órgão foi observada com frequência em amostras comerciais de espinheira-santa, caracterizando adulteração. Mesmo considerando a droga pulverizada a análise microscópica identifica a presença de adulterantes caulinares, uma vez que o caule apresenta organização de tecidos e elementos botânicos distintos da folha. As características anatômicas dos caules desse estudo estão resumidas no Quadro 6.

Figura 12 – Microscopia caulinar das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).



Fonte: O autor.

Notas: Microscopia de luz, coloração com azul de astra e fucsina básica e coloração de azul de toluidina (a-d'). *M. ilicifolia* (a, g, m, s, y); *M. aquifolia* (b, h, n, t, z); *C. gongonha* (c, j, o, u, a'); *J. rhombifolia* (d, j, p, v, b'); *S. bonplandii* (e, k, q, w, c'); *Z. ilicifolia* (f, l, r, x, d'). cr: cristal; ct: cutícula; cx: córtex; ep: epiderme; fi: fibra; gt: tricoma glandular; mr: raios medulares; pc: célula fenólica; ph: floema; pi: medula; su: súber; xy: xilema. Barra de escala: a-f = 500 µm; g-l = 300 µm; m-d' = 50 µm.

Quadro 6. Características caulinares das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

Características	MI	MA	CG	JR	SB	ZI
Formato em secção transversal	Ovalado	Arredondado	Arredondado	Arredondado	Arredondado	Arredondado
Costelas arredondadas e conspícuas	4-5	4-5	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Epiderme	Unisseriada	Presença de camadas subepidérmicas	Unisseriada	Presença de camadas subepidérmicas	Presença de camadas subepidérmicas	Presença de camadas subepidérmicas
Cristais	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente
Tricoma tector	Ausente	Ausente	Simples	Ausente	Simples	Simples
Tricoma glandular	Ausente	Ausente	Capitado e em forma de clava	Ausente	Capitado	Ausente
Raios medulares	Uma a duas camadas	Uma a duas camadas	Ausente	Uma a duas camadas	Uma a duas camadas	Uma a duas camadas

Fonte: O autor.

Notas: MI (*M. ilicifolia*); MA (*M. aquifolia*); CG (*C. gongonha*); JR (*J. rhombifolia*); SR (*S. bonplandii*); ZI (*Z. ilicifolia*).

5.2 ANÁLISE HISTOQUÍMICA

Os resultados dos testes histoquímicos encontram-se sumarizados no Quadro 7. Sudam III e Sudam Black foram utilizados para detecção de compostos lipofílicos, resultando positivamente na cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule de *M. ilicifolia* (Figuras 13a-c), *M. aquifolia* (Figuras 13d-e), *C. gongonha* (Figuras 13f-g), *J. rhombifolia* (Figuras 13h-i), *S. bonplandii* (Figuras 13j-m) e *Z. ilicifolia* (Figuras 13n-p). Contudo, em *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *J. rhombifolia* e *S. bonplandii* esses reagentes reagiram com os corpos oleosos localizados no mesofilo (Figuras 13d, 13h, 13k, 13m) e em *S. bonplandii* reagiram com idioblastos oleíferos localizados no parênquima fundamental do pecíolo e no córtex do caule (Figuras 13k, 13m).

Compostos lipofílicos em plantas podem estar presentes na cera epicuticular (depositada nas superfícies externas da lâmina), cutina (presente dentro e sobre as paredes celulares epidérmicas externas), suberina (depositado no interior das paredes primárias das células de certos tecidos como endoderme), e secreções ou depósitos de óleo (no interior de células, dutos, cavidades e tricomas glandulares), entre outros. O Sudam III cora os lipídios de vermelho ou laranja-avermelhado, enquanto o Sudam black cora de marrom a preto, nos testes histoquímicos (BRITTO *et al.*, 2021).

O floroglucinol/HCl reagiu com as fibras e com os elementos de vaso do xilema em folhas e caules de todas as espécies estudadas (Figuras 13q-b'), com as células pétreas presentes na nervura central, pecíolo e caule das espécies de *Monteverdia* (Figuras 13r, 13t) e no caule de *J. rhombifolia* (Figura 13x). Lignina é uma substância encontrada em várias ou todas as camadas da parede secundária que participam do processo de lignificação, resultando em uma importante modificação das propriedades da parede celular. Este processo leva à perda da elasticidade celular, um aumento significativo na rigidez e na tração compressão, e uma diminuição na permeabilidade da água (CRANG; LYONS-SOBASKI, WISE, 2018).

Em ambas espécies de *Monteverdia* foram encontradas células repletas de compostos fenólicos (Figuras 13c'-j'), especialmente no floema ou próximo a este (Figuras 13c'-e', 13h'-j'), no parênquima fundamental da nervura central (Figura 13 g') e do pecíolo (Figuras 13f', 13j'). Da mesma forma, taninos condensados estão presentes para essas duas espécies (Figuras 13f', 13j'). *Citronella gongonha* evidencia poucas células contendo compostos fenólicos, estes, localizados em células da epiderme do caule (Figura 13m') e próximos ao floema (Figura 13k') e no parênquima fundamental da nervura central, e, em maior

quantidade no parênquima fundamental do pecíolo (Figura 13l'). Em *J. rhombifolia*, fenólicos foram encontrados em células do parênquima fundamental da nervura central (Figura 13o') e do pecíolo (Figura 13p'), bem como nas células parenquimáticas do tecido xilemático do caule (Figura 13q'). Em *S. bonplandii*, compostos fenólicos estão presentes nas células do mesofilo (Figura 13r'), nas células do parênquima fundamental, próximas ao sistema vascular (Figuras 13r', 13s'), e também na epiderme, células colenquimáticas, células do parênquima cortical e nas células parenquimáticas do tecido xilemático do caule (Figura 13t'). Em *Z. ilicifolia*, compostos fenólicos foram observados na face adaxial do pecíolo, nas proximidades da bainha esclerenquimática (Figuras 13u', 13v'), sendo que reagiram positivamente para taninos condensados (Figuras 13w', 13x').

Dois reagentes se destacam para evidenciar compostos fenólicos, solução de cloreto férrico a 10%, que através da precipitação de ferro, produz coloração marrom escuro ou preta, e solução de dicromato de potássio 20% que produz uma cor marrom ou marrom-avermelhada (BADRIA; ABOELMAATY, 2019), além da vanilina clorídrica que reage especificamente com taninos condensados e cora de vermelho (VENTRELLA *et al.*, 2013). Os taninos condensados são amplamente conhecidos quando se trata de espinheira-santa (PESSUTO *et al.*, 2009; HOLNIK *et al.*, 2015; DE PAULA *et al.*, 2021). Nesse estudo, foi possível confirmar a presença desses compostos em ambas as espécies de *Monteverdia*.

Grãos de amido foram evidenciados pelo reativo de lugol no parênquima fundamental do pecíolo, próximo às fibras (Figuras 13y', 13z') em *M. ilicifolia* e no córtex do caule, próximos as células pétreas em *M. aquifolia* (Figura 13aa). Poucos grãos de amido, somente em algumas células do tecido floemático na nervura central e no pecíolo, estão presentes em *C. gongonha* (Figura 13bb). *Jodina rhombifolia* é repleta de grãos de amido no córtex, tecido floemático, células parenquimáticas do xilema e medula do caule (Figuras 13cc, 13dd). *Sorocea bonplandii* evidencia grãos de amido nas células parenquimáticas do xilema e na medula do caule (Figura 13ee), enquanto que *Z. ilicifolia* nas células do parênquima fundamental do pecíolo, próximas à bainha esclerenquimática (Figura 13ff).

A solução de iodo é usada para destacar o amido que se cora de azul escuro a preto. Praticamente, todas as outras estruturas ficam amareladas, mas esta cor não tem significado específico (BADRIA; ABOELMAATY, 2019).

A análise histoquímica tem como objetivo detectar grupamentos químicos provenientes do metabolismo primário e/ou secundário nos tecidos e/ou nas células de uma espécie vegetal (FIGUEIREDO *et al.*, 2007). A presença de determinados grupos de

metabólitos secundários auxilia na identificação da espécie vegetal e confere qualidade as drogas vegetais, como por exemplo, é conhecido de que *Monteverdia ilicifolia* contém taninos condensados, sendo de extrema importância o teste de vanilina clorídrica para detecção e diferenciação. Como mostra na Figura 13, apenas as espécies *M. ilicifolia*, *M. aquifolia* e *Z. ilicifolia* deram reação positiva para taninos condensados.

Notas: Testes histoquímicos. Folhas, caule e pecíolos em reação com Sudam III (Figura a-p); Folhas, caule e pecíolos em reação com floroglucinol/HCl (q-b'); Folhas, caule e pecíolos em reação com cloreto férrico e dicromato de potássio (c'-v'); Folhas, caule e pecíolos em reação com vanilina clorídrica (f', j', w', x'); Folhas, caule e pecíolos em reação com lugol (y'-ff). *M. ilicifolia* (a, b, c, q, r, c', d', e', f', y', z'); *M. aquifolia* (d, e, s, t, g', i', h', j', aa); *C. gongonha* (f, g, u, v, k', l', m', bb); *J. rhombifolia* (h, i, w, x, n', o', p', q', cc, dd); *S. bonplandii* (j, k, l, m, y, z, r', s', t', ee); *Z. ilicifolia* (n, o, p, a', b', u', v', w', x', ff). co: colênquima; ct: cutícula; dr: drusa; ep: epiderme; fi: fibra; gp: parênquima fundamental; gt: tricoma glandular; ob: gotícula de óleo; oc: célula oleosa; ph: floema; pi: medula; pp: parênquima paliçádico; se: camada subepidérmica; sl: camada subepidérmica sp: parênquima esponjoso; su: súber; xy: xilema. Barra de escala: q-t, w, x, g' = 500 µm; j, p'u', w', d', f' = 300 µm; y-a', l, j' = 200 µm; a-i, k-q, u, v, b', c', e', h', i', k, m', n', o', q', s', t', v', x' = 50 µm; r' = 25 µm.

Quadro 7. Reações histoquímicas das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

(continua)

	MI	MA	CG	JR	SB	ZI
Compostos lipofílicos	Cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule)	Cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule)	Cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule)	Cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule)	Cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule)	Cutícula da lâmina, nervura central, pecíolo e caule)
Lignina	Fibras, elementos de vaso do xilema em folha e caule, células pétreas presentes na nervura central, pecíolo e caule)	Fibras, elementos de vaso do xilema em folha e caule, células pétreas presentes na nervura central, pecíolo e caule)	Fibras e com os elementos de vaso do xilema em folhas e caule)	Fibras, elementos de vaso do xilema em folhas, caules e células pétreas no caule)	Fibras e com os elementos de vaso do xilema em folhas e caule)	Fibras e com os elementos de vaso do xilema em folhas e caule)
Compostos fenólicos	Floema ou próximo a este, no parênquima fundamental da nervura central e do pecíolo	Floema ou próximo a este, no parênquima fundamental da nervura central e do pecíolo	Células da epiderme do caule, próximos ao floema e no parênquima fundamental da nervura central, e em maior quantidade no parênquima fundamental do pecíolo	Células do parênquima fundamental da nervura central e do pecíolo, células parenquimáticas do tecido xilemático do caule	Células do mesofilo, células do parênquima fundamental, próximas ao sistema vascular, e também na epiderme, células colenquimáticas, células do parênquima cortical e nas células parenquimáticas do tecido xilemático do caule	Face adaxial do pecíolo, nas proximidades da bainha esclerenquimática
Taninos condensados	Face abaxial da nervura central próximo as fibras e no parênquima medular, células do colênquima do pecíolo e córtex do caule, próximo as fibras	Face abaxial da nervura central próximo as fibras e no parênquima medular, células do colênquima do pecíolo e córtex do caule, próximo as fibras	Negativo	Negativo	Negativo	Colênquima da nervura central e do pecíolo e no córtex do caule

Quadro 7. Reações histoquímicas das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).

(conclusão)

Grãos de amido	Parênquima fundamental do pecíolo, próximo às fibras	Córtex do caule, próximos as células pétreas)	Tecido floemático na nervura central e no pecíolo	Córtex, tecido floemático, células parenquimáticas do xilema e medula do caule	Células parenquimáticas do xilema na medula do caule	Parênquima fundamental do pecíolo, próximas à bainha esclerenquimática
----------------	--	---	---	--	--	--

Fonte: O autor.

Notas: MI (*M. ilicifolia*); MA (*M. aquifolia*); CG (*C. gongonha*); JR (*J. rhombifolia*); SR (*S. bonplandii*); ZI (*Z. ilicifolia*).

5.3 ANÁLISE DE CRISTAIS

No presente estudo, todas as espécies evidenciam cristais de oxalato de cálcio (Figura 14a-d'). Especificamente, cristais bipiramidais, hexagonais e romboédricos em *M. ilicifolia* (Figuras 14a, 14g, 14m, 14s, 14y). Em *M. aquifolia* os cristais são estiloides (Figuras 14b, 14h, 14n, 14t, 14z). *Citronella gongonha* e *J. rhombifolia* apresentam drusas (Figuras 14c-d, 14i-j, 14o-p, 14u-v, 14b'), sendo que *C. gongonha* também apresenta cristais amorfos sobre a epiderme (Figura a'). Estão presentes cristais do tipo romboédricos, irregulares e areia cristalina em *S. bonplandii* (Figuras 14e, 14k, 14q, 14w, 14c'). *Zollernia ilicifolia* apresenta cristais romboédricos e irregulares (Figuras 14f, 14l, 14r, 14x, 14d'). Diferentes formas dos cristais, como mostradas no estudo, auxiliam o controle da qualidade na diferenciação das espécies.

A presença de cristais nas plantas é frequente, sendo que podem ser formados em qualquer órgão ou tecido. Os cristais geralmente ocorrem nos caules (BRUSTULIM *et al.*, 2020) e folhas (MACHADO *et al.*, 2021b) e pode ser depositado em diferentes tecidos e locais, como nas células epidérmicas (TRASEAL *et al.*, 2017), externamente à epiderme (ALMEIDA *et al.*, 2020), no mesofilo (TIRLONI *et al.*, 2018), e no córtex e medula (D'ALMEIDA *et al.*, 2021) do caule.

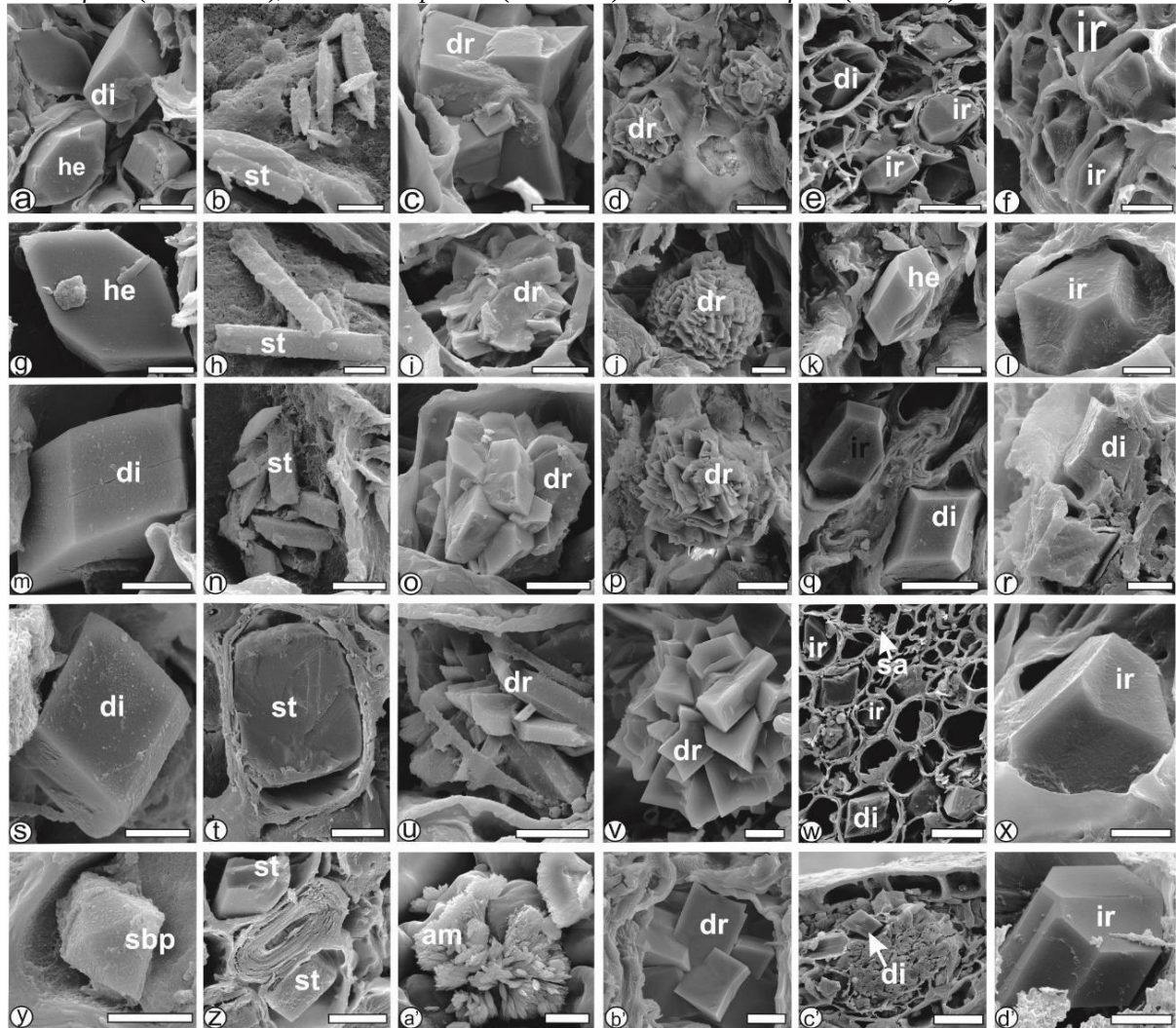
Podem ser diferenciados pelas formas que se apresentam e são assim definidos: drusas são aglomerados esféricos que possuem numerosas faces e pontas agudas, ráfides são cristais em forma de agulha e comumente aparecem em feixes, estiloides são cristais longos e prismáticos na forma e com faces planas, prismáticos são romboidais ou prismáticos na forma, mostrando faces planas podem assumir várias formas, e areia cristalina, caracterizadas por um amontoado de cristais pequenos (2-5 μm). (UPTON *et al.*, 2011; CRANG; LYONS-SOBASKI, WISE, 2018).

