



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CAMPUS UFRJ-MACAÉ
Professor Aloísio Teixeira



CENTRO MULTIDISCIPLINAR UFRJ-MACAÉ
Instituto de Ciências Farmacêuticas

**ESTUDO FARMACOGNOSTICO DAS FOLHAS DE CINCO PLANTAS
MEDICINAIS DENOMINADAS POR BOLDO**

Graduando: Lucas Pereira dos Santos

Orientador: Gilberto Dolejal Zanetti

Macaé,
2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CAMPUS UFRJ-MACAÉ

Professor Aloísio Teixeira



ESTUDO FARMACOGNOSTICO DAS FOLHAS DE CINCO PLANTAS MEDICINAIS DENOMINADAS POR BOLDO

Trabalho de conclusão de curso submetido à Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de bacharel em Farmácia. Sob orientação do Prof. Doutor Gilberto Dolejal Zanetti.

Macaé,
2022

CIP - Catalogação na Publicação

S237

Santos, Lucas Pereira dos

Estudo farmacognóstico das folhas de cinco plantas medicinais denominadas por
boldo / Lucas Pereira dos Santos - Macaé, 2022.
59 f.

Orientador(a): Gilberto Dolejal Zanetti.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de
Janeiro, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia, 2022.

1. Plantas medicinais. 2. Farmacognosia. 3. Farmacobotânica. 4. Peumus.
I. Zanetti, Gilberto Dolejal, orient. II. Título.

CDD 615.321

Lucas Pereira dos Santos

**ESTUDO FARMACOGNOSTICO DAS FOLHAS DE CINCO PLANTAS MEDICINAIS
DENOMINADAS POR BOLDO**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) defendido e aprovado como requisito para
obtenção do título de farmacêutico.

Macaé, 10 de fevereiro de 2022.

Comissão avaliadora:

Prof. Dr. Gilberto Dolejal Zanetti
(Presidente da Banca) UFRJ/Campus Macaé
Link currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8098497373301208>

Prof. Dr^a. Rita Cristina Azevedo Martins
UFRJ/Campus Macaé
Link currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9368897588729263>

Prof. Dr^a. Jessica Chaves Rivas
UFRJ/Campus Macaé
Link currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7294077003342952>

Dedicatória

Aos meus pais Claudia dos Santos Pereira e Romulo Luiz Barbosa dos Santos pelo amor concedido, por minha formação, pelo incentivo e pelo apoio.

A minha avó Regina Costa Pereira que com pouco estudo sempre me incentivou e sempre me apoio na minha formação.

Agradecimento

A Deus, por me ajudar a concluir mais uma etapa de vida.

Aos meus pais, Claudia Pereira e Romulo Barbosa pelo apoio em todos os momentos e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus familiares pelo apoio, pelo carinho e por sempre acreditarem em mim.

A minha namorada Carolina Bayde, uma grande incentivadora, que nunca se negou apoio, pelo carinho.

Ao Dicson Tales e a Thiara Cristina por sempre me ajudarem, pela atenção comigo e pela convivência.

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. Gilberto Dolejal Zanetti, pela paciência, por todas as oportunidades ofertadas, pela confiança, pelos ensinamentos, pela orientação e por ser, além de tudo, um grande amigo.

A todos os meus amigos, especialmente a Isabella Dias, Paula Lohayne, Vinicius Brito, Suzan Hanai, Cristina Martins, Priscila Pandolfi, Igor Pinto, Maria Julia e Caio Cutrim, por estarem do meu lado nos bons e nos maus momentos.

A todos os colegas que contribuíram para realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro, todos os docentes que sempre proporcionaram um ensino de alta qualidade e aos funcionários que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

Agradeço a todos que de alguma forma me incentivou a nunca desistir e sempre ficarem do meu lado e sem vocês este trabalho não seria possível.

Obrigado!

“... As plantas são joias que poucos olhos vêem e poucas mentes entendem...” (Linneu).

Resumo

O uso racional de plantas medicinais, como matéria-prima de medicamentos, requer o controle de qualidade como insumos farmacêuticos. Para tanto, utilizam-se marcadores morfo-anatômicos das drogas vegetais e características físico-químicas de seus extratos, os quais contribuem na autenticidade das mesmas. Este fato deve-se basicamente pela obtenção de características e de pureza que são específicas para cada droga vegetal e seus produtos, mesmo que sejam de espécies botanicamente muito próximas ou que tenham em comum apenas o nome popular. Este trabalho teve por objetivo a determinação de características farmacognósticas das folhas e dos extratos de cinco espécies de plantas reconhecidas popularmente por “boldo”. Utilizou-se métodos Farmacopeicos para a realização da análise organoléptica, macro e microscópica das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*, bem como de ensaios físico-químicos dos extratos etanólicos a 70 %, obtidos por maceração a partir das folhas destas plantas. Características farmacobotânicas como os tipos de estômatos, a presença de cristais de oxalato de cálcio no parênquima em diferentes formatos, os variados tricomas tectores e glandulares na epiderme e a conformação dos feixes vasculares no pecíolo se diferenciam nas espécies vegetais deste estudo, assim como a textura, o tamanho, o bordo e a base das folhas. Os extratos apresentaram pH na faixa de 6 e apenas *P. boldus* apresentou pH 5,3. O conteúdo extrativo foi próximo a 12 % e somente *P. boldus* atingiu 16 %. A cor dos extratos são diferentes entre si, passando por tons de verde, de marrom e de amarelo. A determinação total de flavonoides, por espectrofotometria, apresentou um perfil próximo para as espécies. Obteve-se uma variação considerável no índice de amargor frente a quinina, com o menor valor no extrato de *P. boldus* e os maiores valores nos extratos de *P. amboinicus* e *P. ornatus*. O índice de intumescência indicou diferença significativa de mucilagens entre essas plantas, obtendo-se maior intumescência em *V. condensata* e *P. barbatus* e menor intumescência em *P. amboinicus* e *P. boldus*. Os ensaios realizados caracterizam-se por serem de baixo custo, requererem tempo reduzido na execução e por demonstrarem alta reprodutibilidade dos dados, características que são importantes na rotina laboratorial. Nas folhas das cinco espécies vegetais em questão, assim como nos seus extratos hidroetanólicos a 70 %, tem-se um número significativo de características farmacognósticas singulares para cada uma das plantas que, ao serem analisadas em conjunto, contribuem de forma consistente na autenticidade e, conseqüentemente, no controle de qualidade das mesmas como insumos farmacêuticos.

PALAVRAS-CHAVE: Farmacognosia, PICS, Plantas Medicinais, Práticas Integrativas e Complementares em Saúde, *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Tabuinha sumeriana | 13 |
| Figura 2 - Aspecto geral de um ramo com folhas de <i>Peumus boldus</i> | 16 |
| Figura 3 - Aspecto geral de um ramo com folhas de <i>Vernonia condensata</i> | 18 |
| Figura 4 - Aspecto geral de um ramo com folhas de <i>Plectranthus amboinicus</i> | 19 |
| Figura 5 - Aspecto geral de um ramo com folhas e flores de <i>Plectranthus barbatus</i> | 20 |
| Figura 6 - Aspecto geral de um ramo com folhas de <i>Plectranthus ornatus</i> | 21 |
| Figura 7 - Aspecto geral das folhas íntegras de cinco espécies reconhecidas pela denominação popular de boldo | 29 |
| Figura 8 - Secções paradérmicas das folhas de <i>Peumus boldus</i> | 32 |
| Figura 9 - Secção transversais de pecíolos das folhas de <i>Peumus boldo</i> | 32 |
| Figura 10 - Secções paradérmicas das folhas de <i>Vernonia condensata</i> | 34 |
| Figura 11 - Secção transversais de pecíolos das folhas de <i>Vernonia condensata</i> | 34 |
| Figura 12 - Secções paradérmicas das folhas de <i>Plectranthus ambionicus</i> | 36 |
| Figura 13 - Secções transversais de pecíolos das folhas de <i>Plectranthus amboinicus</i> | 36 |
| Figura 14 - Secções paradérmicas das folhas de <i>Plectranthus barbatus</i> | 38 |
| Figura 15 - Secção transversal do pecíolo das folhas de <i>Plectranthus barbatus</i> | 38 |
| Figura 16 - Secção paradérmicas das folhas de <i>Plectranthus ornatus</i> | 40 |
| Figura 17 - Secções transversal do pecíolo das folhas de <i>Plectranthus ornatus</i> | 40 |
| Figura 18 - Cores dos extratos hidroetanólicos a 70 % obtidos a partir das folhas de <i>Peumus boldus</i> , <i>Vernonia condensata</i> , <i>Plectranthus amboinicus</i> , <i>Plectranthus barbatus</i> e <i>Plectranthus ornatus</i> | 42 |
| Figura 19 - Reta obtida por regressão linear a partir da curva de calibração construída a partir de diferentes concentrações de quercetina, com leitura em espectrofotômetro a 425 nm, e a equação da reta correspondente | 44 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Características Organolépticas das folhas de <i>Peumus boldus</i> , <i>Vernonia condensata</i> , <i>Plectranthus amboinicus</i> , <i>Plectranthus barbatus</i> e <i>Plectranthus ornatus</i> | 28 |
| Tabela 2- Características Macroscópicas do Pecíolo de <i>Peumus boldus</i> , <i>Vernonia condensata</i> , <i>Plectranthus amboinicus</i> , <i>Plectranthus barbatus</i> e <i>Plectranthus ornatus</i> | 30 |
| Tabela 3- Rendimento dos extratos hidroetanólicos a 70 % obtido a partir das folhas estudadas neste trabalho | 41 |
| Tabela 4- pH dos extratos hidroetanólicos a 70 % obtidos a partir das folhas estudadas neste trabalho | 41 |
| Tabela 5 - Determinação quantitativa da cor dos extratos hidroetanólicos a 70 % | 42 |
| Tabela 6- Detecção qualitativa de taninos, flavonoides, óleos voláteis e alcaloides nos extratos hidroetanólicos a 70 % | 43 |
| Tabela 7- Determinação do conteúdo total de flavonoides, expresso em quercetina, nos extratos hidroetanólicos a 70 % das espécies de boldo | 44 |
| Tabela 8- Determinação do índice de amargor dos extratos hidroetanólicos a 70 % | 45 |
| Tabela 9- Determinação do índice de mucilagem nas as cinco espécies denominadas de boldo | 45 |

Lista de Abreviaturas ou Siglas

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CCD - Cromatografia em camada delgada

L - Litro

Lf - Limbo foliar

mL- mililitros

MS - Ministério da Saúde

Nm - Nanômetro

OMS - Organização Mundial da Saúde

PICS - Práticas Integrativas e Complementares em Saúde

Rf - Fator de retenção

SUS - Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1 Cinco espécies vegetais reconhecidas popularmente por boldo: Etnobotânica, fitoquímica, farmacologia e toxidez..... | 15 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 22 |
| 3. OBJETIVOS | 23 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 4.1. Material vegetal..... | 24 |
| 4.2. Reagentes químicos..... | 24 |
| 4.3. Análise de características organolépticas das folhas..... | 24 |
| 4.4. Análise de características macroscópicas das folhas..... | 24 |
| 4.5. Análise de características microscópicas das folhas..... | 24 |
| 4.6. Análise do conteúdo extrativo..... | 24 |
| 4.7. Análise do pH dos extratos..... | 25 |
| 4.8. Análise quantitativa da cor dos extratos..... | 25 |
| 4.9. Detecção de taninos, flavonoides, óleos voláteis e alcaloides | 25 |
| 4.10. Análise do conteúdo total de flavonoides dos extratos..... | 26 |
| 4.11. Análise do índice de amargor dos extratos..... | 26 |
| 4.12. Análise do índice de Intumescência | 27 |
| 5. RESULTADOS | 28 |
| 5.1. Determinação de características Farmacobotânicas das folhas de cinco espécies de boldos..... | 28 |
| 5.1.1. Determinação de características organolépticas..... | 28 |
| 5.1.2. Determinação de características macroscópicas..... | 29 |
| 5.1.3. Determinação de características microscópicas..... | 31 |
| 5.2. Determinação de características dos extratos das cinco espécies de boldos..... | 41 |
| 5.2.1. Determinação do conteúdo extrativo..... | 41 |
| 5.2.2. Determinação do pH dos extratos..... | 41 |
| 5.2.3. Determinação quantitativa da cor dos extratos | 42 |
| 5.2.4. Detecção de taninos, flavonoides, óleo voláteis e alcaloides nos extratos..... | 43 |
| 5.2.5. Determinação total de flavonoides dos extratos..... | 44 |
| 5.2.6. Determinação do índice de amargor dos extratos..... | 45 |
| 5.2.7. Determinação do índice de intumescência | 45 |
| 6. DISCUSSÃO | 46 |
| 6.1. Determinação de características Farmacobotânicas das folhas de cinco espécies de boldos..... | 46 |
| 6.2. Determinação de características dos extratos de cinco espécies de boldos..... | 47 |
| 7. CONCLUSÕES | 51 |
| 8. REFERÊNCIAS | 52 |

1. INTRODUÇÃO

Entre os elementos que constituem a biodiversidade estão as plantas reconhecidas como medicinais, utilizadas em comunidades tradicionais como remédio caseiros e, por outro lado, consideradas a matéria-prima na produção de fitoterápicos e outros medicamentos (LEÃO *et al.* 2007). Conforme resolução da ANVISA, planta medicinal é todo vegetal que contém substâncias ativas com propriedades terapêutica, profiláticas ou paliativas, enquanto que fitoterápicos são medicamentos derivados e reproduzidos a partir de plantas consideradas medicinais. Sendo assim, a fitoterapia é caracterizada pelo tratamento com esses medicamentos que ocupam as plantas medicinais em diferentes formas farmacêuticas com formulações sem a utilização de princípios ativos isolados (SCHENKEL; GOSMAM; PETROVICK, 2000).

No processo histórico, as plantas medicinais sempre foram muito utilizadas nas mais diversas épocas e culturas, o que pode ser observado em diversos registros e manuscritos. Antes mesmo da história, o homem utilizava certas plantas como medicinais, tendo-se registros arqueológicos do uso do sabugueiro, da cavalinha, do mil-em-rama, dentre outras plantas. Há plantas utilizadas como medicinais, como a cúrcuma-longa, que são cultivadas a mais de oito mil anos. Na América tem-se o cultivo do abacateiro, do abacaxizeiro, da chia, do boldo e da baunilha, dentre outras espécies, como plantas medicinais e alimentícias pelas diversas nações indígenas em períodos remotos da história pré-colombiana (BERTONI, 2001). Os babilônios e sumerianos há mais de 4.600 anos atrás usavam em seus remédios, frutos, folhas, flores, cascas e raízes de plantas como lótus, oliveira e alho. Assim é que a “Tabuinha sumeriana”, uma coleção de textos médicos em “tabletes” de argila (Figura 1), contém registros para muitas enfermidades, sendo considerada o mais antigo tratado de medicina (PARKY, 1966; MIGUEL & MIGUEL, 1999).



Figura 1. Tabuinha sumeriana. Fonte: MARTINS E SILVA, J.: Medicina na Mesopotâmia Antiga (2º Parte). Acta Med. Port. 2010; 23:125-140.

Ressaltasse que, conforme Andrade, Cardoso e Bastos (2007), a utilização de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, nasceu com a humanidade e as plantas medicinais são consideradas uma das práticas mais remotas que o homem utiliza para a cura, a prevenção e o tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos.

À medida que os povos se tornaram mais hábeis em suprir as suas necessidades de sobrevivência, estabeleceram-se papéis sociais específicos para os membros da comunidade em que viviam. O primeiro desses papéis foi o de curandeiro. Esse personagem desenvolveu um repertório de diversos preparados, os guardando com zelo e os transmitindo seletivamente, para os iniciados que eram preparados para este papel na comunidade (SIMÕES *et al.* 2001). Pode-se afirmar que 2.000 anos antes do aparecimento dos primeiros médicos gregos, já existia uma medicina egípcia organizada e antes, a medicina tradicional Chinesa é conhecida há mais de 4.500 anos, utilizando predominantemente plantas medicinais para o tratamento de várias enfermidades até os dias atuais (SCHENKEL, GOSMAN & PETROVICK, 2003). Até o século XIX os recursos terapêuticos eram constituídos predominantemente por plantas e por extratos vegetais, o que pode ser ilustrado pelas Farmacopeias da época (SCHENKEL, GOSMAN & PETROVICK, 2000).

