

## Artigo

**Panorama da Qualidade de Amostras de Espinheira-Santa Provenientes de Arranjos Produtivos Locais e do Comércio do Rio de Janeiro Através de Métodos Farmacopeicos e Análise de Componentes Principais****Teixeira, D. F.;**\* Tappin, M. R. R.; Cardoso, I. C.; Lucchetti, L.; Jacob, S. C.

Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (1), 194-209. Data de publicação na Web: 21 de fevereiro de 2018

<http://rvq.sbg.org.br>**Panorama of Quality of Espinheira-Santa Samples from Local Productive Arrangements and Local Stores of Rio De Janeiro Assayed By Pharmacopoeial Methods And Principal Component Analysis**

**Abstract:** The specific legislation for the production and use of medicinal plants has been improved in Brazil, as far as its continuous evolution is concerned. However, there is still a failure at surveillance quality of these products. This work showed a panorama of some espinheira-santa samples (*Maytenus ilicifolia*) purchased from local markets, through moisture, contaminants, epicatechin and total tannin content. Contaminants were found above the maximum limits admitted in 89 % of the total samples (stems, mosses and lichens) above allowable. Regarding water content, only samples 24, 25 and 27, all from group 3, proved to be outside official limits, which must be within 8 and 12 %. For tannin a variation from 0.18 to 2.96 % could be detected (official minimum limit must be 2 %) and, for epicatechin (pharmacopoeial marker), only 37 % of total samples showed its presence, as analyzed by TLC and HPLC. Three main groups were established by Principal Component Analysis (PCA), after laboratory assays. Group 2 with the highest amounts of the characteristic metabolites epicatechin and total tannin, suggested authentic samples. Group 1 and 3 with high level of moisture and contaminants suggested false samples. These results may, in part, suggest that possible deleterious effects caused by the consumption of espinheira-santa available on the market, could be due to the unconformities observed in the analyzed samples.

**Keywords:** *Maytenus ilicifolia*; principal components analysis; quality control; Brazilian Pharmacopoeia.

**Resumo**

O uso de plantas medicinais vem sendo aprimorado no Brasil, demonstrado pela evolução da legislação específica. Porém, ainda há falhas na vigilância da qualidade dos produtos disponíveis. Neste trabalho evidencia-se, através dos teores de umidade, contaminantes, epicatequina e taninos totais, um quadro da qualidade de amostras de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) no mercado. Um total de 89 % das amostras mostrou teor de impurezas (caules, musgos e líquens) acima do permitido. Com relação ao teor de água presente, somente as amostras 24, 25 e 27, pertencentes ao grupo 3, estavam fora do limite tolerável, compreendido entre 8 e 12 %. Para taninos, verificou-se variação entre 0,18 e 2,96 % - o teor mínimo oficial é de 2 %; a epicatequina (marcador farmacopeico da qualidade) foi detectada em apenas 37 % das amostras, por CCD e CLAE. A análise dos componentes principais (ACP), após as avaliações laboratoriais, permitiu visualizar três grupos de amostras legítimas e de outras claramente fraudadas, por apresentarem os teores analisados abaixo dos limites oficiais ou por apresentarem contaminações. O grupo 2 apresentou maiores teores de epicatequina e taninos totais, característicos da espécie. Plantas com altos índices de impurezas e umidade, como as amostras dos grupos 1 e 3, sugerem amostras não autênticas pois não apresentam teores dentro dos limites dos taninos totais nem de epicatequina, marcador farmacopeico desta espécie. Estes resultados podem, em parte, sugerir que possíveis efeitos deletérios causados pelo consumo de produtos disponíveis no mercado à base de espinheira-santa possam ser devidos às não conformidades observadas nas amostras.

**Palavras-chave:** *Maytenus ilicifolia*; análise de componentes principais; controle da qualidade; Farmacopeia Brasileira.

\* Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária (INCQS), Av. Brasil 4365, Manguinhos, CEP 21040-900, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ [dulcinea.teixeira@far.fiocruz.br](mailto:dulcinea.teixeira@far.fiocruz.br)

DOI: [10.21577/1984-6835.20180016](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180016)

## Panorama da Qualidade de Amostras de Espinheira-Santa Provenientes de Arranjos Produtivos Locais e do Comércio do Rio de Janeiro Através de Métodos Farmacopeicos e Análise de Componentes Principais

Dulcinéia F. Teixeira,<sup>a,b,\*</sup> Leonardo Lucchetti,<sup>b</sup> Marcelo Raul R. Tappin,<sup>b</sup> Igor C. Cardoso,<sup>b</sup> Silvana do C. Jacob<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária (INCQS), Av. Brasil 4365, Manguinhos, CEP 21040-900, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Laboratório de Produtos Naturais, Farmanguinhos, Rua Sizenando Nabuco 100, Manguinhos, 21041-250, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

\* [dulcineia.teixeira@far.fiocruz.br](mailto:dulcineia.teixeira@far.fiocruz.br)

*Recebido em 14 de novembro de 2017. Aceito para publicação em 9 de fevereiro de 2018*

### 1. Introdução

### 2. Experimental

#### 2.1. Amostras vegetais

#### 2.2. Determinação de Água e Avaliação Material Estranho em Drogas Vegetais

#### 2.3. Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/UV)

#### 2.4. Determinação do Teor de Taninos Totais (TT)

#### 2.5. Análises Estatísticas

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Material estranho e determinação de água nas amostras

#### 3.2. Quantificação de Taninos Totais

#### 3.3. Análises cromatográficas

#### 3.4. Análise de Componentes Principais (ACP)

### 4. Conclusões

## 1. Introdução

Nos últimos anos, no Brasil, observa-se uma retomada pela busca de terapias alternativas às doenças que acometem sua população. Dentre elas, a fitoterapia merece destaque.<sup>1</sup>

As autoridades sanitárias que, há quase duas décadas, vêm, de forma sistemática, revisando as normas de registro e fabricação através de 5 marcos regulatórios e atualizando a legislação referente a tais produtos no sentido de garantir maior segurança e eficácia em seu consumo e melhoria na qualidade. A RDC nº 10 de 2010, que dispunha sobre notificação drogas

vegetais que poderiam ser prescritas e dispensadas sem necessidade de registro, foi revogada pela publicação da RDC nº 26/2014. Para preencher esta lacuna, a nova resolução utiliza o artigo 22 do decreto nº 8077/2013, que instituiu o termo “chá medicinal”. Tais chás, por sua vez, poderiam ser comercializados desde que houvesse monografia das drogas vegetais no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (FFFB) ou em qualquer outra farmacopeia reconhecida pela Anvisa. Os rigores aplicados a estes insumos mostram-se menos rígidos que aqueles observados para os medicamentos fitoterápicos e passaram a compor a categoria de “produto tradicional fitoterápico”.<sup>2-6</sup>