Comumente sua composição é de oxalato de cálcio, porém podem ser encontrados cristais de carbonato de cálcio, carbonato de magnésio e malato de cálcio. O cálcio é um elemento essencial para as plantas, regulando enzimas e funções celulares, podendo se precipitar e formar os cristais. Esses cristais têm funções conhecidas, como de anti-herbivoria, regulação de cálcio, desintoxicação, equilíbrio iônico, suporte mecânico e captação de luz e reflexão (FRANCESCHI; NAKATA, 2005; CRANG; LYONS-SOBASKI, WISE, 2018).

No presente estudo, os espectros das microanálises qualitativas de raios-X dos cristais mostram picos de cálcio, carbono e oxigênio (Figuras 15a-f) sugerindo que esses cristais são de oxalato de cálcio. Apenas o espectro das microanálises qualitativas de raios- X do cristal de *C. gongonha* apresenta em sua composição magnésio e manganês (Figura 15c). A composição química dos cristais nas famílias superiores geralmente é formada por oxalato de cálcio. Quando há excesso de cálcio, pode ser precipitado como carbonato, fosfato, silicato, oxalato e citrato (WEINER; DOVE, 2003; BERTOCCO *et al.*, 2017).

A presença, o tipo e a composição química dos cristais têm auxiliado na diagnose de drogas vegetais, como observado em espécies de *Piper* (SANTOS *et al.*, 2015; BERTOCCO *et al.*, 2017), *Baccharis* (BOBEK *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2021) e *Eucalyptus* (MIGACZ *et al.*, 2018; BRITTO *et al.*, 2021).

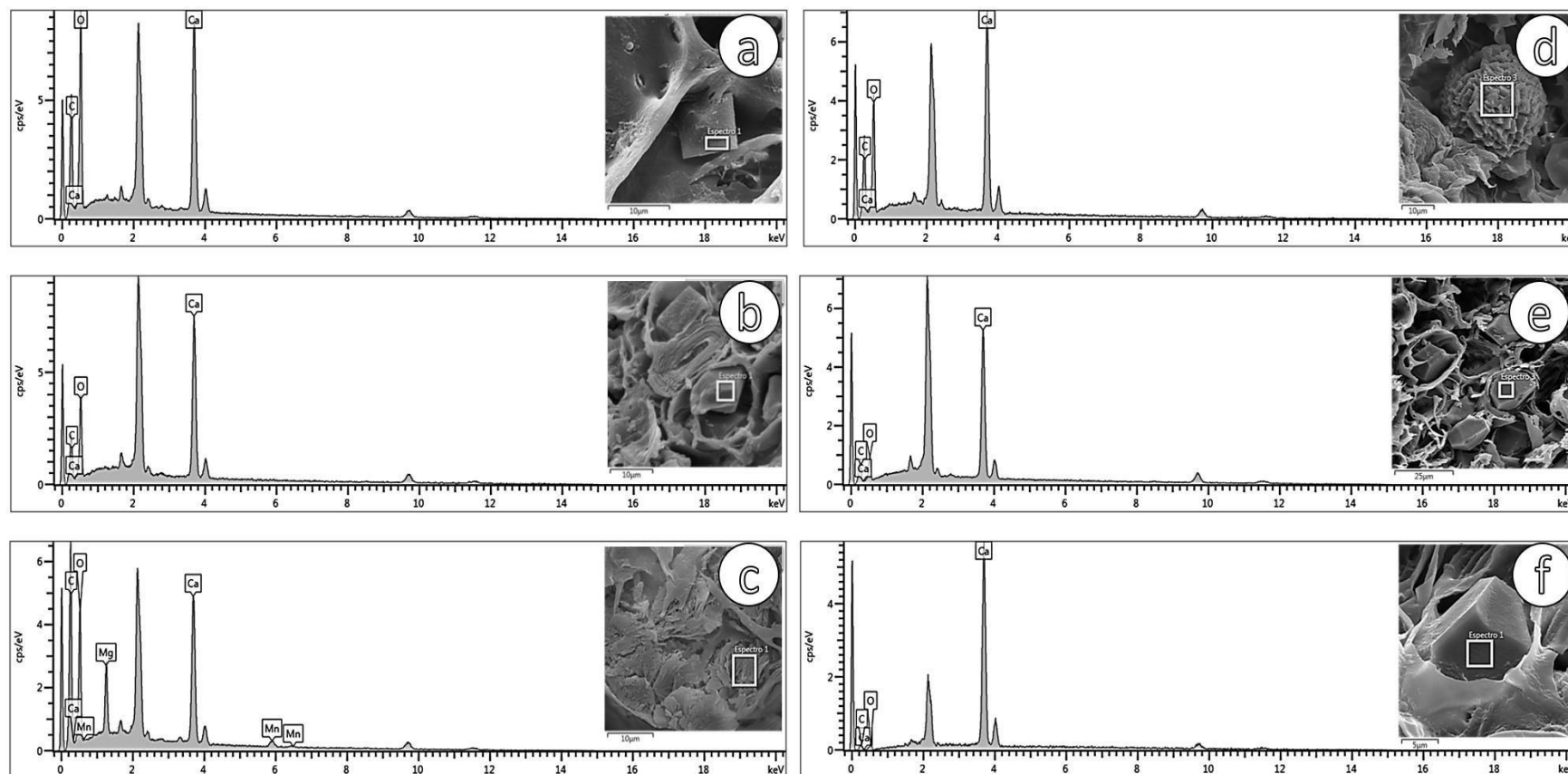
Figura 14 – Cristais presentes em tecidos foliares e caulinares das espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).



Fonte: O autor.

Notas: Microscopia Eletrônica de varredura (MEV). *M. ilicifolia* (a, g, m, s, y); *M. aquifolia* (b, h, n, t, z); *C. gongonha* (c, i, o, u, a'); *J. rhombifolia* (d, j, p, v, b'); *S. bonplandii* (e, k, q, w, c'); *Z. ilicifolia* (f, l, r, x, d'). am: amorfo; di: romboédrico; dr: drusa; he: hexagonal; ir: irregular; sa: areia cristalina; st: estiloide; sbp: bipiramidal. Barra de escala: d, e, w, c' = 20 μm ; a, c, f, l, j, n-q, t, u, z, b' = 10 μm ; b, g, k, l, m, r, s, v, x, y, a', d' = 5 μm , h = 2 μm .

Figura 15 - Espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDX) dos cristais nas espécies *Monteverdia ilicifolia* (Celastraceae), *Monteverdia aquifolia* (Celastraceae), *Citronella gongonha* (Cardiopteridaceae), *Jodina rhombifolia* (Santalaceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Fabaceae).



Fonte: O autor.

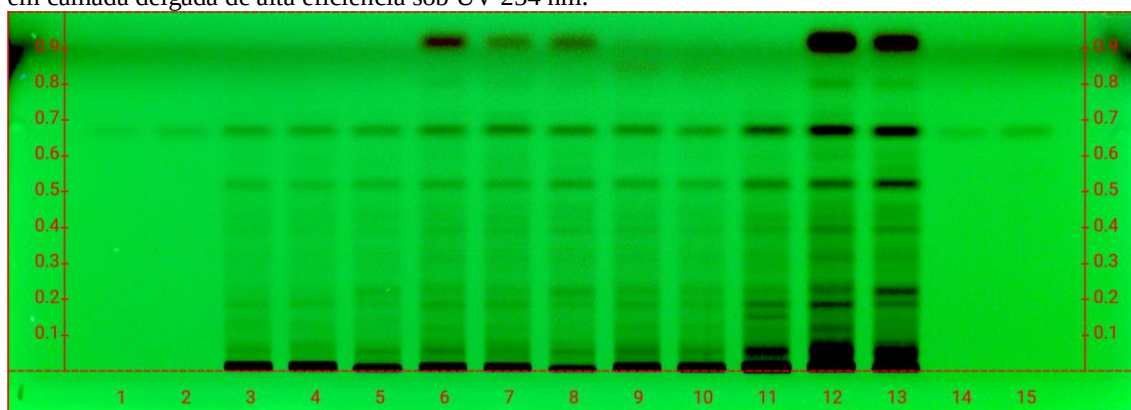
Notas: Espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDX). *M. ilicifolia* (a) EDS do cristal prismático; *M. aquifolia* (b) EDS do cristal prismático; *C. gongonha* (c) EDS do cristal amorfo; *J. rhombifolia* (d) EDS da drusa; *S. bonplandii* (e) EDS do cristal prismático; *Z. ilicifolia* (f) EDS do cristal prismático. Os picos não identificados correspondem ao metal “Au” utilizado no processo de metalização do material para análise em microscopia eletrônica de varredura.

5.4 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DE ALTA EFICIÊNCIA (CCDAE)

5.4.1 Determinação do método de extração

A determinação do melhor método de extração foi comparada e evidenciada nas Figuras 16-20 e com a análise densitométrica do padrão epicatequina e epicatequina nas amostras de *M. ilicifolia*, mostrada nas Figuras 16-20 entre os três métodos.

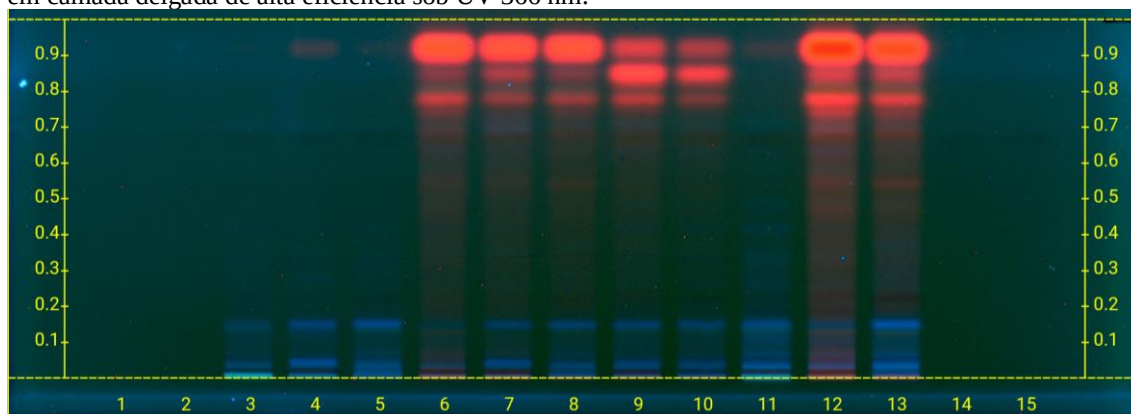
Figura 16 - Amostras de *Monteverdia ilicifolia* e o padrão epicatequina submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão de epicatequina, faixas 1, 2, 14 e 15 com diferentes volumes de aplicação e epicatequina nas amostras; faixas 3 a 5, extração de água; faixas 6 a 8 extração de metanol e faixas 9 e 10 metanol e água sonificado. Faixas 11, 12 e 13 são repetições das faixas 3, 6 e 8, respectivamente, com volumes maiores.

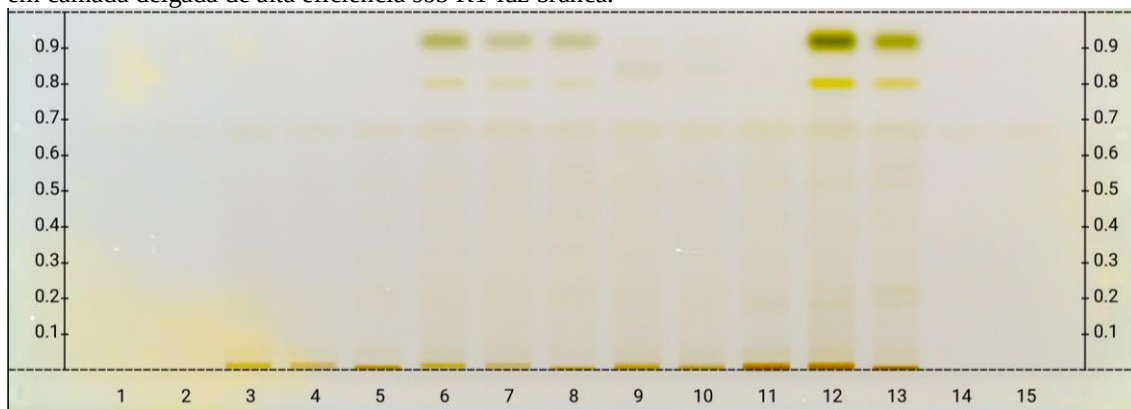
Figura 17 - Amostras de *Monteverdia ilicifolia* e o padrão epicatequina submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão de epicatequina, faixas 1, 2, 14 e 15 com diferentes volumes de aplicação e epicatequina nas amostras; faixas 3 a 5, extração de água; faixas 6 a 8 extração de metanol e faixas 9 e 10 metanol e água sonificado. Faixas 11, 12 e 13 são repetições das faixas 3, 6 e 8, respectivamente, com volumes maiores.

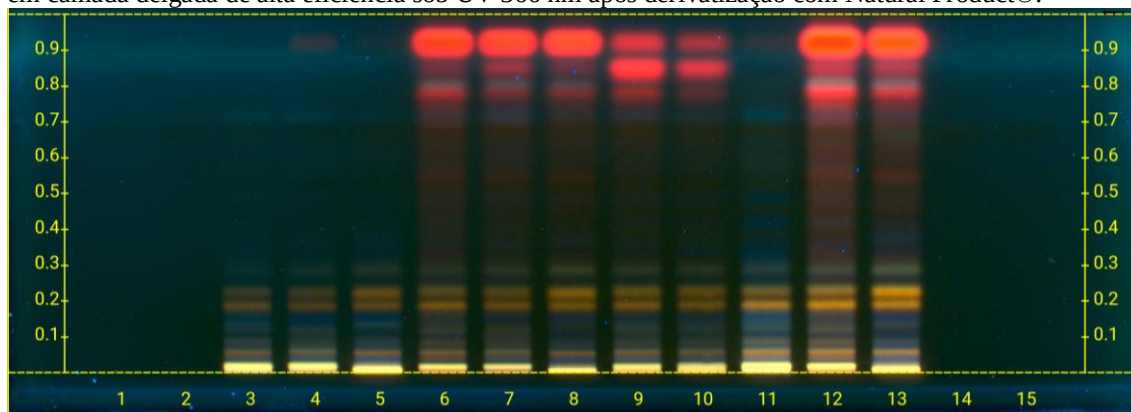
Figura 18 - Amostras de *Monteverdia ilicifolia* e o padrão epicatequina submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: padrão de epicatequina, faixas 1, 2, 14 e 15 com diferentes volumes de aplicação e epicatequina nas amostras; faixas 3 a 5, extração de água; faixas 6 a 8 extração de metanol e faixas 9 e 10 metanol e água sonicado. Faixas 11, 12 e 13 são repetições das faixas 3, 6 e 8, respectivamente, com volumes maiores.