Desde a segunda guerra mundial a fitoterapia começa a tomar a forma moderna com os nuances científicos desta época. Pode-se mencionar o atual e intenso interesse que os cientistas e a indústria farmacêutica denotam ao desenvolver pesquisas com o objetivo de descobrir novos princípios ativos e também aprimorar as descobertas de novas atividades farmacológicas de substâncias conhecidas e oriundas de plantas (GURIB-FAKIM, 2006). As pesquisas científicas tem como base a comprovação da identidade botânica, os parâmetros de cultivo e domesticação das plantas, a composição química de drogas vegetais, a otimização de biomoléculas para serem investidas em novos medicamentos, a determinação da ação farmacológica e as propriedades tóxicas, bem como a tecnologia farmacêutica e o controle de qualidade das mesmas. É um complexo de pesquisas que se realiza em várias áreas de conhecimento de forma interdisciplinar, percorrendo um circuito que vai da planta ao medicamento (FERREIRA, 2001; SIMÕES *et al.*, 1999; KNEIFEL *et al.*, 2002; ROCHA *et al.*, 2004). Neste contexto, os métodos de controle de qualidade das plantas medicinais devem seguir protocolo rígido, encontrado em monografias de Farmacopeias e mesmo da OMS. Assim é que a Farmacopeia Brasileira está na sexta edição e inclui mais de oitenta monografias de plantas medicinais – mas, ainda, estas monografias em sua minoria são de plantas nativas no Brasil (Farmacopeia Brasileira, 2019; BRANDÃO *et al.*, 2006).

No Brasil, desde 1995 tem-se resoluções referentes a produção de fitoterápicos no patamar de medicamentos as quais vem sendo adequadas com o passar do tempo e que, entre outros pontos, abrange as etapas de controle de qualidade da droga vegetal, do produto acabado e da importação

de produtos fitoterápicos (ANVISA, 2004; ANVISA 2014). Destaca-se que no ano de 2006, com o Decreto n° 5.813, de 22 de junho, começou no Brasil a “Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos”, sendo que algumas de suas diretrizes está em garantir e promover a segurança, a eficácia e a qualidade no acesso a plantas medicinais e fitoterápicos, bem como promover e reconhecer as práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros, além de promover a adoção de boas práticas de cultivo, de manipulação e na produção de fitoterápicos, a partir de uma legislação específica (BRASIL, 2006). Destaca-se também que o Ministério da Saúde, através da portaria n° 971, de 3 maio de 2006, e subseqüentes, começou a disponibilizar opções terapêuticas tradicionais aos usuários do SUS, em conformidade com a OMS e com os movimentos populares, dentre elas o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos. Desta forma, os fitoterápicos e mesmo as plantas medicinais começaram a fazer parte das PICS (Práticas Integrativas e Complementares em Saúde), conforme Ribeiro (2019). Destaca-se que, mesmo antes, o Ministério da Saúde registrou, no ano de 2004, a utilização da fitoterapia no SUS em 116 municípios distribuídos em 22 estados brasileiros (BRASIL, 2006). Com a inserção das novas políticas, a utilização da fitoterapia e das plantas medicinais pelo SUS passaram, em 2008 para 346 municípios e alcançou 815 municípios em 2012 (RIBEIRO, 2019).

1.1. Cinco espécies vegetais reconhecidas popularmente por boldo: Etnobotânica, fitoquímica, farmacologia e toxidez

Peumus boldus (boldo-do-chile) sempre foi utilizado como medicinal, desde os tempos mais remotos, pelas populações indígenas dos Andes Chilenos, sendo denominado popularmente por “peumo”. O botânico espanhol D. Boldo é o autor desta espécie, sendo que para o seu nome científico, no nome genérico preservou a denominação popular de então e no epíteto específico fez menção ao seu próprio nome, ficando *Peumus boldus*. As folhas desta planta, já em 1869, na Europa, eram empregadas principalmente como estomáquico, hepatoprotetor e nos casos de otites, sendo que a sua indicação prioritária, dava-se para os casos de hipoacidez e dispepsias (ZANETTI, 2018; BERTONI, 2001).

No Brasil se denomina por “boldo” cinco espécies de plantas medicinais (LORENZI & MATOS, 2002; CARRICONDE *et al.*, 1996), sendo que três espécies pertencem a família *Lamiaceae* (gênero *Plectranthus*), uma espécie pertence à família *Asteraceae* (gênero *Vernonia*) e uma última espécie, pertence à família *Monimiaceae* (gênero *Peumus*). Não se tem informações precisas de o porquê desta denominação para as espécies em questão. As cinco espécies denominadas por “boldo” são diferentes entre si no que se refere ao porte e a morfologia das partes vegetativas e reprodutivas. Por outro lado, as folhas destas cinco espécies possuem em comum o atrativo de apresentarem significativa atividade digestiva, o que pode ser a característica central para a denominação genérica de “boldo”. Esta conjectura se estende a

outras denominações populares que se dá em espécies vegetais morfológicamente muito diferentes, mas que apresentam a mesma aplicação tradicional em remédios como é o caso das “arnicas”, “quebra-pedras” e das “ervas-cidreiras” (BERTONI, 2001).

➤ ***Peumus boldus***

Peumus boldus é uma espécie arbórea de pequeno porte, pertencente à família *Monimiaceae*, nativa no Chile (centro e sul), onde ocorre abundantemente em regiões montanhosas. As folhas desta planta (Figura 2), conhecida popularmente no Brasil pela denominação de boldo-do-chile, são utilizadas em medicina tradicional, bem como em fitoterápicos e em homeopatia, para tratamento de problemas digestivos e hepáticos. Essa espécie consta na Farmacopeia Brasileira e é bastante divulgada na cultura medicinal brasileira, encontrando-se regularmente este boldo na composição de fitoterápicos industrializados e suas folhas são muito comercializadas em todo território nacional (SPEISKY & CASSELS, 1994; SANTOS *et al.*, 2001).



Figura 2. Aspecto geral de um ramo com folhas de *Peumus boldus*.
Fonte: <https://www.sorianatural.com/plants/boldo-i-peumus-boldus-i-molina>

As folhas de *P. boldus* contêm entre 0,4 e 0,5 % de alcaloides benzoquinolínicos, sendo a boldina o constituinte majoritário desses alcaloides, encerrando 12 a 19 % do conteúdo alcaloídico (O'BRIEN *et al.*, 2006). As folhas ainda apresentam taninos catéquicos (6,5 %), óleos voláteis e

flavonoides (MENDES *et al.*, 2006; LIMA *et al.* (2004); Schwanz *et al.* (2008). Conforme Vogel *et al.*, (1999) a composição do óleo volátil possui ascaridol e limoneno como o principal componente.

O óleo volátil, obtido por hidrodestilação das folhas de *P. boldus*, apresenta atividade antimicrobiana significativa e de amplo espectro (VILA *et al.*, 1999; LIMA *et al.*, 2006). O alcaloide boldina tem inúmeros estudos descritos os quais destaca-se os de Jiménez *et al.* (2000) que realizou experimentos *in vitro* e *in vivo* a fim de conhecer melhor a farmacocinética da boldina. Após a administração oral, a concentração plasmática de boldina decai rapidamente, indicando uma cinética de primeira ordem. Outros estudos, como os de Ruiz *et al.* (2008) e de Youn *et al.* (2002) constataram que a boldina foi rapidamente absorvida e ficou concentrada no fígado e, em concentrações menores, no coração e no cérebro. De acordo com Youn *et al.* (2002) a capacidade antioxidante da boldina está relacionada com a habilidade em sequestrar radicais hidroxila e peroxila. Através de um mecanismo de ação antioxidante, a boldina mostrou-se capaz de atenuar a inativação do CYP450 2E1 humano e de inibir a peroxidação e lipídios em microsossomos hepáticos tratados com agentes redutores (KRINGSTEIN & CEDERBAUM, 1995). Em estudo *in vivo*, com diafragma e nervo frênico isolados de camundongos, Kang *et al.* (1998) observou que a boldina bloqueia a junção neuromuscular por interação direto com o receptor nicotínico pós-sináptico da acetilcolina.

Almeida *et al.*, (2000) utilizando extratos hidroetanólico de *P. boldus* em tratamento com ratas prenhas observaram efeitos teratogênico e abortivo. Também foi observado que, em tratamento com ratos machos (via oral), tanto com o extrato bruto como com a boldina isolada, teve-se aumento significativo nos níveis séricos de colesterol e de transaminases, bem como redução nos níveis de bilirrubina total, glicose e ureia a partir do trigésimo dia de ingestão.

➤ ***Vernonia condensata***

Vernonia condensata é uma espécie arbórea, pertencente à família *Asteraceae* nativa na África tropical e trazida para o Brasil já nos tempos da escravidão. Essa planta atinge cerca de 5 metros de altura e, tradicionalmente, suas folhas (Figura 3) são muito utilizadas no combate a problemas estomacais e, comumente, é conhecida popularmente principalmente como boldo-da-bahia ou alumã (LORENZI & MATOS, 2002; CARRICONDE *et al.*, 1996).

Esta planta apresenta em sua composição química lactonas sesquiterpênicas, saponinas, flavonoides, alcaloides, óleos voláteis, taninos, esteroides e o glicosídeo cardiotônico “vernoina” que se subdivide em Vernonosídeos B2 e B3 (ERASTO *et al.*, 2006; LORENZI & MATOS, 2008).

De acordo com o formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira de 2011 *V. condensata* e indicada como antidispéptico. Conforme Valverde *et al.* (2001) o vernoniosídeo B2, isolado a partir do extrato aquoso, teve atividade analgésica e anti-inflamatória.



Figura 3. Aspecto geral de um ramo com folhas de *Vernonia condensata*

Os extratos de *V. condensata* demonstraram baixa toxidez por via oral, ou seja, não apresenta risco teratogênico ou mutagênico, mas foi apresentado como efeito tóxico um pequeno retardo no crescimento fetal com o uso em doses elevadas do extrato (MONTEIRO *et al.*, 2001). O estudo *in vitro* com o extrato aquoso de *V. condensata* não apresentou citotoxicidade contra diferentes linhagens celulares (MADUREIRA *et al.*, 2002; ERASTO *et al.*, 2006; ZOFOU *et al.*, 2011; ADESANOYE *et al.*, 2012). Segundo Toyang *et al.* (2013) *V. condensata*, baseando-se no uso popular considera uma planta segura para o uso medicinal, contudo, nos primeiros meses de gravidez pode provocar aborto (KAMATENESI-MUGISHA & ORYEM-ORIGA, 2007) e há relatos que, no uso popular, em tratamento de feridas cutâneas, o uso interno é associado a vômitos e diarreias (GIDAY *et al.*, 2003).

➤ ***Plectranthus amboinicus***

Plectranthus amboinicus é uma erva perene da família *Lamiaceae* que tem origem na África e na Ásia (inclusive na Índia). É uma planta que atinge aproximadamente 1 m de altura, cultivada em todos os países tropicais e subtropicais (Figura 4). No Brasil, esta planta recebe uma série de denominações populares como boldo, malvarisco e hortelã-grossa (LORENZI & MATOS, 2008).

As folhas de *P. amboinicus* possui uma composição química rica em flavonoides como apigenina e taxifolina, assim como óleos voláteis, triterpenos e taninos (CASTILLO & GONZALÉZ; 1999). O óleo volátil de *P. amboinicus* apresenta um índice elevado de compostos aromáticos e oxigenados, tendo como composto majoritário o carvacrol (CASTILLO & GONZALEZ, 1999) e outros monoterpenos como timol (PARRA *et al.* 2001), com atividade antimicrobiana comprovada.



Figura 4. Aspecto geral de um ramo com folhas de *Plectranthus amboinicus*.

As folhas de *P. amboinicus* são usadas no combate à cólera, doenças genito-unrinários (como em inflamação no colo do útero), dores em geral (dor de ouvido, dor de cabeça), contra furúnculos e ainda como antifebril. O extrato aquoso é utilizado popularmente em casos de epilepsia como anticonvulsivante e contra doenças gástricas (CASTILLO & GONZALEZ (1999); MATOS (2002). O extrato das folhas de *P. amboinicus* apresenta ação antibacteriana sobre cepas de *S. aureus*, bem como em isolados de pacientes com otite externa, confirmando a atividade antimicrobiana de amplo espectro, conforme Nogueira (2004) e Castillo & Gonzalez (1999). Vários estudos científicos demonstram atividade inseticida, antimicrobiana e antiviral contra Herpes, tendo um fator de inibição da protease do HIV (NAPRALERT, 2003).

Parra *et al.* (2001) verificou que o extrato etanólico causa baixa toxidez aguda *in vivo* em camundongos, por outro lado, Chang *et al.* (2005), observou que o uso continuado do chá com as folhas de *P. amboinicus* em humanos pode provocar dermatite alérgica de contato.

➤ ***Plectranthus barbatus***

Plectranthus barbatus é um arbusto da família *Lamiaceae* que atinge até mais que 2 m de altura. Trata-se de uma planta nativa na África e Ásia (inclusive na Índia) e amplamente cultivada em todo o mundo (Figura 5). No Brasil é conhecido popularmente pela denominação comum de boldo, boldo-africano e tapete-de-oxalá (CARRICONDE *et al.*, 1996; ALBUQUERQUE, 200).



Figura 5. Aspecto geral de um ramo com folhas e flores de *Plectranthus barbatus*.

P. barbatus é constituído principalmente por diterpenos e óleos voláteis, além de ácidos orgânicos como o ácido rosmarínico, responsável pela inibição da enzima acetilcolinesterase, conforme Costa & Nascimento (2003) e Amaral (2011). No óleo volátil das folhas é relatada a presença majoritária de α -pineno, β -felandreno, manol e diterpeno abietatrieno, conforme Albuquerque *et al.* (2007). Falé *et al.* (2009) observa que os compostos químicos voláteis não são os principais responsáveis pelas ações farmacológicas desta planta, uma vez que a maioria das preparações com a mesma estão baseadas em infusos e, assim, estes compostos são facilmente perdidos.

As folhas de *P. barbatus* são utilizadas tradicionalmente em tratamentos contra distúrbios gastrointestinais e problemas respiratórios. Pode ser empregada como anti-hipertensivo e analgésico. Em países africanos *P. barbatus* é usado no combate ao HIV/AIDS (KAPEWANGOLO *et al.*, 2013). O infuso das folhas desta planta demonstra atividade digestiva, envolvendo desde a proteção gástrica (via inibição da bomba de prótons), estímulo de salivação (devido ao amargor) e das secreções hepáticas biliares, bem como hepatoproteção (BATTOCHIO *et al.*, 2008).

Desde os primeiros estudos, além da ação abortiva, registrou-se vários efeitos adversos obtidos com o uso dos extratos de *P. barbatus*, sendo bem conhecido a ação hepatotóxica, nefrotóxica e carcinogênica (MENGUE *et al.*, 2001). Em estudos *in vivo*, o uso continuado desta planta em tratamentos de saúde, obteve-se depressão do sistema nervoso central e ação no CYP450 com interferência no metabolismo de diversos fármacos (ALASBAHI & MELZIG, 2010).

➤ ***Plectranthus ornatus***

Plectranthus ornatus é uma erva da família *Lamiaceae* de até 30 cm de altura, com folhas pequenas, suculentas e aromáticas (Figura 6). É uma espécie nativa na Índia e muito cultivada em todo o mundo. No Brasil esta planta é conhecida popularmente como boldinho, sendo preconizada em medicina tradicional para problemas estomacais (MAURO *et al.*, 2008). Suas folhas também são utilizadas como antisséptico, analgésico, anti-inflamatório, antiemético, anti-tumoral e vermífuga, conforme Mauro *et al.* (2008) e Nascimento (2014).



