



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**



**PADRONIZAÇÃO QUÍMICA E BOTÂNICA DE *Senna occidentalis* LINK**

**VANESSA DA SILVA LUNA**

**RECIFE**

**2013**

**VANESSA DA SILVA LUNA**

**PADRONIZAÇÃO QUÍMICA E BOTÂNICA DE *Senna occidentalis* LINK**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas na área de concentração: Obtenção e Avaliação de Produtos Naturais e Bioativos.

**Orientador:** Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

**Co-orientadora:** Prof. Dr<sup>a</sup>. Karina Perrelli Randau

**RECIFE**

**2013**

Catálogo na Publicação  
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4-1662

L961p Luna, Vanessa da Silva.  
Padronização química e botânica de *Senna occidentalis* Link /  
Vanessa da Silva Luna. – Recife: O autor, 2013.  
125 folhas: il. ; 30 cm.

Orientador: Luíz Alberto Lira Soares.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.  
Inclui bibliografia e anexos.

1. Flavonoides. 2. Espectrofotometria Ultravioleta. 3. *Senna* (Planta).  
4. Controle de Qualidade. I. Soares, Luíz Alberto Lira (Orientador). II.  
Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2013-106)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 27 de fevereiro de 2013.

Dissertação de Mestrado de **Vanessa da Silva Luna** defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 27 de fevereiro de 2013 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares**  
(Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**PRIMEIRA EXAMINADORA EXTERNA: Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Lins da Silva**  
(Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**SEGUNDO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira**  
(Centro de Ciências Sociais Aplicada da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DE SAÚDE**

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DE SAÚDE**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vânia Pinheiro Ramos

**CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

**VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Dalci José Brondani

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nereide Stela Santos Magalhães

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Lima Leite

Dedico este trabalho ao meu pai-avô-herói Luiz Bernardino (*in memoriam*), pelo amor incondicional que me dedicou durante toda a nossa existência juntos e principalmente, por preencher as maiores lacunas de minha vida.

*Vanessa da Silva Luna*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, pelo dom da vida, pela fé e força de cada dia e por me ter destinado à convivência com pessoas tão especiais.

À minha mãe, Sevé, pelos anos de amor incondicional a mim dedicados, pelos esforços e ensinamentos, pelo carinho e confiança em meu potencial.

Ao meu vô Luiz (*in memoriam*) pelo carinho de toda uma vida.

À minha família, minha avó Carmelita, minhas tias, tio e primos, pela força, carinho e preocupação, pelo calor do abraço a cada vez que eu voltava para casa.

Aos amigos de fé, irmãos, camaradas, Poliana, Michelle, Elaine, João, Guga, Dênya, Karine, Danylo, Daniele, Maryanne e Polyanne, que com o carinho da sua amizade, provam que não é preciso estar perto fisicamente para se sentir querido.

Ao chefe, professor Lula, pela orientação, paciência, disponibilidade, ensinamentos, por ser exemplo de inteligência, profissionalismo e humildade.

À professora Karina Randau, pela co-orientação e disponibilidade em colaborar em prol do meu crescimento.

Aos meus colegas de laboratório, em especial a Camila, Larissa, Waleska, Isabelle, Sarah, Layanne, Andressa, por tornarem minhas segundas, quartas, sextas e finais de semana mais agradáveis e divertidas de se trabalhar.

Ao meu amigo Marcos Galvão, por encher tanto o meu saco, por me exaurir a paciência com suas brincadeiras incessantes, mas também pela parceria, pela amizade, pelo carinho fraternal, por se fazer tão importante e prestativo sempre.

À minha amiga, chefe, parceira de laboratório, Magda Rhayanny, pela colaboração ímpar, pela dedicação, pelas dicas, orientação, paciência durante todo o meu trabalho, e principalmente pela amizade verdadeira em todos os momentos.

Ao Laboratório Pernambucano, pela oportunidade e paciência. À FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) pelo financiamento desta pesquisa. Ao PPgCF, em especial a Nerilin Trajano.

Aos demais amigos, José Neto, Romildo, Filippi, Márcia, Raquel, Patrícia, entre tantos outros que se fazem importantes no meu dia a dia, que colaboraram, torceram, se importaram comigo durante esta minha jornada.

“E é tão bonito quando a gente entende que a gente é tanta gente, onde quer que a gente vá. E é tão bonito quando a gente sente que nunca está sozinho... Por mais que a gente pense estar.”

Gonzaguinha, Caminhos do Coração.

*Vanessa da Silva Luna*

## RESUMO

A padronização química de medicamentos fitoterápicos e a garantia da sua eficácia e segurança requerem métodos analíticos adequados para a detecção e quantificação dos princípios ativos. Dentre as técnicas que podem ser empregadas para tal finalidade, a espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV/Vis) é uma técnica reconhecida pela acessibilidade, rapidez, baixa complexidade operacional e custo reduzido. Tratando-se do doseamento de flavonoides, uma alternativa é a utilização do cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ), o qual reage com os flavonoides, proporcionando na análise espectrofotométrica, um deslocamento batocrômico para maiores comprimentos de onda e intensificação da absorção. Neste contexto, o objetivo principal deste trabalho foi realizar a padronização química e botânica das folhas de *Senna occidentalis*, de forma a estabelecer especificações analíticas que permitam sua aplicabilidade na rotina do controle de qualidade. Adicionalmente, foram estabelecidas especificações complementares de qualidade para a espécie através da caracterização fitoquímica e físico-química (granulometria, perda por dessecação, teor de cinzas e teor de extrativos) e a avaliação e proposta de um método analítico para quantificação de flavonoides totais nesta espécie. A análise anatômica de *S. occidentalis* permitiu observar a presença de tricomas restrita à face abaxial das suas folhas como um diferencial para a distinção entre as demais espécies de *Senna*. A presença de compostos fenólicos, entre eles flavonoides e antraquinonas foi confirmada tanto no estudo histoquímico, quanto no fitoquímico. Os resultados da perda por dessecação ( $10,93\% \pm 0,057$  (0,528%)), teor de extrativos ( $35,35\% \pm 0,061$  (0,86%)), teor de cinzas totais ( $10,2\% \pm 0,17$  (1,69%)) e teor de cinzas insolúveis em ácido ( $7,72\% \pm 0,19$  (2,49%)), com respectivos desvios padrão e coeficiente de variação mostraram-se dentro das especificações preconizadas pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição. Para o desenvolvimento e validação do método proposto, foram seguidas as especificações da RE nº 899/03 (ANVISA). O método para quantificação de flavonoides mostrou-se adequado para esta espécie, uma vez que a mesma possui em sua composição flavonoides com estrutura química C-glicosilada, apresentando especificidade e linearidade ( $R^2 = 0,9993$ ). A porcentagem de recuperação foi de 101,7, 103,2 e 98,59% para valores teóricos de TFT iguais a 4,11, 5,30 e 6,41 mg/mL respectivamente. A repetitividade, determinada pelo desvio padrão relativo de sextuplicatas à concentração do teste para o extrato, apresentou TFT =  $2,97 \text{ mg/mL} \pm 0,070$  (2,33%), enquanto para a precisão intermediária, os resultados entre analistas diferentes em um mesmo dia e em dias diferentes não apresentaram diferença estatisticamente significativa, assim como os resultados do teste de robustez. Tais resultados refletem a adequação do método proposto para análise quantitativa de flavonoides totais nas folhas de *S. occidentalis* dentro dos parâmetros de validação estabelecidos pela RE nº 899/2003, garantindo assim confiabilidade suficiente para sua adoção na rotina de controle de qualidade. Dessa forma, a importância deste estudo tem como finalidade contribuir no processo de identificação, controle e padronização de parâmetros de qualidade para as folhas de *S. occidentalis*.

**Palavras Chave:** Flavonoides, espectrofotometria Ultravioleta/Visível, *Senna occidentalis*, controle de qualidade.

## ABSTRACT

The chemical standardization of herbal medicines and the assurance of its effectiveness and safety require adequate analytical methods for detection and quantification of the actives responsible for the pharmacological effect. Among the techniques which can be employed for that, UV/Vis spectroscopy is considered an approachable, fast and simple technique, besides low cost of implementation. Relative to flavonoids content, an alternative is the employment of aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ ), which reacts with the flavonoids, occurring in spectrophotometric analysis a batocromic displacement to longer wavelengths and intensification of the absorption. In this context, the main objective of this work was performing the chemical and botanical standardization of *Senna occidentalis* leaves, in order to establish analytical specifications that enable its applicability in analytical routine. Also aimed establish specifications for quality control of the specie by phytochemical and physicochemical characterization (grain size, loss on drying, total and insoluble in acid ash content and extractives) and evaluate an analytical procedure for quantitative determination of total flavonoids in this species. The anatomical analysis of *S. occidentalis* allowed observing the presence of trichomes restricted to abaxial surface of its leaves as a differential to the distinction between the other species of *Senna*. The presence of polyphenols compounds including flavonoids and anthraquinone swas confirmed in the histochemical and in the phytochemical study. The results of loss on drying ( $10,93\% \pm 0,057$  (0,528%)), extractives ( $35,35\% \pm 0,061$  (0,86%)), total ash content ( $10,2\% \pm 0,17$  (1,69%)) and insoluble in acid ash content ( $7,72\% \pm 0,19$  (2,49%)), with respective standard deviation and relative standard deviation values showed that the results were inside the specifications established by the Brazilian Pharmacopeia 5th edition. For the development and validation of the proposed method, the specifications of RE n° 899/03 (ANVISA) were carried out. The method to quantification of total flavonoids showed appropriate for this specie, because of the flavonoids with chemical C-glycosylated structure in it composition, presenting besides specificity and linearity ( $R^2 = 0.9993$ ) achieved. The percentage of recovery was 101,7, 103,2 e 98,59% for the theoretical values of TFC 4,11, 5,30 e 6,41 mg/mL respectively. The repeatability, evaluated by the standard derivation of the sextuplicates at the test concentration for the extract presented TFC =  $2,97 \text{ mg/mL} \pm 0,070$  (2.33%), while for intermediary precision, the results between the different operator in a same and different day did not show significant statistically difference, as well as the results of the robustness test. These results reflect the suitability of the proposed method for the quantitative analysis of total flavonoids in leaves of *S. occidentalis* in the validation parameters established by RE n° 899/2003, ensuring sufficient reliability to its appliance in routine quality control. Thus, the importance of this study aims to contribute to the process of identification, control and standardization of quality parameters for the leaves of *S. occidentalis*.

**Keywords:** Flavonoids, Ultraviolet/Visible spectrophotometry, *Senna occidentalis*, quality control.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### INTRODUÇÃO

|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1-</b> Estrutura básica dos flavonoides e respectiva numeração .....                          | 16 |
| <b>Figura 2-</b> Núcleo fundamental das principais classes de flavonoides .....                         | 17 |
| <b>Figura 3-</b> Exemplos de flavonoides e correspondentes estruturas químicas .....                    | 18 |
| <b>Figura 4-</b> Formação do complexo flavonoide-Al, em solução metanólica de cloreto de alumínio ..... | 20 |

### CAPÍTULO I

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1-</b> <i>Senna occidentalis</i> a. Aspectos gerais, b. Folha, c-d. Folíolo ..... | 30 |
| <b>Figura 2-</b> Substâncias isoladas de <i>Senna occidentalis</i> .....                    | 35 |
| <b>Figura 3-</b> Estrutura química da 1,8-diidroxi-antraquinona.....                        | 37 |

### CAPÍTULO II

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link: Corte transversal da raiz a. Parênquima e xilema, b-c. Periderme com células suberificadas, d. Fibras esclerenquimáticas agrupadas descontinuamente. Barras: a = 300 µm, b, c, d = 100 µm. ....                                                                                                                                    | 51 |
| <b>Figura 2-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link: Corte transversal do caule a. Cutícula espessa, células epidérmicas achatadas e grãos de amido em abundância, b. Feixe esclerenquimático contínuo no parênquima cortical, c. Cristais prismáticos no floema (setas), d. Floema e região medular com abundância de amiloplastos. Barras: a, c = 50 µm, b = 100 µm, d = 300 µm. .... | 52 |
| <b>Figura 3-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link: Corte transversal da raqui a. Feixes vasculares isolados, tricomas tectores, b. Estômato inserido ao nível da epiderme (seta), amiloplastos no parênquima, c. Bainha esclerenquimática e cristal prismático (seta). Barras: a = 300 µm, b, c = 50 µm. ....                                                                         | 53 |
| <b>Figura 4-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link: Corte transversal do folíolo a. Faces adaxial, abaxial e os estômatos inseridos ao mesmo nível da epiderme (setas), b. Nervura central com destaque para as drusas (seta). Barras: a = 50 µm, b = 100 µm. ....                                                                                                                     | 54 |
| <b>Figura 5-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link (Fabaceae): Corte paradérmico do folíolo a. Estômatos paracíticos distribuídos pela face adaxial e b. Face abaxial, c. Estômatos anisocíticos (seta) na face abaxial, d. Tricoma glandular na face abaxial. Barras: a-d = 50 µm. ....                                                                                               | 55 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 6-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link (Fabaceae): Corte longitudinal da borda do folíolo a-c. Tricomas tectores e a área de inserção do tricoma, d. Tricoma glandular claviforme e não-glandular. Corte transversal e. Tricoma glandular claviforme, f. Tricoma em forma de espinho na face abaxial. Barras: a, b, d, e = 50 µm, c, f = 100 µm. ....                 | 55 |
| <b>Figura 7-</b> <i>Senna occidentalis</i> Link: histoquímica. a. Polifenóis nas células do parênquima paliçádico e lacunoso, b. Flavonoides nas células parenquimáticas do mesofilo, c. Antraquinonas nas células do parênquima lacunoso, d-e: Lipídios na cutícula, na epiderme e nas células parenquimáticas, f: Controle. Barras: a, d, f = 100 µm; b, c, e = 50 µm.. .... | 56 |

### CAPÍTULO III

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1-</b> Histograma de distribuição granulométrica do pó das folhas de <i>Senna occidentalis</i> ..... | 69 |
| <b>Figura 2-</b> Curva de retenção e passagem das folhas de <i>Senna occidentalis</i> Link. ....               | 70 |
| <b>Figura 3-</b> Placa de cromatografia em camada delgada para polifenóis .....                                | 72 |
| <b>Figura 4-</b> Placa de cromatografia em camada delgada para flavonoides .....                               | 73 |
| <b>Figura 5-</b> Placa de cromatografia em camada delgada para antraquinonas.....                              | 74 |
| <b>Figura 6-</b> Placa de cromatografia em camada delgada para mono e sesquiterpenos.....                      | 75 |
| <b>Figura 7-</b> Placa de cromatografia em camada delgada para triterpenos e esteroides .....                  | 75 |