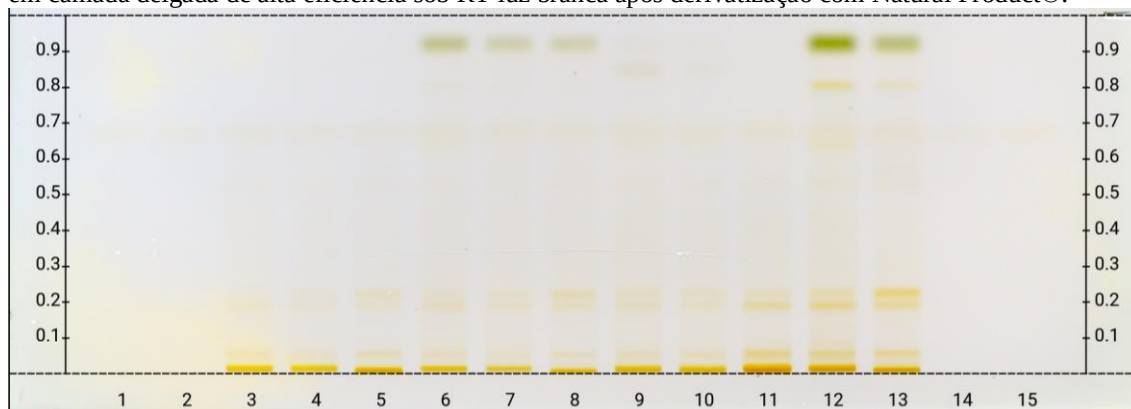
Figura 19 - Amostras de *Monteverdia ilicifolia* e o padrão epicatequina submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão de epicatequina, faixas 1, 2, 14 e 15 com diferentes volumes de aplicação e epicatequina nas amostras; faixas 3 a 5, extração de água; faixas 6 a 8 extração de metanol e faixas 9 e 10 metanol e água sonicado. Faixas 11, 12 e 13 são repetições das faixas 3, 6 e 8, respectivamente, com volumes maiores.

Figura 20 - Amostras de *Monteverdia ilicifolia* e o padrão epicatequina submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca após derivatização com Natural Product®.



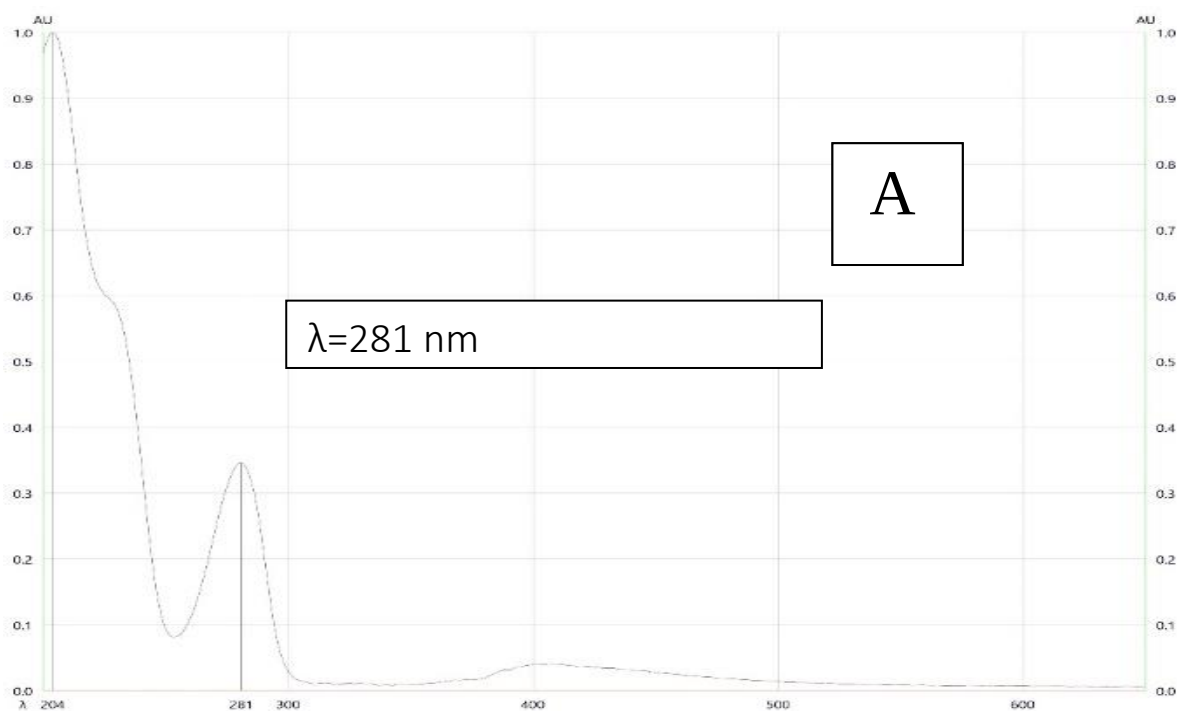
Fonte: O autor.

Notas: padrão de epicatequina, faixas 1, 2, 14 e 15 com diferentes volumes de aplicação e epicatequina nas amostras; faixas 3 a 5, extração de água; faixas 6 a 8 extração de metanol e faixas 9 e 10 metanol e água sonicado. Faixas 11, 12 e 13 são repetições das faixas 3, 6 e 8, respectivamente, com volumes maiores.

5.4.1.1 Análise densitométrica

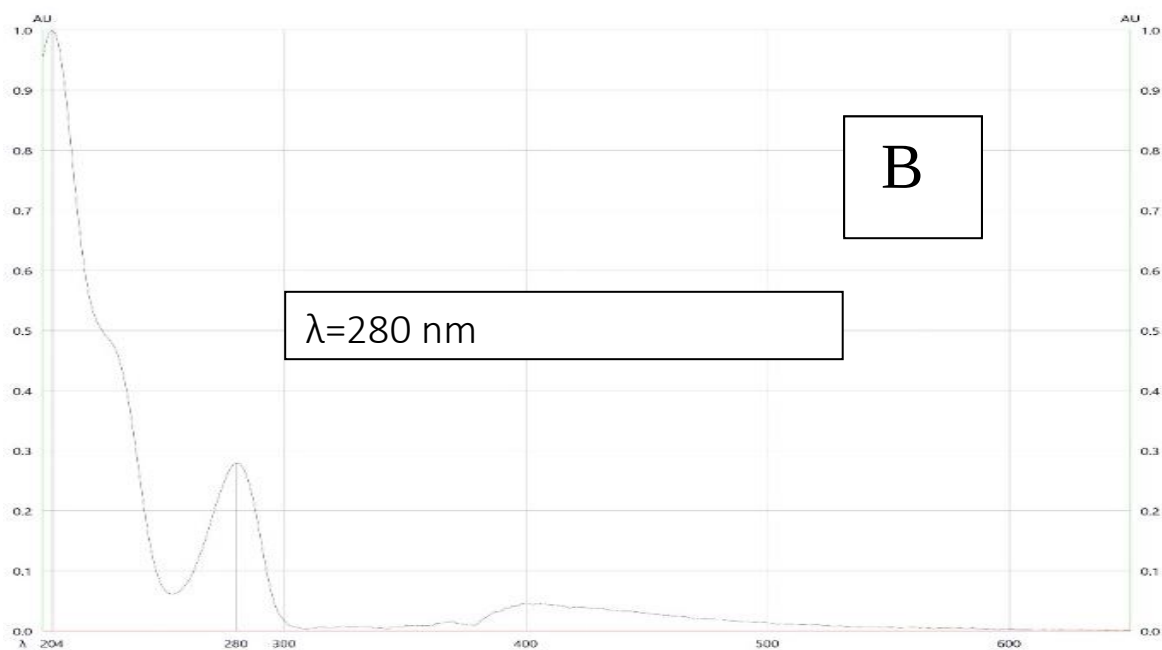
A análise densitométrica comparou a densidade de epicatequina com o padrão epicatequina (A) e de amostras de *M. ilicifolia* (B), sendo os resultados mostrados nas Figuras 21 e 22.

Figura 21 - Padrão epicatequina submetido a análise densitométrica.



Fonte: O autor.

Figura 22 - Epicatequina nas amostras de *M. ilicifolia* submetidas a análise densitométrica.

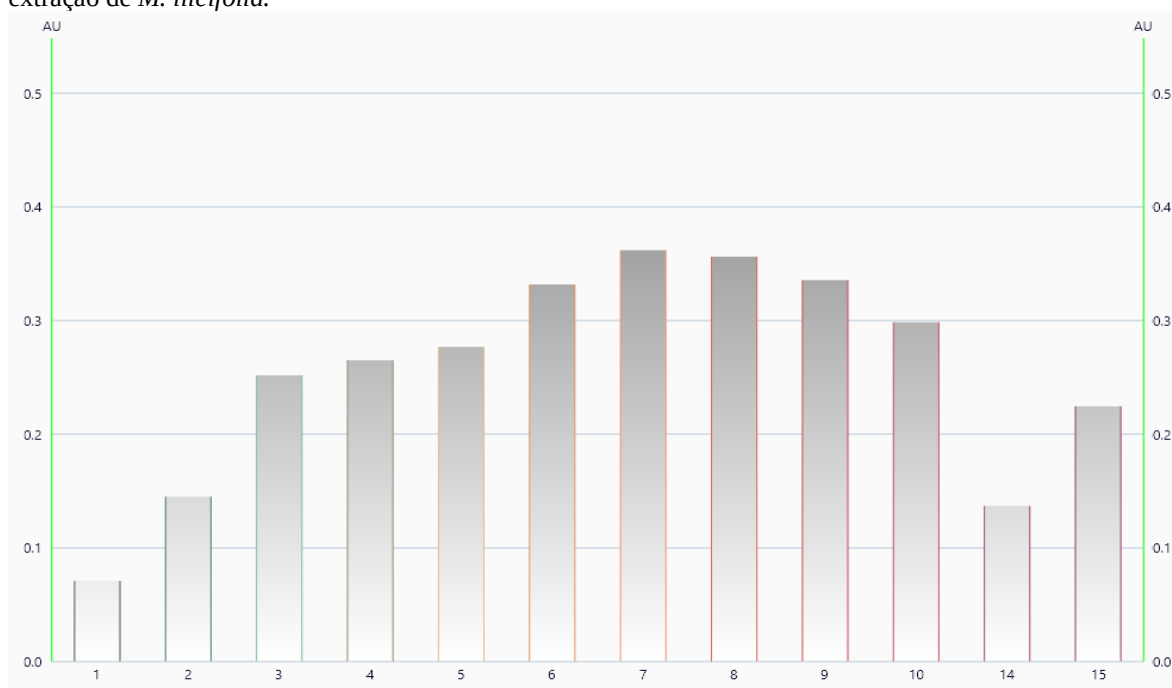


Fonte: O autor.

Os gráficos demonstram que as amostras de *M. ilicifolia* submetidas a análise densitométrica contém uma densidade de epicatequina semelhante ao padrão, sendo assim, de qualidade as amostras utilizadas.

Comparando-se todos os métodos de extração e os padrões de epicatequina foram demonstrados diferentes picos de concentrações de epicatequina, sendo o pico 1, 2, 14 e 15 para o padrão epicatequina, 3, 4 e 5 para a extração com água (Extrato 1), 6, 7 e 8 para a extração com metanol (Extrato 2) e 9 e 10 metanol e água sonicados (Extrato 3), demonstrados na Figura 23.

Figura 23 - Comparação de concentração de epicatequina do padrão epicatequina com as diferentes formas de extração de *M. ilicifolia*.



Fonte: O autor.

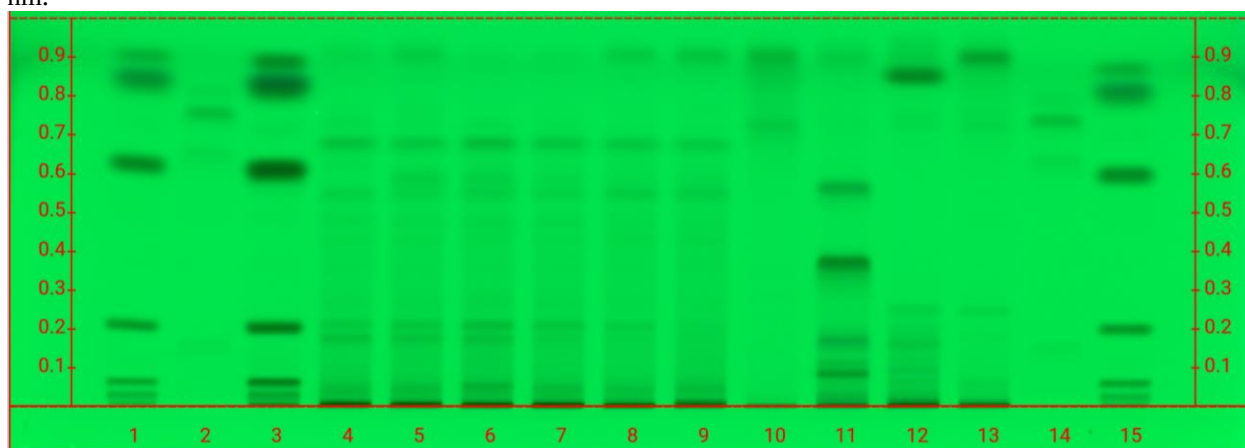
Nota: Picos de altura para padrão de epicatequina, faixas 1, 2, 14 e 15 com diferentes volumes de aplicação e epicatequina nas amostras; faixas 3 a 5, extração de água; faixas 6 a 8 extração de metanol e faixas 9 e 10 metanol e água sonificado.

Os resultados demonstraram que as extrações com metanol (Extrato 2) e extração com metanol e água 8:2 v/v (Extrato 3) extraíram melhor a epicatequina quando comparada à extração aquosa. A banda de epicatequina pode ser vista sob UV 254 nm, mas não claramente observada após derivatização com o reagente Natural Product®. É possível perceber que as aplicações com volumes maiores demonstram bandas com uma maior intensidade, porém as bandas com aplicações com volumes menores apresentam resultados satisfatórios. Sendo assim o método de extração apresentado pelo Extrato 2 foi utilizada como padrão para todo o trabalho, pois demonstrou grande eficiência e rapidez na preparação. Dessa forma, sugere-se a que a CCDAE seja preconizada pela Farmacopeia brasileira.

5.4.1.2 Análise de métodos - fase móvel

Para avaliar os métodos utilizados, um novo lote de amostras foi utilizado para testar a fase móvel utilizada na metodologia da Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019). O preparo das amostras, padrões e aplicação foram os mesmos da metodologia anteriormente citada. Foram utilizadas diferentes amostras de *Monteverdia ilicifolia*, pois é a planta base do trabalho. Resultados são mostrados nas Figuras 24-30.