Figura 6. Aspecto geral de um ramo com folhas de *Plectranthus ornatus*.

P. ornatus teve diterpenos isolados (neoclerodane) e dois derivados de lábdano - encontrado pela primeira vez em produtos naturais (RIJO *et al.*, 2002). Os componentes majoritários do óleo volátil de *P. ornatus* são eugenol, timol, trans- β -cariofileno, carvacrol, germacreno D e α -copaeno (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007).

Os óleos voláteis de *P. ornatus* mostrou potente atividade antioxidante (MORAIS & BRAZ-FILHO, 2007). Segundo Brasileiro *et al.* (2006) e Rijo *et al.* (2002) tanto o extrato como lábdano e clerodânicos diterpenos, apresentam atividade antimicrobiana de largo espectro.

Brasileiro *et al.* (2006), avaliou o extrato de *P. ornatus*, constatando citotoxicidade. Por outro lado, os extratos hexânico e etanólico de *P. ornatus* não apresentaram toxicidade na célula U937 (isolados de linfoma histiocítica). Estes extratos causaram aumento da expressão gênica da CMV-Luciferase (FRANZOTTI & SIMEONI, 2006).

2. JUSTIFICATIVA

A prescrição, a produção e o uso racional de plantas medicinais e de fitoterápicos requer a observação dos requisitos de segurança, de eficácia e de qualidade tanto dos insumos como dos produtos farmacêuticos, conforme previsto pela OMS e pela PNPMF - Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.

Neste contexto, o controle botânico de qualidade e o controle físico-químico de qualidade dos insumos farmacêuticos de origem vegetal é de suma importância pois, em última análise, garante a autenticidade de drogas vegetais (pela observação de elementos robustos que a caracterizam no que se refere a componentes macro-microscópicos e organolépticos) e determina a constituição química minimamente necessária numa determinada droga vegetal. A constância química num vegetal pode ser obtido unicamente pelo cultivo de plantas domesticadas nos padrões agrônômicos indicados, bem como por seguir os padrões referentes a colheita e ao tratamento pós colheita de cada espécie vegetal, com a finalidade de se obter as quantidades de metabólitos necessários para que esse material vegetal seja viabilizado como insumo farmacêutico. O resultado é que, estudos que se ocupam deste controle de qualidade ressaltam certos parâmetros estruturais e químicos de cada espécie vegetal que são fixos para os indivíduos da mesma espécie, mesmo que sejam cultivados em locais geograficamente muito distintos.

Assim, considerando que os ensaios farmacognósticos contribuem na obtenção de um padrão aceitável de qualidade para a utilização de insumos farmacêuticos vegetais, visando a produção de medicamentos extemporâneos ou não, e, considerando também que cinco espécies vegetais conhecidas popularmente por “boldo” são amplamente utilizadas como medicinais, em que a maioria destas espécies constam como de interesse para a RENAME e para o SUS, justifica-se este trabalho pela produção de padrões farmacognósticos, em ensaios rápidos, de baixo custo e alta reprodutibilidade, diferenciando as cinco espécies de boldo (folhas) como insumos farmacêuticos singulares e, desta forma, contribuindo para o controle de qualidade dos mesmos como drogas vegetais.

3. OBJETIVOS

➤ OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem por objetivo geral determinar características farmacognósticas das folhas de cinco plantas reconhecidas popularmente como boldos: *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

➤ OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar características organolépticas das folhas;
- Determinar características macroscópicas das folhas;
- Determinar características microscópicas das folhas;
- Determinar o conteúdo extrativo;
- Determinar o pH dos extratos;
- Determinar quantitativamente a cor dos extratos;
- Detectar a presença de taninos, flavonoides, óleos voláteis e alcaloides nos extratos;
- Determinar o conteúdo total de flavonoides dos extratos;
- Determinar o índice de amargor dos extratos;
- Determinar o índice de intumescência dos extratos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Vegetal

As folhas de *Peumus boldus* foram adquiridas no comércio local em macaé e as folhas de *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus*, *Plectranthus ornatus* e *Vernonia condensata* foram obtidas na cidade de Macaé, RJ, em cultivo no campus da UFRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro), conforme exsicatas depositadas no Laboratório de Farmacognosia do Campus UFRJ-Macaé “Professor Aloisio Teixeira”.

Para a realiação dos ensaios de farmacobotânica deste trabalho, parte das folhas foram analisadas *in natura* e outra parte foi desidratada em estufa (38 ± 2 °C). Para as secções transversais o material foi preservado em glutaraldeído a 2 %.

Para os ensaios físico-químicos as folhas foram desidratadas em estufa a 38 ± 2 °C, pulveriadas, realizando-se extração em etanol a 70 %, por 2 h, sob placa de agitação e em temperatura ambiente. Após este tempo o material foi filtrado em algodão e o resíduo reextraído nas mesmas condições descritas. Os filtrados foram reunidos, de modo a obter-se uma concentração final do extrato a 10 % (m/v), levado a secura em evaporador rotatório e armazenado a 4 °C.

4.2. Reagentes químicos

Todos os reagentes químicos utilizados foram tipo “pró-análise”. Todas as soluções foram preparadas com água destilada e purificada no sistema MILLI Q Plus.

4.3. Análise organoléptica

As características organolépticas, foram realizadas com exames sensoriais, examinando-se a cor, a textura, a consistência, o odor e o sabor, conforme a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (2019).

4.4. Análise macroscópica

As folhas das cinco plantas foram analisadas a olho nu e com auxílio da lupa (10 x), conforme a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (2019).

4.5. Análise microscópica

As folhas das cinco plantas foram analisadas microscopicamente, em seção paradérmica e transversal, de acordo com técnicas farmacopeicas (Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, 2019). As lâminas histológicas foram preparadas com azul de toluidina a 0,01 %.

O material vegetal foi observado em microscópio de campo claro e o registro das imagens foi obtido por fotomicrografias.

4.6. Análise do conteúdo extrativo

Os extratos hidroetanólicos a 70 % de cada uma das cinco plantas e o material foi filtrado em algodão e a torta (material vegetal) foi descartado. Transferiu-se 50 mL do extrato obtido com cada uma das cinco plantas do estudo para placas de Petri previamente pesadas. Levou-se em estufa, com a

temperatura de 65 °C, por 12 h. e, após resfriamento em temperatura ambiente, usando-se desumidificador, pesou-se o material, obtendo-se a porcentagem do conteúdo extrativo em relação ao material vegetal empregado para a obtenção dos extratos.

Este ensaio foi realizado em triplicata, considerando-se a média para o resultado de cada extrato vegetal no experimento, conforme Lima *et al.* (2012).

4.7. Análise do pH dos extratos

O pH dos extratos foram obtidos em pHmetro. Para a leitura do pH das amostras, utilizou-se 50 mL de cada extrato vegetal, em triplicata. O pHmetro foi previamente calibrado, e em seguida o eletrodo foi inserido em cada uma das amostras, sendo que a cada medição o eletrodo era limpo com água destilada.

O resultado foi obtido pela média das três leituras realizadas com os extratos de cada planta, conforme INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985) .

4.8. Análise quantitativa da cor dos extratos

A determinação colorimétrica de cada extrato vegetal foi realizado usando-se o aplicativo colorímetro Lab Tools o qual expressa a cor dos extratos, utilizando a Luminosidade, cromaticidade e ângulo HUE como parâmetros.

Para tanto, 100 mL de cada extrato foi depositado em placa de petri em local com fundo branco e a leitura colorimétrica foi obtida diretamente pela câmera fotográfica na qual tinha-se acoplado o aplicativo Lab Tools na mesma.

Os resultados foram expressos em tabela contendo os três parâmetros utilizados na definição da cor de cada extrato em análise, sendo que: 1. Luminosidade (L^*) varia de 0 (preto) a 100 (branco), (PATHARE; OPERA; AL-SAID, 2013); 2. Cromaticidade ou pureza da cor (C^*) em que os valores relativamente inferiores representa cores impuras (acinzentadas) e os valores superiores representa as cores puras (MORAIS *et al.*, 2002) e 3. Ângulo HUE, o qual varia entre 0° e 360°, sendo que o ângulo 0° corresponde a cor vermelha, o ângulo 90° corresponde a cor amarela, o ângulo 180° corresponde a cor verde, o ângulo de 270° corresponde a cor azul e o ângulo 360° passa de vermelho a negro (MCGUIRE, 1992).

4.9. Detecção de taninos, flavonoides, óleos voláteis e alcaloides

Na detecção qualitativa de taninos, flavonoides e alcaloides utilizou-se como base Sharapin *et al.* (2000).

Para a detecção de taninos adicionou-se cloreto férrico a 2 %, gota a gota, nos extratos de cada uma das plantas, observando-se a mudança de cor para verde ou azul.

Para a detecção de flavonoides foi acrescentado, nos extratos, limalha de magnésio (10:0,2), (V/V), seguido de HCl (10:1), (V/V), observando-se a mudança da coloração para o vermelho.

Para a detecção de óleos voláteis, misturou-se hexano no extrato hidroetanólico (1:1), (V/V), por 3 vezes consecutivas, reunindo o resíduo da fase hexânica no qual fez-se a detecção adicionando gotas de sudan III em

lâmina histológica e, posteriormente, com o auxílio de placa quente (70 °C) verificou-se a volatização do material.

Para a detecção de alcaloides elevou-se para 9 o pH dos extratos, usando NH₄OH, e misturou-se éter (1:1), (V/V), sendo que o resíduo da fase etérea foi retomado em HCl a 10 % e, assim, fez-se a detecção usando os reagentes específicos para alcaloides (Dragendorf e Mayr).

Os ensaios foram realizados em triplicata, utilizando como padrão *Monteverdia aquifolium* para taninos, *Achyrocline satureioides* para flavonoides, *Citrus aurantium* (cascas) para óleo volátil e *Peumus boldus* para alcaloides. Os resultados foram expressos usando-se a convenção (-) se não houve detecção na mudança da cor dos extratos ou (+), (++) e (+++), se houve detecção na mudança da cor dos extratos, pela observação da maior ou menor intensidade de cor desenvolvida.

4.10. Análise do conteúdo total de flavonoides dos extratos

O conteúdo total de flavonoides nos extratos, foi realizado de acordo com Rio (1996), utilizando rutina como padrão e cloreto de alumínio como reativo. Fez-se a curva de calibração, utilizando concentrações crescente de quercetina (1,5,10,15,20,25 µg/mL), para a obtenção da equação da reta e com isso calcular o conteúdo total de polifenóis para cada extrato.

Cada extrato bruto seco das plantas foi diluído em metanol a 70 %, na concentração de 0,04 mg/mL, adicionando-se reativo de rutina na proporção de 1:1(v/v). Após 5 minutos acrescentou-se o mesmo volume de cloreto de alumínio a 5 % recente e, após 30 minutos, efetuou-se leitura das absorvâncias em 425 nm.

Usou-se como branco água destilada, cloreto de alumínio e álcool metílico a 70 %. O ensaio foi realizado em triplicata para cada concentração das frações.

Os resultados foram expressos como gráfico, evidenciando a reta obtida pela calibração realizada e a referida equação da reta, bem como os valores de flavonoides expressos em quercetina.

4.11. Análise do índice de amargor

O índice de amargor de cada um dos extratos, obtidos a partir das folhas das cinco plantas em estudo, foi obtido conforme a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (2019) e OMS (1992), por ensaio semi-quantitativo através de diluição serial de cada extrato a 10 % em água, a partir do tudo dois de uma série com 10 tubos de ensaio.

Como padrão usou-se cloridrato de quinina que também foi diluída serialmente, como os extratos. Este experimento foi realizado em triplicata. Os resultados foram obtidos com a média das triplicatas da leitura de cada extrato, demarcando-se o tubo com a maior diluição do extrato o qual apresentou sinal de amargor.

4.12. Análise do índice de Intumescência

O Índice de intumescência foi determinada pela medida do volume ocupado dado o intumescimento da droga vegetal pulverizada em água, de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (2019) e OMS (1992).

Para tanto adicionou-se 5 g da droga vegetal pulverizada numa proveta com 50 mL de água, agitando-se a cada 10 minutos por 1 h., promovendo o encharcamento completo da droga vegetal. Após este procedimento inicial, deixou-se a mistura repousar por 3 h., em temperatura ambiente, para obter-se a leitura do volume em mililitros ocupado pelo material vegetal. Este ensaio foi realizado em triplicata, tendo como padrão folhas desidratadas e pulverizadas de *Malva sylvestris*.

O índice de intumescência foi obtido pela a diferença entre o volume inicial e volume final, ocupado pelas drogas vegetais, usando-se a média resultante da leitura entre as triplicadas.

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos nos ensaios realizados neste trabalho estão organizados em dois subtítulos, um primeiro referente a determinação de características farmacobotânicas e, um segundo referente a determinação de características físico-químicas dos extratos obtidos a partir das folhas das cinco plantas em estudo.

5.1. Determinação de características Farmacobotânicas das folhas de cinco espécies de boldos

Agrupou-se neste subtítulo, os resultados obtidos com os ensaios referentes a determinação de características organolépticas, macro e microscópicas das folhas das cinco plantas em questão, conforme as monografias farmacopeicas.

5.1.1. Características Organolépticas

As características de cor, odor, sabor, consistência e textura das folhas de cada uma das cinco espécies vegetais reconhecidas popularmente como “boldo” encontram-se na Tabela 1.

| Características organolépticas | <i>Peumus Boldus</i> | <i>Vernonia Condensata</i> | <i>Plectranthus amboinicus</i> | <i>Plectranthus barbatus</i> | <i>Plectranthus Ornatus</i> |
|--------------------------------|---|--|------------------------------------|--|------------------------------------|
| Cor | Verde-acinzentado e pouco luzidio na face adaxial e verde-claro e opaco na face abaxial | Verde-escuro e opaco na face adaxial e verde-claro e opaco na face abaxial | Verde-claro e opaco nas duas faces | Verde-claro e opaco, pouco mais claro na face inferior | Verde-claro e opaco nas duas faces |
| Odor | Levemente canforado | Inespecífico | Fortemente aromática | Fortemente aromática | Fortemente aromático |
| Sabor | Levemente amargo | Amargo | Amargo | Amargo | Amargo |
| Consistência | Coriácea | Membranácea | Crássula | Crássula, mas flexível | Crássula |
| Textura | Verrugosa | Lisa | Levemente pilosa | Densamente pilosa (aveludada) | Levemente pilosa |

Tabela 1. Características Organolépticas das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

O sabor amargo é a característica organoléptica que as 5 espécies reconhecidas por boldo têm em comum. Por outro lado, a textura/consistência são características organolépticas que as diferem entre si, sendo que as 3 espécies de *Plectranthus* apresentam-se com mais ou com menos pilosidade na folha.

5.1.2. DETERMINAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

As características macroscópicas das folhas das 5 espécies de boldo (Figura 7), encontram-se descritas na Tabela 2. Todas as cinco espécies apresentam folhas simples e inteiras, nas quais observa-se que o tamanho, o bordo e a base das folhas são caracteres os quais auxiliam a diferenciação entre as espécies em questão.