Neste contexto, insere-se a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart ex Reissek), uma Celastraceae amplamente difundida e utilizada no território brasileiro<sup>7-9</sup> por suas ações antiespasmódica, anti-inflamatória e cicatrizante e legalmente reconhecida como útil em distúrbios estomacais como úlceras e gastrites.<sup>10-19</sup> Desde 2007 integra a lista da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) e é distribuída pelo Sistema Único de Saúde em cerca de metade dos estados brasileiros.<sup>20,21</sup> Esta espécie é produtora de metabólitos de várias classes de produtos naturais, como terpenoides (friedelina, friedelan-3-ol, maitenina, cangoroninas),<sup>22-24</sup> taninos catéquicos (di, tri, tetra, penta, hexa e heptâmeros),<sup>25,26</sup> fenóis (quercetina, quercitrina, kaempferol, rutina, catequina, epicatequina, epigalocatequina),<sup>27,28</sup> glicosídeos, glicopeptídeos e maitansinoides (maitansina, maitanprina e maitanbutina),<sup>29,30</sup> sendo a epicatequina o marcador farmacopeico para esta espécie.<sup>31</sup> *M. ilicifolia* é largamente utilizada e, também por isso, é uma das mais adulteradas no Brasil, seu desenvolvimento ocorre em regiões típicas da Mata Atlântica, principalmente nas matas originais das regiões Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), Sudeste (São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul).<sup>32-34</sup> A prática da substituição de plantas medicinais, seja ela intencional ou não, é muito comum no Brasil. Baixa qualidade química, adulterações,

presença de contaminantes tóxicos, interações medicamentosas e superdosagens são fatores que vêm motivando ações por parte das autoridades sanitárias em relação à segurança, eficácia e qualidade da droga vegetal,<sup>35</sup> no sentido de tornar cada vez mais factível o uso racional de drogas vegetais. A espécie *M. aquifolia* foi utilizada por muitos anos como adulterante, mas posteriormente, foi incluída nos compêndios oficiais após demonstração da sua similaridade botânica, química e farmacológica com *M. ilicifolia*.<sup>36-38</sup> Neste sentido, a ocorrência de uma ou outra espécie – ou ambas – não configura fraude. Por outro lado, plantas anatomicamente semelhantes, como *Sorocea bonplandii* (Baillon) Burger, Lanjouw e Boer (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Brongniart) Vogel (Fabaceae),<sup>39</sup> que são frequentemente usadas em substituição à *M. ilicifolia*<sup>40</sup> podem causar efeitos negativos ou mesmo ausência da ação terapêutica esperada, uma vez que não exista estudos consolidados destas espécies que justifiquem a segurança e eficácia de uso.<sup>41-43</sup>

O presente estudo objetivou a realização de ensaios para a determinação de umidade e teores de epicatequina, taninos totais e contaminantes em produtos contendo espinheira-santa comercializados no varejo, atacado, de amostras provenientes do Arranjo Produtivo Local de Tapera (APL) e do Refúgio Biológico Bela Vista (Programa Cultivando Água Boa/PR), fundamentados em métodos oficiais. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de componentes principais (PCA), ferramenta que permite a redução do número de variáveis selecionadas e que pode ser utilizada para avaliar o grau de sua importância.<sup>44</sup>

## 2. Experimental

A metodologia adotada neste trabalho seguiu as normativas da Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010.<sup>31</sup>

### 2.1. Amostras Vegetais

Vinte e sete amostras de espinheira-santa foram adquiridas no período de 2014 a 2016, sendo treze vendidas a granel, procedentes de ervanarias (selecionadas aleatoriamente), onze industrializadas comercializadas em lojas de produtos naturais de algumas localidades do município do Rio de Janeiro, uma enviada por um Arranjo Produtivo Local (APL) de Tapera/RJ e duas do Refúgio Biológico Bela Vista (RBBV), Paraná.

As amostras comerciais já vieram secas e a única que sofreu processo de secagem no laboratório em Farmanguinhos foi a proveniente do Quilombo de Tapera/RJ, coletada e enviada em maio de 2016. As folhas foram separadas dos galhos e colocadas em estufa de secagem a 40 °C até peso constante, de forma a obter um teor de água final entre 8 a 12 %. Todas as amostras foram trituradas, tamisadas (250 µm), identificadas e armazenadas a -18 °C em recipientes de vidro âmbar hermeticamente fechados. As amostras provenientes do RBBV passaram pelo processamento primário nos laboratórios da instituição.<sup>45</sup> As amostras foram classificadas, segundo suas procedências, em três conjuntos: (I) oriundo de um APL e RBBV; (II) provenientes de empresas e comercializadas em lojas de produtos naturais e farmácias; e (III), adquiridas de mercados e ervanarias.

## 2.2. Determinação de Água e Avaliação de Material Estranho em Drogas Vegetais

A Farmacopeia Brasileira (2010)<sup>31</sup> delimita os valores máximos de umidade para folhas na faixa de 8 a 12 % e, no máximo, 2 % para contaminantes. A determinação de água foi avaliada pelo método da refletância de infravermelho utilizando condições de análise com valores de limite de tempo e temperatura de secagem de um minuto a 105°C, em triplicata, e a determinação de material estranho pelo esquema de quarteamento. A quantidade percentual de material estranho foi determinada em relação à quantidade total de amostra.

## 2.3. Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/UV)

Para a realização das análises cromatográficas foi realizado a extração de cada amostra (5g-250 µm) por refluxo em 50 mL de água destilada durante 15 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, foi filtrada sob pressão reduzida, transferida para balão volumétrico de 50 mL e seu volume aferido com água destilada, sendo denominada de S1. A solução do padrão foi preparada dissolvendo-se 2,004 mg de epicatequina SQR em 2 mL de metanol, resultando em uma solução na concentração de 1,004 mg/mL (S2).

Para a técnica de CCD utilizou-se cromatofolhas de gel de sílica-gel F254, tendo como fase móvel mistura de acetato de etila, ácido fórmico e água (90:5:5). Dez microlitros da solução S1 e três de S2, recém preparadas, de cada amostra e do padrão, foram aplicadas em forma de bandas. Após a eluição, as placas foram secas em capela de exaustão, examinadas sob luz ultravioleta (254 nm) e, em seguida, nebulizadas com vanilina sulfúrica SR e colocadas em estufa a 110 °C por 10 minutos.

As análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu composto por controlador CBM-20A, equipado com duas bombas modelo LC-20ADXR e detector UV-Vis modelo SPD-M20A. A fase estacionária foi composta por uma coluna analítica Supelcosil LC-18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), pré-coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano; a fase móvel foi composta por gradiente linear de polaridade decrescente de fase móvel composta por mistura de água e ácido trifluoroacético (TFA/Merck) a 0,05% (v/v, componente A) e mistura de acetonitrila (Tedia) e ácido trifluoroacético a 0,05% (v/v, componente B), com inversão das proporções de 82 % de A e 18 % de B, respectivamente, em 25 minutos, num fluxo constante de 0,8 mL/min. Os espectros na região do UV foram adquiridos

em comprimentos de onda 210 nm. Para o preparo das soluções-amostra, cerca de cinco gramas de cada amostra vegetal foram pulverizados (250  $\mu\text{m}$ ) e submetidos a refluxo em 50 mL de água por 15 minutos. Após resfriamento, o extrato foi filtrado sob pressão e, em sequência, particionado com acetato de etila, filtrado sobre sulfato de sódio anidro e evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi ressuscitado em 5 mL de mistura metanol/água (1:4) e eluído em cartucho de extração em fase sólida (C18, 55  $\mu\text{m}$ , 70 Å) previamente acondicionado com 8 mL de mistura de mesma composição. Procedeu-se à eluição com 10 mL da mistura metanol/água para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume, originando a solução 1 (S1). Cinco mililitros de S1 foram transferidos para balão volumétrico de 25 mL e o volume completado com mistura metanol/água (1:1), originando a solução S2 que, após filtração em membrana de PTFE (politetrafluoroetileno, 0,5  $\mu\text{m}$ ), foi injetada no cromatógrafo. Para a preparação da solução-padrão foram pesados exatamente 4,002 mg de epicatequina e solubilizados em 10 mL de mistura metanol/água (1:1) que foi, então, diluída em alíquotas de 50, 200, 350, 500 e 600  $\mu\text{L}$  em balões volumétricos de 2 mL, com metanol e água (1:1), para obter concentrações de 10, 40, 70, 100 e 120  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 2.4. Determinação dos Teores de Taninos Totais (TT)