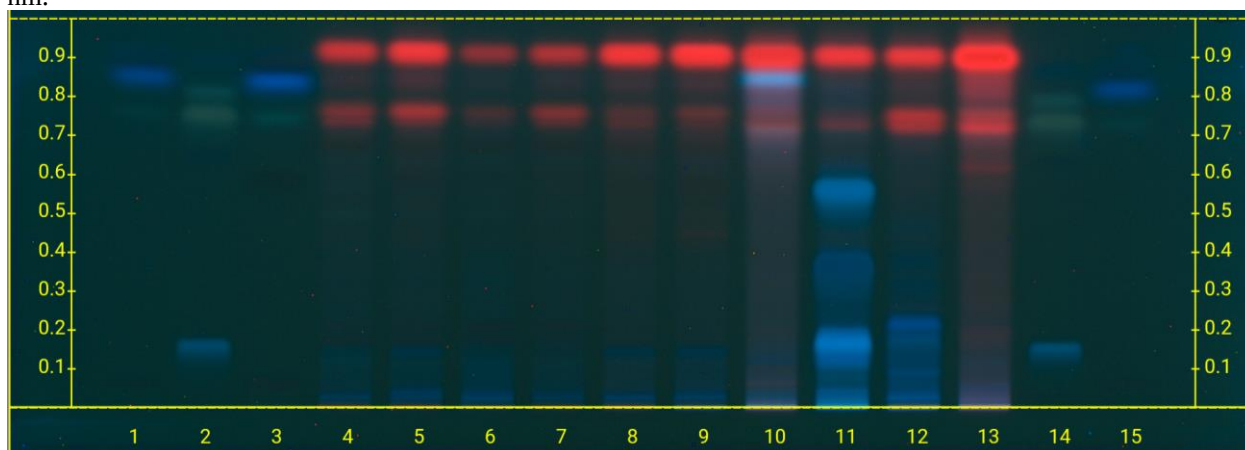
Figura 24 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

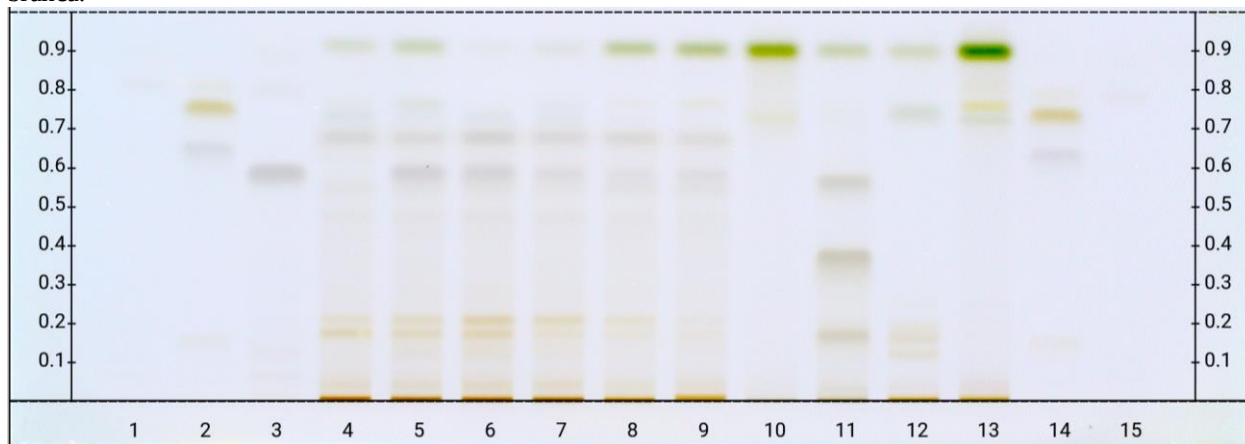
Figura 25 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

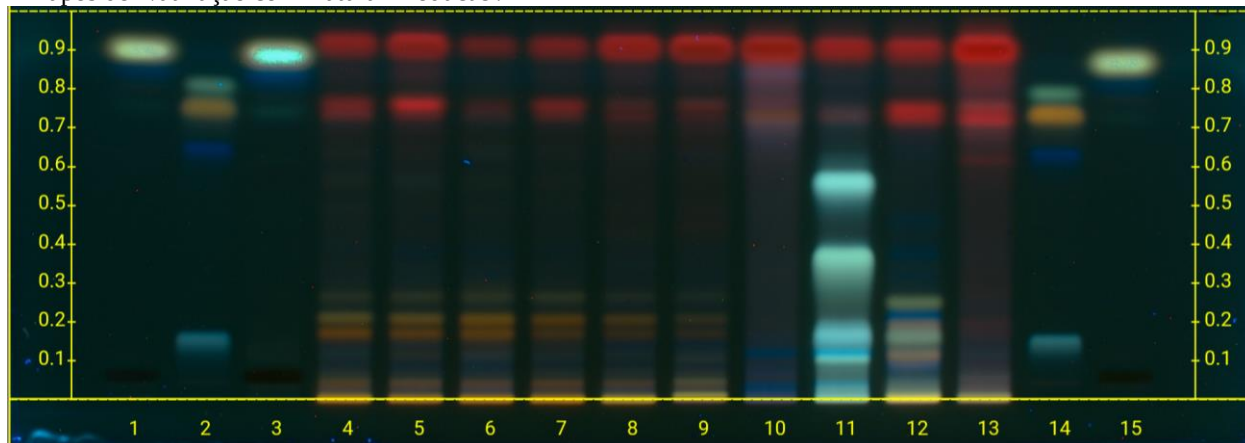
Figura 26 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

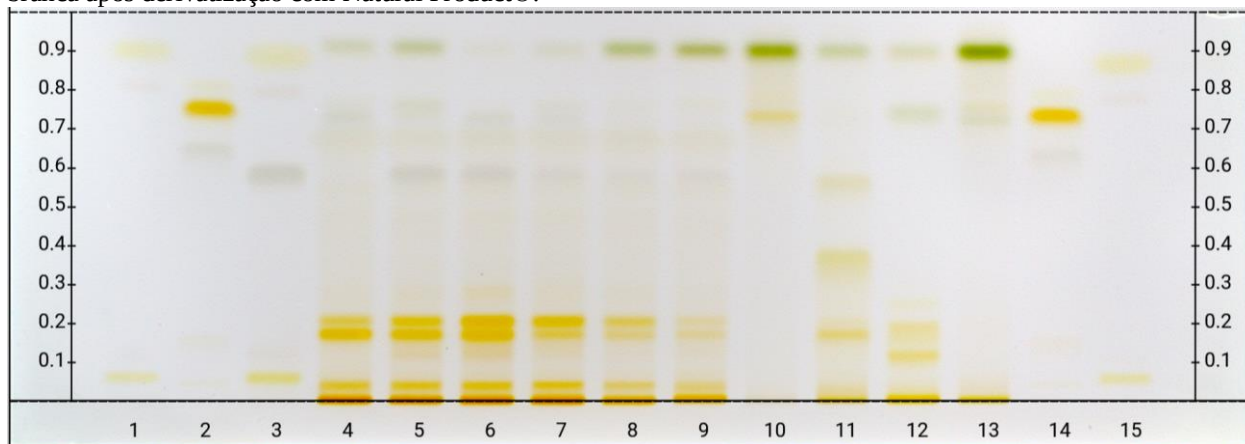
Figura 27 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

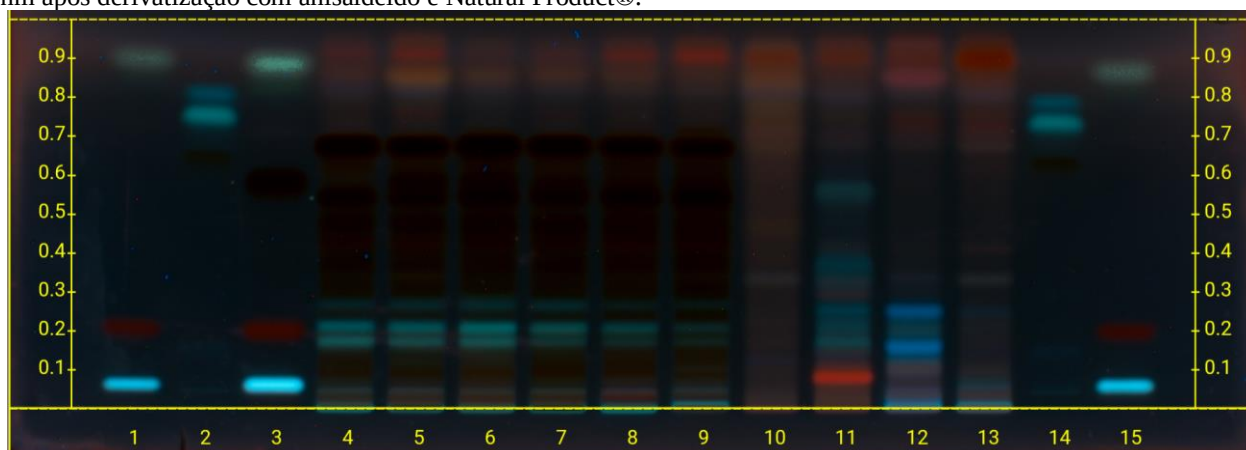
Figura 28 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

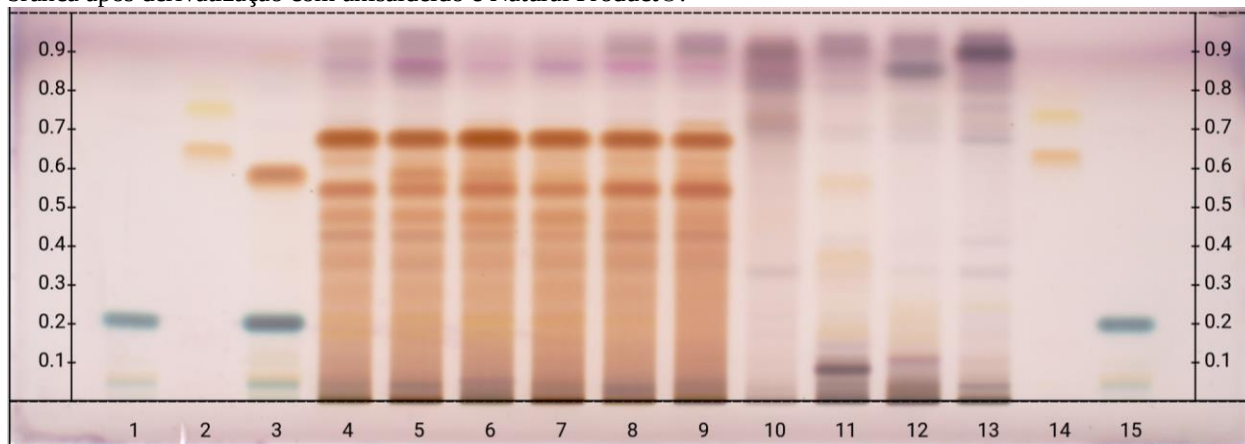
Figura 29 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com anisaldeído e Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

Figura 30 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com anisaldeído e Natural Product®.



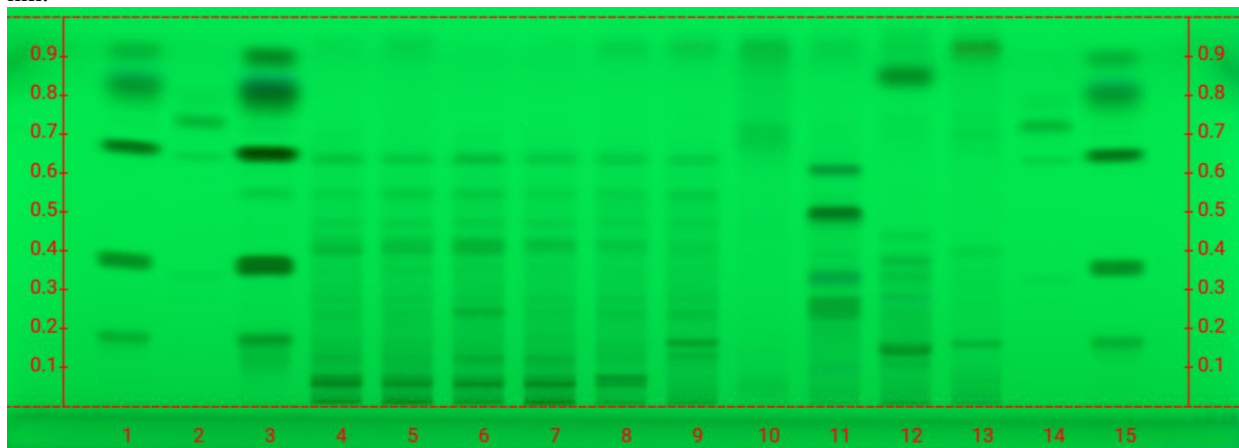
Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

Com essas análises ficou demonstrado que utilizando a fase móvel determinada na Farmacopeia brasileira não há diferença nos *fingerprints* de *M. ilicifolia* e *M. aquifolia*.

Dessa forma, para uma melhor conclusão e eficiência, foram feitas análises de amostras do experimento anterior, contudo usando dessa vez etanoato de butila, metanol, água e ácido fórmico (7.5:2:1:1, v/v), baseando-se em um relato na literatura de que tal fase móvel seria mais eficiente para a separação de flavonoides (PERERA, *et al.*, 2021). O preparo das amostras, padrões e aplicação foram os mesmos das metodologias anteriormente citadas. Resultados são evidenciados nas Figuras 31-37.

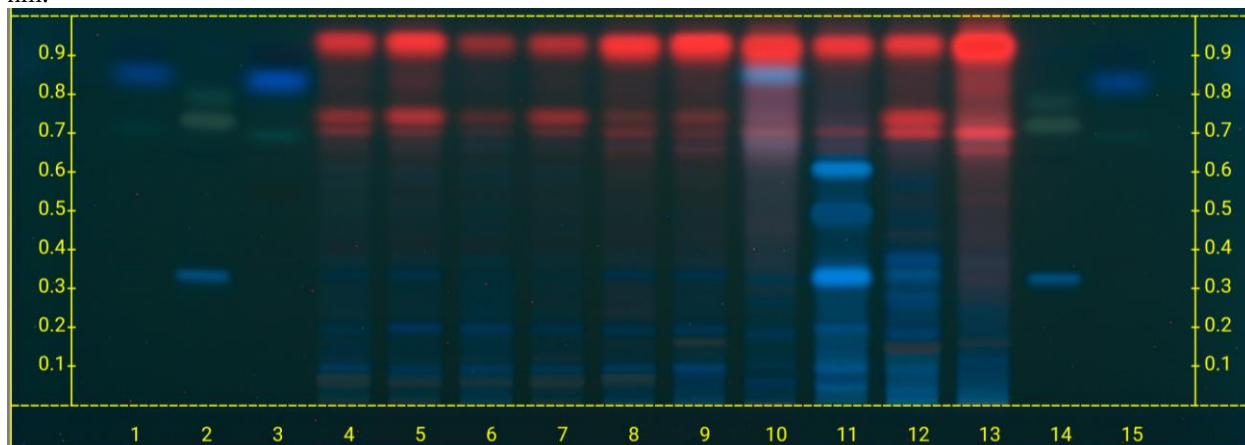
Figura 31 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

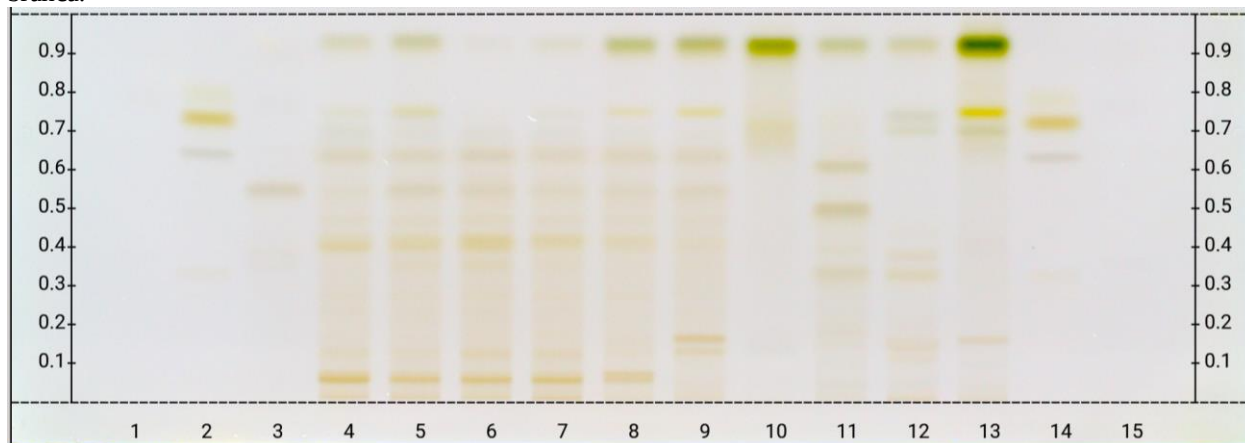
Figura 32 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

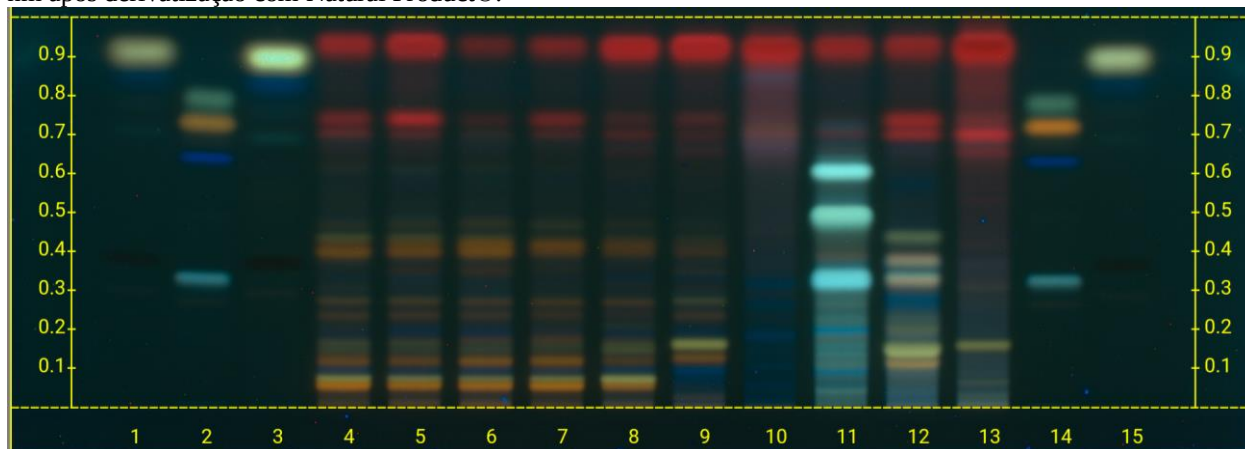
Figura 33 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