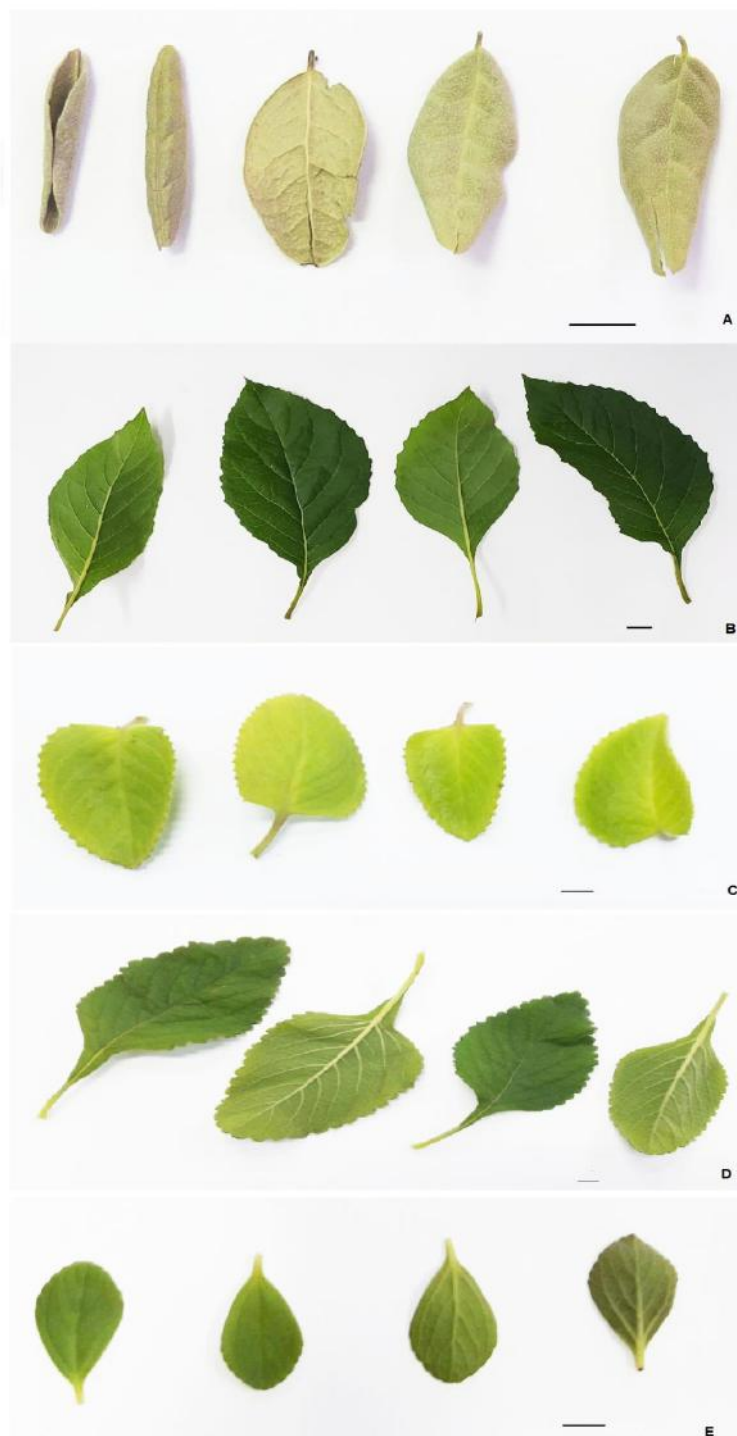


Figura 7. Aspecto geral das folhas íntegras de cinco espécies reconhecidas pela denominação popular de boldo. (A) *Peumus boldus*; (B) *Vernonia condensata*; (C) *Plectranthus amboinicus*; (D) *Plectranthus barbatus*; (E) *Plectranthus ornatus*. Rêgua: 1cm.

| Características Macroscópicas | <i>Peumus Boldus</i> | <i>Vernonia condensata</i> | <i>Plectranthus Amboinicus</i> | <i>Plectranthus barbatus</i> | <i>Plectranthus Ornatus</i> |
|--|--|---|--|---|---|
| Filotaxia | Oposta-dística | Espiralada | Oposta-cruzada | Oposta-cruzada | Oposta-cruzada |
| Pecíolo | Curto, de inserção Marginal, com 1-5 mm de comprimento x 1-2 mm de largura; é côncavo na face adaxial e lateralmente exibe 2 costelas muito reduzidas, voltados para a face adaxial. | Curto, de inserção marginal, com 2,8 cm de comprimento x 0,3 cm de largura; é côncavo na face adaxial e exibe 2 costelas pequenas voltadas para a face adaxial. | Curto, de inserção marginal, com 2,8 cm de comprimento x 0,3 cm de largura; é côncavo na face adaxial e exibe 2 costelas pequenas voltadas para a face adaxial.. | Curto, de inserção marginal, com 2,8 cm de comprimento x 0,3 cm de largura; é côncavo na face adaxial e exibe 2 costelas pequenas voltadas para a face adaxial. | Curto, de inserção marginal, com 0,8 cm de comprimento x 0,3 cm de largura, é côncavo na face adaxial e exibe 2 costelas pequenas voltadas para a face adaxial. |
| Lâmina foliar (LF) – número/recorte | Simples/inteira | Simples/inteira | Simples/inteira | Simples/inteira | Simples/inteira |
| LF - Forma | Elíptica | Elíptica | Ovado-elíptica | Elíptica | Obovada |
| LF – Tamanho (comp. X larg.) | 7 cm x 5 cm | 13,5 cm x 8 cm | 8,5 cm x 7,3 cm | 9,7 cm x 6 cm | 3,8 cm x 2,8 cm |
| LF - Ápice | Obtuso-retuso | Agudo | Obtuso | Obtuso | Obtusa |
| LF – Base | Obtusa-arredondada | Cuneada | Truncada | Decorrente | Retusa |
| LF – Margem | Revoluta | Levemente dentada (2 tamanhos de dentes) | Dentada | Crenada | Crenada na metade superior e inteira na metade inferior |
| LF – Venação | Camptódroma | Camptódroma | Camptódroma | Camptódroma | Craspedódroma |

Tabela 2. Características macroscópicas das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

As folhas das 5 espécies em questão apresentam-se com a lâmina foliar simples, inteira, sendo que o pecíolo é curto e de inserção marginal – características que encontram-se determinadas na Tabela 2. Contudo, na mesma tabela, pode-se observar que o tamanho das folhas, bem como a base e a margem da lâmina foliar, são características que auxiliam de forma consistente a autenticidade do material vegetal como insumo farmacêutico, destas espécies medicinais, uma vez que as mesmas mostram diferenças pronunciadas entre si.

O tamanho das folhas nas espécies de boldo é variável sendo que *P. ornatus* alcança menor dimensão e *P. barbatus* e *V. condensata* alcançam os maiores tamanhos, como pode-se verificar na Figura 7 e na Tabela 2. Ressalta-se também que dentre estas espécies, a base das folhas é truncada em *P. amboinicus* e decorrente em *P. barbatus*, característica que os diferenciam sobremaneira das demais espécies (Tabela 2, Figura 7). Há diferenças macroscópicas consideráveis entre a margem nestas espécies de boldo, conforme Tabela 2 e Figura 7, variando de revoluta (boldo-do-chile) a dentada (com variações) e mesmo crenada nas espécies do gênero *Plectranthus*. Salienta-se que *V. condensata* exibe a margem ligeiramente dentada.

5.1.3. Determinação de características Microscópicas

Os resultados obtidos com os ensaios microscópicos com as secções paradérmicas e transversais de cada uma das cinco plantas deste estudo estão dispostos por espécie vegetal, destacando-se os tipos variados de tricomas, a disposição dos feixes vasculares no pecíolo, bem como a presença de cristais de oxalato de cálcio no parênquima fundamental.

➤ *Peumus boldus*

- **Secção paradérmica da lâmina foliar**

A secção paradérmica da folha de *Peumus boldus*, as células epidérmicas de parede celular espessam de contorno sinuoso nas duas faces (Figura 8 A e B).

Apenas na face abaxial foram observados estômatos do tipo anomocítico (Figura 8 B) e tricomas estrelados (8 C). por transparência pode-se observar células secretoras na face adaxial (Figura 8 A).

- **Secção transversal do pecíolo**

O pecíolo em secção transversal tem forma canaletada e mostra uma pequeníssima projeção de cada lado no sentido adaxial (Figura 9 A).

A epiderme é uniestratificada, com tricomas estrelados muito característicos (Figura 9 A-B).

O sistema vascular é constituído por um feixe vascular central compacto, do tipo colateral, protegido por uma bainha espessa de esclerênquima.

O parênquima fundamental mostra, esparsamente, células secretoras esféricas e também uma grande quantidade de idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio na forma de monocristais (Figura 9 C).

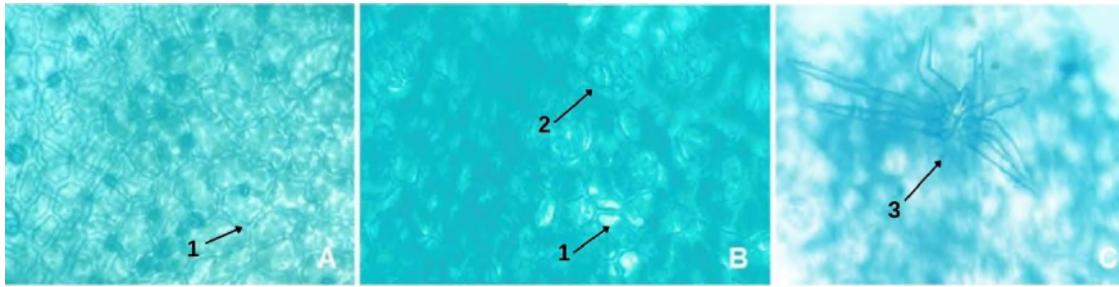


Figura 8. Secções paradérmicas das folhas de *Peumus boldus* A) Secção paradérmica da lâmina foliar da face adaxial; B) Secção paradérmica da lâmina foliar da face abaxial; C) Secção paradérmica evidenciando tricoma estrelado. Legenda: 1. Células Epidérmicas, 2. Estômatos, 3. Tricomas estrelado.

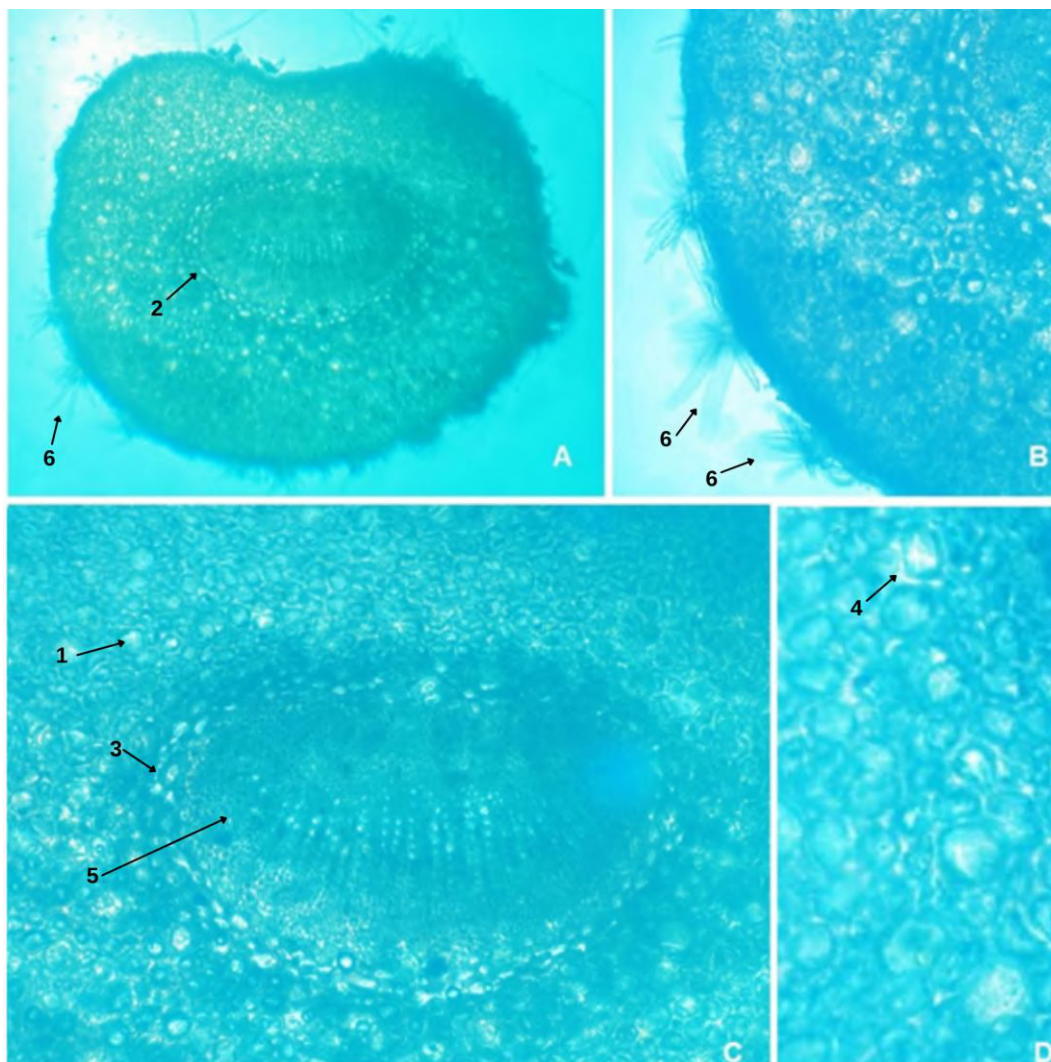


Figura 9. Secções transversais de pecíolos das folhas de *Peumus boldus*. A) Aspecto geral da secção transversal do pecíolo; B) Detalhe da secção transversal do pecíolo evidenciando tricomas estrelares e parte do feixe vascular central; C) Detalhe da secção transversal do pecíolo evidenciando o feixe vascular e o parênquima fundamental com células secretoras e idioblastos. Legenda: 1. Epiderme; 2. Feixe vascular colateral; 3. Bainha do feixe vascular; 4. Parênquima fundamental; 5. Células secretoras; 6. Tricomas estrelado.

➤ ***Vernonia condensata***

• **Secção paradérmica da lâmina foliar**

A secção paradérmica das folhas da *Vernonia condensata*, na face adaxial apresenta células epidérmicas de contorno sinuoso, sem presença de tricomas ou estômatos (Figura 10 A).

Na face abaxial as células epidérmicas possuem contorno ondeado, ocorrem estômatos do tipo anomocítico, tricomas glandulares captados (Figura 10 B) e tricomas tectores unisseriados de ápice afilada (Figura 10 C).

• **Secção transversal do pecíolo**

O pecíolo em secção transversal é côncavo apenas na metade inferior e possui uma pequena ala, projetadas para a face adaxial, em cada uma de suas laterais (11 A). As células epidérmicas formam apenas uma camada na qual tem-se tricomas glandulares captados (Figura 11 B) e tricomas tectores unicelulares em forma de papila (Figura 11 C). A camada epidérmica é seguida de colênquima lamelar (Figura 11 D).

Abaixo da epiderme tem-se, por toda a extensão do pecíolo, 5 a 8 camadas de colênquima lamelar (Figura 11 D). No parênquima fundamental é evidente a presença de inúmeros idioblastos cristaliníferos, com cristais de oxalato de cálcio no formato de drusas (Figura 11 E).

O feixe vascular é do tipo colateral e dispõe-se em 5 a 7 seguimentos, formando um arco, onde a unidade central é a mais inferior e de maior tamanho e as unidades laterais, as quais encontram-se mais próximas a face adaxial, são as menores (Figura 11 F e G).

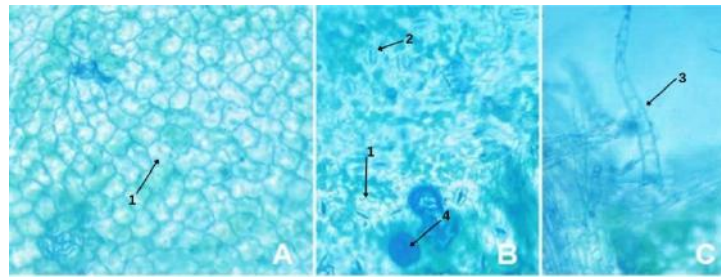


Figura 10. Secções paradérmicas das folhas de *Vernonia condensata*. A) Secção da face adaxial; B) Secção da face abaxial; C) Secção evidenciando um tricoma tector. Legenda: 1. Células Epidérmicas, 2. Estômatos, 3. Tricomas Tectores. 4. Tricomas glandulares.