### CAPÍTULO IV

|                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1-</b> Varredura espectrofotométrica do extrato de <i>Senna occidentalis</i> após reação com AlCl <sub>3</sub> .....                                                         | 88 |
| <b>Figura 2-</b> Cinética de complexação dos flavonoides com AlCl <sub>3</sub> .....                                                                                                   | 89 |
| <b>Figura 3-</b> Avaliação proporção droga: solvente .....                                                                                                                             | 90 |
| <b>Figura 4-</b> Especificidade do método construído com o padrão Vitexina e com o extrato foliar de <i>S. occidentalis</i> na amplitude de comprimento de onda entre 200-500 nm ..... | 91 |
| <b>Figura 5-</b> Curva de linearidade, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e equação da reta da metodologia descritiva de flavonoides totais .....                               | 92 |

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1-</b> Principais componentes químicos encontrados em <i>Senna occidentalis</i> ..... | 33 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

### CAPÍTULO III

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela I-</b> Sistemas cromatográficos empregados na prospecção fitoquímica para folhas de <i>S. occidentalis</i> ..... | 68 |
| <b>Tabela II-</b> Ensaio de teor de cinzas totais e insolúveis em ácido .....                                              | 71 |

### CAPÍTULO IV

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1-</b> ANOVA para a influência da concentração de reagente ..... | 91 |
| <b>Tabela 2-</b> Análise da precisão intermediária .....                   | 93 |
| <b>Tabela 3-</b> Teste de recuperação (%) .....                            | 94 |
| <b>Tabela 4-</b> Análise da robustez .....                                 | 94 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                   |                                                                   |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------|
| AcOEt             | Acetato de etila                                                  |
| AcOH              | Ácido acético                                                     |
| AlCl <sub>3</sub> | Cloreto de alumínio                                               |
| ANOVA             | Análise de Variância                                              |
| ANVISA            | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                          |
| CCD               | Cromatografia em Camada Delgada                                   |
| CCl <sub>4</sub>  | Tetracloroeto de carbono                                          |
| CLAE              | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência                          |
| CV/DPR            | Coeficiente de Variação/Desvio Padrão Relativo                    |
| DP                | Desvio Padrão                                                     |
| $E_{1cm}^{1\%}$   | Coeficiente de absorção específica                                |
| FAA               | Formol: Ácido acético: Álcool                                     |
| FACEPE            | Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco |
| FD                | Fator de Diluição                                                 |
| H <sub>2</sub> O  | Água                                                              |
| HCOOH             | Ácido fórmico                                                     |
| HPLC              | High Performance Liquid Chromatography                            |
| ICH               | International Conference on Harmonisation                         |
| IPA               | Instituto de Pesquisas Agropecuárias                              |
| NEU               | Ácido etilborilaminoéster                                         |
| P.A.              | Pureza analítica                                                  |
| PE                | Pernambuco                                                        |
| $R^2$             | Coeficiente de correlação                                         |
| RDC               | Resolução da Diretoria Colegiada                                  |
| RE                | Resolução Específica                                              |
| R <sub>f</sub>    | Fator de retenção                                                 |
| TFC               | Total Flavonoids Content                                          |
| TFT               | Teor de Flavonoides Totais                                        |
| UFPE              | Universidade Federal de Pernambuco                                |
| USP               | United States Pharmacopeia                                        |
| UV/Vis            | Ultravioleta/Visível                                              |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|      |                        |
|------|------------------------|
| nm   | Nanômetros             |
| mm   | Milímetros             |
| cm   | Centímetros            |
| µg   | Microgramas            |
| mg   | Miligramas             |
| g    | Gramas                 |
| Kg   | Quilogramas            |
| µL   | Microlitros            |
| mL   | Mililitros             |
| ppm  | Partes por milhão      |
| %    | Porcentagem            |
| °C   | Graus Celsius          |
| m/v  | massa/volume           |
| p/v  | peso/volume            |
| v/v  | volume/volume          |
| min  | Minutos                |
| λ    | Comprimento de onda    |
| ±    | Mais ou menos          |
| U.A. | Unidade de absorvância |
| >    | Maior que              |
| A    | Absorvância            |

## SUMÁRIO

|          |                                                                                                                                                                                                               |            |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                                                                                       | <b>16</b>  |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS .....</b>                                                                                                                                                                                        | <b>24</b>  |
|          | 2.1 OBJETIVO GERAL .....                                                                                                                                                                                      | 24         |
|          | 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                                                                                                                                               | 24         |
| <b>3</b> | <b>CAPÍTULO I: <i>Senna occidentalis</i> Link: aspectos botânicos, químicos e atividades biológicas .....</b>                                                                                                 | <b>26</b>  |
| <b>4</b> | <b>CAPÍTULO II: Anatomia e histoquímica de <i>Senna occidentalis</i> Link (Fabaceae) .....</b>                                                                                                                | <b>47</b>  |
| <b>5</b> | <b>CAPÍTULO III: Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de <i>Senna occidentalis</i> Link .....</b>                                                                                           | <b>62</b>  |
| <b>6</b> | <b>CAPÍTULO IV: Desenvolvimento e validação de método analítico por espectrofotometria no Ultravioleta/Visível para quantificação de flavonoides totais em folhas de <i>Senna occidentalis</i> Link .....</b> | <b>80</b>  |
| <b>7</b> | <b>PERSPECTIVAS.....</b>                                                                                                                                                                                      | <b>100</b> |
| <b>8</b> | <b>CONCLUSÃO .....</b>                                                                                                                                                                                        | <b>102</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                                                                                                                                      | <b>105</b> |
|          | <b>ANEXOS .....</b>                                                                                                                                                                                           | <b>105</b> |
|          | <b>ANEXO A- Normas para submissão de manuscritos à Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.....</b>                                                                                               | <b>109</b> |
|          | <b>ANEXO B- Normas para submissão de manuscritos à Revista Brasileira de Farmacognosia.....</b>                                                                                                               | <b>118</b> |
|          | <b>ANEXO C- Normas para submissão de manuscritos ao Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.....</b>                                                                                                     | <b>124</b> |

# *Introdução*

Vanessa da Silva Luna

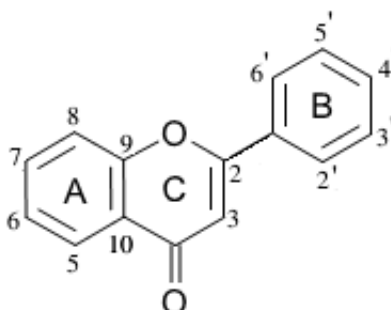
## 1 INTRODUÇÃO

A presença de metabólitos biologicamente ativos na natureza está condicionada às necessidades ecológicas e possibilidades biossintéticas de cada espécie. Os metabólitos secundários estão diretamente envolvidos nos mecanismos que permitem a adequação ao meio, bem como função de defesa, reprodução e interação entre organismos. Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides (SANTOS, 2007).

Os compostos fenólicos constituem uma classe de substâncias com ampla gama de atividades biológicas e de estruturas químicas. Possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Existem diversas classes de compostos fenólicos, que ocorrem de maneira universal nos vegetais e que podem desempenhar importantes atividades biológicas. A maior parte dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou de heterosídeos. Dentre as diversas ações farmacológicas dos compostos fenólicos, merece destaque a atividade antioxidante (MORETONI, 2008).

De acordo com Moretoni (2008), no âmbito dos compostos fenólicos, os flavonoides são metabólitos secundários bastante recorrentes nas espécies vegetais. Sua estrutura básica (Figura 1) é constituída pelo núcleo flavan, que consiste em 15 átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), denominados A, B e C.

**Figura 1-** Estrutura básica dos flavonoides e respectiva numeração

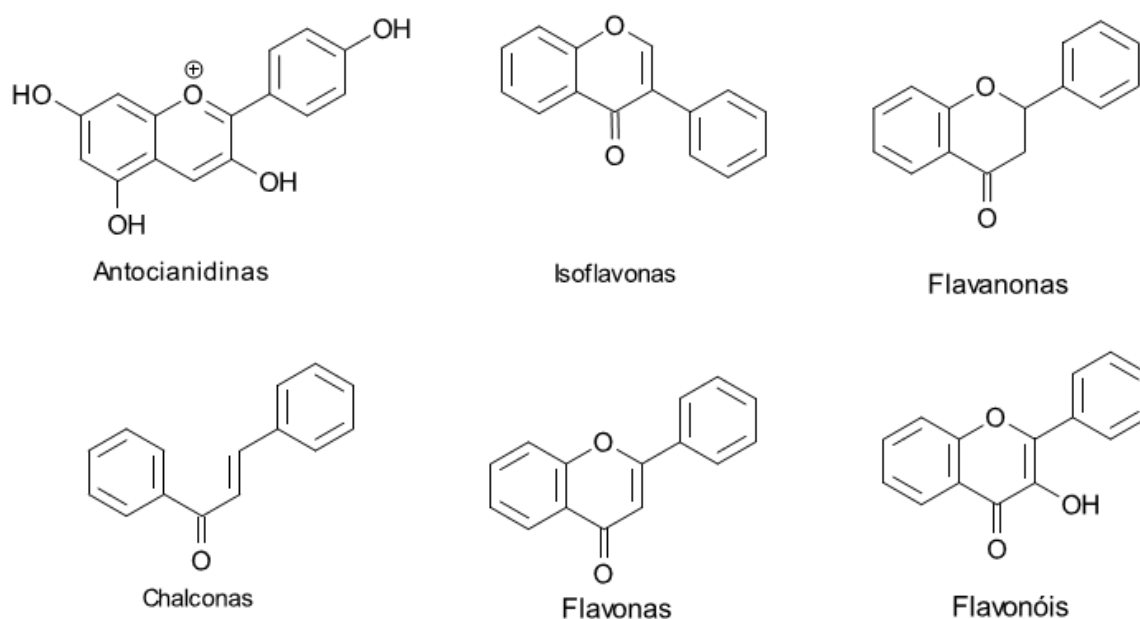


Fonte: Zuanazzi; Montanha, 2007.

Os flavonoides podem ser subdivididos em seis classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, chalconas, flavanóis (catequinas) e antocianinas (Figura 2), com base na estrutura

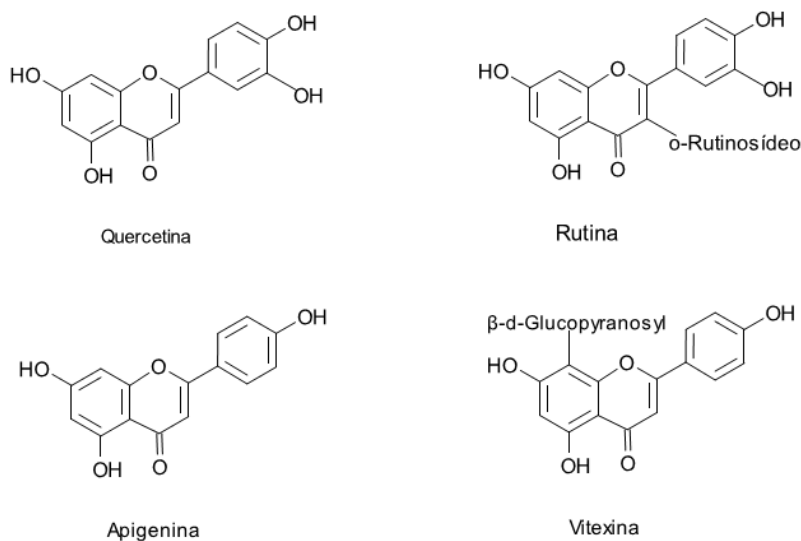
e conformação do anel heterocíclico de oxigênio (anel C) do núcleo fundamental 2-fenilbenzopirano. Dentro de uma mesma classe, os compostos diferem entre si segundo o padrão de substituição nos anéis A e B (MARQUES, 2011). Koes, Quattrocchio e Mol (1994) justificam a existência de uma grande diversidade estrutural dos flavonoides através das várias modificações que os compostos desta classe podem sofrer, tais como hidroxilação, metilação, acilação e glicosilação.

**Figura 2-** Núcleo fundamental das principais classes de flavonoides



Fonte: Zuanazzi; Montanha, 2007.

Podem ser encontrados sob a forma de aglicona, como por exemplo, a quercetina, porém são mais frequentes na forma de glicosídeos, como hiperosídeo, isoquercetina e rutina (Figura 3), sendo denominados de *O*-glicosídeos, quando a ligação ao açúcar se dá por intermédio de uma hidroxila, ou *C*-glicosídeos, quando a ligação se dá com um átomo de carbono. Quando a estrutura flavonoídica encontra-se sem o açúcar, é denominada de aglicona (ZUANAZZI; MONTANHA, 2007).

**Figura 3-** Exemplos de flavonoides e correspondentes estruturas químicas

Fonte: Zuanazzi; Montanha, 2007.

A produção de flavonoides nos vegetais é influenciada por vários fatores ambientais. Estes compostos absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) e do visível, apresentando assim um papel de defesa das plantas frente à radiação UV da luz solar. Além disso, eles podem representar uma barreira química de defesa contra micro-organismos, insetos e outros animais herbívoros, além de atuar também em relacionamentos harmônicos entre plantas e insetos, contribuindo para o fenômeno da polinização (TOMÁS-BARBERÁN, 199; SANTOS; BLATT, 1997).

Dentre as ações farmacológicas dos flavonoides comprovadas pela comunidade científica, destacam-se a sua reconhecida atividade antioxidante, anti-inflamatória e antineoplásica, o que contribui com o crescimento das pesquisas científicas que apresentam interesse de conhecer cada vez melhor suas propriedades terapêuticas (SANTOS, 2007). De grande aplicabilidade nos ramos da indústria alimentícia e farmacêutica, sendo ainda marcadores analíticos de grande importância para o controle de qualidade de drogas vegetais, as técnicas de doseamento de flavonoides vêm sendo bastante estudadas, em função da escassez de monografias nos compêndios oficiais, fazendo-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para quantificação destes compostos (MARQUES, 2011).

Diversas técnicas podem ser empregadas para o doseamento de flavonoides em materiais vegetais, sendo a espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV/Vis) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC) as de uso mais recorrente. Embora as vantagens da técnica por espectrofotometria no UV/Visível no que diz respeito à simplicidade

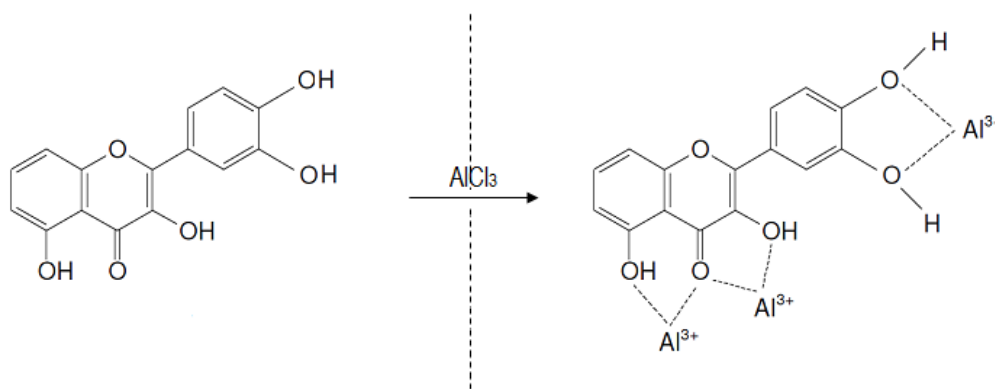
operacional e fácil disponibilidade nos laboratórios de controle de qualidade, dificuldades relacionadas à seletividade desta técnica têm sido um dos maiores desafios, especialmente se tratando de matrizes complexas como as drogas vegetais, uma vez que a espectrofotometria direta pode ocasionar sobreposição das bandas, impedindo a absorção do componente de interesse (CHABARIBERI et al., 2008; MARQUES et al., 2012).