O teor de TT foi determinado Método espectrofotométrico na região visível (760 nm) utilizando reagente fosfomolibdotúngstico. Foi utilizado para a quantificação o padrão de pirogalol ( $\geq 98\%$ , Sigma), preparado e utilizado imediatamente antes do uso e todas as operações foram realizadas ao abrigo da luz e utilizando vidraria âmbar, quando possível, segundo metodologia preconizada pelo compêndio oficial.<sup>31</sup>

#### 2.5. Análise Multivariada

A técnica estatística multivariada Análise de Componentes Principais (ACP) foi aplicada aos parâmetros da qualidade avaliados nas amostras de espinheira-santa (umidade, impurezas, teor de epicatequina e teor de taninos totais). O objetivo da ACP foi diminuir o número de dimensões dos dados com uma perda mínima de sua variabilidade original, e, assim, identificar os parâmetros mais importantes que determinam a autenticidade das amostras. As análises estatísticas foram realizadas no programa JMP versão 8.0 (SAS Institute Inc.; Cary, EUA).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Material estranho e determinação de água nas amostras

Na quantificação de impurezas nas amostras foram detectadas grandes quantidades de caules triturados, musgos e líquens, apesar de a Farmacopeia Brasileira preconizar que a droga para consumo deve ser constituída apenas de folhas inteiras. Outra constatação foi que as amostras do conjunto II estavam muito fragmentadas, indicando fortemente que possa ter havido manuseio excessivo e má conservação. Somente as amostras do conjunto I (1, 2 e 3) mostravam-se com folhas íntegras e não apresentaram contaminantes. Um total de 89 % das amostras apresentou teor de impurezas acima do determinado pelo código oficial, que é de 2 %, e com valores equivalentes a cinco a dez vezes mais do que o permitido pela norma. O conjunto III, constituído por amostras disponibilizadas em mercados e ervanarias, foi o que apresentou maior número de amostras adulteradas com caules e outros contaminantes em altos níveis. As amostras 15, 21, 22, 23, 24 e 25 apresentaram contaminação entre 27 e 62 %.

Com relação ao teor de água presente, somente as amostras 24, 25 e 27,

pertencentes ao conjunto III, estavam fora dos limites toleráveis; todas as demais apresentaram teor de umidade dentro dos valores preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010)<sup>31</sup>, que permite variação de 8 a 12 % para folhas (Tabela 1).

### 3.2. Quantificação de Taninos Totais

*Maytenus ilicifolia* é uma das principais drogas que contém taninos. Bernardi e Wasicky (1959)<sup>46</sup> foram os primeiros autores a descrever a presença destas substâncias nesta espécie. Vários estudos demonstram a relação direta do teor dos taninos com a

atividade terapêutica da planta.<sup>47</sup> O uso e venda de *M. ilicifolia* são normatizados pela Anvisa, através da RDC nº 26/2014<sup>4</sup> e IN nº 02/2014,<sup>38</sup> que preconiza o uso da espécie para o tratamento de gastrites e úlceras duodenais mediante a prévia a padronização de seus derivados pelo conteúdo de taninos expressos em pirogalol. Os valores encontrados para taninos totais nas diferentes amostras analisadas variou entre 0,28 e 2,96 %, sendo 2 % o valor mínimo preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010).<sup>31</sup> Dos 70 % das amostras que apresentaram desvios dos teores, a maior parte encontrava-se no conjunto III (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados obtidos para os parâmetros da qualidade (<sup>a</sup>média ± <sup>b</sup>desvio padrão) de impurezas, umidade, teor de taninos totais e de epicatequina (em percentuais) das vinte e sete amostras de espinheira-santa dos conjuntos (I) APL (RJ) e RBBV (PR); (II) comercializadas em lojas de produtos naturais e farmácias no município do Rio de Janeiro; e (III) mercados e ervanarias do mesmo município

Amostra	IMP (%)	UMI (%)	TT (%)	TE
1	0,00	9,74 ± 0,07	2,96 ± 0,01	15,53
2	0,00	9,41 ± 0,01	2,60 ± 0,04	7,77
3	0,00	8,83 ± 0,03	1,83 ± 0,13	0,69
4	8,00	8,29 ± 0,02	2,25 ± 0,05	5,74
5	12,00	9,56 ± 0,03	2,54 ± 0,06	6,20
6	9,00	9,13 ± 0,02	2,52 ± 0,02	6,93
7	5,00	8,94 ± 0,01	0,79 ± 0,03	0,00
8	12,00	8,81 ± 0,02	1,56 ± 0,03	0,00
9	19,00	9,13 ± 0,01	0,63 ± 0,05	0,00
10	24,00	8,49 ± 0,01	0,61 ± 0,02	0,00
11	50,00	8,80 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,00
12	6,00	8,99 ± 0,01	0,82 ± 0,04	0,00
13	32,00	8,21 ± 0,02	1,97 ± 0,03	1,07
14	7,00	8,93 ± 0,03	0,86 ± 0,05	0,00
15	14,00	8,72 ± 0,03	2,84 ± 0,04	2,60
16	32,00	9,59 ± 0,03	0,83 ± 0,04	0,00



17	28,00	7,75 ± 0,03	2,87 ± 0,03	3,72
18	14,00	9,27 ± 0,02	0,97 ± 0,02	0,00
19	12,00	9,23 ± 0,02	2,72 ± 0,06	1,27
20	39,00	8,64 ± 0,04	0,32 ± 0,02	0,00
21	27,00	9,08 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,00
22	45,00	8,29 ± 0,01	1,11 ± 0,10	0,00
23	62,00	8,81 ± 0,02	1,19 ± 0,05	0,00
24	42,00	14,41 ± 0,02	0,93 ± 0,04	0,00
25	54,00	12,73 ± 0,02	0,81 ± 0,03	0,00
26	29,00	11,38 ± 0,02	0,71 ± 0,04	0,00
27	27,00	12,72 ± 0,03	0,90 ± 0,02	0,00
Média	22,56	9,48	1,44	1,91
Mín.	0	7,75	0,28	0,00
Máx.	62	14,41	2,96	15,53
FB (2010)	≤2	8-12	≥2	≥2,8