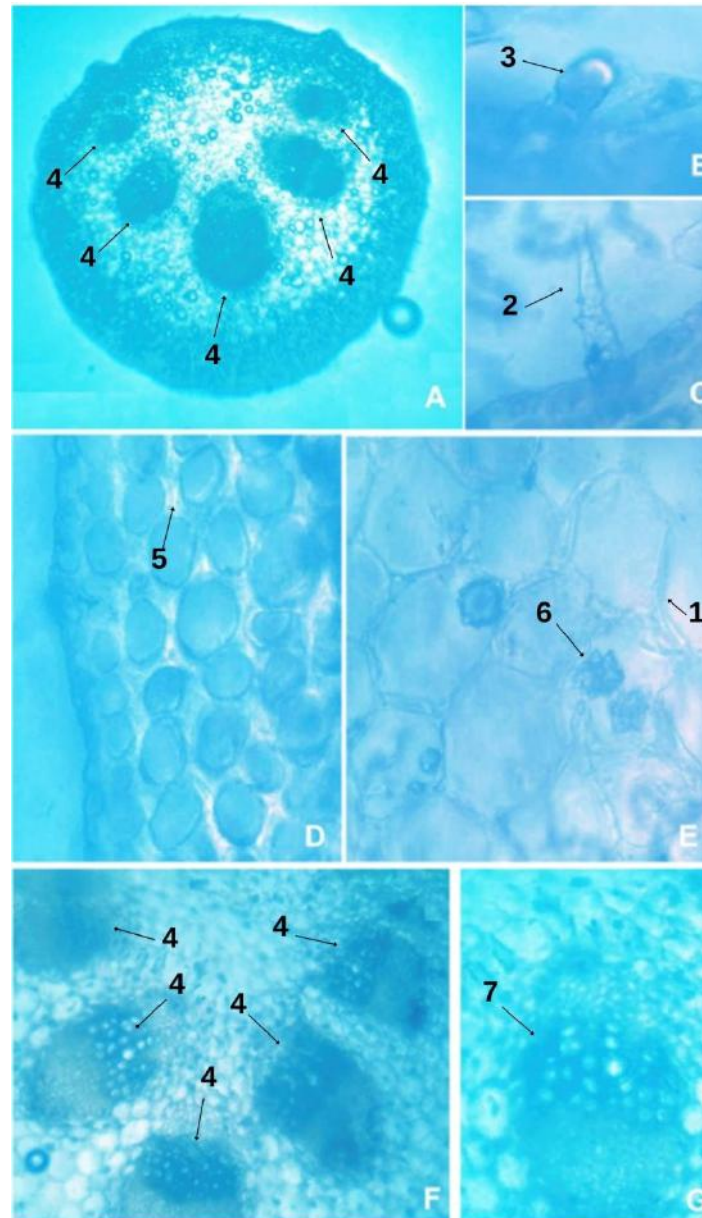


Figura 11. Secção transversais de pecíolos das folhas de *Vernonia condensata*. A) Aspecto geral da secção transversal do pecíolo; B) Detalhe da secção transversal do pecíolo evidenciando Colênquima; C) Detalhe do parênquima no pecíolo, evidenciando os cristais de oxalato de cálcio em formato de drusa; D) Detalhe de um tricoma tector; E) Detalhe de um tricoma. Legenda: 1. Células epidérmicas; 2. Tricomas tectores; 3. Tricomas glandulares; 4. Feixe vascular; 5. parênquima; 6. Drusas.

➤ ***Plectranthus amboinicus***

• **Secção paradérmica da lâmina foliar**

Tanto a face adaxial (Figura 12 A) como a face abaxial (Figura 12 B) as células epidérmicas são retas, os estômatos são diacíticos e tem-se tricomas tectores unisseriados de ápice afilado e tricomas glandulares captados, menores que os tectores.

• **Secção transversal do pecíolo**

O pecíolo em secção transversal é canaletado com pequenas costelas laterais as quais se projetam para a face adaxial.

A epiderme é unisseriada, com tricomas tectores unisseriados e tricomas glandulares captados menores que os tectores, como na lâmina foliar (Figura 13 A-C).

O feixe vascular dispõe-se num arco central descontínuo, numa estrutura colateral fechada. Este arco central é seguido por um pequeno feixe pontoal, na parte superior e próximo a cada uma de suas extremidades. Tem-se mais um feixe vascular pontoal em cada uma das 2 extremidades laterais superiores (Figura 13 A).

O parênquima fundamental, tecido de preenchimento, exhibe inúmeros idioblastos com cristais de oxalato de cálcio no formato de drusa (Figura 13 D).

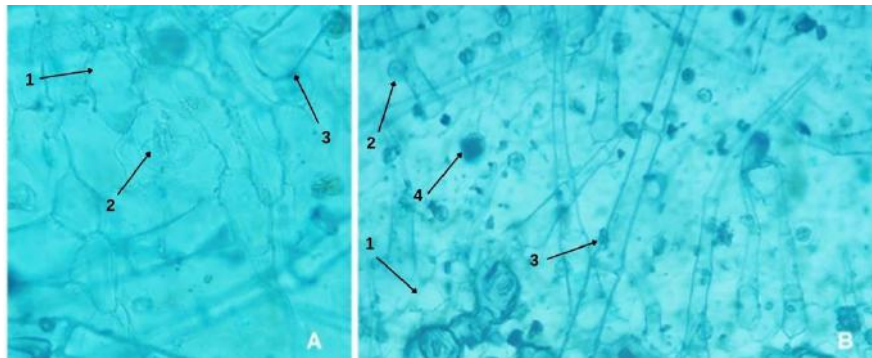


Figura 12. Secções paradérmicas das folhas de *Plectranthus amboinicus*. A) Secção paradérmica da lâmina foliar da face adaxial; B) Secção paradérmica da lâmina foliar da face adaxial. Legenda: 1. Células epidérmicas; 2. Estômatos; 3. Tricomas tectores; 4. Tricomas glandulares.

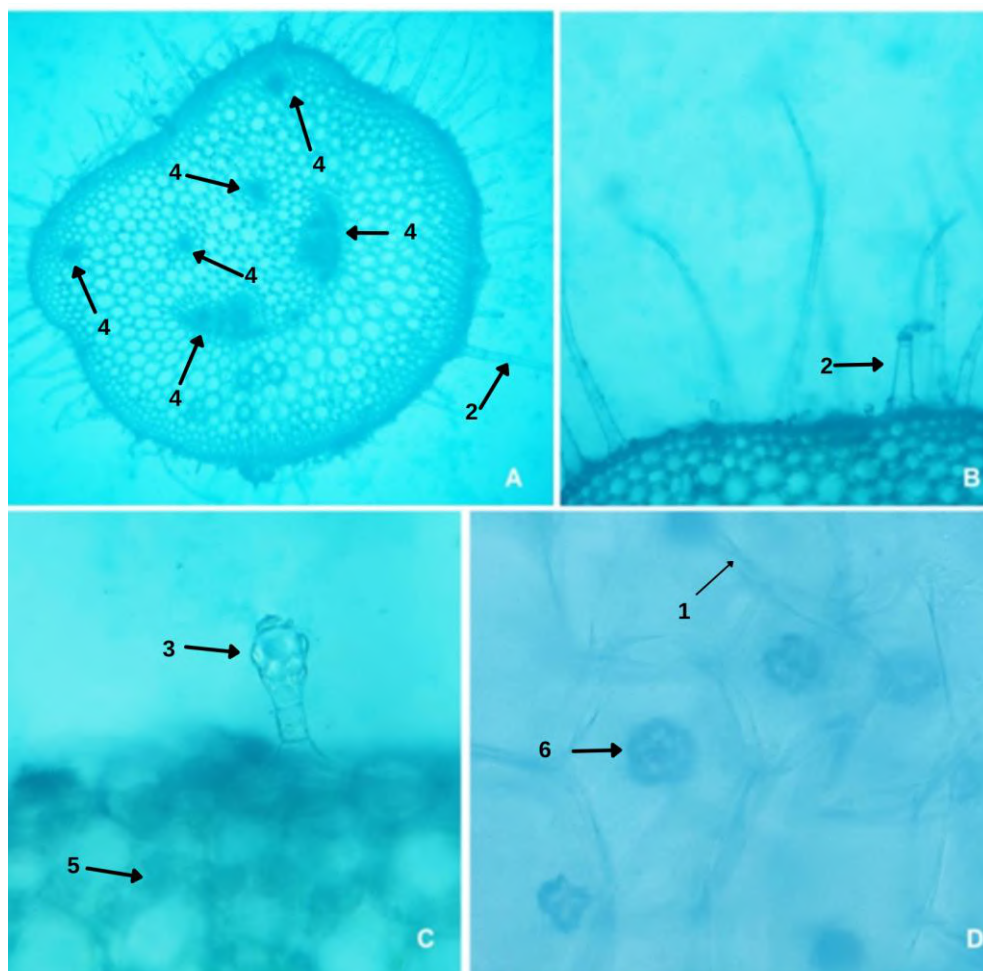


Figura 13. Secções transversais de pecíolos das folhas de *Plectranthus amboinicus*. A) Aspecto geral da secção transversal do pecíolo; B) Detalhe da secção transversal do pecíolo evidenciando a epiderme com seus tricomas; C) Detalhe de um tricoma glandular; D) Detalhe do parênquima no pecíolo, evidenciando os cristais de oxalato de cálcio em formato de drusa. Legenda: 1. Células epidérmicas; 2. Tricomas tectores; 3. Tricomas glandulares; 4. Feixe vascular; 5. Parênquima; 6. Drusas.

➤ ***Plectranthus barbatus***

• **Secção paradérmica da lâmina foliar**

A epiderme na face abaxial apresenta células de contorno sinuoso, poucos estômatos do tipo anisocítico e tricomas tectores unisseriados, bem como tricomas glandulares unicelulares (Figuras 14 A-C).

Na face adaxial a epiderme exibe células de contorno poligonal, estômatos do tipo diacíticos e tricomas tectores unisseriados em abundância (Figura 14 D).

• **Secção transversal do pecíolo**

O pecíolo em secção transversal, conforme a Figura 15 A, exibe aspecto geral canaletado, com pequenas costelas nas laterais, as quais se projetam para a face adaxial.

A epiderme é unisseriada e possui tricomas tectores pluricelulares unisseriados de ápice afilado (Figura 15 A).

O feixe vascular central é do tipo colateral aberto, formando um conjunto de 6 pontoações, em que os 2 feixes basais são mais desenvolvidos do que os demais. Ainda ocorrem mais uma pontoação de feixe vascular em cada uma das laterais, logo abaixo das costelas (Figura 15 A).

O parênquima fundamental exibe células com cristais de oxalato de cálcio na forma de ráfides (Figura 15 B).

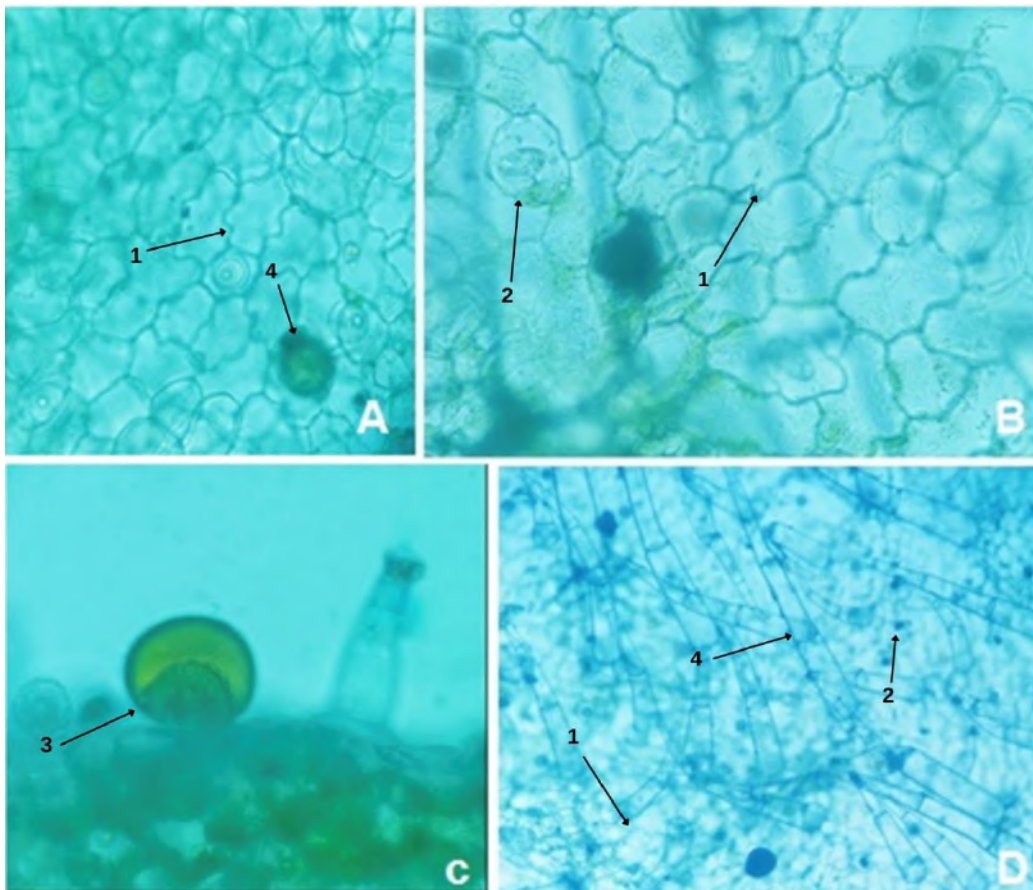


Figura 14. Secções paradérmicas das folhas de *Plectranthus barbatus*, A) Secção da face abaxial; B) Secção da face abaxial evidenciando estômato; C) Secção da face abaxial evidenciando tricoma glandular; D) Secção da face adaxial. Legenda: 1. Células epidérmicas; 2. Estômato; 3. Tricomas tectores; 4. Tricoma glandular.

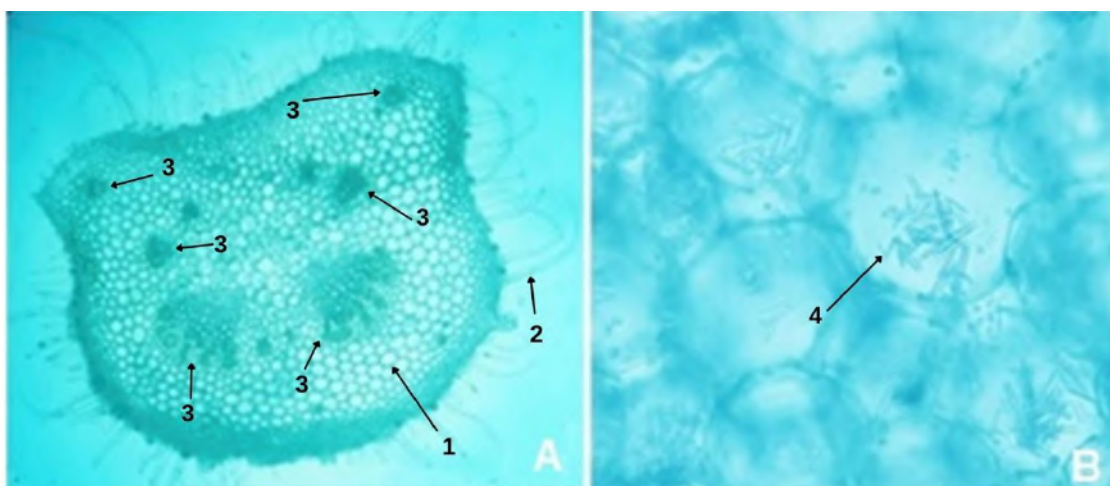


Figura 15. Secção transversal do pecíolo de *Plectranthus barbatus*. A) Aspecto geral da secção transversal do pecíolo. E) Detalhe do parênquima do pecíolo evidenciando os cristais de oxalato de cálcio em ráfides. Legenda: 1. Células epidérmicas; 2. Tricomas Tectores; 3. Feixe vascular; 4. Células do parênquima com ráfides.

➤ ***Plectranthus ornatus***

• **Secção paradérmica da lâmina foliar**

Em ambas as faces da epiderme, adaxial e abaxial, as células epidérmicas são sinuosas e os estômatos são do tipo diacítico.