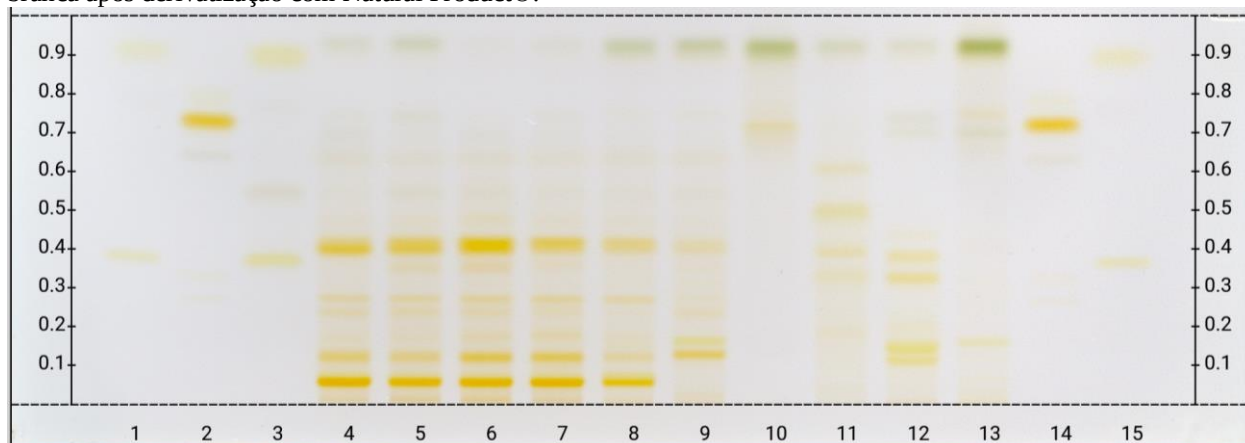
Figura 34 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

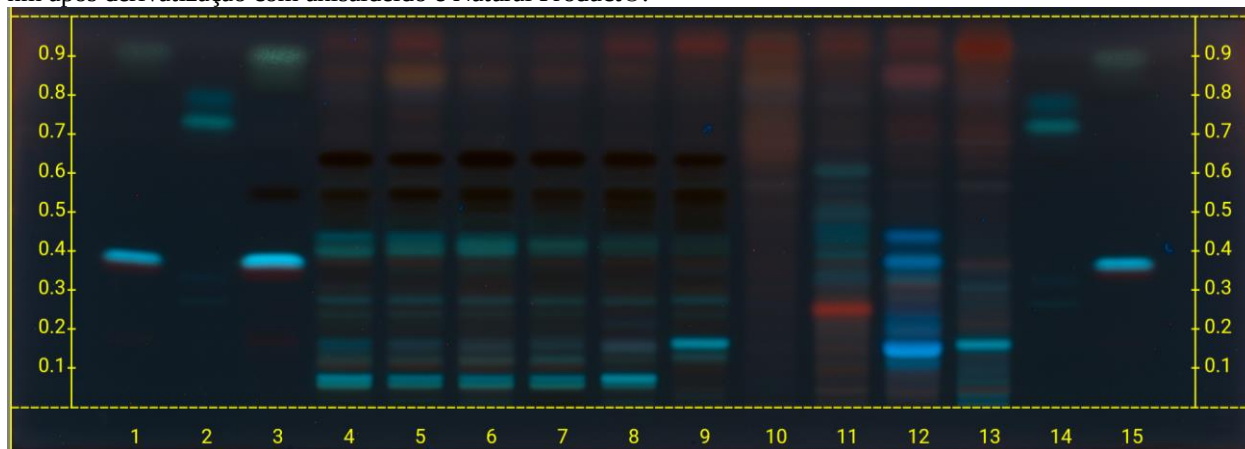
Figura 35 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

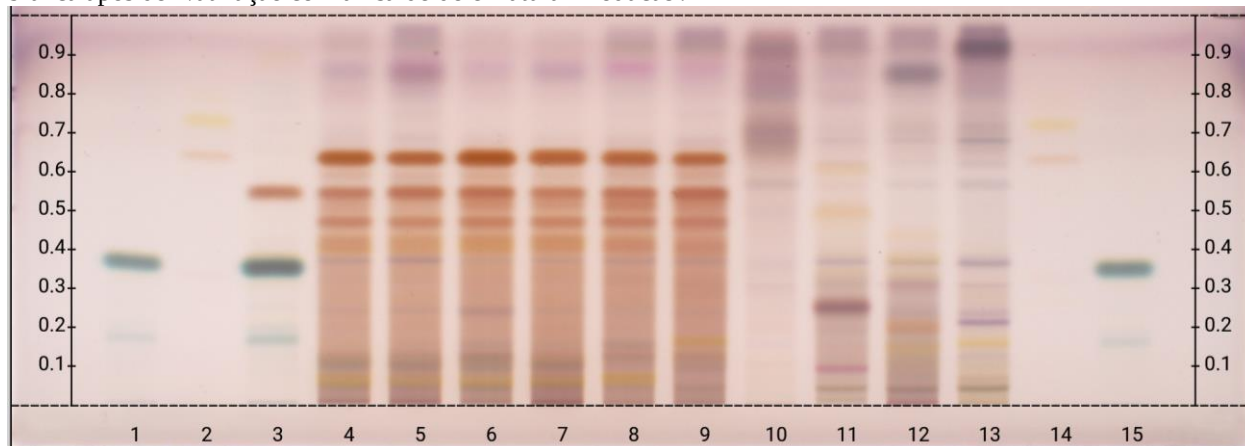
Figura 36 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com anisaldeído e Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

Figura 37 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca após derivatização com anisaldeído e Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixa 1, 3 e 15; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 2 e 14; faixas 4 a 8, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 9, *Monteverdia aquifolia*; faixa 10, *Sorocea bonplandii*; faixa 11, *Citronella gongonha*; faixa 12, *Jodina rhombifolia*; faixa 13, *Zollernia ilicifolia*.

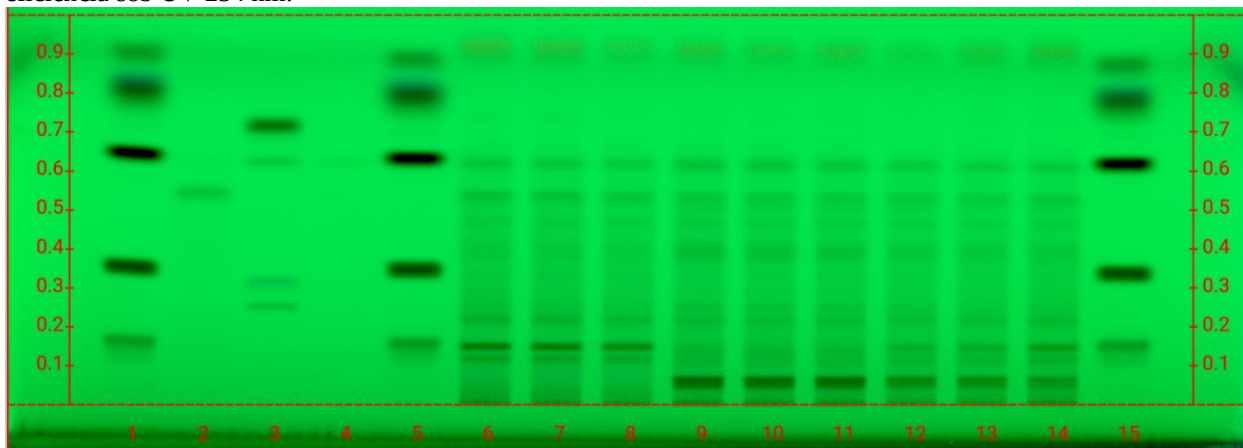
É notório a presença de possíveis flavonoides no *fingerprint* de *M. ilicifolia*, sendo um diferencial quando comparado ao dos adulterantes, especialmente sob UV 366 nm após derivatização com o reagente Natural Product®. Também a fase móvel utilizada otimizou a separação desses flavonoides e, no caso, a quercetina com fator de retenção similar com o da epicatequina, foram separadas de um flavonoide glicosilado. Dessa forma, o método se

mostrou eficaz e com resultados melhores do que os demonstrados na metodologia da Farmacopeia brasileira, sendo assim, aplicado para as todas as próximas análises.

5.4.2 Análise dos extratos de *M. ilicifolia* e *M. aquifolia*

Com a metodologia definida, para diferenciação entre as duas espécies de *Monteverdia*, foram feitas placas com padrões de referência, amostras das duas espécies e mistura com diferentes graus de porcentagens (20%, 30% e 50%) entre as duas *Monteverdias*. Os resultados são observados nas Figuras 38-42.

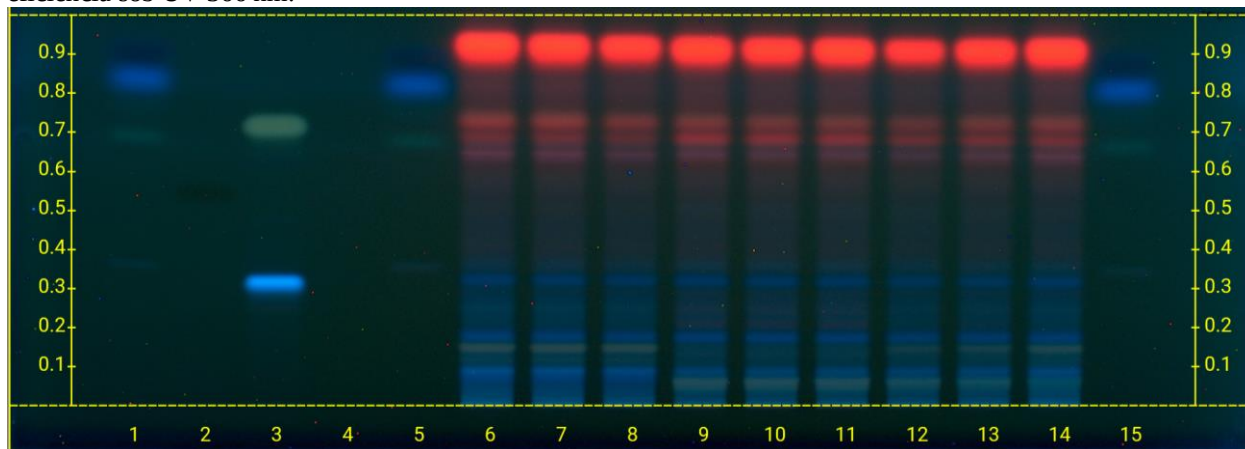
Figura 38 - Amostras de *M. aquifolia*, *M. ilicifolia*, *M. ilicifolia* adulterada com diferentes porcentagens de *M. aquifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixas 1, 5 e 15; padrão epicatequina, faixas 2 e 4; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 3; faixas 6 a 8, *Monteverdia aquifolia*; faixas 9 a 11, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 12, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 20%; faixa 13, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 30%; faixa 14, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 50%.

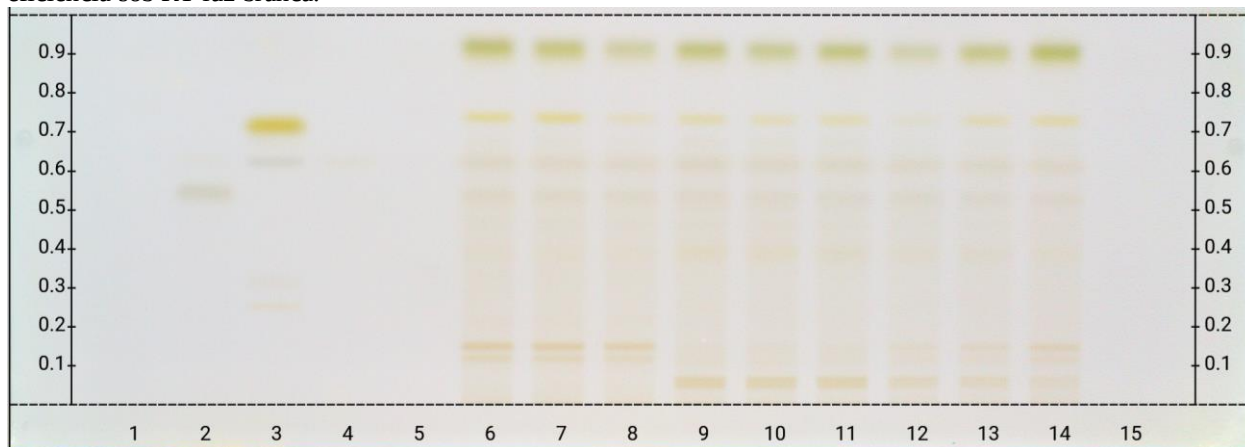
Figura 39 - Amostras de *M. aquifolia*, *M. ilicifolia*, *M. ilicifolia* adulterada com diferentes porcentagens de *M. aquifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixas 1, 5 e 15; padrão epicatequina, faixas 2 e 4; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 3; faixas 6 a 8, *Monteverdia aquifolia*; faixas 9 a 11, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 12, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 20%; faixa 13, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 30%; faixa 14, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 50%.

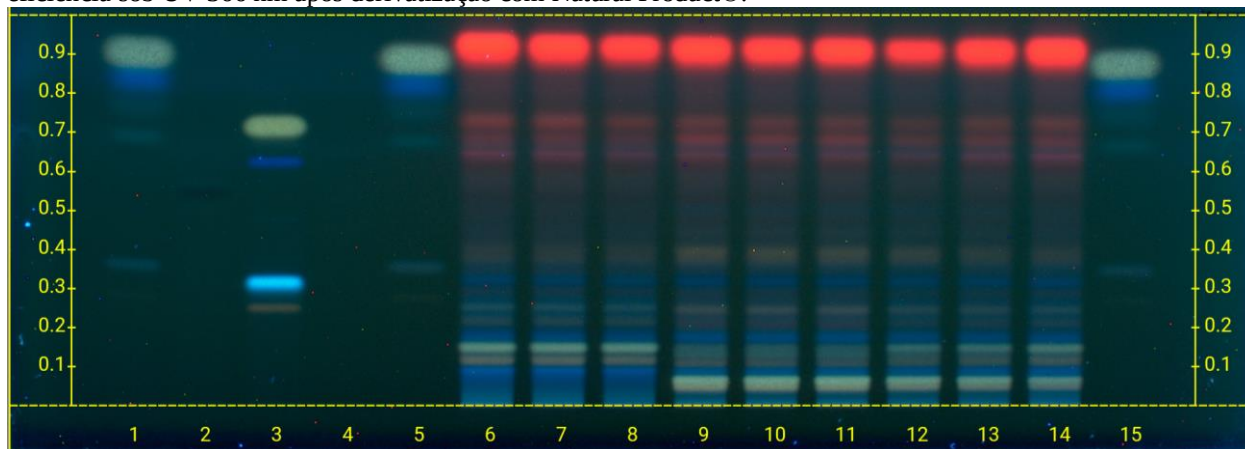
Figura 40 - Amostras de *M. aquifolia*, *M. ilicifolia*, *M. ilicifolia* adulterada com diferentes porcentagens de *M. aquifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixas 1, 5 e 15; padrão epicatequina, faixas 2 e 4; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 3; faixas 6 a 8, *Monteverdia aquifolia*; faixas 9 a 11, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 12, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 20%; faixa 13, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 30%; faixa 14, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 50%.

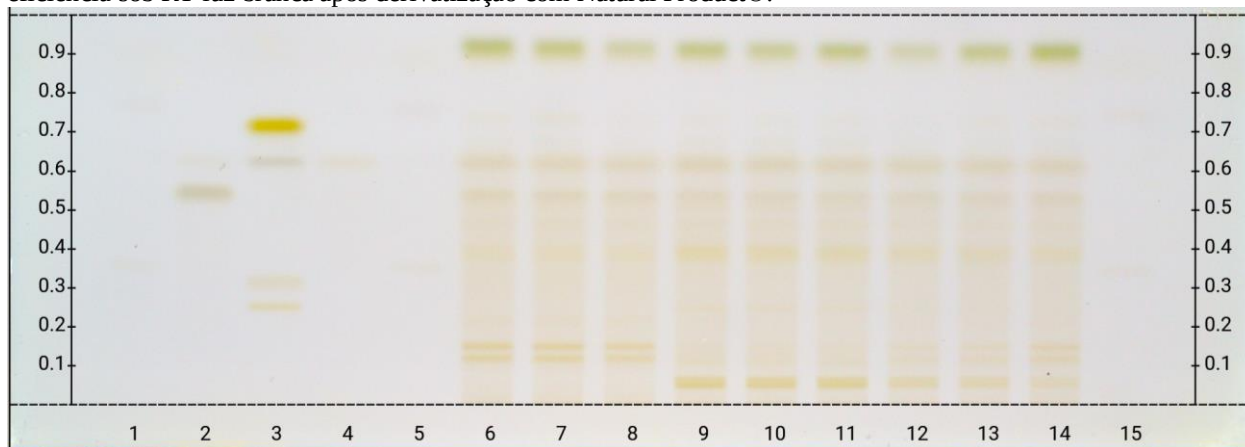
Figura 41 - Amostras de *M. aquifolia*, *M. ilicifolia*, *M. ilicifolia* adulterada com diferentes porcentagens de *M. aquifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixas 1, 5 e 15; padrão epicatequina, faixas 2 e 4; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 3; faixas 6 a 8, *Monteverdia aquifolia*; faixas 9 a 11, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 12, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 20%; faixa 13, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 30%; faixa 14, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 50%.