Com a finalidade de diminuir a quantidade de interferentes que possam vir a comprometer a absorção dos compostos de interesse analítico para a ocasião, empregam-se reagentes para a conversão dos componentes em uma forma que permita a medida de absorção de radiação com maior sensibilidade e/ou seletividade (ROCHA; TEIXEIRA, 2004). Tratando-se do doseamento de flavonoides, dentre os reagentes utilizados para tal finalidade, destaca-se o cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ )

O uso do cloreto de alumínio para doseamento de alguns grupamentos químicos foi pela primeira vez empregado para antocianidinas. Em 1954, Harborne sugeriu o uso do cloreto de alumínio para a determinação espectrofotométrica da presença de certos grupamentos químicos em flavonoides (MABRY et al., 1970). Da década de 60 em diante, o composto passou a ser largamente empregado como um reagente de desvios em espectrofotometria no UV/Vis para a determinação estrutural de flavonoides (MABRY et al., 1970; MARKHAM, 1982).

Schmidt e Ortega (1993) propuseram uma metodologia espectrofotométrica para determinação de flavonoides totais em plantas utilizando cloreto de alumínio. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonoides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção (Figura 4). Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonoides nos tecidos vegetais (MARCUCCI; WOISKY; SALATINO, 1998).

**Figura 4-** Formação do complexo flavonoide-Al, em solução metanólica de cloreto de alumínio.



Fonte: Marcucci; Woisky; Salatino, 1998.

Os espectros de absorção característicos da classe dos flavonoides são determinados pelo seu núcleo fundamental 2-fenil-benzopirano e exibem duas grandes bandas de absorção: uma na região entre 320-385 nm (Banda I), correspondente à absorção do sistema cinamoil do anel B, e outra na região entre 240-280 nm (Banda II), correspondente à absorção do sistema benzoil do anel A. Sendo que outros compostos fenólicos também possuem bandas de absorção similares (MARKHAN, 1982). A complexação com cloreto de alumínio permite a formação de complexos coloridos estáveis entre o cátion  $\text{Al}^{3+}$  com os flavonoides, sem a interferência dos demais compostos fenólicos, ocasionando desvio batocrômico dos seus máximos de absorção para maiores comprimentos de onda (PETRY et al., 1998; MARCUCCI; WOISKY; SALATINO, 1998; SOUZA; GIOVANI, 2005).

Quanto às condições experimentais, a leitura é feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se cloreto de alumínio a 2% em metanol (WOISKY, 1998; WOISKY; SALATINO, 1996). Nessas condições, o complexo flavonoide-Al absorve em comprimento de onda bem maior do que o flavonoide sem a presença do agente complexante. Os ácidos fenólicos, mesmo os que formam complexos com cloreto de alumínio, absorvem em comprimentos de onda muito inferiores, evitando-se dessa maneira interferências nas medidas de absorbância (MARCUCI; WOISKY; SALATINO, 1998).

Apesar da boa reprodutibilidade, o uso de cloreto de alumínio para a determinação da quantidade de flavonoides totais não é, no entanto, um procedimento isento de limitações. O método pode ser pouco exato, ou seja, o valor que ele fornece pode ser geralmente inferior em relação à quantidade de flavonoides totais realmente presente na amostra analisada. O valor medido e o valor real são tanto mais próximos entre si quanto maior a proporção de flavonóis na amostra, e tanto mais distantes quanto maior a proporção de flavonas. Isto pode estar

associado ao fato de que o comprimento de onda selecionado (425 nm) corresponde à banda de absorção do complexo quercetina-Al. A quercetina é um flavonol, certamente o mais comum dos flavonoides encontrado nas plantas. Os complexos dos outros flavonóis com alumínio absorvem bem próximo de 425 nm, mas os complexos derivados de flavonas absorvem em comprimentos de onda inferiores, o que causa uma subestimativa nas determinações de misturas muito ricas em flavonas (MARCUCCI; WOISKY; SALATINO, 1998).

Um procedimento complementar que confere maior especificidade à quantificação de flavonoides após complexação com cloreto de alumínio é a hidrólise ácida. A hidrólise dos glicosídeos para liberar as agliconas oferece um método mais prático para determinação dos flavonoides e dependendo do tipo de açúcar ligado à aglicona, muitos parâmetros podem influenciar na eficiência da hidrólise, tal como a composição de solventes, concentração do ácido empregado, tempo e temperatura de extração, entre outros, podendo ocorrer degradação ou mesmo hidrólise incompleta do heterosídeo. Hertog e colaboradores (1992 apud HOFFMANN-RIBANI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008) definiram em seu estudo o uso do ácido clorídrico para hidrólise dos flavonoides, bem como maior eficiência da extração destes compostos com solução metanólica 50%.

Além dos ensaios de doseamento de metabólitos secundários em matérias primas vegetais, o estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade destas matrizes contam com estudos de autenticidade (caracterização organoléptica, caracterização macro e microscópica), testes de pureza e integridade (cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido, teor de umidade, determinação de materiais estranhos, contaminantes microbiológicos e metais pesados) (FRASSON; BITTENCOURT; HEINZMANN, 2003). O registro de produtos fitoterápicos no mercado farmacêutico, regulamentado pela RDC nº 14/2010, exige que estes testes sejam indispensáveis, haja vista que permitem a avaliação da qualidade e autenticidade da sua composição.

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Este processo é denominado validação. A RE nº 899, de 29 de maio de 2003 institui as características a serem avaliadas durante a validação de procedimentos analíticos para matérias-primas e produtos acabados, de forma a garantir, por meio de estudos experimentais, que os mesmos apresentem parâmetros que conduzam a resultados confiáveis e adequados à qualidade exigida para os medicamentos. Para tanto, deve apresentar precisão, exatidão,

linearidade, sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade adequada à análise (ANVISA, 2003).

*Senna occidentalis*, conhecida na medicina popular por suas atividades laxativa e anti-inflamatória, associadas respectivamente à presença de antraquinonas e flavonoides em sua composição, constitui uma espécie utilizada em algumas formulações comercializadas no Brasil. Entretanto, embora existam metodologias analíticas para o doseamento de antraquinonas, poucos são os estudos disponíveis acerca do desenvolvimento analítico para a espécie no que diz respeito ao doseamento de flavonoides. Tal condição dificulta a obtenção de produtos com qualidade adequada e constante, o que pode inviabilizar economicamente a espécie e privar a população de mais uma potencial alternativa terapêutica.

Neste contexto, o presente trabalho buscou a caracterização botânica e fitoquímica da espécie, bem como o desenvolvimento e validação de um método analítico aplicável ao controle de qualidade da matéria prima vegetal e da solução extrativa obtida a partir das folhas de *S. occidentalis*, em virtude do interesse econômico que apresenta esta espécie. Dessa forma, foram realizadas todas as etapas necessárias de modo a propor um método analítico para quantificação de flavonoides totais que atenda os requisitos da RE nº 899, garantindo assim sua confiabilidade e aplicação na rotina laboratorial para o controle de qualidade desta espécie.

## ***Objetivos***

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a padronização química e botânica de *Senna occidentalis* L., de modo a estabelecer especificações que possam ser aplicadas como parâmetros para o controle de qualidade da espécie.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar estudo anatômico e histoquímico de *S. occidentalis*;
- Realizar a caracterização físico-química e fitoquímica da matéria-prima vegetal;
- Desenvolver uma metodologia analítica para a quantificação de flavonoides totais na droga vegetal, utilizando espectrofotometria UV/Vis;
- Validar a metodologia analítica desenvolvida conforme a RE nº 899/2003, de forma a estabelecer especificações analíticas que permitam sua aplicabilidade na rotina laboratorial.

# *Capítulo I*

*Vanessa da Silva Luna*

### 3 CAPÍTULO I

***Senna occidentalis* Link: aspectos botânicos, químicos e atividades biológicas.**

***Senna occidentalis* Link: botanical, chemical aspects and biological properties.**

Vanessa da Silva Luna<sup>1</sup>, Magda Rhayanny Assunção Ferreira<sup>1</sup>, Karina Perrelli Randau<sup>1</sup>, Luiz Alberto Lira Soares<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Farmacognosia - Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife, Brasil.

Artigo a ser submetido à:

Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas

Autor correspondente: Luiz Alberto Lira Soares – Laboratório de Farmacognosia – Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá s/n, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil. CEP 50740-521. Telefone: +55 (81) 2126-8511; Fax: +55 812126-8510 – E-mail: [phtech@uol.com.br](mailto:phtech@uol.com.br)

Vanessa da Silva Luna

**RESUMO:** *Senna occidentalis* Link (Fabaceae) é um arbusto de ocorrência em regiões tropicais e subtropicais, incluindo todo território brasileiro, sendo uma invasora frequente de áreas de pastagem. Esta espécie é conhecida por sua aplicabilidade principalmente como laxante e hepatoprotetora, além de ser uma importante fonte nutricional para algumas comunidades indígenas e africanas. Estudos químicos relatam a presença de vários constituintes oriundos do metabolismo secundário vegetal, tais como compostos antracênicos, flavonoides, taninos, alcaloides piperidínicos, xantonas, triterpenos e esteroides, além de suas sementes serem ricas em carboidratos. Dentre as substâncias isoladas e identificadas das partes de *S. occidentalis*, destacam-se emodina, aloe-emodina, antronas, apigenina, cassioccidentalina, quercetina, réina, senosídeos, vitexina, occidentalol e singueanol. Esta espécie ainda merece destaque por suas sementes apresentarem elevada concentração de glicosídeos antraquinônicos, sendo extremamente tóxicas quando ingeridas *in natura* por animais de pastagem. Pelo seu histórico de uso na medicina popular *S. occidentalis* torna-se um interessante alvo de pesquisas envolvendo o lançamento de medicamentos no mercado a partir do aproveitamento sustentável dos recursos da flora nacional, embora que para isso, devam ser realizados estudos multidisciplinares que garantam a eficácia e segurança dos produtos derivados deste vegetal.

*Palavras-chave:* *Senna occidentalis*. Antraquinonas. Flavonoides.

**ABSTRACT:** *Senna occidentalis* Link (Fabaceae) is a bush with occurrence in tropical and subtropical regions, including all the Brazilian territory, quite frequently in pastures areas. This specie is notable due its applying as laxative, hepatoprotective and an important nutritional source for some indigenous and African communities. A wide range of the chemical constituents have been related from secondary metabolism of this species, including anthraquinones, flavonoids, tannins, xanthones, piperidines alkaloids, triterpens and sterols, besides that there is a notable amount of carbohydrates in it seeds. Among the substances isolated and identified from the parts of *S. occidentalis*, stands out emodin, aloe-emodin, anthrones, apigenin, cassioccidentalinalin, quercetin, rhein, senosides, vitexin, occidentalol and singueanol. This specie also is notable by the anthraquinone glycosides in its seeds being extremely toxic when consumed *in natura* by domestic animals. Because the use in traditional medicine, *S. occidentalis* becomes an interesting target for researches involving launch of herbal products on the trade from the sustainable use of the national flora resources, although

for that is necessary multidisciplinary studies that ensure the effectiveness and safety of products derived from this plant.

*Keywords: Senna occidentalis. Anthraquinones, Flavonoids.*

## INTRODUÇÃO

O emprego de plantas para o tratamento de enfermidades, por muitas vezes, representa o único recurso terapêutico disponível para muitas comunidades e grupos étnicos. Com o passar dos anos e o avanço da ciência, o resgate dos conhecimentos empíricos sobre o uso terapêutico de plantas passou a dar suporte para estudos científicos envolvendo o desenvolvimento de novos medicamentos a partir desta prática. A fitoterapia é vista como uma opção medicamentosa bem aceita e acessível aos povos do mundo e, no caso do Brasil, mostra-se adequada às necessidades locais de centenas de municípios brasileiros no atendimento primário à saúde (Cañigual; Dellacassa; Bandoni, 2003).

Dentre as famílias do reino vegetal que despertam o interesse de pesquisadores, destaca-se a Fabaceae (Leguminosae), que compreende uma das maiores famílias dentre as Angiospermas, com cerca de 730 gêneros que somam mais de 19.000 espécies, e é classificada em três subfamílias (Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae). Fabaceae está presente na vegetação sob a forma de espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas e possui distribuição cosmopolita, devido a sua capacidade de adaptação tanto a climas tropicais quanto subtropicais, sendo menos frequentes em regiões temperadas (Lima, 2000; Bortoluzzi; Miotto; Reis, 2007) e ainda às suas associações com bactérias do solo fixadoras de nitrogênio (Souza, 2010).

O gênero *Senna* destaca-se por ser uma importante fonte de compostos com diversas propriedades biológicas e farmacológicas, apresentando em algumas espécies atividades laxativa, hepatoprotetora, antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antipirética, analgésica e antimalárica comprovadas (Viegas Junior, 2006; Silva et al., 2010), o que desperta um grande interesse na sua aplicabilidade no mercado. A rigor, a literatura relata o isolamento de mais de 350 metabólitos secundários em espécies do gênero *Senna*, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de várias partes do mundo. Dentre as classes de compostos conhecidos, foi evidenciada a ocorrência marcante de antraquinonas e flavonoides na maioria das espécies relatadas na literatura (Cândido et al., 2010).

Neste gênero, as pesquisas envolvendo *Senna occidentalis* apontam seus notáveis efeitos laxativos, purgativos e hepatoprotetor devido à presença das antraquinonas, bem como anti-inflamatório, antioxidante e antimalárico (Gupta et al., 2005). Devido ao seu amplo uso na medicina tradicional, bem como sua ubiquidade, esta se torna uma espécie de interesse econômico no que diz respeito ao aproveitamento sustentável da flora nacional.

Este artigo apresenta uma revisão acerca dos aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e toxicológicos de *Senna occidentalis*, com a finalidade de oferecer informações atualizadas sobre a espécie. Para tal, foi realizada a análise de publicações (periódicos indexados, dissertações, teses e livros), utilizando as palavras-chave *Senna* e *Cassia*, selecionando aqueles que traziam dados direcionados ao delineamento desta pesquisa.