Também ocorre tricomas glandulares sésseis nas duas faces epidérmicas. Por outro lado, os tricomas tectores, na face adaxial são unicelulares de ápice afilado e, na face abaxial estes tricomas tectores são unisseriados de ápice afilado (Figura 16 A-B).

• **Secção transversal do pecíolo**

O aspecto geral da secção transversal do pecíolo é canaletado, com costelas nas laterais da região mediana a basal, as quais se projetam para a face adaxial (Figura 17 A).

A epiderme é unisseriada e apresenta abundância de tricomas tectores pluricelulares unisseriados de ápice afilado (Figura 17 A).

O feixe vascular central é do tipo colateral fechado. Mostra-se segmentado, formando um arco interrompido por um feixe pontoal, seguido de um feixe pontoal em cada extremidade lateral superior (Figura 17 A).

O parênquima fundamental contém idioblastos com monocristais de oxalato de cálcio (Figura 17 B).

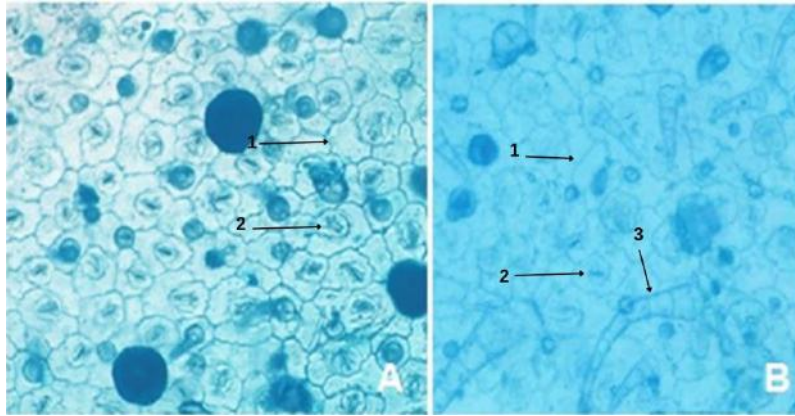


Figura 16. Secção paradérmicas das folhas de *Plectranthus ornatus*. A) Secção paradérmica da face adaxial da lâmina foliar; B) Secção paradérmica da face abaxial da lâmina foliar. Legenda: 1, Células epidérmicas; 2. Estômatos, 3. Tricomas tectores.

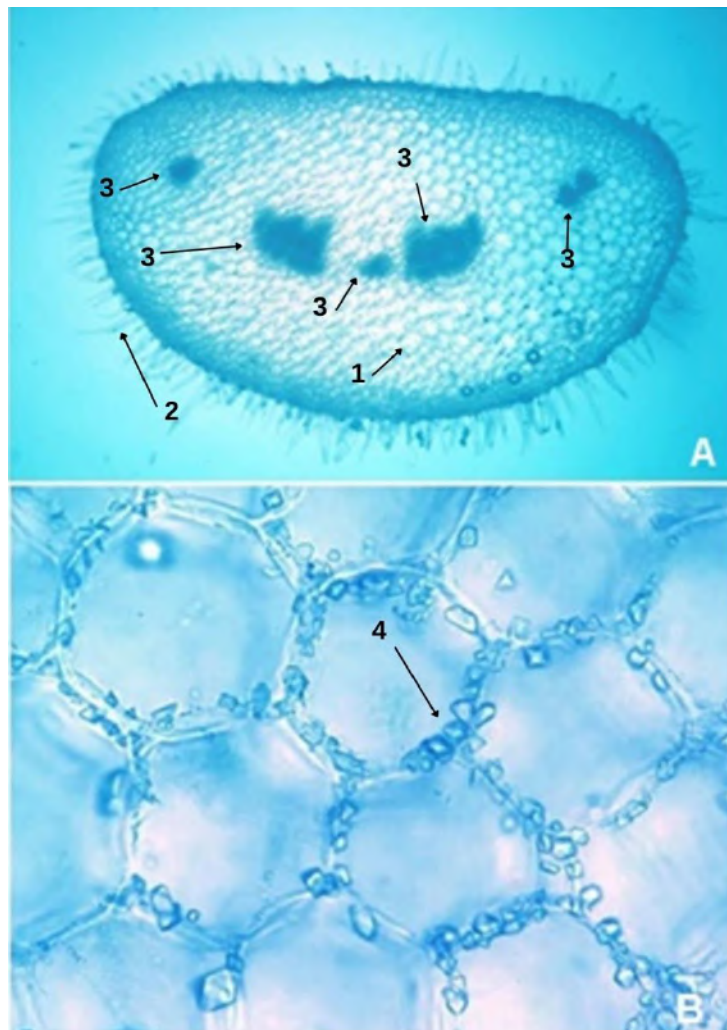


Figura 17. Secções transversal do pecíolo das folhas de *Plectranthus ornatus*. A) Aspecto geral da secção transversal do pecíolo; B) Detalhe do parênquima do pecíolo evidenciando os monocristais de oxalato de cálcio. Legenda: 1. Células epidérmicas; 2. Tricomas tectores; 3. Feixe vascular; 4. Células parenquimáticas com monocristais de oxalato de cálcio.

5.2. Determinação de características dos extratos de cinco espécies de boldos

A caracterização físico-química dos extratos obtidos a partir das folhas das cinco plantas em estudo são úteis no controle de qualidade, tanto para atestar a pureza como para caracterizar os extratos vegetais.

5.2.1. Determinação do conteúdo extrativo

O rendimento dos extratos hidroetanólicos a 70 %, obtidos por maceração, a partir das folhas das cinco plantas em estudo, foram próximas a 12 %, apenas *Peumus boldus* foi próximo a 16 %, conforme a Tabela 3.

| Extratos obtidos a partir das folhas de boldos | Rendimento Extrato Seco |
|--|-------------------------|
| <i>Peumus boldus</i> | 15,7 % \pm 0,3 |
| <i>Vernonia condensata</i> | 12,8 % \pm 0,2 |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | 12,3 % \pm 0,3 |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | 12,6 % \pm 0,4 |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | 11,3 % \pm 0,1 |

Tabela 3. Rendimento do extrato hidroetanólico a 70 % obtido a partir das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

5.2.2. Determinação do pH dos extratos

Conforme descrito na Tabela 4, todos os extratos hidroetanólicos obtidos com as folhas das cinco plantas estudadas neste trabalho possuem um pH neutro, sendo que o extrato obtido com as folhas de *Peumus boldus* possui o pH ácido.

| Extratos obtidos a partir das folhas de boldos | pH do Extrato |
|--|----------------|
| <i>Peumus boldus</i> | 5,35 \pm 0,0 |
| <i>Vernonia condensata</i> | 6,06 \pm 0,1 |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | 6,16 \pm 0,2 |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | 6,32 \pm 0,1 |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | 6,26 \pm 0,0 |

Tabela 4. Determinação do pH dos extratos hidroetanólicos a 70 %, obtidos a partir das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

5.2.3. Determinação qualitativa da cor dos extratos

A cor de cada um dos extratos hidroetanólicos a 70 % obtidos a partir das folhas das espécies reconhecidas popularmente por boldo demonstraram ser qualitativa e quantitativamente diferentes entre si, conforme Figura 18 e Tabela 5. Neste estudo denominamos qualitativamente os extratos como apresentando as seguintes cores: *Peumus boldus* - cor âmbar; *Vernonia condensata* - cor verde-escuro; *Plectranthus amboinicus* – cor amarelo-cádmio; *Plectranthus barbatus* – cor marrom-esverdeado e *Plectranthus ornatus* – cor amarelo-oliva.



Figura 18. Cores dos extratos hidroetanólicos a 70 % obtidos a partir das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*. Legenda: 1. *Peumus boldus*; 2. *Plectranthus ornatus*; 3. *Plectranthus amboinicus*; 4. *Plectranthus barbatus* e 5. *Vernonia condensata*.

| Extratos obtidos a partir das folhas de boldos | L* | a* | b* | C | H |
|--|------|-------|------|-------|----|
| <i>Peumus boldus</i> | 41,6 | 37,0 | 49,7 | 54,47 | 30 |
| <i>Vernonia condensata</i> | 61,1 | -17,5 | 64,2 | 57,16 | 61 |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | 76,0 | 6,5 | 21,6 | 50,24 | 59 |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | 57,1 | 1,1 | 60,8 | 46,89 | 47 |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | 59,8 | -5,8 | 21,0 | 36,04 | 52 |

Tabela 5. Determinação quantitativa da cor dos extratos hidroetanólicos a 70 %, obtidos a partir das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

5.2.4. Detecção de taninos, flavonoides, óleos voláteis e alcaloides nos extratos

A detecção qualitativa de classes de metabólitos vegetais são ensaios clássicos que podem ser comumente utilizados em testes de controle de qualidade para verificar de imediato a presença ou não de determinados metabólitos nas preparações extrativas. Assim é que executou-se quatro ensaios qualitativos os quais os resultados constam na Tabela 6.

| Extratos obtidos a partir das folhas de boldos | Taninos | Flavonoides | Óleos voláteis | Alcaloides |
|--|---------|-------------|----------------|------------|
| <i>Peumus boldus</i> | +++ | +++ | + | ++ |
| <i>Vernonia condensata</i> | - | +++ | + | + |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | ++ | +++ | +++ | - |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | ++ | +++ | ++ | - |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | - | +++ | +++ | - |

Tabela 6. Detecção qualitativa de taninos, flavonoides, óleos voláteis e alcaloides nos extratos hidroetanólicos a 70 %, obtidos a partir das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*. Legenda: +: baixa intensidade; ++: média intensidade; +++: alta intensidade.

Por estes ensaios, fica marcado a presença comum de flavonoides e de óleos voláteis em todas as cinco espécies em estudo. Já, a presença de taninos e de alcaloides não foi constante para as cinco espécies de boldo: Detectou-se alcaloides apenas nas duas espécies que não são do gênero *Plectranthus* e taninos não foi detectado em *Vernonia condensata* e também em *Plectranthus ornatus*.

5.2.5. Determinação do conteúdo total de flavonoides

Para determinar a concentração de flavonoides totais presentes nas cinco plantas estudadas fez-se uma curva de calibração, usando concentrações conhecidas de quercetina e, por regressão linear, construiu-se a reta, obtendo-se a equação da reta de correlação com $R^2 = 0,9953$, possibilitando-se determinar, com margem de segurança, as concentrações de flavonoides totais em cada um dos extratos das espécies de boldo expresso em quercetina, conforme Figura 19 e Tabela 7.

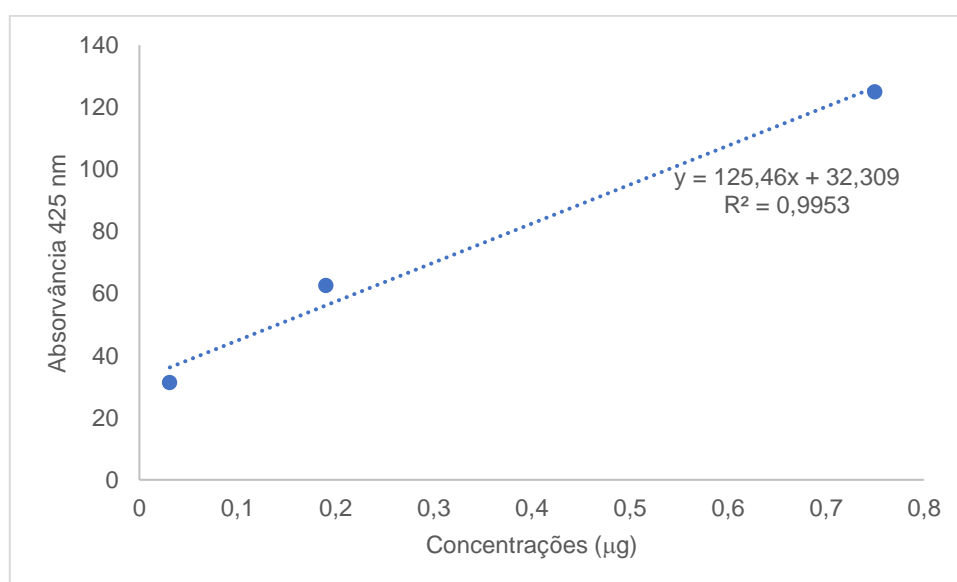


Figura 19. Reta obtida por regressão linear a partir da curva de calibração construída a partir de diferentes concentrações de quercetina, com leitura em espectrofotômetro a 425 nm, e a equação da reta correspondente.

| Extratos das folhas de Boldos | Flavonoides totais |
|--------------------------------|--------------------|
| <i>Peumus boldus</i> | 6,14 % \pm 0,22 |
| <i>Vernonia condensata</i> | 6,82 % \pm 0,18 |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | 6,85 % \pm 0,13 |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | 6,48 % \pm 0,23 |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | 6,37 % \pm 0,11 |

Tabela 7. Determinação do conteúdo total de flavonoides, expresso em quercetina, nos extratos hidroetanólicos a 70 % das espécies de boldo.

5.2.6. Determinação do teor de amargor

O índice de amargos é um importante ensaio semi-quantitativo que indica especificamente uma das características organolépticas e também a presença de metabólitos secundários que, geralmente, relacionam-se com a atividade digestiva. As espécies em estudo apresentaram índices de amargor próximos entre si, como indica a Tabela 8.

| Extratos obtidos a partir das folhas de boldos | Índice de amargo |
|--|------------------|
| <i>Padrão</i> | 9 ± 0 |
| <i>Peumus boldus</i> | 4 ± 0 |
| <i>Vernonia condensata</i> | 5 ± 0 |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | 6 ± 0 |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | 5 ± 0 |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | 6 ± 0 |

Tabela 8. Determinação do índice de amargor dos extratos hidroetanólicos a 70 %, obtidos a partir das folhas de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

5.2.7. Determinação do índice de intumescência

O índice de intumescência denota a quantidade de mucilagem que uma determinada droga vegetal contém e passa para seu extrato. Conforme pode-se observar na Tabela 09, dentre as plantas em estudo, *Vernonia condensata* é a espécie vegetal com maior quantidade de mucilagem, seguida por *Plectranthus barbatus*.

| Extratos obtidos a partir das folhas de boldos | Índice de intumescência |
|--|-------------------------|
| <i>Peumus boldus</i> | 5,5 ± 0,2 |
| <i>Vernonia condensata</i> | 18 ± 0,3 |
| <i>Plectranthus amboinicus</i> | 2,0 ± 0,0 |
| <i>Plectranthus barbatus</i> | 13 ± 0,2 |
| <i>Plectranthus ornatus</i> | 8,0 ± 0,0 |

Tabela 9. Determinação do índice de mucilagem de *Peumus boldus*, *Vernonia condensata*, *Plectranthus amboinicus*, *Plectranthus barbatus* e *Plectranthus ornatus*.

6. DISCUSSÃO

Para a discussão dos resultados obtidos neste trabalho, distribuiu-se os mesmos em dois blocos: um referente as características das folhas das cinco espécies de boldo e outro referente as características dos extratos hidroetanólicos a 70 % obtidos a partir das folhas destas cinco espécies de boldo, conforme as determinações obtidas pelos ensaios desenvolvidos.

6.1 Determinação de características Foliares das cinco espécies de boldos

A determinação de características organolépticas são consideradas fundamentais nas monografias farmacopeicas de plantas medicinais uma vez que estas características apontam questões referentes ao estado de conservação, além de auxiliar nas características diagnósticas das drogas vegetais (PEREIRA, 2013). Dentre as características organolépticas, é muito ressaltado para os boldos o sabor amargo, característica que neste estudo foi constatado como convergente em todas as cinco espécies de boldo. Em relação ao odor, Alonso (2004) descreve que *Peumus boldus* apresenta um odor muito parecido com o de cânfora e, Mauro *et al.* (2008), comenta que *Plectranthus ornatus* possui um odor nauseoso. Estes dados obtidos na literatura consultada para o odor das espécies de boldo são concordantes com os resultados obtidos com o presente estudo para estas espécies, sendo que descreve-se como “odor fortemente aromático” às plantas da família Lamiaceae. Destaca-se ainda que a textura/consistência são características organolépticas que diferem as espécies de boldo em estudo, sendo que as 3 espécies de *Plectranthus* apresentam-se com mais ou com menos pilosidade na folha, muito diferente a espécie do gênero *Vernonia*, o qual é lisa, e a de *Peumus*, o qual é verrugosa.