Figura 42 - Amostras de *M. aquifolia*, *M. ilicifolia*, *M. ilicifolia* adulterada com diferentes porcentagens de *M. aquifolia* e os padrões de referência submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca após derivatização com Natural Product®.



Fonte: O autor.

Notas: padrão UHM, faixas 1, 5 e 15; padrão epicatequina, faixas 2 e 4; ácido clorogênico, quercetina e rutina, faixa 3; faixas 6 a 8, *Monteverdia aquifolia*; faixas 9 a 11, *Monteverdia ilicifolia*; faixa 12, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 20%; faixa 13, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 30%; faixa 14, *Monteverdia ilicifolia* e *Monteverdia aquifolia* 50%.

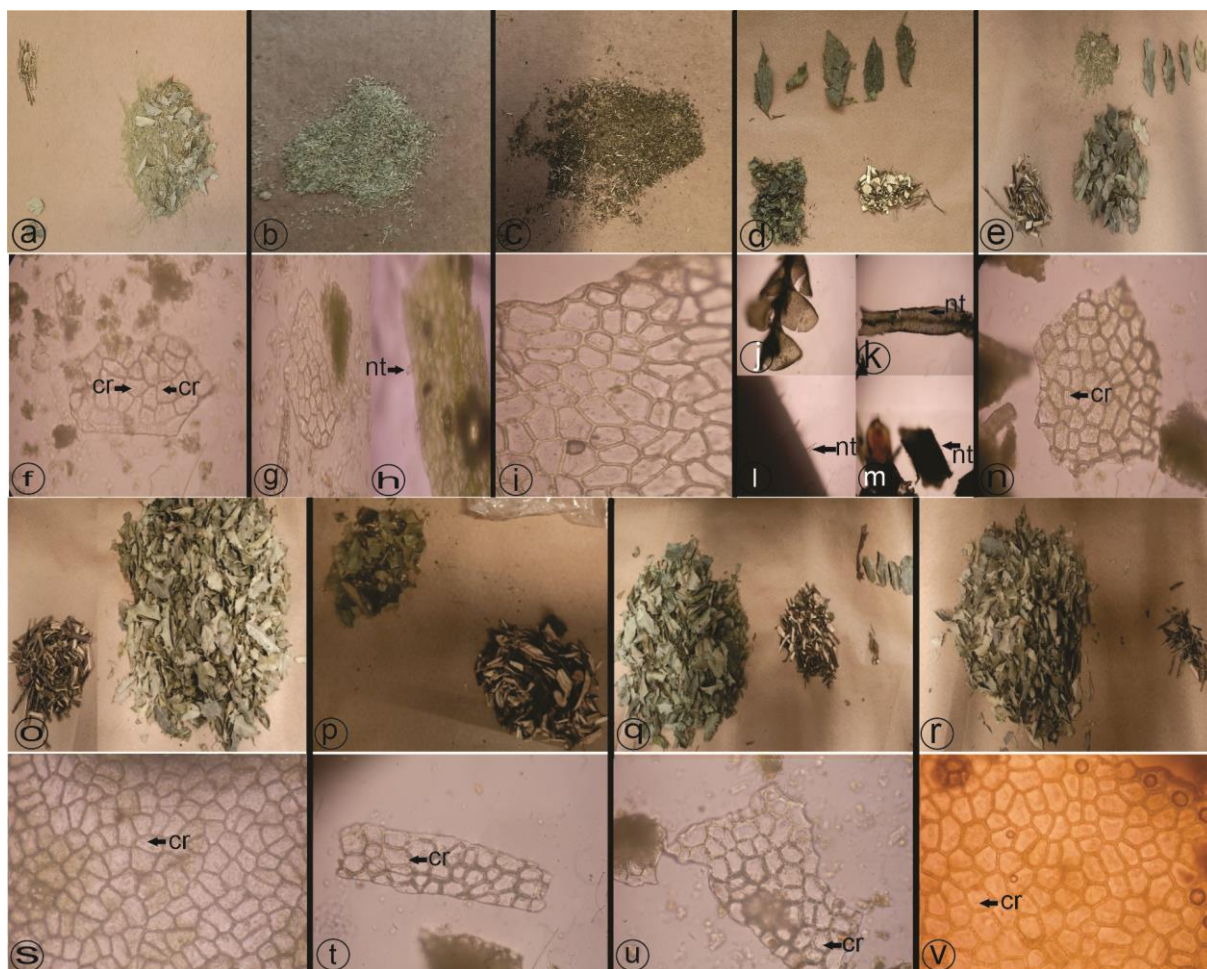
É possível notar que os *fingerprints* são diferentes entre as duas espécies em CCDAE. Em *M. ilicifolia*, o CCDAE *fingerprint* apresenta duas bandas em $R_F \sim 0.05$ que não estão presentes em *M. aquifolia*. Todavia, bandas em $R_F \sim 1.5$ são mais intensas em *M. aquifolia* do que em *M. ilicifolia*, podendo ser um fator determinante para discriminar adulterações intencionais com *M. aquifolia*.

5.5 CONTROLE DA QUALIDADE DAS AMOSTRAS COMERCIAIS

5.5.1 Pesquisa de matéria estranha

Para o controle da qualidade de produtos comercializados, as amostras comerciais foram identificadas com a sigla “AM”, sendo elas indicadas de “AM1” até “AM9”. As análises das amostras comerciais estão representadas na Figura 43. As Figuras “43a-43e” e “48o-48r” representam o preparo inicial das amostras, as quais foram submetidas ao processo de pesagem e logo em seguida a separação da matéria estranha. Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019), a matéria estranha específica para amostras de *M. ilicifolia* é de no máximo 2,0%. A porcentagem de matéria estranha está indicada na Tabela 4. As Figuras de “43f-43n” e “43s-43v” representam a microscopia do pó.

Figura 43 – Amostras comerciais após separação de matéria estranha e microscopia do pó.



Fonte: O autor.

Notas: Separação matéria estranha (Figura a-e, o-r); lâmina do pó (Figura f-n, s-x). Amostra 1 (a, f); Amostra 2 (b, g, h); Amostra 3 (c, i); Amostra 4 (d, j, k, l, m); Amostra 5 (e, n); Amostra 6 (o, s); Amostra 7 (p, t); Amostra 8 (q, u); Amostra 9 (r, v). cr: cristal; nt: tricoma tector.

Tabela 4 – Identificação das amostras comerciais por microscopia e porcentagem de matéria estranha.

Amostra	Porcentagem (%) de matéria estranha	Identificação da espécie vegetal	Identificação do adulterante
AM 1	7,78%	<i>Monteverdia</i> sp.	Caules de <i>Monteverdia</i> sp.
AM 2	-	<i>Monteverdia</i> sp. e <i>S. bonplandii</i>	Folhas e caules de <i>S. bonplandii</i>
AM 3	1,90%	<i>Monteverdia</i> sp.	Caules de <i>Monteverdia</i> sp.
AM 4	100%	<i>S. bonplandii</i>	Folhas e caules de <i>S. bonplandii</i> e outras espécies não identificadas
AM 5	35,64%	<i>Monteverdia</i> sp.	Caules de <i>Monteverdia</i> sp.
AM 6	37,73%	<i>Monteverdia</i> sp.	Caules de <i>Monteverdia</i> sp.
AM 7	10,01%	<i>Monteverdia</i> sp.	Folhas de <i>S. bonplandii</i> e outras espécies desconhecidas
AM 8	28,46%	<i>Monteverdia</i> sp.	Caules de <i>Monteverdia</i> sp.
AM 9	9,46%	<i>Monteverdia</i> sp.	Caules de <i>Monteverdia</i> sp.

Fonte: O autor.

Como mostrado na Tabela 4, a porcentagem de matéria estranha da maioria das amostras comerciais analisadas estão acima do permitido na Farmacopeia brasileira 6ª edição, sendo apenas a amostra AM3 aprovada nessa pesquisa. Foi observada a presença de caules nas amostras das espécies de *Monteverdia* AM1, AM3, AM5, AM6, AM8 e AM9. Segundo a Farmacopeia brasileira, o farmacógeno de *M. ilicifolia* é a folha, portanto qualquer outro órgão dessa espécie é considerado adulterante se encontrado em produtos comercializados. Segundo Manfron (2021), é frequente o uso de outros órgãos da planta que não sejam considerados farmacógenos com o único objetivo de se utilizar um adulterante de baixo custo. Outra adulteração comum no comércio de drogas vegetais ocorre quando as folhas de guaco (*Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker), que é o farmacógeno, são adulteradas com caules dessa espécie. Em caso de droga rasurada, é possível detectar o adulterante utilizando as características morfológicas de cada órgão. No caso de droga vegetal pulverizada, a microscopia facilmente detecta o adulterante, uma vez que as características microscópicas do caule e da folha são muito diferentes.

5.5.2 Análise microscópica

Em relação à microscopia das amostras comerciais, foi possível identificar a presença do adulterante *S. bonplandii* nas amostras AM2 e AM4. Na amostra AM2 foi verificada a

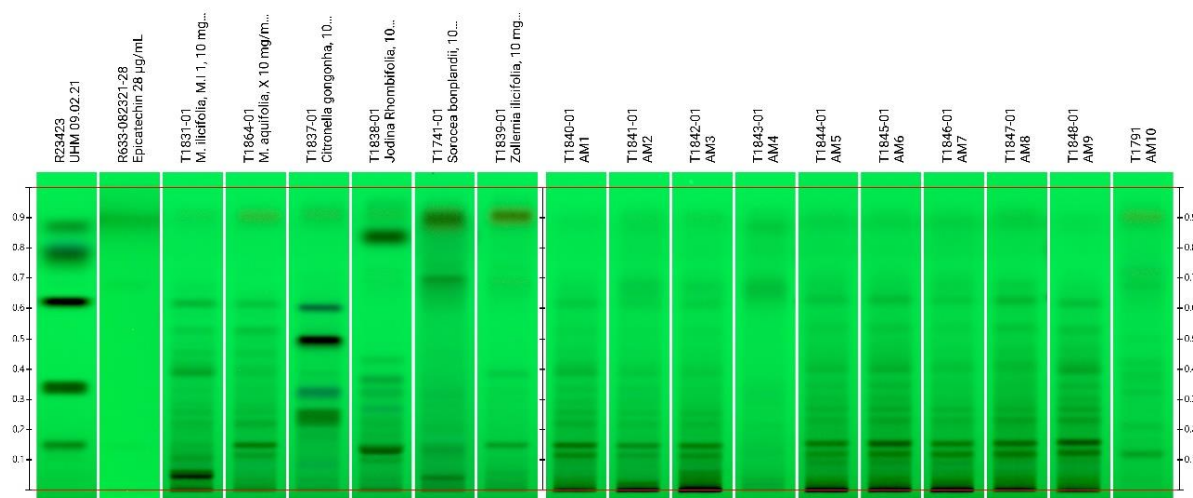
presença dos cristais e do tricoma tector característicos dessa espécie, enquanto que na amostra AM4, além desses, caracteres diagnósticos do caule e do pecíolo de *S. bonplandii* foram identificados. Adicionalmente, apesar da amostra AM2 ser comercializada na forma de cápsulas, essas continham droga pulverizada, o que não é permitido pela legislação brasileira. Como a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014 traz, fitoterápico é um 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.

Considerando que as características morfoanatômicas de *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* são semelhantes, não foi possível afirmar qual delas estava presente nas amostras comerciais utilizando as características botânicas. As características morfológicas auxiliam quando a droga está íntegra, contudo, a maioria das amostras analisadas estavam rasuradas ou pulverizadas. Quando a identificação da espécie não é possível utilizando-se a microscopia, outras técnicas devem ser utilizadas, à exemplo da cromatografia em camada delgada de alta eficiência.

5.5.3 Cromatografia em camada delgada de alta eficiência

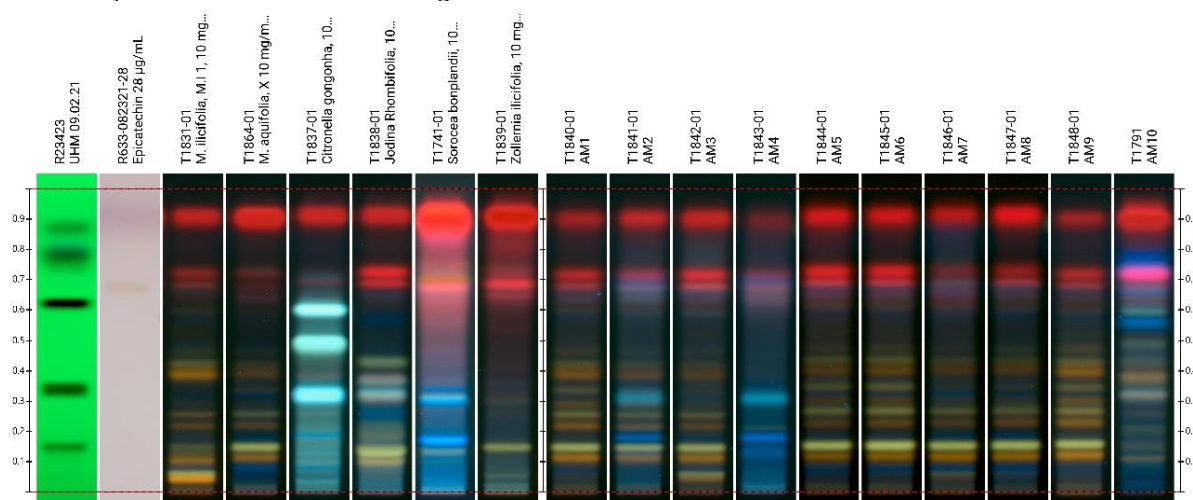
Para o controle da qualidade de produtos comercializados por cromatografia em camada delgada de alta eficiência, as amostras comerciais foram identificadas com a sigla “AM”, sendo elas indicadas de “AM1” até “AM10”. O preparo e a aplicação das amostras foram os mesmos das metodologias anteriormente descritas. Os padrões foram preparados utilizando soluções em metanol 1 mg/mL e posteriormente diluindo-se epicatequina em 28 µg/mL e 100 µg/mL; epigallocatequina, epicatequina galato, ácido clorogênico, quercetina, rutina e quercetina-3-*O*-galactosídeo em 100 µg/mL e pirogallol em 200 µg/mL. Os resultados estão evidenciados nas Figuras 44-48.

Figura 44 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia*, padrões de referência e amostras comerciais submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 254 nm.



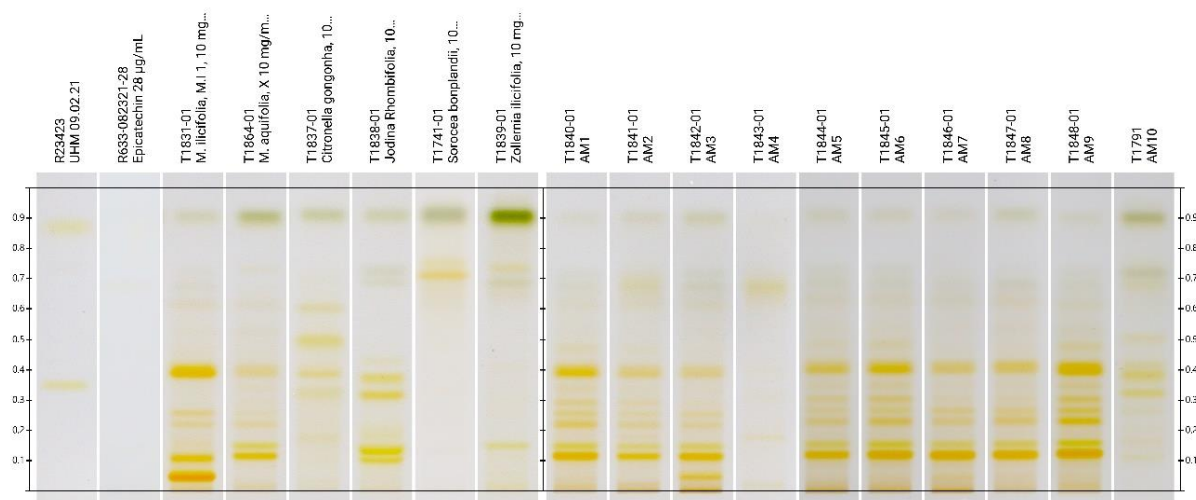
Fonte: O autor.