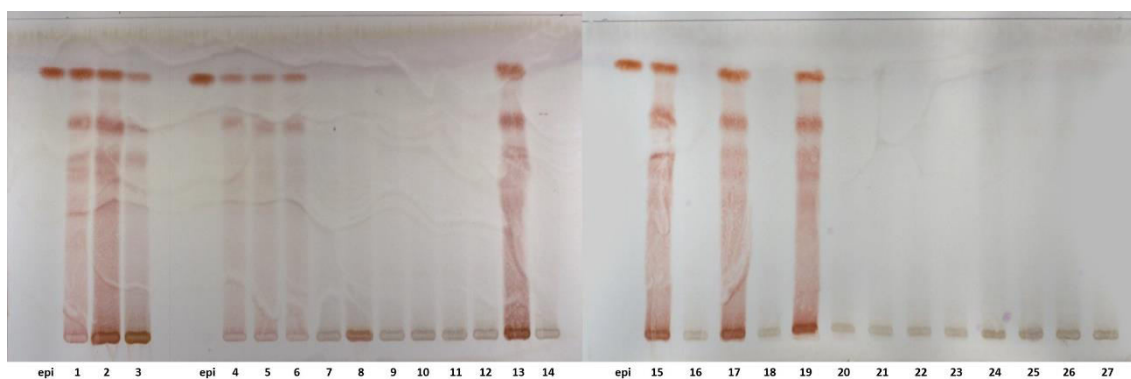
UMI= umidade (%); IMP= impurezas (%); TT= teor de taninos totais (%); TE= teor de epicatequina (mg/g).

### 3.3. Análises cromatográficas

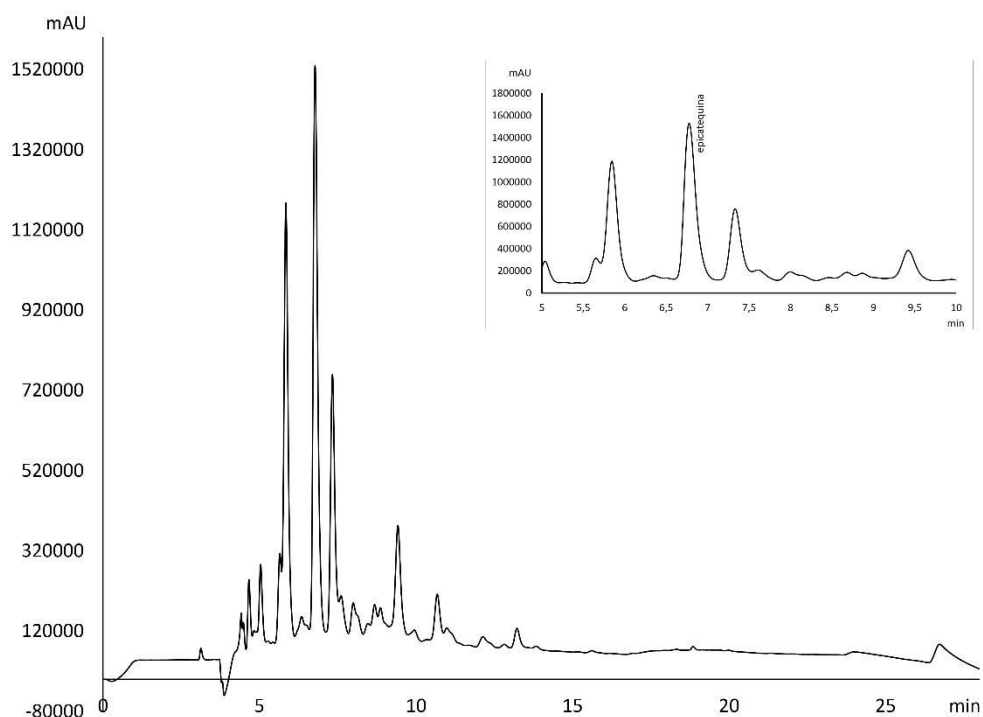
*M. ilicifolia* é uma das poucas espécies medicinais nativas cujos constituintes químicos foram exaustivamente avaliados em termos farmacológicos, inclusive em testes clínicos.<sup>14</sup> A atividade anti-ulcerogênica da droga deve-se à presença principalmente aos taninos e flavonoides. No presente trabalho a substância marcadora desta espécie, epicatequina, foi identificada na cromatografia em camada delgada (CCD) e por CLAE/UV em 37 % do total das amostras. Esta identificação foi feita pela verificação da presença desta substância, com Rf aproximadamente 0,82 e mancha de coloração bordô após reação com vanilina sulfúrica, co-eluída com o padrão de epicatequina nas mesmas condições (Figura 1).

A análise por CLAE/UV resultou em um padrão com sinal de intensidade mais alta no tempo de retenção de 6,8 min, como

exemplificado no cromatograma da amostra 1 (Figura 2). Apesar do tempo de retenção ser menor que o descrito para o padrão na metodologia da Farmacopeia Brasileira (2010)<sup>31</sup>, que é de 8 min, a curva analítica da epicatequina apresentou boa linearidade ( $R^2 > 0,9957$ ) e o sinal de identificação foi baseado na comparação do tempo de retenção e por co-cromatografia com a substância de referência. Esta diferença pode ser devida a alguns fatores como natureza das partículas da fase estacionária, temperatura do ambiente onde a análise foi executada e o volume morto do sistema empregado, dentre outras. A amostra 1, proveniente do APL, apresentou valores de epicatequina bem superiores às demais (15,53 mg/g), seguido pela amostra 2 do RBBV (7,7 mg/g) e das industrializadas 4, 5 e 6 (5,74; 6,20 e 6,93 mg/g, respectivamente). As amostras 15 e 17 apresentaram valores menores (2,60 e 3,72 mg/g, respectivamente), mas dentro do mínimo exigido pela Farmacopeia Brasileira (2010).<sup>31</sup>



**Figura 1.** Cromatografia em camada delgada das amostras comerciais, de APL e RBBV. Padrão de epicatequina (0,2 mg/mL), segundo condições da Farmacopeia Brasileira (2010).<sup>31</sup> Fase móvel: acetato de etila/ácido fórmico e água (90:5:5), revelação com vanilina sulfúrica



**Figura 2.** Cromatograma de alta eficiência da amostra 1, proveniente do Quilombo de Tapera/RJ (A no tempo total de eluição e B em visão expandida), segundo condições descritas na Farmacopeia Brasileira (2010)<sup>31</sup>

Das amostras avaliadas, 63 % não apresentaram nenhum sinal indicativo de presença do padrão tanto na CCD como na CLAE/UV. Esta evidência pode estar relacionada com processos de produção, manejo e armazenagem inadequados fatores essenciais para a manutenção dos

parâmetros farmacopeicos de qualidade da espécie.<sup>48-50</sup> Além disso, a adulteração já exaustivamente demonstrada com outras espécies, como *Sorocea bonplandii*, que apresenta a soroceína como substância característica e *Zollernia ilicifolia*, produtora de glicosídeos cianogênicos como a zierina<sup>51</sup>.