Em relação as características macroscópicas, destacou-se o bordo, a base e o tamanho das folhas das cinco espécies de boldo como características marcantes em uma análise farmacobotânica. Por outro lado, verificou-se que os resultados obtidos neste ensaio de caracterização macroscópica são concordantes com a literatura consultada. Assim é que pode-se destacar as características ressaltadas aqui neste trabalho para *Peumus boldus* (SCHWNAZ *et al.*, 2008) como concordante na monografia da Farmacopeia Brasileira, 6^o edição (2019) e, para *Vernonia condensata*, concordante com o trabalho de Lolis *et al.* (2003), bem como para *Plectranthus ambionicus*, que é concordante com o trabalho de Freitas *et al.* (2014), as características obtidas para *Plectranthus barbatus*, é concordante com os estudos de Cordeiro (Herbário, UNIRIO) e os resultados obtidos para *Plectranthus ornatus*, são concordantes com o trabalho de Milaneze-Gutierrez *et al.* (2007). Desta forma, as três características macroscópicas ressaltadas (bordo, base e tamanho das folhas) são consistentes em uma análise de controle de qualidade para estas plantas como insumos farmacêuticos e bastante robustos já que, são

características que, apesar da plasticidade morfológica que toda espécie possui, são relativamente fixas para as espécies em estudo.

Dentre as características microscópicas de *Peumus boldus* a literatura destaca a presença de tricomas estrelares, estômatos e de células epidérmicas (face adaxial e abaxial), Farmacopeia Brasileira, 6ª ed. (2019) e Schwanz *et al.*, (2008). Estes dados são concordantes com os resultados obtidos no presente estudo, como características úteis no controle botânico de qualidade das folhas desta planta como insumo farmacêutico. Lolis *et al.*, (2003) destaca para *Vernonia condensata* características anatômicas como as células epidérmicas (face adaxial e abaxial), bem como a presença de estômatos e de tricomas. Estas características foram possíveis de serem verificadas no experimento deste trabalho como sendo relevantes para o controle botânico de qualidade dentre os boldos estudados. Este fato deve-se pelas diferenças que se obtêm com a análise destas características dentre as espécies em questão, o que acaba por diferenciá-las. Por outro lado, as características microscópicas do limbo foliar de *Plectranthus ambionicus* e *Plectranthus ornatus* destacadas neste trabalho são concordantes com os estudos de Mauro *et al.*, (2008) no qual destaca-se os tricomas e os estômatos. Seguindo, as características microscópicas do limbo foliar de *Plectranthus barbatus*, destacadas neste trabalho, são concordante com os estudos de Duarte e Lopes (2007), destacando-se os tricomas, estômatos e células epidérmicas.

Salienta-se que, conforme as análises realizadas neste estudo, além das características epidérmicas, pode-se contar com as características do pecíolo das cinco espécies de boldo, principalmente no que se refere a disposição dos feixes vasculares e também a presença de cristais de oxalato de cálcio. Estas duas características constituem-se como características úteis a serem considerados em trabalhos de farmacobotânica os quais têm como finalidade última a autenticidade vegetal das folhas destas espécies como insumos farmacêuticos, visando o controle de qualidade das mesmas. Isto deve-se também a praticidade em que estas técnicas microscópicas são aplicadas na visualização dos detalhes ressaltados, pois a verificação da conformação dos feixes vasculares e das formações cristaliníferas é muito prática de ser observada, inclusive com a droga vegetal em pó.

6.2 Determinação de características dos extratos hidroetanólico a 70 % obtidos a partir das folhas das cinco espécies de boldos

O conteúdo extrativo é um dos ensaios imprescindíveis, tanto no controle de qualidade como na otimização de extratos vegetais para a produção de um determinado medicamento (SHARAPIN *et al.*, 2000). Optou-se em fazer extratos hidroetanólicos a 70 % como partida para estudos subsequentes e obteve-se conteúdos extrativos concordantes com outros estudos como o de Klimaczewski (2018), para *Peumus boldus* e o de Borges (2017), para *Vernonia condensata*.

A determinação do pH e da cor dos extratos apontam parâmetros importantes no controle de qualidade, principalmente no que se refere a durabilidade e armazenamento dos mesmos (SHARAPIN *et al.*, 2000; HARAGUCHI *et al.*, 2010; ZANETTI, 2018). Evidencia-se pela cor, por exemplo, o estado de oxidação que alguns extratos sofrem em função do mal acondicionamento dos mesmos. Por outro lado, o pH dos extratos em questão apresentam valores próximos entre si e, apesar de indicar o estado dos mesmos, não se prestam como um parâmetro para a diferenciação entre eles.

A cor dos extratos deste estudo são diferentes entre si, fato que permite utiliza-las como um parâmetro que contribui na autenticidade da matéria prima dos mesmos. Neste estudo inferiu-se a cor de forma quantitativa pela determinação colorimétrica através do aplicativo colorímetro Lab Tools. É pouco usual a determinação da cor dos extratos que não seja qualitativa. Contudo o aplicativo utilizado neste ensaio é muito prático e expressa a cor, tendo como parâmetros a Luminosidade, a cromaticidade e ângulo HUE (0° a 360°, indo do vermelho ao negro, passando pelo verde e azul), conforme Mcguire (1992). Desta forma obtém-se informações substanciais neste ensaio, capaz de se diferenciar as diversas cores dos mais variados extratos vegetais com mais precisão e sem a interferência subjetiva de um ensaio qualitativo.

A detecção das classes de compostos químicos em plantas medicinais são ensaios clássicos em farmacognosia e são muito utilizados devido a praticidade dos mesmos (SIMÕES *et al.*, 2000; ZANETTI, 2018). Estes ensaios são rápidos de serem realizados e contribuem, num primeiro momento, para o controle de qualidade de insumos farmacêuticos, e, num segundo momento, se passa aos ensaios mais exatos e sofisticados. Neste trabalho, a detecção de alcaloides é um parâmetro que deve ser considerada no controle de qualidade destes insumos farmacêuticos, uma vez que apenas *P. boldus* e *Vernonia condensata* apresentam esta classe de compostos químicos, fato que a separa das outras três espécies vegetais conhecidas por boldo. Tanto a Farmacopeia Brasileira (6ª ed.) como outros trabalhos, investem na determinação total de alcaloides para *P. boldus*. Contudo, como é sabido, a determinação total de alcaloides é uma técnica morosa e dispendiosa que, necessariamente, deverá ser realizada antes do processo de produção de um medicamento o qual utilizará as folhas de *P. boldus* e de *V. condensata* como matéria prima, para que se tenha determinado a quantidade exata de alcaloides necessária, como marcador químico, para o material vegetal entrar na linha de produção de algum medicamento com as folhas desta espécie (Farmacopeia Brasileira, 2019).

Os óleos voláteis, os taninos e flavonoides nos ensaios clássicos de detecção, mesmo que sejam concordantes com Simirgiotis; Schmeda-Hirschmann (2010), mostram pouca aplicabilidade para o controle de qualidade destas cinco espécies vegetais como insumos farmacêuticos, pois não as diferenciam de forma robusta. Há a excessão da detecção de taninos o qual serve como um parâmetro que contribui no controle de qualidade de *V. condensata* e de *P. ornatus*, pois não ocorrem de forma detectável por estes

ensaios nestas duas espécies vegetais. Contudo, sugere-se a utilização de cromatografias para estes grupos químicos e, de posse dos vários Rfs se possa utilizar os diferentes perfis cromatográficos das cinco espécies de boldo no controle de qualidade das mesmas como insumos farmacêuticos, o que é concordante com Wagner *et al.* (1984).

A espectrofotometria é um método comumente empregado na determinação de polifenóis e flavonoides totais nos extratos vegetais uma vez que, essa determinação tem alta especificidade, permitindo a quantificação dessas classes de substâncias químicas sem interferências de outras substâncias (FERREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2008; SIMÕES *et al.*, 2000).

Os valores obtidos na determinação de flavonoides totais nos extratos hidroetanólicos a 70 % das diferentes espécies de boldo evidenciou que os mesmos possuem uma quantidade considerável desses compostos químicos em sua constituição. Estes resultados quantitativos são concordantes com os obtidos pelo ensaio de detecção, clássico em farmacognosia, desenvolvido neste estudo. Os resultados obtidos para *Peumus boldus* e também para *Vernonia condensata*, corroboram com os estudos realizados por Klimaczewski (2018) e Borges (2017), respectivamente. Para as espécies do gênero *Plectranthus*, os resultados obtidos por este trabalho corroboram com os estudos de Abdel-Mogibe e Alban (2002) para *Plectranthus ambionicus*, Borges (2017) para *Plectranthus barbatus* e Araújo *et al.* (2008) para *Plectranthus ornatus*.

Esta grande quantidade de flavonoides nos resultados para as espécies de boldo pode ser sustentada por um viés ecológico, já que são plantas que habitam locais de sol pleno e os flavonoides tem como uma das funções básicas a proteção dos raios UV, o que inclusive, permitiu que as plantas se estabelecessem em ambiente terrestre. *Peumus boldus*, diferentemente das outras quatro espécies, não tem origem na África e sim no continente Sul Americano, num dos locais mais inóspitos do planeta, com grande variações ambientais e irradiações UV (SIMÕES *et al.*, 2001; ZANETTI, 2018).

O amargor que algumas plantas apresentam, geralmente é uma característica considerável dentre as plantas medicinais e, muito característica entre as espécies de boldo. Conforme Mors *et al.* (2000), as plantas medicinais com sabor amargo apresentam propriedades como digestivas, estimulando a produção de suco gástrico. Este fato é concordante com a literatura que se tem das espécies de boldo que, tradicionalmente, são plantas empregadas como digestivas (ZANETTI, 2018). O índice de amargor é realizado num ensaio semi quantitativo e Mello e Petrovick (2000) ressaltam que, por ser um teste semi quantitativo, os mesmos apresenta uma margem de erro considerável e comum a testes que não sejam quantitativos. Contudo, o índice de amargor é um parâmetro farmacopeico relevante e devemos considerar que estes testes apresentam uma margem de erro menor do que os ensaios que fazem a mesma determinação puramente qualitativa, somando, desta forma, informações menos subjetivas às características organolépticas. Destaca-se

que, para realizar esse ensaio, é necessário um treinamento prévio do experimentador que, aliado à análise estatística, fazem com que a variabilidade obtida seja minimizada, tornando o método bastante confiável (OMS, 1992). Não foi encontrado nenhum trabalho que determine o índice de amargor das cinco plantas em estudo e, os resultados obtidos neste ensaio para estas plantas são bastante próximos entre si, demarcando o amargor como uma característica organoléptica relevante para os boldos, o que é concordante com a literatura em geral, contudo pouco contribui para as diferencia-las.

O índice de intumescência é um parâmetro farmacopeico usual no controle de qualidade de drogas vegetais o qual oferece, mesmo que indiretamente, os valores de mucilagem do material em análise (SHARAPIN *et al.*, 2000; FANI, 2012). As mucilagens são constituintes químicos se caracterizam como sendo um tipo de suco viscoso que funciona como anti-inflamatório, cicatrizante, expectorante, laxante, digestivo ou protetor de mucosas (LORENZI e MATOS, 2002). Não foi encontrado nenhum trabalho com a determinação do índice de intumescência das plantas em questão. Contudo, os resultados obtidos neste ensaio apontam o índice de intumescência como relevante no controle de qualidade destas plantas, pois obteve-se uma diferença considerável entre as espécies estudadas. Este fato demarca a presença de mucilagem como um grupo químico variável dentre as cinco espécies de boldo e, desta forma, o índice de intumescência é um parâmetro que deve ser considerável pois, acaba por demarcar uma diferença marcante entre as espécies vegetais em análise, fornecendo um dado consistente que contribui na autenticidade destas espécies como insumo farmacêutico.

7. CONCLUSÕES

As análises das características organolépticas, macro e microscópicas das folhas das cinco espécies denominadas popularmente por boldo, contém marcadores morfo-anatômicos e sensoriais que são úteis na autenticidade destas folhas como drogas vegetais, quando consideradas em conjunto, pois auxiliam na determinação de diferenças e na caracterização destas espécies como insumos farmacêuticos.

O conteúdo extrativo, o pH e o índice de amargor dos extratos vegetais em questão são semelhantes entre si e, apesar de constituírem parâmetros que contribuem no controle de qualidade em geral destas drogas vegetais, não auxiliam de forma substancial na autenticidade das mesmas. Por outro lado, a cor dos extratos é um parâmetro a ser considerado tanto no controle de qualidade como na autenticidade das drogas vegetais, pois exibem uma diferença marcante entre os mesmos.

As determinações de flavonoides e de intumescência (mucilagens), são parâmetros que contribuem no estudo farmacognóstico das espécies vegetais em questão, auxiliando na autenticidade destas drogas vegetais. A detecção de alcaloides e de taninos, como são específicas para duas das cinco espécies, contribuem no controle de qualidade destas plantas como insumos farmacêuticos. Por outro lado, os óleos voláteis e os flavonoides, são marcadores químicos a serem considerados para estas folhas como insumos farmacêuticos, destacando-se as técnicas cromatográficas, além da determinação de conteúdo total para estas classes de compostos químicos.

8. REFERÊNCIAS

ABDEL-MOGIB, M; ALBAN, H. Chemistry of the genus *Plectranthus*. *Molecules*, V. 7, n. 2, p. 271-301, fev. 2002.

ADESANOYE, O. A.; MOLEHIN, O. R.; DELIMA, A. A.; ADEFAGHA, A. S.; FAROMBI, E. O. Modulatory effect of extract of *Vernonia amygdalina* (MEVA) on tert-butyl hydro peroxide-induced erythrocyte haemolysis. *Cell Biochemistry and Function*. 2012.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*, 6° Ed., V. 2. Brasília, DF. 2019.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências./Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Registro de Medicamentos Fitoterápicos/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2004.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Registro de Medicamentos Fitoterápicos e o Registro e a Notificação de Produtos Tradicionais Fitoterápicos /Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2014.

ALASBAHI, R. H.; MELZIG, M. F. *Plectranthus barbatus*: A review of Phytochemistry, Ethnobotanical Uses and Pharmacology – Part 1. *Planta Med.* V. 76, p. 653-661, 2010.

ALBUQUERQUE, R. L. Contribuição ao estudo químico de plantas medicinais do Brasil: *Plectranthus barbatus* Andr. *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. 2000. 166 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

ALBUQUERQUE, U. P.; MUNIZ DE MEDEIROS, P.; ALMEIDA, A. L.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the Caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethno pharmacology*, V. 114, n. 3, p. 325–354, 2007.

ALMEIDA, E. R.; MELO, A. M.; XAVIER, H. Toxicological evaluation of the hydro-alcohol extract of the dry leaves of *Peumus boldus* and boldine in rats. *Phytother Res.* V.14, p. 99-102, 2000.

ALONSO, J. *Tratado de Fitofármacos y Nutracêuticos*. Editora Corpus Libros: Rosário, 2004.

AMARAL, F. G. Efeito de extratos aquosos de *Plectranthus barbatus* e de *Peumus boldus* na ação do etanol e na absorção conjunta de colesterol em

linhas celulares. 2011. 65 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populonic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *Journal of Ethnopharmacology*, V. 109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ARAÚJO, T. A. S.; ALENCAR, N. L.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, P. A new approach to study medical plants with tannins and flavonoids contents from the local Knowledge. *J. of Ethnopharmacology*, V. 120, n. 1, p. 72-80, 2008.

BATTOCHIO, A. P. R. *et al.* Hepatoprotective effect water soluble extract of *Coleus barbatus* on cholestasis on young rats, *Acta Cirúrgica Brasileira*, V. 23, n. 3, p. 220-229, 2008.

BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M. S.; MORAES, R. M.; FRANCA, S. C. Micropropagation of *Salix humboldtiana* Hild. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, V. 2, n. 2, p. 17-21, 2001.