### Aspectos botânicos

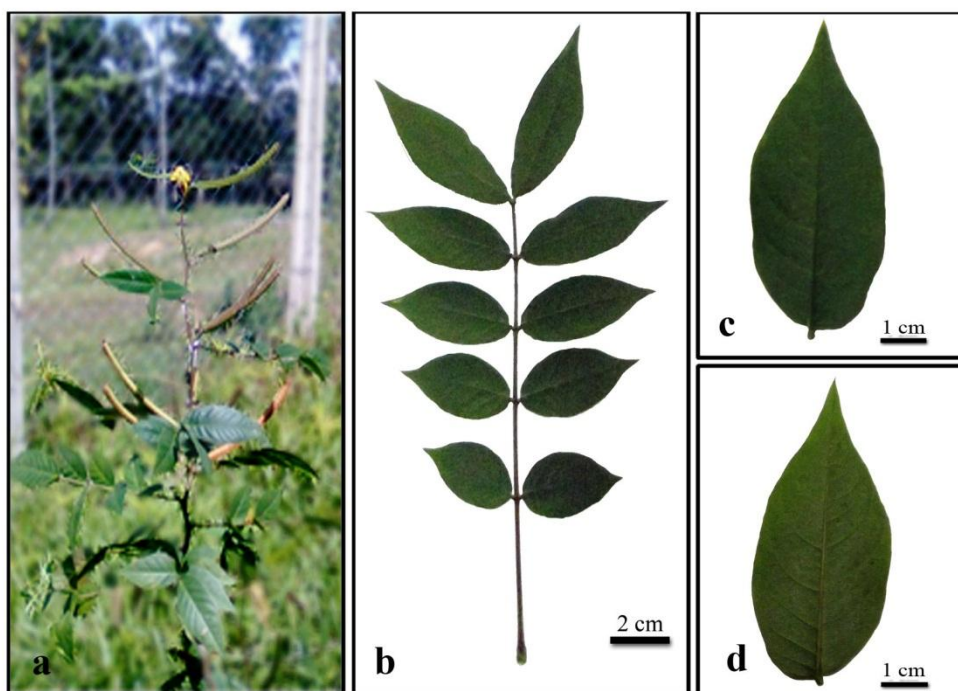
*Senna occidentalis* Link é uma espécie pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), subfamília Caesalpinioideae, conhecida popularmente como fedegoso (devido ao seu odor fétido), sene, mata pasto, manjerioba, folha-de-pajé, maioba, fedegoso-verdadeiro, fedegosa, mamangá e café negro. Pode ser encontrada praticamente na maioria dos países tropicais e subtropicais, incluindo todo território brasileiro, sendo uma invasora frequente de áreas de pastagem, pomares, terrenos baldios e margens de estradas (Cândido et al., 2010; Lorenzi, 2000).

Estudos realizados por Irwin e Barneby (1982) com os gêneros da subtribo *Cassiinae* (*Chamaecrista*, *Cassia* e *Senna*) permitiram uma reorganização taxonômica, uma vez que antes deste tratamento, algumas espécies de *Chamaecrista* e *Senna* eram incluídas em *Cassia*. Desta forma, houve a transposição taxonômica de espécies do gênero *Cassia* para o táxon *Senna*. Com a classificação das subfamílias, o gênero *Cassia*, então incluído em Fabaceae, diminui em tamanho (Viegas Junior et al., 2006; Silva, 2011). *Senna* distingue-se de *Cassia* principalmente pelos filetes retos, mais curtos ou até duas vezes o comprimento das anteras e pela presença de nectários extraflorais na maioria das espécies (Rodrigues et al., 2005). Por outro lado, *Senna* difere de *Chamaecrista* principalmente pela ausência de bractéolas (excepcionalmente presentes), pelo androceu zigomorfo e pelos legumes que podem ser indeiscentes (Irwin; Barneby, 1982).

Portanto, espécies de *Cassia*, juntamente com aquelas com sinonímia *Senna* ou com algumas que mudaram para o grupo *Senna* após o novo sistema de classificação taxonômica, constituem um dos maiores gêneros da família Fabaceae, com cerca de 500 a 600 espécies

(Viegas Junior et al., 2006). Lock (apud Saheed; Illoh, 2010) aponta que o fato do surgimento de problemas relacionados à nomenclatura após as mudanças de Irwin e Barneby deve-se ao fato de existirem pesquisadores, principalmente na região africana, que preferem continuar utilizando *Cassia* no seu sentido amplo.

A espécie apresenta-se como um arbusto ou subarbusto glabro (Figura 1a), de caule herbáceo ou apenas lenhoso na base, de coloração arroxeada, podendo atingir de 0,3 a 2 metros de altura. Os ramos são glabros ou glabrescentes, as folhas são alternadas, compostas parapinadas, com raquis comprida e estipulada com uma glândula na base (Figura 1b, 1c), composta de 4 a 6 pares de folíolos curto-peciolados, elípticos ou oval-lanceolados, ápice agudo ou acuminado, de até 4 cm de comprimento e 25 mm de largura (glândulas presentes na base do pecíolo, ovóides ou globosas, sésseis), com coloração verde-escura nas duas páginas (Figura 1d); as flores são grandes, amarelas, com nervuras cor laranja, dispostas em pequenos racemos axilares, solitários nas flores superiores ou aglomerados, formando panículas terminais (Rodrigues et al., 2005; Aragão, 2008; Yadav et al, 2009).



**Figura 1:** *Senna occidentalis* Link. a. Aspectos gerais, b. Folha, c-d. Folíolo.

Os frutos são do tipo vagem glabra, de até 12 cm de comprimento e 9 mm de largura, reta ou arqueada, contendo cerca de 20 a 40 sementes ovóides, castanho-escuro, duras, lisas, agudas numa extremidade e arredondadas na outra (Aragão, 2008; Yadav et al., 2009). O direcionamento do crescimento de suas vagens – de forma curva, com pontas para cima –

consiste em uma particularidade da *S. occidentalis* em relação às demais espécies de *Senna* (Sousa, 2009). Sahed e Illoh (2010), em estudo taxonômico comparativo de algumas espécies em *Cassiinae*, descreveram a anatomia e a fisiologia de *Senna occidentalis*.

Esta leguminosa é de vida curta, 6 a 9 meses, podendo chegar a pouco mais de um ano em condições ambientais favoráveis, e crescimento moderadamente rápido, propiciado em regiões úmidas e frias. Reproduz efetivamente por sementes, com germinação escalonada efetivamente na primavera nas regiões do Brasil (Kissmann; Groth, 1999), florescendo no período de setembro a outubro e frutificando entre fevereiro e abril. De acordo com Fowler e Carpanezzi (1997), as sementes de fedegoso apresentam dormência tegumentar, o que é um empecilho para a produção de mudas.

Microscopicamente, esta espécie apresenta folíolos anfiestomáticos, com estômatos do tipo paracítico, de forma elíptica, de tamanhos variáveis. Na superfície adaxial, as células apresentam-se com formas e tamanhos irregulares, ora alongadas, ora retangulares, com tamanhos variando entre 42,5-67,5 µm de comprimento e 15-42,5 µm de largura; não são observados tricomas e há presença significativa de drusas de oxalato de cálcio nesta região. As células abaxiais geralmente poligonais, com tamanhos variando entre 37,5-90 µm de comprimento e 12,5-51 µm de largura. Podem ser encontrados tricomas apenas do tipo glandular, distribuídos esparsamente, medindo em média, de 92,5-180 µm de comprimento. Drusas e cristais de areia também estão presentes (Sahed; Illoh, 2010; Ogundipe; Kadiri; Adekanmbi, 2009).

Ogundipe, Kadiri e Adekanmbi (2009), em estudo comparativo com seis espécies de *Senna*, observaram algumas características que diferenciam *S. occidentalis* das demais, a citar: células epidérmicas poligonais irregulares em ambas as faces, parede anticlinal reta na face adaxial e ondulada na face abaxial e a presença de tricomas apenas na face abaxial.

O conhecimento morfoanatômico das espécies vegetais é bastante relevante, uma vez que permite conhecer as particularidades que auxiliam na diferenciação de espécies do mesmo gênero, bem como forneça subsídios para o controle de qualidade botânico.

### **Aspectos químicos**

Do ponto de vista químico, pesquisas envolvendo espécies do gênero *Senna* revelaram em sua composição uma vasta diversidade de substâncias bioativas derivadas do metabolismo secundário, sendo as antraquinonas, flavonoides e outros compostos fenólicos os constituintes mais frequentes na maioria das espécies (Viegas Junior et al, 2006; Gupta; Singh, 1991).

Esteroides, alcaloides piperidínicos, isoquinolinas, cromonas, lactonas, estilbenos, triterpenos e polissacarídeos também já foram relatados para este gênero (Rodrigues, 2008).

O perfil fitoquímico realizado com *Senna occidentalis* relata o isolamento e elucidação estrutural de vários constituintes em diversas partes da planta (Tabela 1), destacando a presença marcante de compostos das classes das antraquinonas e flavonoides. Ambasta e colaboradores (apud Di Stasi, 2002) afirmam que a concentração de compostos fenólicos em folhas e caules desta espécie está condicionada aos diferentes estágios de desenvolvimento do vegetal, bem como as condições climáticas de cada região (Gupta; Singh, 1991).

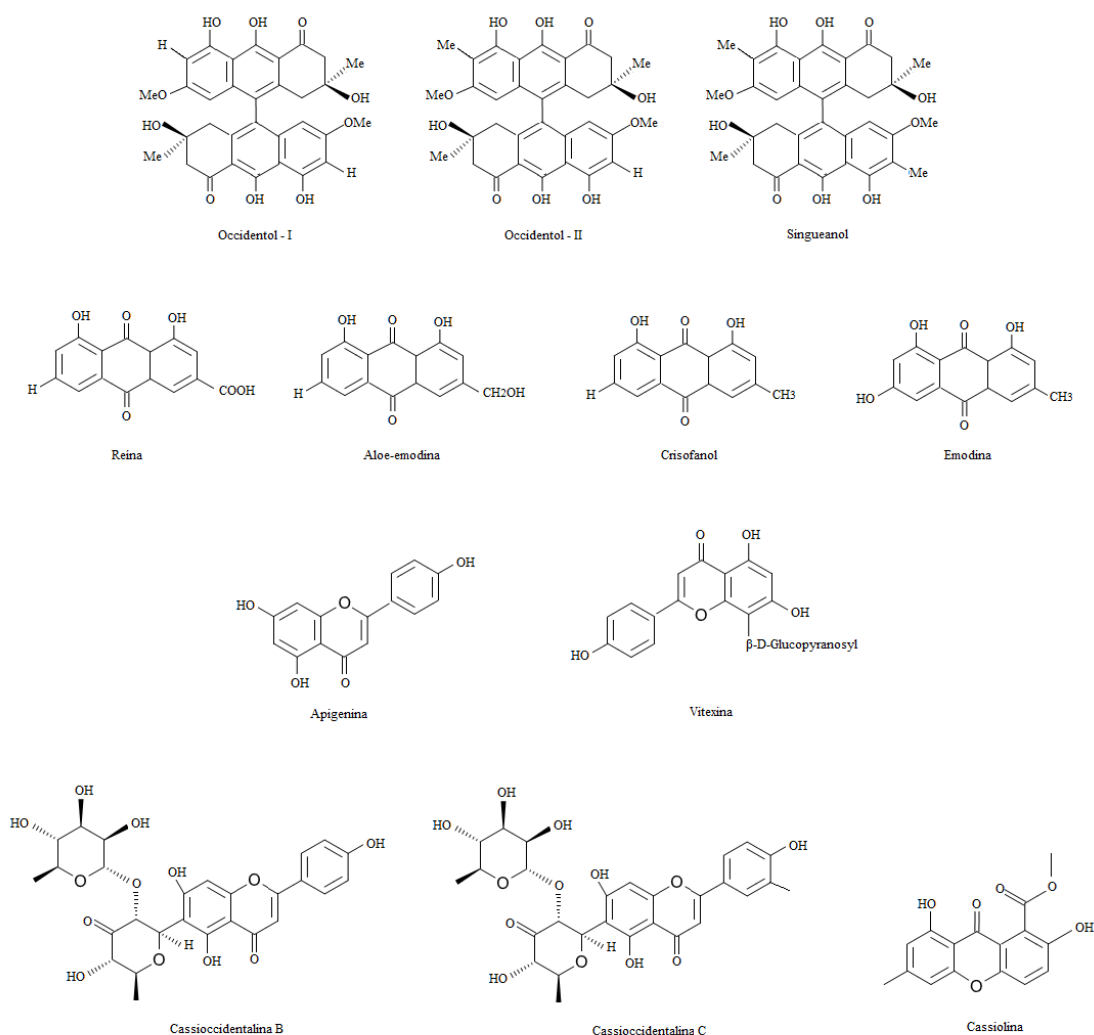
**Tabela 1-** Principais componentes químicos encontrados em *Senna occidentalis*.