Das vinte e sete amostras analisadas, somente os exemplares do APL de Tapera (1), do RBBV (2 e 3), as amostras 4, 5, 6 e 13 do conjunto II e 15, 17 e 19 do conjunto III apresentaram-se dentro dos padrões da qualidade exigidos pelos códigos oficiais e pela literatura.<sup>31,38</sup>

Os resultados obtidos para os conjuntos II e III podem indicar, assim como outros trabalhos disponíveis na literatura, a falta de padronização e qualidade química de certas plantas medicinais brasileiras, especialmente daquelas comercializadas pelas casas de produtos naturais e ervanarias. Em estudo realizado em 2013<sup>52</sup>, Brandão e colaboradores adquiriram e analisaram 252 amostras de plantas medicinais, das quais cerca de metade delas não tiveram sua autenticidade comprovada de acordo com a Farmacopeia Brasileira. Tais resultados corroboram a ideia da alta ocorrência de fraudes, intencionais ou não. Em outro estudo, com amostras comercializadas em Cascavel/PR, o grupo analisou amostras de chás constituídas por inflorescências de camomila, encontrando drogas secas, sem aromas e quebradiças, teores baixo de óleo essencial e contaminação microbiológica muito acima do permitido pelas normas oficiais.<sup>53</sup> Amostras de ruibarbos, em uma análise de perfil fitoquímico, identidade e pureza, mostraram-se contaminadas, com baixo teor de princípios ativos e ainda uma amostra de *Rheum palmatum* adulterada.<sup>54</sup> No Paraná, foi realizado um trabalho no qual foram investigadas dez amostras constituídas por folhas de boldo e de camomila comercializadas na região metropolitana de Curitiba. Todas as amostras foram reprovadas por apresentarem elevada quantidade de água e teor de boldina e óleo essencial abaixo do preconizado, além de 90 % dos produtos apresentarem altos índices de impurezas.<sup>55</sup>

Alguns estudos no Nordeste brasileiro mostraram um quadro semelhante aos do Sul e Sudeste com relação à presença de plantas medicinais fora das normas sanitárias de comercialização. Um exemplo é o trabalho realizado em cinco mercados públicos do

Maranhão, num total de doze bancas, sendo selecionadas algumas espécies: aroeira, boldo, cabacinha, capim-santo, carqueja, jucá, melão-de-são-caetano, pau-d'arco-roxo, romã e sucupira. Foram verificadas as identidades botânicas das plantas e suas purezas químicas e microbiológicas. Os autores constataram que 62 % das amostras apresentavam valores de umidade acima do limite farmacopeico, 86 % continham impurezas acima dos valores oficiais e 81,5 % estavam contaminadas por microorganismos, concluindo que as plantas comercializadas nos mercados públicos de São Luís (MA) apresentavam não conformidades.<sup>56</sup> Todos estes exemplos mostram a relevância do controle para tentar garantir os parâmetros que atendam aos padrões mínimos de segurança no consumo. Embora haja resoluções que estabeleçam critérios para a qualidade, plantas medicinais ainda vêm sendo comercializadas fora dos padrões estabelecidos, sem garantia da eficiência terapêutica desejada ou da ausência de riscos à saúde do consumidor, fazendo-se necessário mais rigor no controle de plantas de uso terapêutico. A má qualidade de um produto pode interferir na ação farmacológica preconizada para a espécie, potencializando efeitos indesejáveis e sendo potencialmente causadora de grande impacto na saúde pública.<sup>57-59</sup>

### 3.4. Análise de Componentes Principais

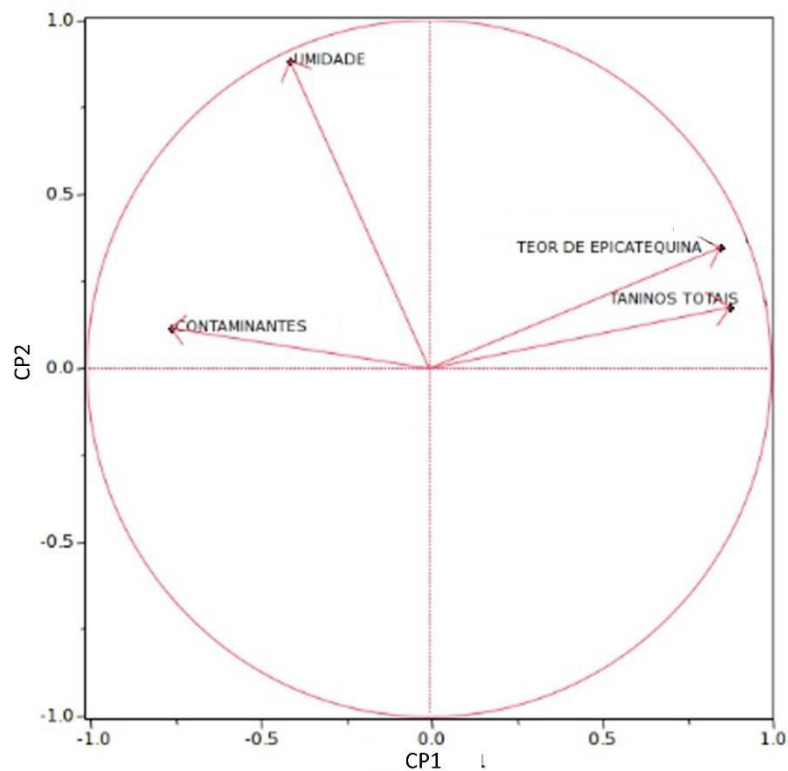
Alguns parâmetros físico-químicos farmacopeicos (umidade, impurezas, teor de taninos totais e de epicatequina) foram utilizados no controle da qualidade de amostras de espinheira-santa. Diferenças entre as amostras foram obtidas e uma análise de componentes principais (ACP) foi aplicada aos dados experimentais,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

Os resultados da variância proporcional demonstraram que o primeiro e o segundo componentes principais (CP1 e CP2)

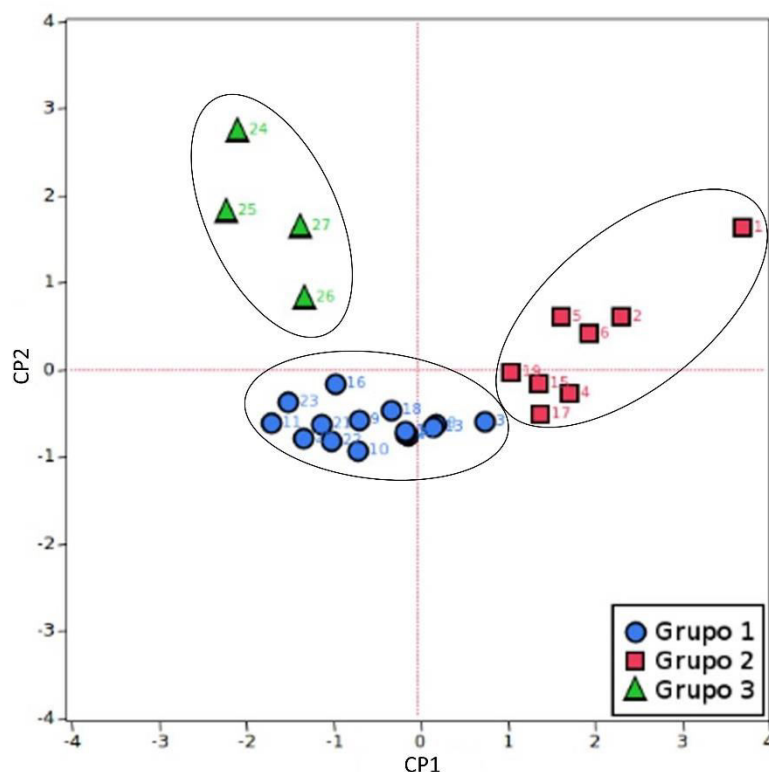
explicam, respectivamente, 55,97 e 23,66 % da variância total dos dados obtidos, cujo somatório corresponde a 79,63 % do valor total de variação. Dados da literatura indicam que, em uma análise de componentes principais na qual dois ou três reúnam um valor percentual acima de 70 % da variação total, isto possa ser considerado como um esclarecimento da variabilidade despontada entre as diferenças avaliadas<sup>60,61</sup>. Apenas dois componentes atendem a esta premissa, ou seja, foram satisfatórios para elucidar 79,63 % da variância total disponível entre os parâmetros farmacopeicos sendo, portanto,