BERTONI, S. V. C. Segredos e virtudes das plantas medicinais. Rio de Janeiro: Reader's digest. p. 415, 1999.

BORGES, A. S. Avaliação das atividades gastroprotetora, anti-*Helicobacter pylori*, imunomoduladora e antioxidante dos "boldos" de interesse ao SUS: *Plectranthus barbatus* Andrews (*Lamiaceae*) e *Vernonia condensata* Baker (*Asteraceae*). 2017. 114F. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UFES, Espírito Santo, 2017.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn.* V.16, p. 408-420, 2006.

BRASIL. Decreto Presidencial n. 5813, de 22 de junho de 2006. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. Brasília, 2006 b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 971, de 3 de maio de 2006. Brasília, 2006 a.

BRASILEIRO, B. G.; PIZZOLO, V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Revista brasileira de ciências farmacêuticas*. V. 42, p. 195-201, 2006.

CARRICONDE, C. *et al.* Plantas medicinais e plantas alimentícias. Olinda: Centro Nordestino de Medicina Popular, Universidade Federal de Pernambuco, p. 153, 1996.

CASTILLO, R. A. M.; GONZALEZ, V. P. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Rev. Cubana plant med.* V. 3, p. 110-115, 1999.

CHANG, S. L.; CHANG, Y. C.; YANG, C. H.; HONG, H. S. Allergic contact dermatitis to *Plectranthus amboinicus* masquerading as chronic leg ulcer. *Contact Dermatitis*, V. 53, n. 6, p. 356-357, 2005.

CORDEIRO S. Z. *Plectranthus barbatus* Andrews – Disponível em: <http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/plectranthus-barbatus-andrews> <Acessado em 17/01/2022>.

COSTA, M. C.; NASCIMENTO, S. C. Atividade citotóxica de *Plectranthus barbatus* Andr. (*Lamiaceae*). *Revista Acta Farmacêutica Bonaerense*, V. 22, n. 2, p. 155-158, 2003.

DUARTE, M. R.; LOPES, J. F. Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., *Lamiaceae*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 4, p. 549-556, 2007.

ERASTO, P.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Bioactives esquiter penelactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. *Journal of Ethnopharmacology*. V. 106, p.117-120, 2006.

FALÉ, P. L. et al. Rosmarinic Acid, scutellarein 4'-methylether 7-O-glucoronide and (16S) - coleon-E are the main compounds responsible for the antiacetylcholinesterase and antioxidant activity in herbal tea of *Plectranthus barbatus*, Lisboa. *Food Chemistry*, v. 114, n. 3, p. 798- 805, 2009.

FANI, M. Hidrocoloides: funções e aplicabilidade. *Revista Aditivos & Ingredientes*, São Paulo, n. 88, maio 2012. Disponível em: http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/385.pdf <Acessado o: 25/01/2022>.

FERREIRA, M. M. M; OLIVEIRA, A. H. C; SANTOS, N. S. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. *Revista Agro@mbiente On-line*, V. 2, n. 2, p. 57-60, jul-dez. 2008.

FERREIRA, S. H. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil, 2001. Disponível em: www.abc.org.br/arquivo/medicamentos.pdf <Acessado em: 05/05/2020>

FRANZOTTI E. M.; SIMEONI L. A. Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus Nigra* L., *Plectranthus ornatus* CODD., *Ipomoea cairica* (L) Sweet e *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. 2006. 108 p. Dissertação (Graduando em Ciências da Saúde) CAPES, Brasília, 2006.

FREITAS, R. C.; AZEVEDO, R. R. S.; SOUZA, L. I. O.; ROCHA, T. BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn.* V.16, p. 408-420, 2006.

GIDAY, M.; ASFAW, Z.; ELMQVIST, T.; WOLDU, Z. Anethno botanical study of medicinal plants used by the Zay people in Ethiopia. *Journal Ethno pharmacology*. V. 85, p. 43-52, 2003.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, V. 27, n.1, p.1-93, 2006.

HARAGUCHI L. M. M.; CARVALHO O. B. Plantas Medicinais – Escola Municipal de Jardinagem, 2010. Disponível em: https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/meio_ambiente/arquivos/plantas_med_web.pdf< Acessado: 22/01/2022>.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo: IMESP, 3ª Ed, V.1, p. 4-9, 1985.

JIMÉNEZ, I.; GARRIDO, A.; BANNACH, R.; GOTTELAND, M.; SPEISKY, H. Protective effects of boldine against free radical-induced erythrocyte lysis. *Rev. Phytother Res.* V. 14, p. 339-343, 2000.

KAMATENESI-MUGISHA, M.; ORYEM-ORIGA, H. Medicinal plants used to induce labour during child birth in western Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*. V. 109, p. 1-9, 2007.

KANG, J. J.; CHENG, Y. W.; FU, W. M. Studies on neuromuscular blockade by boldine in the mouse phrenic nerve diaphragm. *Jpn J Pharmacol.* V. 76, p. 207-212, 1998.

KAPEWANGOLO, P. *et al.*, Inhibition of HIV-1 enzymes, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Plectranthus barbatus*. *Journal of Ethnopharmacology*, V. 149, p. 184-190, 2013.

KLIMACZEWSKI, C. V. Avaliação das atividades gastroprotetora, anti-*Helicobacter pylori*, imunomoduladora e antioxidante dos “boldos” de interesse ao SUS: *Plectranthus barbatus* Andrews (*Lamiaceae*) e *Vernonia condensata* Baker (*Asteraceae*). 2018. 79 F. Tese (Doutorado em Bioquímica Toxicológica) – UFSM, Rio Grande do Sul, 2018.

KNEIFEL, W.; CZECH, E.; KOPP, B. Microbial contamination of medicinal plants. A review. *Planta Medica*. V. 68, p. 5-15, 2002

KRINGSTEIN, P.; CEDERBAUM, A. I. Boldine prevents human liver microsomal lipid peroxidation and inactivation of cytochrome P4502E1. *Free Radical Biol Med.* V.18, p. 559-563, 1995.

LEÃO, R. B. A.; FERREIRA, M. R. C.; JARDIM, M. A. G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Farmácia*, V. 88, n. 1, p. 21-25, 2007.

LIMA M. A.; TEIXEIRA L. N.; SOUSA P. B.; SILVA M. J. M.; CARVALHO L. F. M. Determinação de Fenólicos, Flavonoides e Atividade Antioxidante da Pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* var. *pedulum*) comercializada na cidade Imperatriz-MA. VII CONNEPI (Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação), 2012.

- LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; DE SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. Rev. Bras Farmacogn. V. 16, p.197-201, 2006.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Total phenolic content in Brazilian teas. Braz J Food Technol. V. 7, p. 187-190, 2004.
- LOLIS, M. I. G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil" – Rev. Bras. Farmacogn., V. 13, p. 66-71, 2013.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil. 1ª Ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, Brasil: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2ª Ed., p. 544, 2008.
- MADUREIRA, M. C.; MARTINS, A. P.; GOMES, M.; PAIVA, J.; CUNHA, A. P.; ROSÁRIO, V. Antimalarial activity of medicinal plants used in traditional medicine in S. Tomé and Príncipe islands. Journal of Ethnopharmacology. V. 81, p. 23-29, 2002.
- MARTINS E SILVA, J.: Medicina na Mesopotâmia Antiga (2º Parte). Acta Med. Port. V. 23, p. 125-140, 2010.
- MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais - guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. Fortaleza-CE: Edições UFC, p. 344, 2002.
- MAURO, C.; SILVA, C. P.; MISSIMA, J.; OHNUKI, T.; RINALDI, R. B.; FROTA, M. Comparative anatomical study of the vegetative organs of boldo miúdo, *Plectranthus ornatus* Codd. Andmalvariço, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.- Lamiaceae. Rev. Bras. Farmacogn, V. 18, p. 608-613, 2008.
- MCGUIRE, R. G. Reporting of Objective Color Measurements. Hort Science, V. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.
- MELLO, J. C. P.; PETROVICK, P. R. Quality control of *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae) hydroalcoholic extracts. Acta Farm Bonaer. V. 19, n. 3, p. 211-215, 2000.
- MENDES, B. G.; MACHADO, M. J.; FALKENBERG, M. Triagem de glicolipídios em plantas medicinais. Ver Bras Farmacogn. V. 16, p. 568-575, 2006.
- MENGUE, S. S.; SCHENKE E. P.; DUNCAN B. B.; SCHMIDT M. I. Uso de medicamentos por gestantes em seis cidades brasileiras. Rev. Saúde Pública. V. 35, n. 5, p. 415-420, 2001.
- MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Desenvolvimento de fitoterápicos. São Paulo: Probe Editorial. p. 116, 1999.

- MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; FAMELLI, M. C.; CAPEL, L. S.; ROMAGNOLO, M. B. Caracterização morfológica dos tricomas foliares e caulinares de duas espécies de Lamiaceae conhecidas popularmente como “falso-boldo”. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, V. 29, n. 2, p. 125-130, 2007.
- MONTEIRO, M. H. D.; GOMES-CARNEIRO, M. R.; FELZENSZWALB, I.; *et al.* Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia condensata*. *Journal of ethnopharmacology*, V. 74, p. 149-157, 2001.
- MORAIS, P. L. D. *et al.* Ponto de colheita ideal de mangas “Tommy Atkins” destinadas ao mercado europeu. *Revista Brasileira de Fruticultura*, V. 24, n. 3, p. 671–675, 2002.
- MORAIS, S. M.; BRAZ FILHO, R. *Produtos Naturais: Estudos Químicos e Biológicos*, Fortaleza-CE: Ed UECE, p. 240, 2007.
- MORS, W. B.; RIZZINI, C. T., PEREIRA, N. A. *Medicinal Plants of Brazil*. Michigan, USA: Reference Publications, 1ª Ed, p. 501, 2000.
- NAPRALERT. Natural Products Alert. Program for Collaborative Research in the Pharmacological Sciences (PCRPS). A world health organization collaborative Centre for traditional medicines. College of pharmacy, University of Illinois, Chicago, EUA. 2003.
- NASCIMENTO, F. R. Avaliação da atividade biológica de extratos de *Plectranthus ornatus* em diferentes idades da planta. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, MG, 2014.
- NOGUEIRA, J. C. R. Atividade antimicrobiana *in vitro* de produtos vegetais sobre microrganismos isolados de pacientes portadores de otite extrema aguda. 2004, 180p. Dissertação (Mestrado em Produtos Sintéticos e Bioativos) Universidade Federal do Paraíba, João Pessoa, 2004.
- O'BRIEN, P.; CARRASCO-POZO, C.; SPEISKY, H. Boldine and its antioxidant orhealth-promoting properties. *Chem Biol Interactions*. V. 159, p. 1-17, 2006.
- OMS. Quality control methods for medicinal plant materials. 1992. 88 p.
- PARKY, D. C. *Great moments in pharmacy*. Detroit: Northwood Institute Press. p. 238, 1966.
- PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDINANS, I. G., BUELA, I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Rev. Cubana Plant Méd*, V. 8, p. 395-400, 2001.
- PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Pro-cessed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol*. V. 6, p. 36–60, 2013.
- PEREIRA, S. S. T. C. *Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo ministério da saúde no Brasil*:

regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos – Fundação Oswaldo Cruz, 2013.

RIBEIRO, L. H. L. Análise dos programas de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS) sob a perspectiva territorial. *Ciênc. Saúde colet.* V. 24, n. 5, p. 30, 2019.

RIJO, P.; GASPAR-MARQUES, C.; SIMÕES, M. F.; DUARTE, A.; APREDA-ROJAS, M. C.; CANO, F. H.; RODRÍGUES, B. Neoclerodane and labdane diterpenoids from *Plectranthus ornatus*. *Journal of Natural Products*, V. 65, n. 10, p. 1387-1390, 2002.

RIO, R. G. W. Métodos de controle químico de amostras de própolis. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

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

RUIZ, A. L. T. G.; TAFARRELO, D.; SOUZA, V. H. S.; CARVALHO, J. E. Farmacologia e toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, V. 18, n. 2, 2008.

SANTOS, C. A.; BARBOSA, M. C. S.; BELLETTI, K. M. da S. Avaliação da qualidade de folhas de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) comercializado em Curitiba, PR. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, V.11, n.1, p. 1-4, 2001.

SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. *In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3ª. Ed. Florianópolis: Ed. UFRGS/UFSC, 2000. cap. 15.*

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. *In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P.R. (org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, Cap. 15, p. 301-332, 2003.*

SCHWANZ, M.; FERREIRA, J. J.; FRÖEHLICH, P.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Análise de metais pesados em amostras de *Peumus boldus* Mol. (*Monimiaceae*). *Rev. Bras Farmacogn.* V. 18, p. 98-101, 2008.

SCHWANZ, M.; NUNES, E.; KONRATH, E. L.; VENDRUSCOLO, G. S.; VIGNOLI-SILVA, M.; HENRIQUES, A. T.; MENTZ, L. A. Caracterização Farmacobotânica de *Peumus boldus* (*Monimiaceae*) e Avaliação de Atividades Biológicas do Alcaloide Boldina. *Latin American Journal of Pharmacy*, V. 27, n. 6, p. 871-879. 2008.

SHARAPIN *et al.* Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos. Bogotá: Ed. Roberto Pinzón. 2000. 248 p.

- SIMIRGIOTIS, M. J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; Direct identification of phenolic constituents in Boldo Folium (*Peumus Boldus* Mol.) infusions by high-performance liquid chromatography with diodearray detection and electro spray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, V. 1217, n. 4, 2010.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. (org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/UFSC, 2001.
- SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENCKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, p. 387-415, 1999.
- SIMÕES, C., SCHENKEL, E., GOSMANN, G., MELLO, J., MENTZ, L., PETROVICK, P. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. - 2º Ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed Universidade/ UFRGS/UFSC, 2000.
- SPEISKY, H.; CASSELS , B. K. Boldo and boldine: anemerging case of a natural SANTOS, I. S., PEIXOTO A. L. *Taxonomia do gênero macropeplus Perkins (Monimiaceae, Monimioideae)*. *Rodriguesia*, V. 52, n. 81, p. 65-105, 2001.
- SPEISKY, H.; CASSELS, B. K. Boldo and boldine: an emerging case of a natural drug development. *Pharmacol Res*. V. 29, p.1-12, 1994.
- TOYANG, N. J.; VERPOORTE, R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. V. 146, p. 681-723, 2013.
- VALVERDE, A. L, G. L. C CARDOSO, N. A PEREIRA, A. J. R SILVA, KUSTER, R.M. Analgesic and Antiinflammatory Activities of Vernonioside B2 from *Vernonia Condensata*. *Phytotherapy Research*. V. 15, n. 3, p. 263-64. 2001.
- VILA, R.; VALENZUELA, L.; BELLO, H.; CAÑIGUERAL, S.; MONTES, M.; ADZET, T. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. *Rev. Planta Med*. V. 65, p. 178-179, 1999.
- VOGEL, H.; RAZMILIC, I.; MUNÔZ, M.; DOLL, U.; SAN MARTINS, J. Studies of genetic variation of essential oil and alkaloid content in boldo (*Peumus boldus*). *Rev. Planta Med*. V. 65, p. 90-91, 1999.
- WAGNER, H.; BLADT S; ZGAINSKI, E. M. *Plant Drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. Berlin Hiederberg New York: Springer-verlag, 1984. 20p.
- YOUN, Y. C.; KWON, O. S.; HAN, E. S.; SONG, J.H.; SHIN, Y. K.; LEE, C. S. Protective effect of boldine on dopamine induced membrane permeability transition in brain mitochondria and viability loss in PC12 cells. *Rev. Biochem Pharmacol*. V. 63, p. 495-505, 2002.

ZANETTI, G. D. Sobre Plantas Mediciniais. Rio das Ostras. 2018. 80 p.

ZOFOU, D.; TENE, M.; NGEMENYA, M. N.; TANE, P.; TITANJI, V. P. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts of selected medicinal plants used by traditional healers of Western cameroon. *Malaria Research and Treatment*. 2011.