Figura 45 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e amostras comerciais submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com Natural Product®. UHM sob UV 254 nm e epicatequina sob luz branca após derivatização com anisaldeído e com reagente Natural Product®.



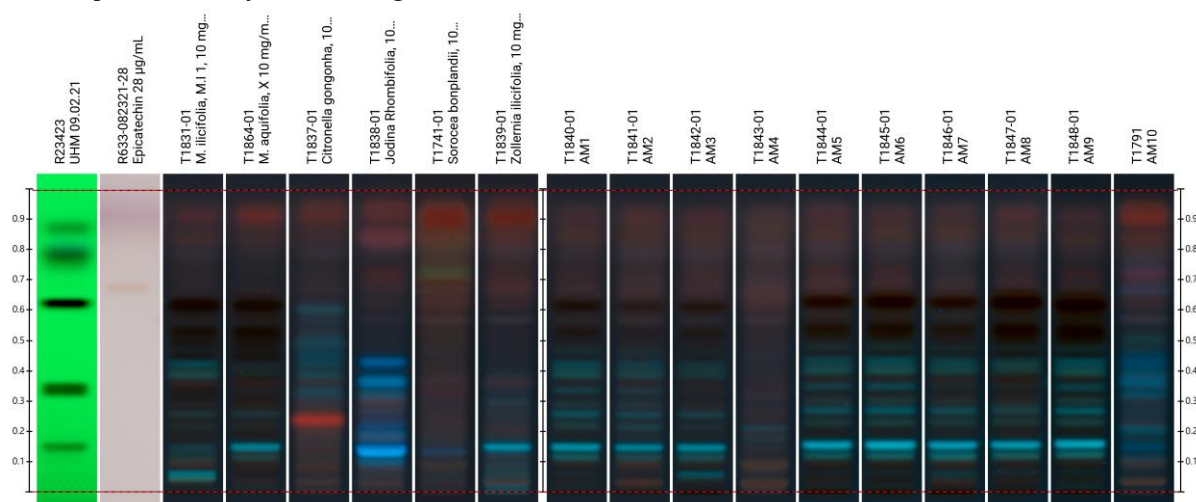
Fonte: O autor.

Figura 46 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia*, padrões de referência e amostras comerciais submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob RT luz branca após derivatização com o reagente Natural Product®.



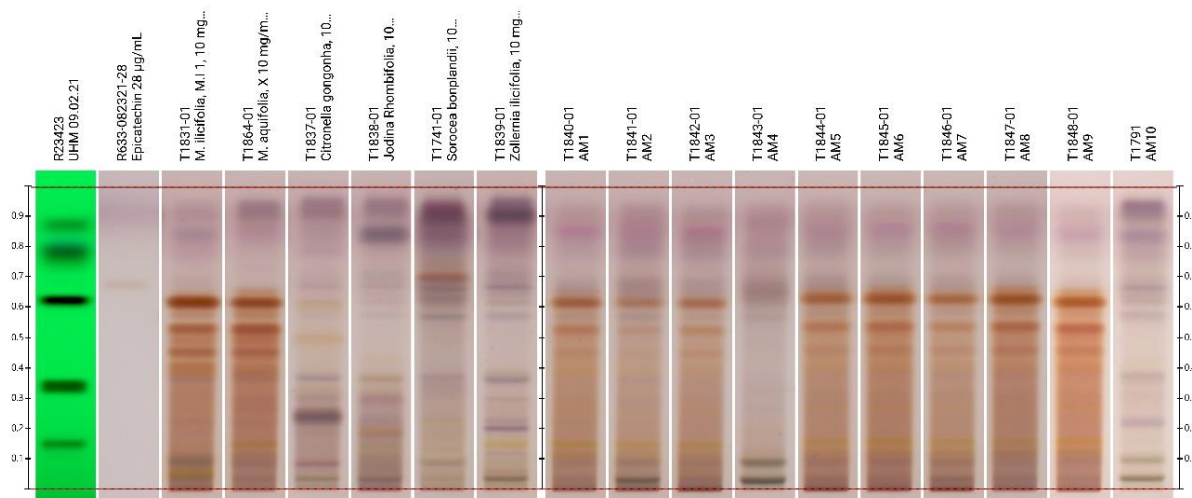
Fonte: O autor.

Figura 47 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia* e amostras comerciais submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob UV 366 nm após derivatização com anisaldeído com Natural Product®. UHM sob UV 254 nm e epicatequina sob luz branca após derivatização com o reagente Natural Product® e com anisaldeído.



Fonte: O autor.

Figura 48 - Amostras de *M. ilicifolia*, *M. aquifolia*, *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii*, *Z. ilicifolia*, padrão epicatequina e amostras comerciais submetidos na análise por cromatografia em camada delgada de alta eficiência sob luz branca após derivatização com anisaldeído. UHM sob UV 254 nm.



Fonte: O autor.

O método de detecção mais informativo foi em UV 366 nm, após derivatização com o reagente Natural Product®. É notório que a amostra comercial AM1 mostra um *fingerprint* característico de *M. aquifolia*; AM2 mostra um *fingerprint* dos adulterantes *M. aquifolia* e *S. bonplandii*; AM3 evidencia um *fingerprint* característico de *M. ilicifolia*; AM4 exibe um *fingerprint* característico de *S. bonplandii*; AM5 e AM6 têm um *fingerprint* característico de *M. aquifolia*; AM7 apresenta um *fingerprint* característico de *M. ilicifolia* misturado com *M. aquifolia*; AM8 e AM9 têm um *fingerprint* característico de *M. aquifolia*, enquanto que AM10 (produto comercializado nos Estados Unidos) demonstra um *fingerprint* característico de *J. rhombifolia*, além de outra (s) espécie (s) vegetal (is) que não está (estão) presente (s) no estudo.

Os resultados encontrados nessa análise química vão ao encontro dos dados obtidos na análise microscópica. Com os perfis químicos determinados nesse estudo é possível diferenciar as espécies *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* que apresentaram características anatômicas semelhantes, inclusive observar a presença das duas espécies como observado na amostra AM7. *Monteverdia aquifolia* foi a espécie mais encontrada como adulterante, seguida de *S. bonplandii* e *J. rhombifolia*, enquanto que *C. gongonha* e *Z. ilicifolia* não foram encontradas nas amostras comerciais desse estudo.

Vale destacar que a amostra AM10 que apresentou não conter *M. ilicifolia* conforme indicada no rótulo, foi adquirida no comércio americano. Os produtos fitoterápicos são comercializados mundialmente sob diferentes denominações e descrições comerciais e seguem a legislação vigente no país onde são comercializados. Por exemplo, no Brasil eles

são comercializados como medicamentos fitoterápicos ou produtos tradicionais fitoterápicos, de acordo com a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, a exemplo de vários países da União Europeia, enquanto nos Estados Unidos são comercializados como suplementos alimentares. Em se tratando do mercado internacional, as diferenças significativas entre as normas regulatórias de cada país contribuem para uma regulamentação deficiente na comercialização de produtos fitoterápicos.

Das dez amostras analisadas, apenas uma foi aprovada no controle da qualidade considerando as análises desse estudo, evidenciando a baixa qualidade dos produtos comerciais que contém *M. ilicifolia* (espinheira-santa). Mundialmente, a quantidade de produtos fitoterápicos adulterados varia expressivamente entre os continentes: a África ocupa o primeiro lugar com 60%, seguida da América do Sul (57%), Austrália (44%), Europa (28%), América do Norte (27%) e Ásia (25%) (ICHIM *et al.*, 2021). Percebe-se, assim, que a baixa qualidade de plantas medicinais e drogas vegetais, bem como seus produtos derivados, é uma problemática global e o Brasil se destaca quanto à falta de autenticidade das matérias-primas vegetais comercializadas (MANFRON, 2021).

Em média, 68% das amostras vegetais e produtos derivados comercializados para fins medicinais são adulterados no país. A adulteração de produtos fitoterápicos é um problema internacionalmente difundido e independe dos métodos tradicionais farmacopeicos usados no controle da qualidade, como as técnicas microscópicas, químicas ou, ainda, técnicas mais recentes como o código de barras do DNA (MANFRON, 2021).

6 CONCLUSÃO

As características morfoanatômicas das espécies *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* se mostraram semelhantes, evidenciando a importância de se utilizar outras técnicas de identificação de espécies vegetais à exemplo da cromatografia em camada delgada de alta eficiência. Para *C. gongonha*, *J. rhombifolia*, *S. bonplandii* e *Z. ilicifolia* os dados morfoanatômicos são suficientes para se determinar a presença dessas espécies em amostras comercializadas como drogas vegetais.

As principais características morfoanatômicas determinadas nesse estudo foram: (1) presença de cristais estiloides, prismáticos e piramidais em ambas as epidermes foliares, nervura central biconvexa contendo um feixe vascular colateral em arco aberto e 1-2 feixes dorsais e pecíolo biconvexo com duas projeções na face adaxial, contendo um feixe único anficrival formando uma região medular e caule com 4-5 projeções arredondadas nas espécies de *Monteverdia*; (2) tricoma glandular em formato de clava, tricoma glandular capitado, tricoma tector simples, nervura central com feixe vascular único em formato de C voltado para a face adaxial; pecíolo côncavo-convexo, contendo um feixe vascular em formato de C voltado para a superfície adaxial e dois pequenos feixes na porção superior, em *C. gongonha*; (3) folha com formato romboidal, contendo 3 espinhos, estômatos localizados abaixo das demais células epidérmicas; cristais romboédricos podendo ser evidenciados na epiderme em vista frontal; duas calotas de fibras perivasculares na nervura central; pecíolo com formato plano-convexo; calotas de fibras perivasculares no pecíolo e drusas presentes no mesofilo, pecíolo e caule em *J. rhombifolia*; (4) folha contendo até 19 espinhos; parede anticlinal sinuosa em ambas as faces epidérmicas; estômatos actinocíticos; tricoma glandular capitado e tricoma tector simples na epiderme foliar; feixe vascular em U na nervura central; 6-10 feixes vasculares e um feixe medular em forma de círculo no pecíolo em *S. bonplandii*; e conjunto de estômatos anomocíticos, anisocíticos e ciclocíticos; um feixe em arco aberto com as extremidades invaginadas e um feixe dorsal na nervura central e formato de coração no feixe vascular único do pecíolo em *Z. ilicifolia*.

Os caracteres morfoanatômicos das folhas e caules e os perfis cromatográficos fornecem subsídios farmacobotânico e químico que auxiliam na identificação das espécies, contribuindo para o controle da qualidade de drogas vegetais e fitoterápicos. Adicionalmente, as características botânicas fornecem dados taxonômicos para os gêneros e famílias das espécies estudadas.

A CCDAE demonstrou ser um método mais eficaz do que a CCD preconizado pela Farmacopeia brasileira, mostrando diferenças entre os perfis, sendo principalmente visualizados sob UV 366 nm após derivatização com o reagente Natural Product®. Mostrou-se também efetiva na diferenciação entre as duas espécies de *Monteverdia*.

A análise das amostras comerciais revelou que somente AM3 foi aprovada no controle da qualidade, considerando as análises realizadas nesse estudo. Portanto, 90% das amostras comerciais foram reprovadas.

Apesar das espécies *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* terem hábitos distintos, a presença frequente de *M. aquifolia* nas amostras confirma que o nome popular e a similaridade morfológica das folhas favorecem a adulteração de *M. ilicifolia*, evidenciando a baixa qualidade das matérias-primas vegetais.

Considerando a frequente presença de *M. aquifolia* nas amostras comerciais, sugere-se que análises químicas e biológicas com essa espécie sejam conduzidas a fim de caracterizar quimicamente e avaliar se as atividades farmacológicas de *M. ilicifolia* são também encontradas em *M. aquifolia*, além de se verificar a toxicidade dessa espécie vegetal.

Considerando a adulteração não-intencional, o cultivo de *M. ilicifolia* deveria ser incentivado, pois além de reduzir o extrativismo que leva a planta à extinção, diminuiria os equívocos na coleta de espinheira-santa.

REFÊRENCIAS

- ALBERTON, M. D. *et al.* Identificação de marcadores cromatográficos de *Zollernia ilicifolia* e *Sorocea bonplandii* para o controle de qualidade de espinheira-santa. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 9–11, 2002.
- ALBERTON, M. D.; FALKENBERG, D. DE B.; FALKENBERG, M. DE B. Análise cromatográfica de fitoterápicos a base de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 11–13, 2002.
- ALICE, C. B. *et al.* Screening of plants used in south Brazilian folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, n. 2, p. 165–171, dez. 1991.
- ALICE, C. B. **Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico**. [s.l.] Editora da ULBRA, 1995.
- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Anatomy, micromorphology, and histochemistry of leaves and stems of *Cantinoa althaeifolia* (Lamiaceae). **Microscopy Research and Technique**, v. 83, n. 5, p. 551–557, 2020.
- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Comparative morphoanatomical analysis of *Mikania* species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 9–19, fev. 2017.
- ALMEIDA, V. P. DE *et al.* Microscopy and Histochemistry of Leaves and Stems of *Baccharis* Subgenus *Coridifoliae* (Asteraceae) Through LM and SEM-EDS. **Microscopy and Microanalysis**, v. 27, n. 5, p. 1273–1289, out. 2021.
- ALONSO, J.; DESMACHELIER, C. *Maytenus ilicifolia* Martius (Congorosa). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. v.6, n.1, p. 11-22, 2007.
- ANDRADE, F. D. P.; VILEGAS, W. Constituintes de *Sorocea bonplandii* Baillon. **Revista de Ciências farmacêuticas**, v.19, n.1, p. 129-139, 1998.
- AOYAMA, E.; INDRIUNAS, A. Micromorfologia e anatomia foliar de duas espécies de *Justicia* L. (Acanthaceae) de uso medicinal - Micromorphology and leaf anatomy of two species of *Justicia* L. (Acanthaceae) that have medicinal use. **Revista de Biologia Neotropical**, v. 11, p. 97, 11 mar. 2015.
- ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; CAMBRAIA, R. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço Para a Saúde**, v. 6, p. 1–6, 1 jan. 2005.
- BADRIA, F.; ABOELMAATY, W. Plant Histochemistry: A Versatile and Indispensable Tool in Localization of Gene Expression, Enzymes, Cytokines, Secondary Metabolites and Detection of Plants Infection and Pollution. **Acta Scientific Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 88–100, 20 jun. 2019.

BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976.

BERLYN, G. P.; MIKSCH, J. P.; SASS, J. E. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1976.

BERTOCCO, A. *et al.* Microscopic diagnosis of the leaf and stem of *Piper solmsianum* C.DC. **Microscopy research and technique**, v. 80, 30 mar. 2017.

BIRAL, L. *et al.* Systematics of New World *Maytenus* (Celastraceae) and a New Delimitation of the Genus. **Systematic Botany**, v. 42, 1 jan. 2017.

BITTENCOURT, R. *et al.* *Sorocea bonplandii*: Espécie Promissora para o Manejo e Conservação da Floresta Atlântica. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. 834–836, 2007.

BOBEK, V. *et al.* Comparative analytical micrographs of “vassouras” (*Baccharis*, *Asteraceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 9–19, 1 jan. 2017.

BOCHNER, R. *et al.* Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 537–547, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Memento Fitoterápico: Farmacopéia Brasileira**. Brasília, DF, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução DC 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. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 34 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS** – Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p.

BRITO, P. S. DE *et al.* Light and Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy, and Histochemistry of *Eucalyptus tereticornis*. **Microscopy and Microanalysis**, v. 27, n. 5, p. 1295–1303, out. 2021.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 1991.

BRUSTULIM, L. J. R. *et al.* *Ocotea porosa*: Anatomy and Histochemistry of Leaves and Stems, Chemical Composition, Cytotoxicity and Insecticidal Activities of Essential Oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, 10 ago. 2020.

BUDEL, J. M. *et al.* Foliar anatomy and microscopy of six Brazilian species of *Baccharis* (Asteraceae). **Microscopy Research and Technique**, v. 81, n. 8, p. 832–842, ago. 2018.

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 chromatography. **Arkivoc**, p. 137, 19 set. 2004.

CAMAG. **TLC/HPTLC Process Steps**, Muttentz, 2022. Disponível em: <
<https://www.camag.com/process-steps/application>> Acesso em: 16 mar. 2022.