aceitáveis como delineadores dos resultados de variância e co-variância total dos dados obtidos dos gráficos de *scores* (Figura 3) e *loadings* (Figura 4).

Os teores de taninos totais e epicatequina se correlacionaram positivamente com o CP1, enquanto a umidade e as impurezas se correlacionaram negativamente. Por outro lado, os quatro parâmetros se correlacionaram positivamente com o CP2. Estes resultados sugerem que estes quatro parâmetros avaliados contribuem para a determinação da autenticidade das amostras de espinheira-santa.



**Figura 3.** Gráfico de *loading* dos dois componentes principais (CP1 e CP2)



**Figura 4.** Gráfico de *scores* dos dois componentes principais (CP1 e CP2)

Verificou-se que os parâmetros teor de taninos totais e de epicatequina são importantes para a classificação das amostras 1, 2, 5, 6, 4, 13, 17, 15 e 19, determinadas como grupo 2 no gráfico de *scores* (Figura 4). Este grau de semelhança pode estar relacionado à autenticidade destas amostras, pois uma característica principal das folhas de *Maytenus illicifolia* é possuir, como marcador, a epicatequina e a presença de taninos, levando a sugerir que todas as amostras do grupo 2 sejam amostras autênticas de espinheira-santa.

No grupo 3 observou-se que todas as amostras (24–27) apresentaram altos índices de impurezas e umidade e ausência do marcador epicatequina e taninos. São amostras provenientes de um mercado de plantas medicinais e ritualísticas que comercializam espécies em grandes quantidades cuja origem não é rastreada e as condições de armazenamento e manipulação são precárias,<sup>62</sup> um forte indicativo de falta de condições sanitárias adequadas, manuseio

e acondicionamento incorreto demonstrado pela alta umidade, parâmetro que mais influenciou a classificação destas amostras.

As amostras do grupo 1 não apresentam teor detectável de epicatequina e índices de impurezas e umidade consideráveis, o que pode indicar presença de outra espécie utilizada como adulterante da *Maytenus illicifolia*. Este fato é largamente discutido na literatura mostrando que, devido à pequena distribuição regional e a excessiva exploração no país desta espécie, que quase foi extinta, ocorreu a facilitação do comércio de adulterantes morfologicamente parecidos e disponíveis, como as já citadas *Sorocea bomplandii* e *Zollernia illicifolia*.<sup>40,48,50,62-65</sup>

#### 4. Conclusões

A análise de componentes principais, realizada após análises baseadas em métodos oficiais para a determinação de umidade e

teores de epicatequina, taninos totais e contaminantes de amostras obtidas no comércio e de arranjos produtivos locais, possibilitou a caracterização das amostras de espinheira santa em diferentes grupos, considerando a sua similaridade em relação aos parâmetros avaliados. O grupo 2 foi o que apresentou maiores teores de epicatequina e taninos totais, características da espécie *Maytenus ilicifolia*. A utilização de plantas com altos índices de impurezas e umidade, como as amostras dos grupos 1 e 3, e que não condizem com a espécie oficial (ausência do marcador). Efeitos adversos e toxidez, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) ocorrem comumente e podem ser responsáveis por reações deletérias relacionadas ao consumo de plantas medicinais. Por isso, se faz necessário uma ação mais precisa e rigorosa no controle de drogas vegetais comercializadas em forma de Insumos Farmacêutico Ativo Vegetal (IFAV).

### Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Moreira, D. L.; Teixeira, S. S.; Monteiro, M. H. D.; De-Oliveira, A. C. A. X.; Paumgarten, F. J. R. Traditional use and safety of herbal medicines. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2014**, *24*, 248. [CrossRef]
- <sup>2</sup> Oliveira, D. R.; Oliveira, A. C. D.; Marques, L. C. O estado regulatório dos fitoterápicos no Brasil: Um paralelo entre a legislação e o mercado farmacêutico (1995–2015). *Vigilância Sanitária em Debate* **2016**, *4*, 139. [CrossRef]
- <sup>3</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução - RDC nº 10, de 9 de março de 2010. Resolução para notificação de drogas vegetais. Diário Oficial União. 9 mar 2010. [Link]
- <sup>4</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. [Link]
- <sup>5</sup> Brasil. Decreto nº 8.077, de 14 de agosto de 2013. Regulamenta as condições para o funcionamento de empresas sujeitas ao licenciamento sanitário, e o registro, controle e monitoramento, no âmbito da vigilância sanitária, dos produtos de que trata a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, e dá outras providências. Diário Oficial União. 15 ago 2013. [Link]
- <sup>6</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução - RDC nº 60, de novembro de 2011. Aprova o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, primeira edição e dá outras providências. Diário Oficial União. 11 nov 2011. [Link]
- <sup>7</sup> Alonso, J.; Desmarchelier, C. *Maytenus ilicifolia* Martius (Congorosa). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* **2007**, *6*, 11. [Link]
- <sup>8</sup> Mariot, M. P.; Barbieri, R. L. O conhecimento popular associado ao uso da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* e *M. aquifolium*). *Revista Brasileira de Biociências* **2007**, *5*, 666. [Link]
- <sup>9</sup> Lorenzi, H.; Matos, F. J. A.; *Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas* 2ª ed., Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2008.
- <sup>10</sup> Queiroga, C. L.; Silva, G. F.; Dias, P. C.; Possenti, A.; Carvalho, J.E. Evaluation of the antiulcerogenic activity of friedelan-3β-ol and friedelin isolated from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). *Journal of Ethnopharmacology* **2000**, *72*, 465. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>11</sup> Baggio, C. H.; Freitas, C. S.; Otofujii, G. M.; Cipriani, T. R.; Souza, L. M.; Sasaki, G. L.; Iacomini, M.; Marques, M. C. A. M.; Mesia-Vela, S. Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex. Reiss protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and formation of nitric oxide. *Journal of Ethnopharmacology* **2007**, *113*, 433. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>12</sup> Baggio, C. H.; Freitas, C. S.; Mayer, B.; Santos, A. C.; Twardowschy, A.; Potrich, F. B.; Cipriani, T. R.; Souza, L. M.; Sasaki, G. L.; Iacomini, M.; Marques, M. C.; Mesia-Vela, S.