| <b>Classe do metabólito</b>  | <b>Nome da substância</b>           | <b>Parte da planta</b>           | <b>Referência</b>                                                                                              |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Quinonas e correlatos</b> | Emodina                             | Sementes, raízes, flores, folhas | Niranjan; Gupta (1973); Rai; Shok (1983); Al-Warhi et al. (2003).                                              |
|                              | Fisciona                            | Sementes, raízes, flores, folhas | Lal; Gupta (1973b); Niranjan; Gupta (1973); Rai; Shok (1983); Duke (1992).                                     |
|                              | Reína                               | Sementes, raízes                 | Rai; Shok (1983); Duke (1992).                                                                                 |
|                              | Helmintosporina                     | Sementes, raízes                 | Duke (1992); Wader; Kudav (1987).                                                                              |
|                              | Crisofanol                          | Sementes, raízes, folhas         | Rai; Shok (1983); Duke (1992).                                                                                 |
|                              | Occidentalol                        | Raízes                           | Kitanaka; Takido (1989).                                                                                       |
|                              | Morfolina                           | Sementes                         | Kim et al. (1971).                                                                                             |
|                              | Crisarobina                         | Sementes                         | Duke (1992).                                                                                                   |
|                              | Biantraquinona                      | Sementes                         | Al-Warhi et al. (2003).                                                                                        |
|                              | Metil-antraquinonas                 | Galhos                           | Al-Warhi et al. (2003).                                                                                        |
| <b>Xantonas</b>              | Glicosídeos antraquinônicos         | Sementes                         | Lal; Gupta (1973a).                                                                                            |
|                              | Cassiolina (pinselina)              | Sementes, raízes                 | Ginde et al. (1970); Wader; Kudav (1987).                                                                      |
|                              | Metilxantona                        | Raízes                           | Wader; Kudav (1987).                                                                                           |
| <b>Flavonoides</b>           | Dichalcona                          | Sementes                         | Al-Warhi et al. (2003).                                                                                        |
|                              | Glicosídeos flavonoídicos           | Folhas, frutos e galhos          | Tiwari; Singh (1977); Singh; Singh (1985); Hatano et al. (1999); Al-Warhi et al. (2003); Purwar et al. (2003). |
|                              | Quercetina                          | Raízes                           | Duke (1992).                                                                                                   |
|                              | Apigenina, vitexina                 | Folhas                           | Yadav et al. (2010)                                                                                            |
|                              | Cirsileneol                         | Galhos                           | Al-Warhi et al. (2003).                                                                                        |
| <b>Taninos</b>               | Ácido tânico                        | Sementes, raízes                 | Duke (1992); Evans; Banso (2002).                                                                              |
| <b>Alcaloides</b>            | Alcaloides                          | Folhas                           | Hussain; Deeni (1991).                                                                                         |
| <b>Saponinas</b>             | Saponinas                           | Folhas, raízes                   | Evans; Banso (2002), Ogunkunle; Ladejobi (2006).                                                               |
| <b>Esteroides</b>            | Sitosterol, campesterol             | Sementes, raízes                 | Rizvi et al. (1971), Lal; Gupta (1973b).                                                                       |
| <b>Ácidos graxos</b>         | Ácido linoleico, oleico e esteárico | Sementes                         | Schmeda-Hirschmann; Arias (1992).                                                                              |
| <b>Óleo essencial</b>        | Óleo essencial                      | Sementes                         | Duke (1992)                                                                                                    |

|                      |                                                                  |          |                                |
|----------------------|------------------------------------------------------------------|----------|--------------------------------|
| <b>Carboidratos</b>  | Mono e polissacarídeos                                           | Sementes | Katiyar; Niranjan (1981)       |
|                      | Galactomanana                                                    | Sementes | Gupta et al. (2005)            |
|                      | Arabnose                                                         | Galhos   | Al-Warhi et al. (2003)         |
| <b>Proteínas</b>     | Toxoalbumina                                                     | Sementes | Moussu (1925)                  |
|                      | Aminoácidos                                                      | Sementes | Katiyar; Niranjan (1981)       |
|                      | Peptídeos                                                        | Sementes | Lombardo et al. (2004a; 2004b) |
| <b>Sais minerais</b> | Cálcio, ferro, magnésio, sódio, potássio, cobre, manganês, zinco | Sementes | Duke (1992)                    |

Fonte: adaptado de Lombardo et al., 2009

Dentre a gama de compostos identificados, destacam-se a emodina, aloe-emodina (Alves, 1965), antronas, apigenina, campesterol, cassiolina, ácido crisofânico, crisofanol, kaempferol, ácido linoleico, matucinol, ácido oleico (Anton; Duquenois, 1968), cassioccidentalina A, cassioccidentalina B e cassioccidentalina C (Hatano et al., 1999), cassiolina (Ginde et al., 1970), quercetina, rhamnosideo, reína, rubrofusarina, sitosterol, taninos e xantonas (Chukwujekwu et al., 2006), senosídeos, vitexina, occidentalol-I, occidentalol-II e singueanol (Yadav Et al., 2010). As estruturas de algumas destas substâncias podem ser observadas na Figura 2.



**Figura 2:** Substâncias isoladas de *Senna occidentalis*.

Fonte: Yadav et al, 2009; Viegas Junior et al., 2006; Lombardo et al., 2009.

Yadav e colaboradores (2010) esclarecem que a quantidade de compostos antracênicos em *S. occidentalis* é bem maior nas sementes do que nas folhas e raízes. As sementes dessa

espécie também são consideradas uma eficiente fonte de carboidratos e proteínas do ponto de vista nutricional, mas neste caso, é preciso levar em consideração a notável atividade laxante comprovada de componentes antraquinônicos, bem como a sua toxicidade quando ingerida *in natura*. Ainda, as sementes de *Senna occidentalis* são ricas em galactomanana, carboidrato que pode substituir as gomas convencionais utilizadas em indústrias farmacêuticas, alimentícias, de papel e outras (Gupta et al., 2005). A contínua identificação de novos metabólitos de *S. occidentalis*, aliada a novos métodos de avaliação farmacológica e biológica tem sido determinante na descoberta de compostos ativos e que apresentem seletividade por determinados alvos biológicos (Viegas Junior et al., 2006).

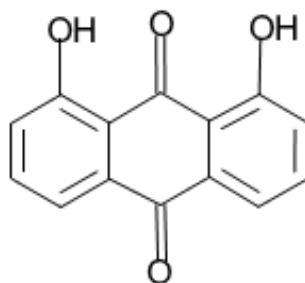
### Aspectos farmacológicos

As espécies do gênero *Senna* são conhecidas na medicina tradicional desde a antiguidade, principalmente por suas atividades purgativas e laxativas, atribuídas à presença de glicosídeos antraquinônicos em sua composição química. Raízes, folhas e sementes de *S. occidentalis* são empregadas no tratamento de diversas enfermidades. No Peru, as raízes de *Senna occidentalis* são utilizadas como diurético e sua decocção é usada para tratar a febre. As sementes são fermentadas em uma bebida e usadas no tratamento da asma, enquanto a infusão da flor é usada no tratamento da bronquite. Os índios da Nicarágua usam a decocção de folhas frescas para dor, dor uterina menstrual e constipação intestinal (Gupta et al., 1979; Chukwujekwu et al., 2006). No Panamá, um chá de folhas é usado para cólicas estomacais e as folhas esmagadas são usadas para preparação de um tipo de cataplasma empregado como anti-inflamatório. Em vários países as folhas secas de fedegoso são esmagadas ou fermentadas em um chá e aplicadas externamente para o tratamento de doenças da pele, feridas, fungos, abscessos e como analgésico e anti-inflamatório. A raiz, fortemente amarga, é usada como antídoto de vários venenos e como abortiva (Di Stasi, 1990; Aragão, 2008).

Pesquisas fitoquímicas e farmacológicas realizadas com *S. occidentalis* sugerem que tal espécie possua atividades anti-inflamatória, antiplaquetária, relaxante muscular, antihemolítica e inibidora da peroxidação lipídica, além de laxativa, purgativa, antibacteriana, hepatoprotetora, antifúngica, antimalárica, contra erisipela e doenças cutâneas (Viegas Junior et al., 2006; Yadav et al., 2010), larvicida (Yang; Lim; Lee, 2003), antireumática, antipirética, antitumoral, expectorante e diurética (Samy; Ignacimuthu; Sen, 1998). Por ser uma planta rica em derivados antraquinônicos, também já foi verificada *in vivo* sua pronunciada ação

catártica, embora inferior à *Senna angustifolia*, o que se mostrou correlacionado ao diferencial teor de antraquinonas (Lombardo et al., 2009).

O extrato das folhas desta espécie consta em uma lista de plantas selecionadas para controle de doenças tropicais devido às indicações em alguns países africanos como antimalárica. Estudos de inibição do crescimento de *Plasmodium falciparum* revelaram a atividade inibitória do extrato em concentrações de 6-600 µg/mL, quando comparado ao cloridrato de quinina. O extrato diclorometânico das folhas apresentou-se capaz de inibir até 81% do desenvolvimento do parasita. É provável que esta atividade antimalárica aconteça devido à presença do composto 1,8-diidroxi-antraquinona (Figura 3) (Tona et al., 1998).



**Figura 3:** Estrutura química da 1,8-diidroxi-antraquinona.  
Fonte: Viegas Junior et al., 2006.

Os testes realizados por Samy, Ignacimuthu e Sen (1998) das frações desse vegetal demonstraram atividade significativa contra *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aerogenes*, em dosagens entre 1000-5000 ppm e utilizando o cloranfenicol (30 µg/disco) como padrão positivo, sendo considerado um potencial antibiótico natural. A capacidade hepatoprotetora deste mesmo extrato foi demonstrada por uma fração rica em antraquinonas e esteroides, obtida por fracionamento em alumina. Esta fração foi administrada em ratos com danos hepáticos induzidos por CCl<sub>4</sub> (tetracloreto de carbono) e foi capaz de reverter significativamente as lesões hepáticas.

Outras pesquisas realizadas com o extrato etanólico comprovaram a atuação de maneira seletiva contra câncer de mama, mostrando uma correlação positiva com a atividade antitumoral (Calderón et al., 2006).

Além do seu emprego na medicina popular, *S. occidentalis* também é frequentemente utilizada como alimento pelas classes pobres da Índia e Sri Lanka, sendo de notável relevância para algumas comunidades tradicionais, principalmente indígenas. Suas sementes, quando macias, apresentam gosto agradável e semelhante ao feijão, quando torradas e moídas,

são usadas para o preparo de uma bebida semelhante ao café, conhecida como café fedegoso ou café do Senegal, sendo utilizada como substituintes do café por algumas populações (Corrêa, 1926).

### Aspectos toxicológicos

Por ser frequentemente encontrada em áreas de pastagem e de cultivo de soja e milho, é quase impossível que *Senna occidentalis* se misture com estes cereais (Lal; Gupta, 1973), culminando na contaminação da safra com suas sementes. Caso não haja uma separação eficiente, as sementes de *S. occidentalis* poderão vir a compor parte do produto final destinado à alimentação humana ou animal (Barros, 1991). Isso constitui uma problemática no âmbito da pecuária, uma vez que vários estudos concluíram que tais sementes para animais de pastagem e criação (bovinos, equinos, caprino, ovinos e suínos), apresentam uma elevada toxicidade (Aragão, 2009).

Várias pesquisas com diferentes animais tal como bois, porcos, cavalos, ovelhas, coelhos, frangos, cabras e ratos, têm demonstrado que a ingestão de grandes quantidades das sementes produz sintomas como ataxia, apatia, diarreia, dispneia, anorexia e morte com degeneração dos músculos esqueléticos e cardíacos (Barbosa-Ferreira et al., 2005). Em vários estudos foi observado que a planta possui efeito acumulativo e que as doses letais variam entre as diferentes espécies animais.

Estudos realizados por Lira, Santos e Silva (2005) em camundongos, utilizando raízes de *S. occidentalis*, demonstraram ausência de efeitos tóxicos com doses de até 500 mg/kg por via intraperitoneal e 1.000 mg/kg por via oral. Os sinais consequentes da intoxicação, tanto de forma natural, como experimental compreendem doença febril, abatimento, tremores musculares, diarreia, mioglobínúria, perda da coordenação motora, adoção do decúbito lateral, culminando em morte do animal.

Acredita-se que a principal classe de substâncias relacionada com esses efeitos tóxicos sejam os glicosídeos antraquinônicos presentes nas espécies do gênero *Senna* e *Cassia*. Supõe-se que estas substâncias promovam alguma alteração mitocondrial, que acarrete em edema e alterações estruturais desta organela. Além disso, seu baixo peso molecular possibilita que atravessem a barreira hematoencefálica e produzam danos ao sistema nervoso central (Ferreira et al., 2005). A planta também contém outros constituintes potencialmente nocivos, como alguns derivados antraquinônicos de forte ação catártica e um alcaloide volátil e termolábil (Nadal, 2003). Segundo Gonzáles, Buotolo e Silva (1994), o teor de componentes

tóxicos, assim como farmacológicos, pode variar de acordo com as condições ambientais e de solo as quais a planta é submetida.

A miopatia característica da intoxicação pelas sementes de *Senna occidentalis* se dá devido à ligação das toxinas ao músculo esquelético, causando injúria. A atrofia muscular, por sua vez, decorre de interrupções no funcionamento dos nervos motores periféricos. Em alguns casos essas substâncias podem induzir a ocorrência de necrose muscular devido ao aumento dramático da atividade neuromotora, ou por permitir que quantidades significativas de acetilcolina se acumulem na junção mioneural (Jones; Hunt; King, 2000). As lesões macroscópicas são áreas pálidas pouco definidas, mas dependendo da quantidade de planta ingerida, essa necrose pode ser intensa ao ponto de produzir mioglobinúria. Histologicamente há necrose segmentar de miofibras sem mineralização (Carlton; McGavin, 1998).

No miocárdio, verifica-se degeneração vacuolar, com desorganização da estrutura muscular. O tecido hepático mostra degeneração vacuolar de hepatócitos próximos à veia hepático-terminal (Górniak, 2008). Bioquimicamente, há elevação sérica acentuada dos níveis de creatina cinase (CK), aspartato aminotransaminase (AST) e gamaglutamil transferase (GGT) (González; Butolo; Silva, 1994). No rim observa-se vacuolização do epitélio dos túbulos contorcidos, enquanto no sistema nervoso central pode haver o aparecimento de vacuolizações axonais (Górniak, 2008).

Sabe-se que as espécies deste gênero são comumente empregadas e comercializadas no mercado como laxativas, entretanto, seu uso indiscriminado pode levar o indivíduo a desenvolver um quadro de sintomas tóxicos caracterizado por náuseas, vômitos, cólicas abdominais, acentuada diarreia, acompanhado de distúrbios hidroeletrolíticos em casos graves, todas estas reações relacionadas com os efeitos dos glicosídeos antraquinônicos. As espécies usadas para essa finalidade devem ser consumidas com cuidado, especialmente por crianças (Aragão, 2008; Di Stasi; Hiruma-Lima, 2002).

Além disso, há relatos que em algumas comunidades rurais da Índia, a ingestão de sementes da planta por crianças ocasionou o desenvolvimento de uma doença grave e altamente fatal, caracterizada por alterações nervosas, lesões degenerativas do fígado e dos músculos esqueléticos (Pawar; Kumar, 2008).

Os estudos realizados por Medoua e Mbofung (2007), colocam que as sementes ingeridas após processo de torrefação não apresentam efeitos tóxicos. Muito utilizada para o preparo de um tipo de café de sabor semelhante ao café original, a torrefação pode eliminar o fator tóxico presente nas sementes, além da água, usada como solvente para obtenção da bebida, não possuir capacidade extrativa suficiente para retirar a substância tóxica da planta.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações descritas na literatura permitem constatar que espécies do gênero *Senna* possuem um rico histórico de uso popular em várias regiões, sendo algumas de suas ações farmacológicas, como laxativa, purgativa, hepatoprotetora, antimalárica e anti-inflamatória, comprovadas em uma pluralidade de estudos científicos. Tais ações são atribuídas principalmente às antraquinonas e flavonoides presentes em sua composição.

Além de seu emprego na terapêutica, *Senna occidentalis* possui uma notável relevância do ponto de vista nutricional para algumas comunidades tradicionais indígenas e africanas, pois suas sementes são uma eficiente fonte de carboidratos e proteínas. Contudo, deve ser levada em consideração sua intensa ação laxativa, bem como sua toxicidade.