CARABALLO DE LA PEÑA, D. **Cultivo de callos *in vitro* a partir de las hojas de *Jodina rhombifolia* Hook. & Arn. (Reissek) para obtención de C-glicosilflavonas**. Tesis—[s.l.] - Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 2015.

CARLINI, E. A. Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia* (Espinheira-santa) e outras. Brasília: **CEME/AFIP**. 87p., 1988.

CARLINI, E. A.; FROCHTENGARTEN, M. L. Toxicologia clínica (Fase I) da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). **Central de Medicamentos (Brasil)**. Brasília- Distrito Federal, p. 67–73, 1988.

CARNEIRO, V. P. P. *et al.* Perfil do uso de plantas medicinais por moradores da área rural de um Município do Estado do Paraná. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e5099108710–e5099108710, 6 out. 2020.

CARVALHO-OKANO, R. M. **Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (CELASTRACEAE) do Brasil extra-amazônico**. 253p. Tese (Doutorado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

CHÁVEZ ORELLANA, H. *et al.* Macrocarpins A—D, New Cytotoxic Nor-Triterpenes from *Maytenus macrocarpa*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 10, p. 759–62, 1 maio 2000.

CHIAPETTI, T. P. *et al.* Effects of the extraction method and chromatographic separation solvent in the antioxidant activity of different species of “espinheira-santa”. **Journal of Food Science and Technology (Mysore)**, v. 56, n. 11, p. 5056–5062, 2019.

COELHO, R.; DI STASI, L.; VILEGAS, W. Chemical Constituents from the Infusion of *Zollernia ilicifolia* Vog. and Comparison with *Maytenus* Species. **Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences**, v. 58, p. 47–52, 1 fev. 2003.

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, dez. 2000.

CORSINO, J. *et al.* Antioxidant flavan-3-ols and flavonol glycosides from *Maytenus aquifolium*. **Phytotherapy Research**, p. 913, 1 set. 2003.

CORTEZ, P. A.; SILVA, D. C.; CHAVES, L. F. **Manual prático de morfologia e anatomia vegetal**. Ilhéus: Editus, 2016.

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, p. 51–53, 2004.

CRANG, R.; LYONS-SOBASKI, S.; WISE, R. **Plant Anatomy. A Concept-based Approach to the Structure of Seed Plants**. Springer Nature, Switzerland, 2018.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal**. Parte I – Células e tecidos. 2.ed. São Paulo: Roca, 304 p. 1986.

D'ALMEIDA, W. *et al.* Microscopy of *Eugenia involucrata*, Chemical Composition and Biological Activities of the Volatile Oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 2, p. 239–243, 1 abr. 2021.

DE PAULA, M. N. *et al.* Anti-adhesive Activity of *Maytenus ilicifolia* Against *Helicobacter pylori*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 5, p. 726–731, 1 out. 2021.

FEITOSA FILHO, J. L. A.; MODESTO, K. R. Alcaçuz e espinheira-santa no tratamento de gastrite. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 2, n. Esp.2, p. 268–273, 16 out. 2019.

FERREIRA, P. M. *et al.* A lyophilized aqueous extract of *Maytenus ilicifolia* leaves inhibits histamine-mediated acid secretion in isolated frog gastric mucosa. **Planta**, v. 219, n. 2, p. 319–324, jun. 2004.

FIGUEIREDO, A. C. S. *et al.* Histoquímica e citoquímica em plantas: princípios e protocolos. 1.ed. Lisboa: **Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal**, 80p, 2007.

FIRMO, W. C. A. *et al.* Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, p. 90-95, 2011.

FISHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie. Histochemistry. Histochimie**, v. 16, n. 1, p. 92–96, 1968.

FONSECA, A. P. N. DE D. *et al.* Estudo fitoquímico do decocto das folhas de *Maytenus truncata* Reissek e avaliação das atividades antinociceptiva, antiedematogênica e antiulcerogênica de extratos do decocto. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 842–847, 2007.

FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. Princeton, N.J.; New York: Van Nostrand, 1949.

FRANCESCHI, V.; NAKATA, P. Calcium oxalate in plants: Formation and function. **Annual review of plant biology**, v. 56, p. 41–71, 1 fev. 2005.

FUCHS, C. Fuchsin staining with naoh clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. **Stain Technology**, v. 38, n. 3, p. 141-144, 1963.

FURLAN, M. Biosynthesis of friedelane and quinonemethide triterpenoids is compartmentalized in *Maytenus aquifolium* and *Salacia campestris*. **Phytochemistry** 55, 741–748, 2000.

GABE, M. **Techniques histologiques**. Paris: Masson, 1968.

GARCÍA, C. C. *et al.* Evaluation of the antiviral activity against Junin virus of macrocyclic trichothecenes produced by the hypocrealean epibiont of *Baccharis coridifolia*. **Planta Medica**, v. 68, n. 3, p. 209–212, mar. 2002.

GARCIA, J.; OLIVEIRA JR, C. Espinheira-santa: do extrativismo à produção sustentável - Espinheira-santa: from extractivism to sustainable production - NATIVA Pesq. Agrárias e Ambientais. v. 9, p. 401–412, 1 set. 2021.

GARDNER, R. O. Vanillin-Hydrochloric acid as a histochemical test for tannin. **Stain Technol.** 50: 315-317. 1975.

GIL, E.S. *et al.* Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. Campo Grande: **Uniderp**. p.287-292, 2005.

GONZÁLEZ, A. G. *et al.* Anti-tumor promoting effects of sesquiterpenes from *Maytenus cuzcoina* (Celastraceae). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 7, p. 1773–1778, jul. 2000.

GONZALEZ, F. G. *et al.* Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 77, p. 41–7, 1 out. 2001.

GREGORY, M.; BAAS, P. A Survey of Mucilage Cells in Vegetative Organs of the Dicotyledons. **Israel Journal of Botany**, v. 38, n. 2–3, p. 125–174, 1 jan. 1989.

HOLNIK, P. R. *et al.* Comparação do teor de taninos entre duas espécies de espinheira-santa (*Maytenus aquifolium* Mart.e *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) cultivadas no Horto Medicinal do Refúgio Biológico Bela Vista - RBBV da Itaipu Binacional - Foz do Iguaçu, PR - Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 385–391, set. 2015.

HOPKINS, C. Y.; CHISHOLM, M. J.; CODY, W. J. Fatty acid components of some santalaceae d seed oils inst ir spectra. **Phytochemistry**, v. 8, n. 1, p. 161–165, 23 jun. 1969.

JACOMASSI, E.; MACHADO, S. R. [UNESP. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek e *Maytenus aquifolia* Mart.) e mata-olho (*Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg. Lanj. & Boer.) para o controle de qualidade da matéria prima. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, p. 84, 1 out. 2003.

JOFFILY, A. Taxonomia e anatomia de cinco espécies do gênero *Maytenus* (Celastroideae-Celastraceae) ocorrentes no Brasil. **Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 112f, 2002.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw: Hill Book, p. 41, 1940.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos; 123p., 1983.

KRÜGER, S.; URMANN, O.; MORLOCK, G. E. Development of a planar chromatographic method for quantitation of anthocyanes in pomace, feed, juice and wine. **Journal of Chromatography. A**, v. 1289, p. 105–118, 10 maio 2013.

LOMBARDI, J. A.; BIRAL, L. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Celastraceae. **Rodriguésia**, v. 67, p. 1285–1290, 2016.

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

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no brasil nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, p.120-122. 2002.

MACHADO, C. D. *et al.* Contributions of trichome micromorphology to the characterization of species traded as “BOLDO”. **Flora**, v. 279, p. 151827, 1 abr. 2021a.

MACHADO, C. D. *et al.* *Schinus molle*: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 1–10, fev. 2019.

MACHADO, C. D. *et al.* Ethnopharmacological investigations of the leaves of *Cecropia pachystachya* Trécul (Urticaceae): A native Brazilian tree species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 270, p. 113740, 24 abr. 2021b.

MACHADO, S. A. Análise farmacognóstica das plantas medicinais *Pimpinella anisum* L. E *Foeniculum vulgare*, Mill. 2020.

MANFRON, J. Farmacobotânica: uma ferramenta importante para a detecção de adulterações em matérias-primas vegetais. In: BARATTO, Leopoldo C. **A Farmacognosia no Brasil: memórias da sociedade brasileira de farmacognosia**. Petrópolis, RJ: **Sociedade Brasileira de Farmacognosia**. Cap. 12. p. 259-276, 2021.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. **Espinheira-santa: uma alternativa de produção para a pequena propriedade**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 30 p., 2006.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. Metabólitos secundários e propriedades medicinais da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. e *M. aquifolium* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.9, n.3, p.89-99, 2007.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. O conhecimento popular associado ao uso da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* e *M. aquifolium*). **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.1, p.666-8, 2007.

MAZZA, M. C. M.; SANTOS, J. E. DOS; MAZZA, C. A. DA S. Fenologia reprodutiva de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) na Floresta Nacional de Irati, Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 34, p. 565–574, dez. 2011.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. **Em Farmacognosia: da planta ao medicamento**; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P., orgs.; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.

MIGACZ, I. P. *et al.* Comparative leaf morpho-anatomy of six species of *Eucalyptus* cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 273–281, jun. 2018.

MING, L. C.; *et al.* Plantas medicinais aromáticas e codimentares, Botucatu. **Universidade Estadual Paulista**, v.2, p. 19-32, 1998.

MONTANHA, J. *et al.* Chemical And anti-ulcer evaluation of *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek extracts. **Revista Brasileira De Farmacognosia-brazilian Journal of Pharmacognosy - REV BRAS FARMACOGN**, v. 19, 1 mar. 2009.

MURAKAMI, S.; MURAMATSU, M.; OTOMO, S. Gastric H⁺, K(+) -ATPase inhibition by catechins. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 44, n. 11, p. 926–928, nov. 1992.

NACHTIGAL, G. C. Avaliação in vitro da atividade antiproliferativa de extratos das plantas *Jodina rhombifolia* Hook et Arn. e *Carapa guianensis* Aubl sobre células HL-60 Linfoma Daudi e Fibroblastos NIH-3T3. 2011. 91f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Comportamento). **Centro de Ciências da saúde da Universidade Católica de Pelotas**, 2011.

NAKATA, P. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, v. 164, p. 901–909, 1 jun. 2003.

NEGRI, M.; POSSAMAI, J.; NAKASHIMA, T. Antioxidant activity of “espinheira-santa” - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., leaves dried in different temperatures. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 553–556, 1 jun. 2009.

NÚÑEZ RIVAS, M. J. Metabolitos secundarios bioactivos aislados de *Maytenus chiapensis* y *Crossopetalum uragoga* (Celastraceae). [s.l.] **Universidad de La Laguna**, Servicio de Publicaciones, 2004.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368–373, 1 jun. 1964.

OLIVEIRA, F. G. S., LEHN, C. R. Riscos e perspectivas na utilização de fitoterápicos no Brasil. **Opará: Etnicidades, Movimentos Sociais e Educação**, v. 3, n. 4, p. 35-44, 2015.

PARVEEN, A. *et al.* Comparative Morpho-Anatomical and HPTLC Profiling of *Tinospora* Species and Dietary Supplements. **Planta Medica**, v. 86, n. 7, p. 470–481, maio 2020.

PEREIRA, A. M. S. *et al.* Isolamento de metabólitos de *Maytenus* associadas à ação anti-úlceras gástrica. **12º. Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Curitiba.1993.

PERERA, W. H. *et al.* An improved high-performance thin-layer chromatographic method to unambiguously assess Ginkgo biloba leaf finished products. **JPC – Journal of Planar Chromatography – Modern TLC**, v. 34, n. 6, p. 559–560, 1 dez. 2021.

PERES, T. B. **Noções básicas de cromatografia**. Biológico, São Paulo, v.64, n. 2, p. 227-229, 2002.

PÉREZ-VICTORIA, J. M. *et al.* New natural sesquiterpenes as modulators of daunomycin resistance in a multidrug-resistant *Leishmania tropica* line. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, n. 21, p. 4388–4393, 21 out. 1999.

PESSUTO, M. B. *et al.* Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, v. 32, p. 412–416, 2009.

POWO, "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/> Retrieved 18 September 2021."

RADOMSKI, M. I.; BULL, L. T. Caracterização ecológica e fitoquímica de quatro populações naturais de *Maytenus ilicifolia* no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 61, p. 01–01, 4 maio 2010.

RAMAN, V. *et al.* Microscopic characterization and HPTLC of the leaves, stems and roots of *Fadogia agrestis* – an African folk medicinal plant. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 631–639, dez. 2018.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB605053>>. Acesso em: 01 set. 2020a.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB82>>. Acesso em: 01 set. 2020b.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB604475>>. Acesso em: 01 set. 2020c.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB6678>>. Acesso em: 01 set. 2020d.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14412>>. Acesso em: 01 set. 2020e.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB31440>>. Acesso em: 01 set. 2020f.

REFLORA – **Herbário Virtual**. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB29915>>. 2020. Acesso em: 01 set. 2020g.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 33-36, 1972.

SANTOS, L. B. DOS [UNESP. A família celastraceae na reserva biológica municipal da Serra do Japi, Jundiaí, SP. **Aleph**, 2008.

SANTOS, V. *et al.* Anatomical investigations of *Piper amalago* L. (jaborandi-manso) for the quality control. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, 23 mar. 2015.

SANTOS, V. L. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 68–72, 2011.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2. ed. Ames: Iowa State College, 1951.

SCHORI, M. Cardiopteridaceae. In J. W. Kadereit and V. Bittrich [eds.], The families and genera of vascular plants, vol. 14, **Flowering plants**. Eudicots. Springer International Publishing, Cham, Switzerland. 2016.

SILVA, A. C. DA *et al.* Comparação florística de florestas inundáveis das regiões Sudeste e Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 30, p. 257–269, jun. 2007.

SIMMONS, M. P. Celastraceae. In: K. Kubitzki. The Families and Genera of Vascular Plants. VI. Flowering plants. Dicotyledons. Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. **Springer-Verlag**, Berlin, p. 29–64, 2004.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOBERÓN, J. R. *et al.* Antibacterial activities of *Ligaria cuneifolia* and *Jodina rhombifolia* leaf extracts against phytopathogenic and clinical bacteria. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 5, p. 599–605, nov. 2014.

SPITZER, V. *et al.* Identification of nine acetylenic fatty acids, 9-hydroxystearic acid and 9,10-epoxystearic acid in the seed oil of *Jodina rhombifolia* hook et arn. (Santalaceae). **Journal of the American Oil Chemists' Society (USA)**, 1994.

TEVES, M. R. *et al.* Effect of the leaves aqueous extract of *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) on intestinal function and its acute toxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 262, p. 113205, 15 nov. 2020.

TIRLONI, C. A. S. *et al.* Ethnopharmacological approaches to kidney disease-prospecting an indigenous species from Brazilian Pantanal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 211, p. 47–57, 30 jan. 2018.

TOMAZI, L. B. *et al.* Estudo etnobotânico das árvores medicinais do Parque Ecológico Municipal José Milanese, Criciúma, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 450–461, 2014.

TRAESEL, G. K. *et al.* Safety Assessment and Botanical Standardization of an Edible Species from South America. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 5, p. 519–525, maio 2017.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. High-Performance Thin-Layer Chromatography Procedure for Identification of Articles of Botanical Origin, Convention 40–NF35, Rockville, USA. **Chapter 203**, p. 258-260, 2017.

UPTON, R. *et al.* **American Herbal Pharmacopeia**: botanical pharmacognosy- microscopic characterization of botanical medicines. New York: CRC Press, 2011.

VAN COTTHERM, W. R. J. A classification of stomatal types. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 63, n. 3, p. 235–246, 1 jul. 1970.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519–528, jun. 2005.

VENTRELLA, M. C. *et al.* Métodos histoquímicos aplicados às sementes. 2013.

VERVLOET, L. A. **Espinheira Santa**. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, v.1, n.1, p.16- 21, 2003.

VETTER, J. Plant cyanogenic glycosides. **Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology**, v. 38, n. 1, p. 11–36, jan. 2000.

VISTUBA, J. P. Desenvolvimento de métodos analíticos em GC-FID, CE-UV e LC- MS/MS no estudo fitoquímico de triterpenos, flavonóis e taninos voltado para a obtenção de uma nova cultivar de *Maytenus ilicifolia* (Espinheira-Santa). Tese de Doutorado. **Universidade Federal de Santa Catarina**. 2014.

WEINER, S.; DOVE, P. M. An Overview of Biomineralization Processes and the Problem of the Vital Effect. **Reviews in Mineralogy and Geochemistry**, v. 54, n. 1, p. 1–29, 3 jan. 2003.

WOSCH, L. *et al.* Comparative study of *Passiflora* taxa leaves: I. A morpho-anatomic profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 328–343, jul. 2015.