- Muscarinic-dependent inhibition of gastric emptying and intestinal motility by fractions of *Maytenus ilicifolia* Mart ex. Reissek. *Journal of Ethnopharmacology* **2009**, *123*, 385. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>13</sup> Cipriani, T. R.; Mellinger, C. G.; Souza, L. M.; Baggio, C. H.; Freitas, C. S.; Marques, M. C. A.; Gorin, P. A. J.; Sasaki, G. L.; Iacomini, M. Acidic heteroxylans from medicinal plants and their anti-ulcer activity. *Carbohydrate Polymers* **2008**, *74*, 274. [CrossRef]
- <sup>14</sup> Cipriani, T. R.; Mellinger, C. G.; Souza, L. M.; Baggio, C. H.; Freitas, C. S.; Marques, M. C. A.; Gorin, P. A. J.; Sasaki, G. L.; Iacomini, M. Polygalacturonic acid: another anti-ulcer polysaccharide from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. *Carbohydrate Polymers* **2009**, *78*, 361. [CrossRef]
- <sup>15</sup> Crestani, S.; Rattmann, Y. D.; Cipriani, T. R.; Souza, L. M.; Iacomini, M.; Kassuya, C. A.; Marques, M. C.; Silva-Santos, J. E. A potent and nitric oxide-dependent hypotensive effect induced in rats by semi-purified fractions from *Maytenus ilicifolia*, *Vascular Pharmacology* **2009**, *51*, 57. [CrossRef]
- <sup>16</sup> Santos-Oliveira, R.; Coulaud-Cunha, S.; Colaço, W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2009**, *19*, 650. [CrossRef]
- <sup>17</sup> Leite, J. P. V.; Braga, F. C.; Romussi, G.; Persoli, R. M.; Tabach, R.; Carlini, E. A., Oliveira, A. B. Constituents from *Maytenus ilicifolia* leaves and bioguided fractionation for gastroprotective activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2010**, *21*, 248. [CrossRef]
- <sup>18</sup> Jesus, W. M. M.; Cunha, T. N. Estudo das propriedades farmacológicas da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mat. Ex Reissek) e de duas espécies adulterantes. *Revista Saúde e Desenvolvimento* **2012**, *1*, 20. [Link]
- <sup>19</sup> Dutra, R. C.; Campos, M. M.; Santos, A. R. S.; Calixto, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research* **2016**, *112*, 4. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>20</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 533, de 28 de março de 2012. Estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Brasília: MS; 2012. [Link]
- <sup>21</sup> Brasil. - Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº. 84, de 17 de junho de 2016. Aprova o Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira. [Link]
- <sup>22</sup> Ohsaki, A.; Imai, Y.; Naruse, M.; Ayabe, S.; Komiyama, K.; Takashima, J. Four new triterpenoids from *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Natural Products* **2004**, *67*, 469. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>23</sup> Gutiérrez, F.; Estévez-Braun, A.; Ravelo, A. G.; Astudillo, L.; Zárate, R. Terpenoids from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Natural Products* **2007**, *70*, 1049. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>24</sup> Shan, W.-G.; Zhang, L. -W.; Xiang, J. -G.; Zhan, Z. -J. Natural friedelanols. *Chemistry & Biodiversity* **2013**, *10*, 1392. [CrossRef]
- <sup>25</sup> Tiberti, L. A.; Yariwake, J. H.; Ndjoko, K.; Hostettmann, K. Identification of flavonols in leaves of *Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium* (Celastraceae) by LC/UV/MS analysis. *Journal of Chromatography B* **2007**, *846*, 378. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>26</sup> Pessuto, M. B.; Costa, I. C.; Souza, A. B.; Nicoli, F. M.; Melo, J. C. P.; Petereit, F.; Luftmann, A. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. *Química Nova* **2009**, *32*, 412. [CrossRef]
- <sup>27</sup> Soares, L. A.; Oliveira, A. L.; Ortega, G. G.; Petrovick, P. R. Development and validation of a LC method for determination of catechin and epicatechin in aqueous extracts from leaves of *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis* **2004**, *36*, 787. [CrossRef]
- <sup>28</sup> Souza, L. M.; Cipriani, T. R.; Serrato, R. V.; Costa, D. E.; Iacomini, M.; Gorin, P. A. Analysis of flavonol glycoside isomers from leaves of *Maytenus ilicifolia* by offline and online high performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2008**, *1207*, 101. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>29</sup> Vistuba, J. P.; Piovezan, M.; Pizzolatti, M. G.; Rebelo, A. M.; Azevedo, M. S.; Vitali, L.; Costa, A. C.; Micke, G. A. Increasing the



- instrumental throughput of gas chromatography method using multiple injections in a single experimental run: application in determination of friedelan-3-ol and friedelin in *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Chromatography A* **2013**, *25*, 159. [CrossRef]
- <sup>30</sup> Sá, R. R.; Matos, R. A.; Silva, V. C.; Caldas, J. C.; Silva, M. C.; Sauthier, M. C. S.; Santos, W. N. L.; Magalhães, H. L. F.; Júnior, A. F. S. Determination of bioactive phenolics in herbal medicines containing *Cynara scolymus*, *Maytenus ilicifolia* and *Ptychopetalum uncinatum* by HPLC-DAD. *Microchemical Journal* **2017**, *135*, 10. [CrossRef]
- <sup>31</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 49 de 23 de novembro de 2010. Aprova a Farmacopeia Brasileira 5ª edição e dá outras providências. [Link]
- <sup>32</sup> Mossi, A. J.; Zanatta, R. S.; Gerald, L. T. S. On the distribution of *Maytenus* species in Rio Grande do Sul. *Acta Horticulturae (ISHS)* **2002**, *569*, 29. [CrossRef]
- <sup>33</sup> Di Stasi, L. C.; Hiruma-Lima, C. A. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*, Fundação Editora UNESP: São Paulo, 2002. [Link]
- <sup>34</sup> Lombardi, J. A.; Groppo, M.; Biral, L. Celastraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2016. [Link]
- <sup>35</sup> Melo, J. G.; Nascimento, V. T.; Amorim, E. L. C.; Andrade Lima, C. S.; Albuquerque, U. P. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata-de-vaca (*Bauhinia* spp.) e ginkgo (*Ginkgo biloba* L.). *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2004**, *14*, 111. [CrossRef]
- <sup>36</sup> Holnik, P. R.; Hussein, A. A.; Souza, B. M. C.; Coldebella, P. F.; Shimabuku Jr, R. S.; Leite, N. K. Comparação do teor de taninos entre duas espécies de espinheira-santa (*Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) cultivadas no Horto Medicinal do Refúgio Biológico Bela Vista – RBBV da Itaipu Binacional – Foz do Iguaçu, PR – Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* **2015**, *17*, 385. [CrossRef]
- <sup>37</sup> Diagone, C. A.; Colombo, R.; Lanças, F. M.; Yariwake, J. H. CZE/PAD and HPLC-UV/PAD Profile of Flavonoids from *Maytenus aquifolium* and *Maytenus ilicifolia* “espinheira santa” Leaves Extracts. *Chromatography Research International* **2012**, *1*. [CrossRef]
- <sup>38</sup> Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IN nº 02, de 13 de maio de 2014. Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado e a Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado. [Link]
- <sup>39</sup> Jacomassi, E.; Machado, S. R. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Maytenus aquifolia* Mart.) e mata-olho (*Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg. Lanj. & Bôer.) para o controle de qualidade da matéria-prima. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* **2003**, *6*, 84. [Link]
- <sup>40</sup> Coulaud-Cunha, S.; Oliveira, R. S.; Waissmann, W. Venda livre de *Sorocea bomplandii* Bailon como Espinheira Santa no município de Rio de Janeiro, RJ. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2004**, *14*, 51. [CrossRef]
- <sup>41</sup> Silveira, P. F.; Bandeira, M. A. M.; Arrais, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2008**, *18*, 618. [CrossRef]
- <sup>42</sup> Negri, M. L. S.; Possamai, J. C.; Nakashima, T. Antioxidant activity of "espinheira-santa"-*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. Leaves dried in different temperatures. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2009**, *19*, 553. [CrossRef]
- <sup>43</sup> Alecrim, J. S.; Castro, J. M.; Silva, A. R. A.; Amorim, M. M.; Pereira, G. C. A.; Alves, H. N. S.; Gois, R. V.; Borja-Cabrera, G. P. Riscos da não observação dos critérios de biossegurança na produção e utilização de fitoterápicos: uma revisão de literatura. Risk of not observing biosafety criteria in the production and use of phytotherapy: a bibliographical review. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR* **2017**, *18*, 118. [Link]
- <sup>44</sup> Kuchla, M.; Araújo, M. D. M.; Soares, A. F.; Quináia, S. P.; Felsner, M. L. Classification of