Por apresentar distribuição ubíqua em regiões de clima tropical e subtropical e pelo histórico do seu emprego na medicina tradicional, *Senna occidentalis* torna-se um interessante alvo de pesquisas envolvendo o lançamento de medicamentos no mercado a partir do aproveitamento sustentável dos recursos da flora nacional. Contudo, para tal, é necessário que sejam realizados estudos multidisciplinares de cunho científico, que envolvem desde o ponto de vista fitoquímico, a relação entre a estrutura, atividade e mecanismos de ação dos princípios ativos, estudos toxicológicos, operação de formulações para a produção de fitoterápicos e finalmente, o desenvolvimento de métodos analíticos para controle de qualidade destes produtos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste projeto.

## REFERÊNCIAS

- Al-Warhi TL, Al-Hazimi HM, Hussain, SA. Chemical constituents of branches and seeds of *Cassia occidentalis*. J Saudi Chem Soc, 2003; 7(3): 423-442.
- Alves AC. Pharmacological study of the root of *Cassia occidentalis*. Anals Fac Farm Porto, 1965, 24: 65-119.
- Anton R, Duquenois P. L'emploi des *Cassia* dans les pays tropicaux et subtropicaux examine d'apres quelquesunsdes constutiants chimiques de ces plantes medicinales. Plantes Med Phytother, 1968, 2: 255-268.

Aragão TP. *Cassia Virgínica*<sup>®</sup> (*Cassia occidentalis* L.): abordagem farmacológica e toxicológica. [Dissertação]. Recife: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, 2008.

Barbosa-Ferreira M, Dagli MLZ, Maiorka PC, Górnaiak SL. Sub-acute intoxication by *Senna occidentalis* seeds in rats. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43: 497-503.

Barros CSL. Intoxicação por plantas que afetam o sistema muscular – intoxicação por *Senna occidentalis*. In: Riet-Correa, F.; Mendez, M. C.; Schild, a. I. Il. (Ed.). Intoxicação por plantas e micotoxicoses em animais domésticos. Pelotas: Hemisfério Sul do Brasil, 1991, p. 201-233.

Bortoluzzi RLC, Biondo E, Miotto STS, Schifino-Witmann MT. Abordagens taxonômicas e citogenéticas em Leguminosae-Caesalpinioideae na Região Sul do Brasil. *Rev Bras Bioc*, 2007, 5(2): 339-341.

Calderón A I, Vázquez Y, Solís PN, Caballero-George C, Zacchino S, Gimenez A, Pinzón R, Cáceres A, Tamayo G, Corrêa M, Gupta MP. Screening of Latin American plants for cytotoxic activity. *Pharm Biol*. 2006, 44(2): 130-140.

Cândido ACS 2007. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Leguminosae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório e em casa de vegetação. Campo Grande. 99p. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Cañigüeral S, Dellacassa E, Bandoni AL. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? *Acta Farm Bon*. 2003, 22(3): 265-278.

Carlton WW, Mc Gavin MD. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. Tradução: C. S. L Barros. 2.ed. Porto Alegre: Art Med 1998.

Chukwujekwu JC, Coombes PH, Mulholland DA, Van Staden J. Emodin, an antibacterial anthraquinone from the roots of *Cassia occidentalis*. *S Afr J Bot*, 2006, 72: 295-297.

Côrrea MP. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. Serviço de Informação Agrícola, 1926. v. III.

Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002.

Duke JA. Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants. Boca Raton: CRC Press. 1992.

Evans CE, Banso AO. Efficacy of some Nupe medicinal plants against *Salmonella typhi*: an *in vitro* study. *J of Ethnopharmacol*, 2002, 80: 21-24.

Fowler JAP, Carpanezzi AA. Quebra da dormência tegumentar de sementes de Fedegoso. Embrapa – florestas: Comunicado técnico, n.15, 1997.

Ginde BS, Hosangadi BD, Kudav NA, Nayak KV, Kulkarni AB. Chemical investigations on *Cassia occidentalis*. I. Isolation and structure of cassiolin, a new xanthone. J Chem Soc. 1970, 5(9): 1285-1289.

Gonzáles E, Butolo JE, Silva RDM, Packer UI, Silva JML. Toxicidade de sementes de fedegoso (*Cassia occidentalis* L.) para frangos de corte. Sci Agric. 1994, 51(1): 169-74.

Górniak SL. Plantas tóxicas de interesse agropecuário. In.; Spinosa HS, Górniak SL, Paterno-Neto J. Toxicologia aplicada à Medicina veterinária. 1 ed. Barueri: Manole, 2008, cap 15, p.415-458.

Gupta D, Singh J. Flavonoid Glycosides from *Cassia alata*. Phytochem, 1991, 30: (8), 2761-2763.

Gupta MP, Arias TD, Correa M, Lamba SS. Ethnopharmacognostic observations on Panamanian Medicinal Plants. Part I. Pharmaceutical Biology, 1979, 17.

Gupta S, Sharma P, Soni PL. Chemical modification of *Cassia occidentalis* seed gum: carbamoylethylation. Carbohydr Polym, 2005, 59: 501-506.

Hatano T, Mizuta S, Ito H, Yoshida T. C-glycosidic flavonoids from *Cassia occidentalis*. Phytochem, 1999, 52: 265-271.

Hussain HSN, Deeni YY. Plants in Kano ethnomedicine: screening for antimicrobial activity and alkaloids. Int J Pharm. 1991, 29(1): 51-56.

Irwin HS.; Barneby RC. **The American Cassiinae, a synoptical revision of Leguminosae, Tribo Cassieae, subtribo Cassiinae in the New World.** New York Botanical Gardens, 1982, 35(1-2): 1-918.

Jones TC, Hunt RD, King NW. **Patologia Veterinária.** Tradução: F. G. do Nascimento, Baueri: Manole 2000.

Katiyar SK. Niranjana GS. Studies on carbohydrates and amino acids of some non-cultivated leguminous seeds. J Indian Chem Soc., 1981, 58(1): 98-100.

Kim HL, Camp BJ, Grigsby RD. Isolation of n-methylmorpholine from the seeds of *Cassia occidentalis* (*Coffee Senna*). J Agric Food Chem., 1971, 19(1): 198-199.

Kissmann KG, Groth D. **Plantas infestantes e nocivas.** Tomo II – 2ed. São Paulo: BASF, 1999.

Kitanaka S, Takido M. Two new bitetrahydroanthracenes from roots of *Cassia occidentalis* L. Chem Pharm Bull, 1989, 37(2): 511-512.

Lal J, Gupta PC. Anthraquinone glycoside from the seeds of *Cassia occidentalis* Linn. Cell Mol Life Sci, 1973a, 29(2):141-142.

Lal J, Gupta PC. Phytosterol and Phytoscion from Roots of *Cassia occidentalis*. Phytochem, 1973b, 12(5): 1186.

- Lima HC. Leguminosas da Flora Fluminensis – J.M. Da C. Vellozo – Lista atualizada das espécies arbóreas. *Acta Bot Bra*, 1995, 9(1): 123-146.
- Lira E C, Santos VL, Silva JA. Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato bruto da raiz *Cassia occidentalis* L. (Mangerioba). *Rev Bras Farm*, 2005, 86: 53-56.
- Lombardo M, Ikuno A.; Baldassi L, Ferreira VCA.; Kiyota, S. Evaluation of protein fractions from *Senna occidentalis* seeds extracts for cytotoxic, antiviral and antibacterial activities. *Virus Rev Res*, 2004a, 9(2): 61-68.
- Lombardo M, Ikuno AA, Ferreira VCA, Kiyota S. Cytotoxicity and antiviral activities of protein or peptide toxins present in the purification products of active protein fraction from *Senna occidentalis* seeds extracts. *Arq Inst Biol*, 2004b, 71: 466-469.
- Lombardo M, Kiyota S, Kaneko TM. Aspectos étnicos, biológicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae). *Rev Ciênc Farm Básica Apl*, 2009, 30: 9-17.
- Lorenzi H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000.
- Medoua GN, Mbofung CMF. Kinetics studies of some physico-chemical substances during roasting and preparation of beverage made by *Cassia occidentalis* seeds. *LWT-Food Sci Technol*, 2007, 40: 730-736.
- Moussu R. L'intoxication par les graines de *Cassia occidentalis* L. est due a une tox-albumine. *C R Seances Soc Biol Fil*, 1925, 92: 862-863.
- Nada SR, Calor, EE, Manzione CR, Puga FR, Perez NM. Effects of long-term administration of *Senna occidentalis* seeds in the large bowel of rats. *Pathology Research and Practice*, 2003, 199(11): 733-737.
- Niranjan G.S, Gupta PC. Chemical constituents of the flowers of *Cassia occidentalis*. *Planta Med*, 1973, 23(3): 298-30.
- Ogundipe OT, Kadiri AB, Adekanmbi OH. Foliar epidermal morphology of some Nigerian species of *Senna* (Caesalpiniaceae). *Indian J of Sci Tech*, 2009, 10 (2): 5-9.
- Ogunkunle ATJ, Ladejobi TA. Ethnobotanical and phytochemical studies on some species of *Senna* in Nigeria. *Afr J Biotechnol*, 2006, 5(21): 2020-2023.
- Panwar RS, Kumar N. *Cassia occidentalis* toxicity causes recurrent outbreaks of brain disease in children in Saharanpur. *Indian J Med Res*, 2008, 127: 413-414.
- Purwar C, Rai R.; Srivastana N, Singh J. New flavonoid glycosides from *Cassia occidentalis*. *Indian J Chem, Sect B*, 42(2): 434-436.
- Rai PP, Shok M. Anthraquinoneglycosides from plant parts of *Cassia occidentalis*. *Indian J Pharm Sci*, 1983, 45(2): 87-88.

Rizvi AS, Lal J, Gupta PC. Examination of a phytosterolin and a sterol from *Cassia* plants. *Phytochem*, 1971, 10: 670.

Rodrigues IMC. Histoquímica e prospecção de compostos produzidos por *Senna alata* (L.) Roxb. com potencial atividade alelopática. [Dissertação]. 2008. Viçosa: Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa, 2008.

Rodrigues RS, Flores AS, Miotto STS, Baptista LRM. O gênero *Senna* (Leguminosae-Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Bot Bras*, 2005. 19(1): 1-6.

Saheed SA, Illoh HC. A Taxonomic Study of some Species in *Cassiinae* (Leguminosae) using Leaf Epidermal Characters. *Not. Bot. Hort. Agrobot Cluj*, 2010, 38 (1): 21-27.

Samy RP, Ignacimuthu S, Sen A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *J Ethnopharmacol*. 1998, 62:173-181.

Schmeda-Hirschmann, G.; Arias, A. R. A screening method for natural products on triatomine bugs. *Phytother Res*, 1992, 6(2): 68-73.

Silva FO, Oliveira IR, Silva MGV, Braz-Filho R. Constituintes químicos das folhas de *Senna spectabilis* (DC) Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) Irwin & Barneby. *Quím Nova*, 2010, 33 (9): 1874-1876.

Silva MR. Análise da distribuição de alcalóides piridínicos em diferentes fases fenológicas de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. [Tese] 2011. São Paulo: Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, 2011.

Singh M, Singh J. Two flavonoids glycosides from *C. occidentalis* pods. *Planta Med*, 1985, 6: 1525-1526.

Souza LAG. Levantamento da habilidade nodulífera e fixação simbiótica de N<sub>2</sub> nas Fabaceae da região amazônica. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, 2010, 6(10): 1-11.

Tiwari RD, Singh J. Anthraquinone Pigments from *Cassia occidentalis*. *Planta Medica*, 1977, 32(4): 375-377.

Tona L, Ngimbi NP, Tsakala M., Mesia K.; Cimanga K.; Apers SS, Bruyne, T. D.; Pieters L, Totté J, Vlietinck AJ. Antimalarial activity of 20 crude extracts from nine African medicinal plants used in Kinshasa Congo. *J Ethnopharmacol*, 1999, 68: 193.

Viegas-Junior C, Rezende A, Silva DHS, Castro-Gamboa, I, Bolzani VS, Barreiro EJ, Miranda ALP, Alexandre-Moreira MS, Young MCM. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. *Quím Nova*, 2006, 29(6): 1-8.

Yadav JP, Arya V, Yadav S, Panghal M, Kumar S, Dhankhar S. *Cassia occidentalis* L.: A review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profil. *Fitoterapia*, 2010, 81: 223-230.

Yang YC, Lim MY, Lee. Emodin isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) seed shows larvicidal activity against three mosquito species. J Agric Food Chem, 2003, 51: 7629-7631.

Wader GR., Kudav NA. A chemical investigation of *Cassia occidentalis* Linn. with special reference to isolation of xanthenes from *Cassia* species. Indian J. Chem. Sect. B. Org. Chem. Incl Med Chem, 1987, 26(7): 703.

## ***Capítulo II***

---

*Vanessa da Silva Luna*

## 4 CAPÍTULO II

**Anatomia e histoquímica de *Senna occidentalis* Link (Fabaceae).  
Anatomy and histochemistry of *Senna occidentalis* Link (Fabaceae).**

***Vanessa S. Luna<sup>1</sup>, Waleska F. Leão<sup>2</sup>, Asaph A. S. C. O. Santana<sup>2</sup>, Magda R. A. Ferreira<sup>1</sup>,  
Luiz Alberto L. Soares<sup>1, 2</sup>, Karina P. Randau<sup>1, 2\*</sup>***

*<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de  
Pernambuco, CEP 50670-901, Recife, Brasil*

*<sup>2</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco,  
CEP 50740-521, Recife, Brasil*

Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia

\*Correspondência: Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE,  
Rua Prof. Artur de Sá, s/n; Cidade Universitária; Recife-PE; CEP: 50740-521  
Tel.: +55 81 2126-8511; Fax: +55 812126-8510  
E-mail: [krandau@hotmail.com](mailto:krandau@hotmail.com)

*Vanessa da Silva Luna*

**RESUMO:** *Senna occidentalis* Link (Fabaceae) é um arbusto leguminoso conhecido como “fedegoso”, de ocorrência em regiões tropicais, incluindo todo o território brasileiro, destacando-se por sua ação laxativa e hepatoprotetora. Apesar de relatos na literatura sobre morfologia e anatomia de espécies leguminosas, poucos são específicos para *S. occidentalis*. O presente trabalho teve como objetivo realizar a descrição anatômica e histoquímica de *S. occidentalis*, de modo a oferecer subsídios para o controle de qualidade botânico desta espécie. O material foi coletado em Recife (PE) e as folhas fixadas em FAA 50; lâminas histológicas semipermanentes foram preparadas conforme os procedimentos usuais em anatomia vegetal. Os resultados revelaram uma característica anatômica de grande utilidade na diferenciação de *S. occidentalis* das demais espécies de *Senna*, que é a presença de tricomas glandulares, bem como não glandulares curtos, em forma de espinhos, restritos à face abaxial. O folíolo foi caracterizado como anfiestomático, observando-se estômatos do tipo paracítico, com ocorrência de poucos anisocíticos. Foram observados cristais de oxalato de cálcio, bem como amiloplastos em abundância na raiz e no caule da espécie. Os testes histoquímicos confirmaram a presença de compostos polifenólicos, flavonoides e antraquinonas, característica marcante deste gênero. Desse modo, os estudos botânicos vigoram como importante ferramenta que corroboram para o estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade das drogas vegetais.

**Palavras-chave:** *Senna occidentalis*. *Senna*. Anatomia. Histoquímica.

**ABSTRACT:** *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae) is a leguminous bush known as “fedegoso” with occurrence in tropical and subtropical regions, including all the Brazilian territory, notable by its laxative and hepatoprotective properties. Despite reports in the literature about morphology and anatomy of the Leguminosae species, few are specific for *S. occidentalis*. This study aims to perform the anatomical and histochemical description of *S. occidentalis* leaves, in order to offer subsidies for the botanical quality control of this species. Samples were collected at Recife, in Pernambuco State, Brazil and the leaves fixed in FAA50; semipermanent slides were made, following usual procedures in plant anatomy. The results showed anatomic features that are helpful in the identification of *S. occidentalis* among the other species of *Senna*, which is the presence of glandular trichomes and short, shaped spines non-glandular trichomes, restricted to the abaxial surface. The leaflet was characterized as anfiestomatic, observing paracitic stomata, occurring a few anisocytic. Were observed calcium oxalate crystals and amyloplasts in abundance in the root and stem of the species.

Histochemical tests confirmed the presence of polyphenolic compounds, flavonoids and anthraquinones, striking characteristic of this genus. Thus, the botanical studies are important resource which serves to support the establishment of parameters for quality control of herbal drugs.

**Keywords:** *Senna occidentalis*. *Senna*. Anatomy. Histochemical study.

## Introdução

A família Fabaceae (Leguminosae) compreende a terceira maior dentre as angiospermas, com cerca de 730 gêneros que somam mais de 19.000 espécies, sendo classificada em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. As leguminosas possuem distribuição cosmopolita, graças a sua capacidade de adaptação tanto a climas tropicais quanto subtropicais, sendo menos frequentes em regiões temperadas, podendo ser observadas na maioria dos ecossistemas naturais brasileiros, ocorrendo aproximadamente 188 gêneros e cerca de 2.100 espécies (Lima, 2000; Joly, 2002).

Dentro da subfamília Caesalpinioideae, os gêneros *Cassia* e *Senna* contam com o maior número de espécies distribuídas pelo território brasileiro (Joly, 2002). Fonte de compostos de natureza antraquinônica com diversas propriedades biológicas e farmacológicas (Silva et al., 2010), o gênero *Senna* desperta grande interesse, principalmente pelos estudo acerca de suas atividades laxativa, hepatoprotetora, antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória, antioxidante, antipirética, analgésica e antimalárica (Viegas Junior, 2006; Silva et al., 2010).

*Senna occidentalis* Link é uma espécie conhecida na cultura popular como fedegoso, manjerioba ou mata-pasto, podendo ser encontrada praticamente em todo o território brasileiro, sendo uma frequente invasora de áreas de pastagem, pomares e terrenos baldios (Lorenzi, 2002). Os estudos químicos realizados sobre *S. occidentalis* relatam o isolamento e identificação de vários constituintes em diversas partes da planta, sendo os das classes das antraquinonas e flavonoides os mais encontrados. Além do uso para fins terapêuticos, os quais incluem anti-inflamatório, diurético, antifebril, analgésico, protetor hepático e laxativo, *S. occidentalis* também é frequentemente utilizada como alimento por algumas comunidades tradicionais indígenas, da Índia e Sri Lanka (Corrêa, 1926; Gupta et al., 1989; Aragão, 2008).

O conhecimento das características anatômicas é essencial para o controle de qualidade botânico das matérias primas vegetais, especialmente por auxiliar na comprovação

da autenticidade e na diferenciação de espécies botanicamente próximas. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar a descrição anatômica e histoquímica de *Senna occidentalis*, de modo a oferecer subsídios para o controle de qualidade desta espécie.

## **Materiais e Métodos**

### *Material vegetal*

O material vegetal foi coletado em setembro de 2011 na região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil (08°04'03" S; 34°55'00" O, 4 metros). A exsiccata do material foi depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA-PE), sob o número 87.030.

### *Ensaaios*

As amostras do caule, raiz e folhas foram fixadas em solução conservante de FAA 50 e subsequentemente lâminas histológicas semipermanentes foram preparadas, contendo secções transversais, paradérmicas e longitudinais do material previamente preparado conforme os procedimentos anatômicos padrões para plantas (Sass, 1951; Johansen, 1940).

As secções foram obtidas à mão livre com lâmina de aço e utilizando como material de apoio a medula do pecíolo da embaúba (*Cecropia sp.*). Os cortes foram clarificados com solução de hipoclorito de sódio a 30% (v/v) e corados com Safranina e azul de Astra (Johansen, 1940).

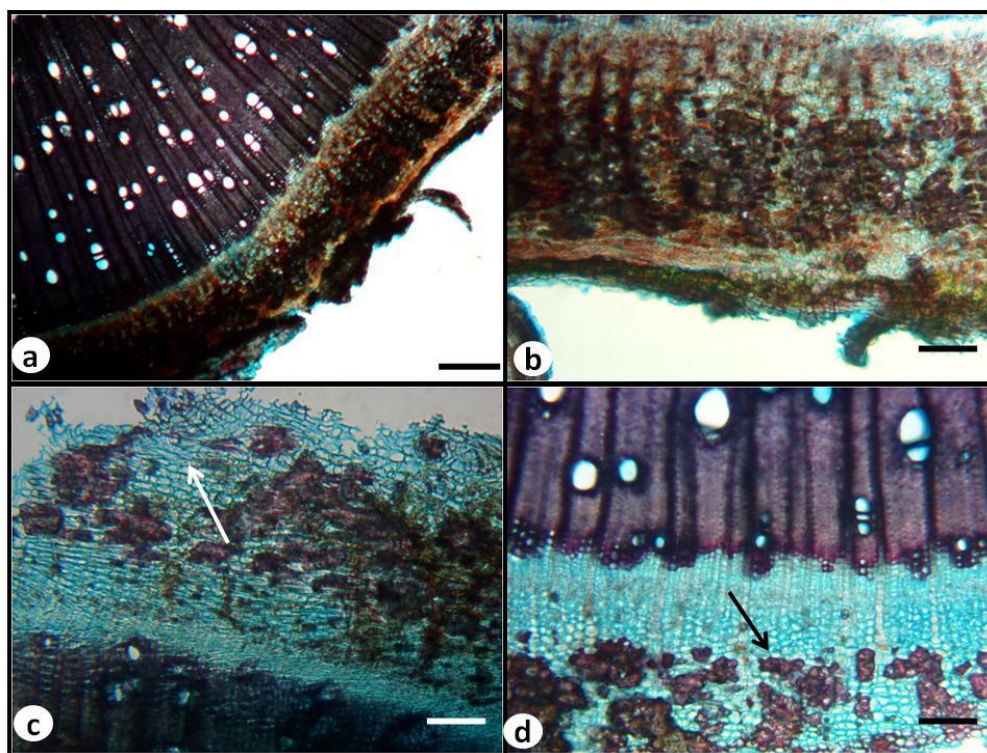
Em paralelo, foram realizados testes histoquímicos do material fresco: Sudan III, para evidenciação de compostos de natureza lipídica (SASS, 1951), cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen, 1940), lugol para grãos de amido (Johansen, 1940), vanilina clorídrica para taninos (Mace; Howell, 1974), hidróxido de sódio para antraquinonas e cloreto de alumínio para flavonoides.

As análises foram realizadas em imagens digitais capturadas por microscópio óptico (Alton), acoplado a câmara digital (UCMO S05 100KPA).

## **Resultados**

### Descrição anatômica da raiz

É possível observar com base na secção transversal da raiz de *Senna occidentalis* uma periderme pouco desenvolvida, com células de formato achatado e com poucas células suberificadas. O parênquima cortical é bastante lignificado, formado por células de tamanho e forma variada, bem como grandes quantidades de fibras esclerenquimáticas agrupadas de forma descontínua. Na região floemática, observam-se alguns idioblastos contendo cristais prismáticos e amiloplastos. O xilema é bem desenvolvido e organizado de forma radial, com elementos de vaso agrupados ou isolados.



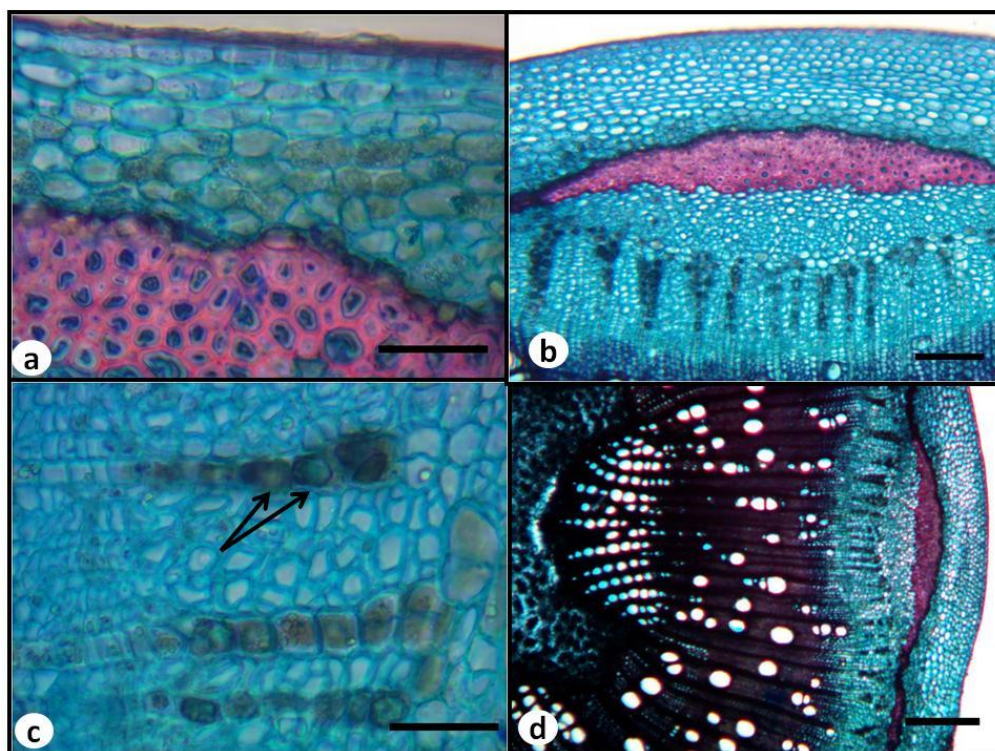
**Figura 1-** *Senna occidentalis* Link: Corte transversal da raiz a. Parênquima e xilema, b-c. Periderme com células suberificadas, d. Fibras esclerenquimáticas agrupadas descontinuamente. Barras: a = 300  $\mu$ m, b, c, d = 100  $\mu$ m.

### Descrição anatômica do caule

A secção transversal do caule de *Senna occidentalis* permitiu visualizar a epiderme unisseriada, com células de formato ligeiramente achatadas, sobre as quais se deposita uma cutícula espessa; o colênquima é do tipo lacunar, composto por 4-6 camadas de células. Na região cortical, encontram-se células parenquimáticas de forma e tamanho irregulares,

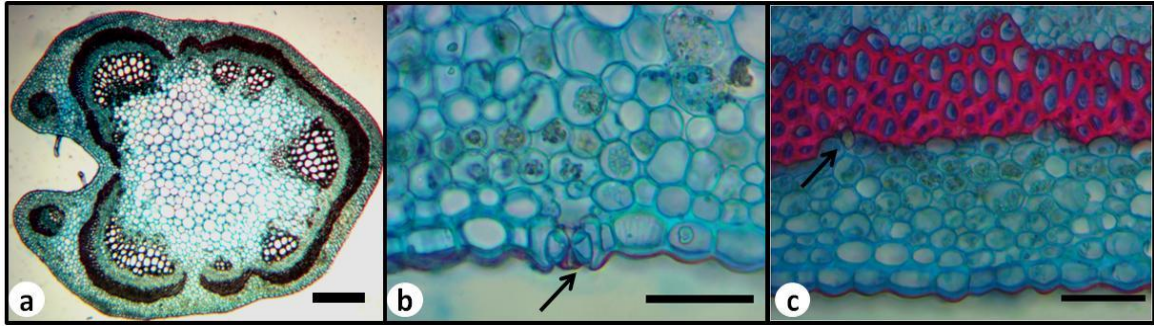
geralmente alongadas, e além da presença de grande quantidade de amiloplastos, também uma bainha de células esclerenquimáticas, dispostas de forma contínua. O caule é desprovido de periderme.

O sistema vascular radial é formado por elementos de vaso agrupados em dupla ou em trio de poros. Grãos de amido e idioblastos contendo cristais prismáticos em abundância foram observados na região do floema. A região medular é constituída por grandes células de contorno circular com paredes delgadas, contendo numerosos amiloplastos.



**Figura 2-** *Senna occidentalis* Link: Corte transversal do caule a. Cutícula espessa, células epidérmicas achatadas e grãos de amido em abundância, b. Feixe esclerenquimático contínuo no parênquima cortical, c. Cristais prismáticos no floema (setas), d. Floema e região medular com abundância de amiloplastos. Barras: a, c = 50  $\mu$ m, b = 100  $\mu$ m, d = 300  $\mu$ m.

A epiderme da raqui em secção transversal é constituída por células epiteliais unisseriadas, de aspecto arredondado e revestidas por uma cutícula espessa. Observam-se estômatos inseridos ao mesmo nível da epiderme, assim como tricomas tectores. As células parenquimáticas são arredondadas, heterodimensionais, com grãos de amido em abundância e alguns cristais prismáticos. Assim como no caule, é observada uma banda contínua de células esclerenquimáticas. Observam-se ainda dois feixes vasculares de menor calibre localizados na região do parênquima cortical (Figura 3).