- wild honeys of different mesoregions from Paraná state, Brazil, by principal component analysis. *Revista Virtual de Química* **2015**, *7*, 2301. [[CrossRef](#)]
- <sup>45</sup> Ferreira, S. M. C.; Shimabuku, R. S. Cartilha informativa – Projeto de plantas medicinais. Itaipu Binacional: Foz do Iguaçu, 2012.
- <sup>46</sup> Bernardi, H. H.; Wasicky, M. Algumas pesquisas sobre “espinheira-santa” ou “cancerosa” *M. ilicifolia* Martius, usada como remédio popular no Rio Grande do Sul. Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Santa Maria, 1959.
- <sup>47</sup> Negri, M.L.S. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Paraná, 2007. [[Link](#)]
- <sup>48</sup> Alberton, M. D.; Souza, E. S.; Falkenberg, D. B.; Falkenberg, M. B. Identificação de marcadores cromatográficos de *Zollernia ilicifolia* e *Sorocea bonplandii* para o controle de qualidade de espinheira-santa. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2002**, *12*, 9. [[CrossRef](#)]
- <sup>49</sup> Yariwake, J. H.; Lanças, F. M.; Capellaro, E. A.; Vasconcelos, E. C.; Tiberti, L. A.; Pereira, A. M. S.; Franca, S. C. Variabilidade sazonal de constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2005**, *15*, 162. [[CrossRef](#)]
- <sup>50</sup> Coelho, R. G.; Calvo, T. R.; Santos, L. C.; Di Stasi, L. C.; Vilegas, W. Separation of the toxic zierin from *Zollernia ilicifolia* by high speed countercurrent chromatography. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais Botucatu* **2007**, *9*, 39. [[Link](#)]
- <sup>51</sup> Coelho, R. G.; Di Stasi, L. C.; Vilegas, W. Chemical Constituents from the Infusion of *Zollernia ilicifolia* Vog. And Comparison with *Maytenus* Species. *Zeitschrift für Naturforschung*, Section C Journal of Biosciences **2003**, *58c*, 47. [[Link](#)]
- <sup>52</sup> Brandão, M. G.; Cosenza, G. P.; Pereira, F. L.; Vasconcelos, A. S.; Fagg, C. W. Changes in the trade in native medicinal plants in Brazilian public markets. *Environmental Monitoring and assessment* **2013**, *185*, 7013. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>53</sup> Lucca, P. S. R.; Eckert, R. G.; Smanhotto, V.; Kuhn, L. M.; Minanti, L. R. Avaliação farmacognóstica e microbiológica da droga vegetal camomila (*Chamomilla recutita* L.) comercializada como alimento em Cascavel, Paraná. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2010**, *12*, 153. [[CrossRef](#)]
- <sup>54</sup> Sousa, O. V.; Oliveira, M. S.; Cunha, R. O.; Costa, B. L. S.; Zancanella, C. R.; Leite, M. N. Avaliação da qualidade de matérias-primas de ruibarbo utilizadas em formulações farmacêuticas. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2003**, *13*, 30. [[Crossref](#)]
- <sup>55</sup> Barbosa, M. C. S.; Belletti, K. M. S.; Corrêa, T. F.; Santos, C. A. M. Avaliação da qualidade de folhas de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) comercializadas em Curitiba, PR. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2001**, *11*, 1. [[CrossRef](#)]
- <sup>56</sup> Amaral, F. M. M.; Coutinho, D. F.; Ribeiro, M. N. S.; Oliveira, M. A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2003**, *13*, 27. [[CrossRef](#)]
- <sup>57</sup> Yunes, R. A.; Pedrosa, R. C.; Filho, V. C. Fármacos e fitoterápicos: Necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química Nova* **2001**, *24*, 147. [[Crossref](#)]
- <sup>58</sup> Souza-Moreira, T. M.; Salgado, H. R. N.; Pietro, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle da qualidade de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2010**, *20*, 435. [[CrossRef](#)]
- <sup>59</sup> Pereira, S. S. T. *Tese de Doutorado*, Fundação Oswaldo Cruz, 2013. [[Link](#)]
- <sup>60</sup> Mardia, L. V.; Keni, J. T.; Bibby, J. M.; *Multivariate analysis*, Academic Press: London, 1979.
- <sup>61</sup> Beltrame, F. L.; Mainardes, R. M.; Khalil, N. M.; Prestes, R. A.; Nogueira, A.; Demiate, I. M.; Cass, Q. B. A quantitative validated method using liquid chromatography and chemometric analysis for evaluation of raw material of *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch., Celastraceae. *Química Nova* **2012**, *35*, 327. [[CrossRef](#)]
- <sup>62</sup> Bochner, R.; Fiszon, J. T.; Assis, M. A.; Avelar, K. E. S. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2012**, *14*, 537. [[Link](#)]

<sup>63</sup> Maioli-Azevedo, V.; Fonseca-Kruel, V. S. 2007. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no Município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte e Sul. *Acta Botanica Brasilica* **2007**, *21*, 263. [[CrossRef](#)]

<sup>64</sup> Leitão, F.; Leitão, S. G.; Fonseca-Kruel, V. S.; Silva, I. M.; Martins, K. Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: an overview on their

botanical diversity and toxicological potential. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2014**, *24*, 225. [[CrossRef](#)]

<sup>65</sup> Almeida, C.; Barbieri, R. L.; Ribeiro, M. V.; Lopes, C. V.; Heck, R. M. Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.): saber de erveiros e feirantes em Pelotas (RS). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2015**, *17*, 722. [[CrossRef](#)]