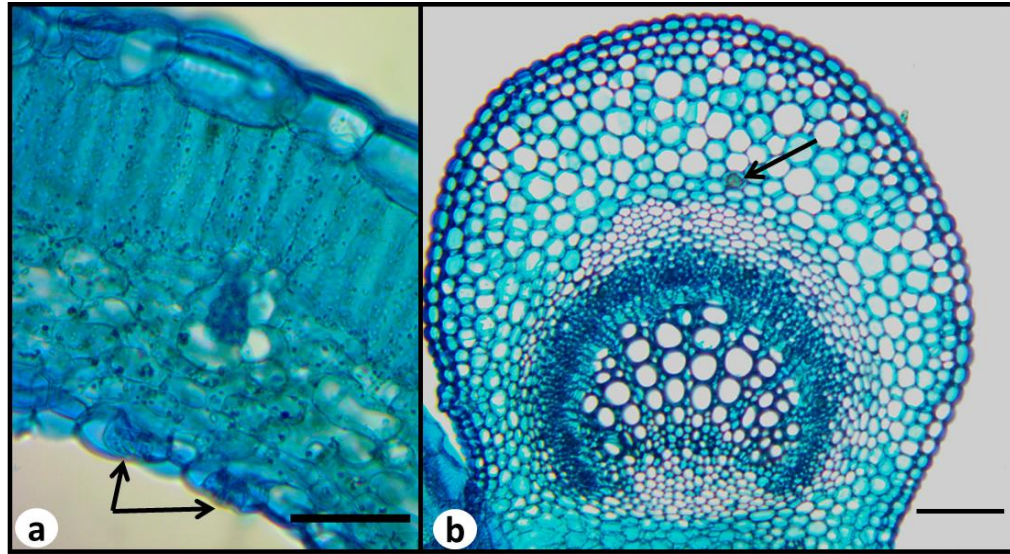
**Figura 3-** *Senna occidentalis* Link: Corte transversal da raqui a. Feixes vasculares isolados, tricomas tectores, b. Estômato inserido ao nível da epiderme (seta), amiloplastos no parênquima, c. Bainha esclerenquimática e cristal prismático (seta). Barras: a = 300 µm, b, c = 50 µm.

#### *Descrição anatômica da folha*

Em secção transversal, os folíolos de *S. occidentalis* apresentam células epidérmicas uniestratificadas em ambas as faces, revestidas por espessa cutícula; as células da face adaxial são maiores e mais alongadas do que as da face abaxial. Os estômatos são encontrados inseridos no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figura 4a).

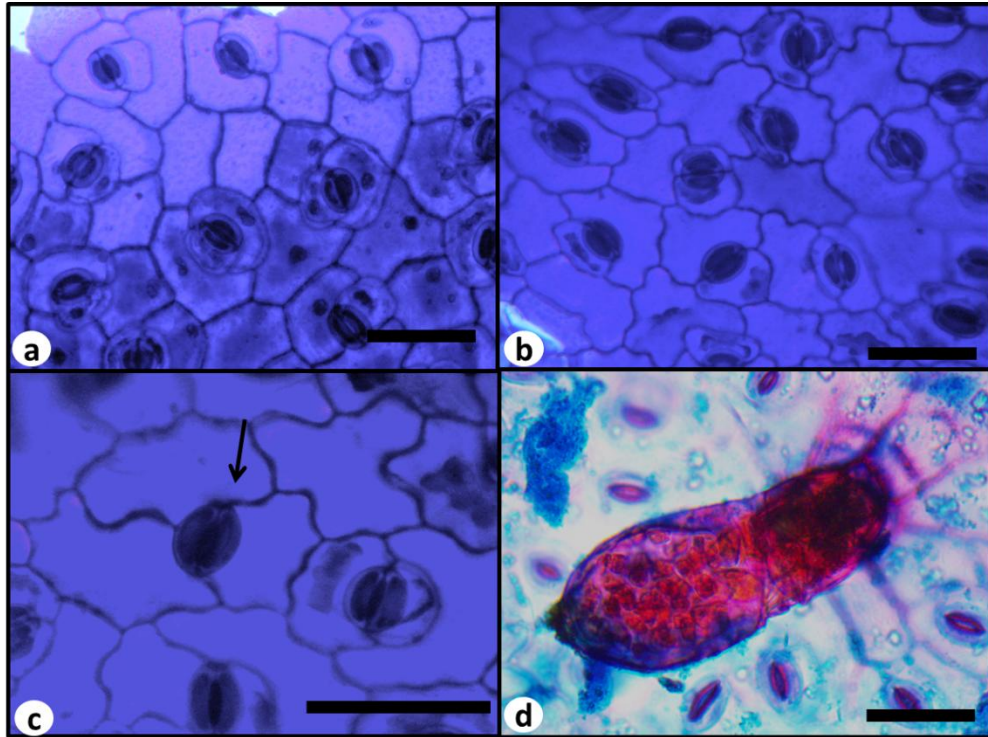
O mesofilo possui organização dorsiventral, com parênquima paliçádico composto por um único estrato de células alongadas e sem espaços intercelulares (Figura 4a). O parênquima lacunoso ocupa a metade inferior do mesofilo, multisseriado, com cerca de cinco camadas de células que variam em forma e tamanho (Figura 4a).

A nervura central apresenta-se côncavo-convexa (Figura 4b). Abaixo da epiderme, encontra-se o colênquima do tipo lamelar, com células arredondadas, de tamanhos variáveis. Apresenta seis a oito camadas de parênquima fundamental. Ainda nesta região, foram observadas drusas de oxalato de cálcio, bem como no floema (Figura 4b). O sistema vascular é envolto por uma bainha de parênquima paravenal formada por aproximadamente de uma a seis camadas de células. O feixe vascular é do tipo colateral aberto (Figura 4b).

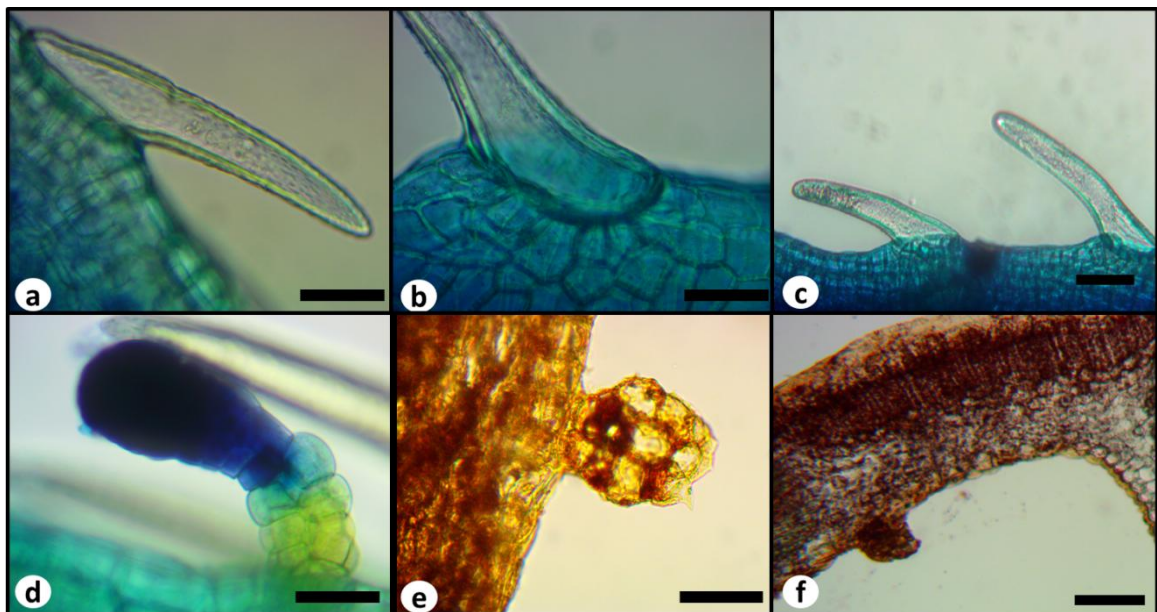


**Figura 4-** *Senna occidentalis* Link: Corte transversal do folíolo a. Faces adaxial, abaxial e os estômatos inseridos ao mesmo nível da epiderme (setas), b. Nervura central com destaque para as drusas (seta). Barras: a = 50  $\mu\text{m}$ , b = 100  $\mu\text{m}$ .

Na secção paradérmica, observou-se predominância de estômatos paracíticos, com ocorrência rara de anisocíticos, distribuídos em ambas às faces do folíolo (Figura 5a-c), caracterizando-o como anfiestomático. Tricomas glandulares claviformes (Figura 5d e Figura 6e) e tricomas não glandulares curtos em forma de espinho (Figura 6f) foram observados apenas na face abaxial. A secção longitudinal da borda do folíolo permitiu observar tricomas claviformes glandulares, bem como tricomas tectores unicelulares (Figura 6a-d).



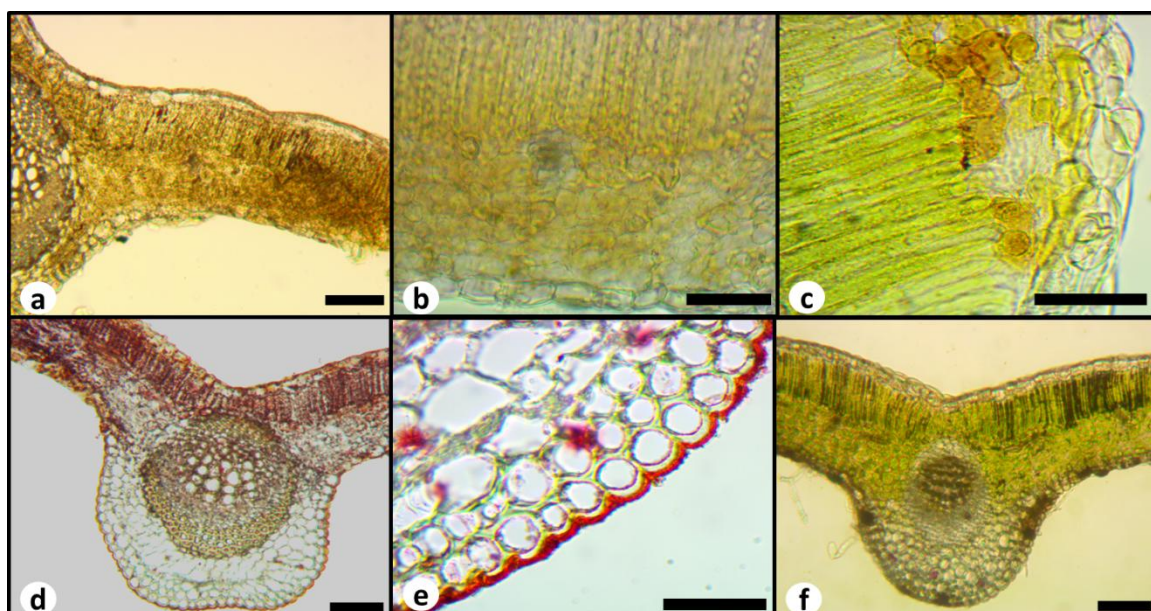
**Figura 5-** *Senna occidentalis* Link: Corte paradérmico do folíolo a. Estômatos paracíticos distribuídos pela face adaxial e b. Face abaxial, c. Estômatos anisocíticos (seta) na face abaxial, d. Tricoma glandular na face abaxial. Barras: a-d = 50 µm.



**Figura 6-** *Senna occidentalis* Link: Corte longitudinal da borda do folíolo a-c. Tricomas tectores e área de inserção do tricoma, d. Tricoma glandular claviforme e não glandular; Corte transversal e. Tricoma glandular claviforme, f. Tricoma em forma de espinho na face abaxial. Barras: a, b, d, e = 50 µm, c, f = 100 µm.

### Descrição histoquímica dos folíolos

Os testes histoquímicos indicaram a presença de lipídio, compostos fenólicos, flavonoides e antraquinonas nos folíolos de *S. occidentalis*. Compostos fenólicos foram encontrados nas células do parênquima paliçádico (Figura 7a). Flavonoides foram observados nas células do parênquima paliçádico e lacunoso (Figura 7b). Antraquinonas se mostraram presentes na epiderme abaxial e nas proximidades do parênquima paliçádico (Figura 7c). As gotículas de lipídios foram marcadas com Sudam III nas células parenquimáticas e na epiderme (Figura 7d-e); a ausência de cor foi realizada para fins de controle (Figura 7f).



**Figura 7-** Folíolo de *Senna occidentalis* Link: histoquímica. a. Polifenóis nas células do parênquima paliçádico e lacunoso, b. Flavonoides nas células parenquimáticas do mesófilo, c. Antraquinonas nas células do parênquima lacunoso, d-e: Lipídios na cutícula, na epiderme e nas células parenquimáticas, f: Controle. Barras: a, d, f = 100 µm; b, c, e = 50 µm.

### Discussão

Cristais de oxalato de cálcio semelhantes aos encontrados na região parenquimática do caule e na região do floema da raiz de *Senna occidentalis* foram observados por Metcalf e Chalk (1950) em espécies do gênero *Senna*. A produção destes cristais está relacionada a algumas necessidades vegetais, tais como manutenção do equilíbrio iônico, armazenamento de cálcio na detoxificação e na proteção contra ataque de herbívoros (Mundo; Duarte, 2008).

No córtex e no parênquima medular do caule, assim como no sistema vascular da raiz, são evidenciados amiloplastos, os quais apresentam função de reserva de energia. De acordo

com Esau (1974), geralmente ocorrem no córtex, no sistema vascular e no parênquima medular.

A organização do sistema de revestimento foliolar condiz com as informações citadas por Saheed e Illoh (2010), em estudo taxonômico para esta mesma espécie, nos quais descreveram as células epidérmicas da face adaxial com formas e tamanhos irregulares, e maiores que as células da face abaxial; os estômatos são predominantemente do tipo paracítico, de forma elíptica e de tamanhos variados, em ambas as faces dos folíolos. Metcalfe e Chalk (1950) observaram em alguns gêneros que compõem a subfamília Caesalpinioideae, que os estômatos são predominantemente do tipo paracítico, e geralmente distribuídos apenas na superfície abaxial das folhas, embora em algumas espécies de *Senna*, como observado em *S. occidentalis*, tais estruturas podem ser observadas distribuídas em ambas as faces dos seus folíolos. Em menor proporção, podem ser encontrados nesta família estômatos do tipo anisocítico, como em *S. obtusifolia*, bem como paracíticos com ocorrência de poucos do tipo anisocíticos, como o que acontece em *S. alata* (Rodrigues et al., 2009; Saheed; Illoh, 2010).

Comparativos entre a anatomia de seis espécies do gênero *Senna* realizados por Ogundipe, Kadiri e Adekanmbi (2009) identificaram apenas em *S. occidentalis* a presença de tricomas restritos à face abaxial, diferenciando esta espécie das demais estudadas e corroborando com os resultados deste trabalho. A presença de tricomas glandulares grandes em forma de clava, assim como tricomas não glandulares curtos e curvos, visíveis a olho nu nas margens dos folíolos também é característica na espécie. Saheed e Illoh (2010) identificaram em *S. alata* tricomas apenas do tipo não glandular distribuídos sobre a superfície adaxial e ausência destas estruturas em *S. sophera*, característica importante na diferenciação entre estas espécies.

Na subfamília Caesalpinioideae, o mesofilo geralmente organiza-se de forma dorsiventral (Watson, 1981; Rezende; Cardoso; Vanucci, 1994) e a maioria das espécies de *Senna*, incluindo *S. occidentalis*, confirmam esta informação. Contudo, Costa (1975) afirma que as folhas de *S. angustifolia* são desprovidas de dorsiventralidade, mostrando-se com um mesofilo heterogêneo, com tecido lacunoso entre as camadas de parênquima paliçádico. Com relação aos tipos de cristais encontrados nessa região, as drusas de oxalato de cálcio observados neste trabalho corroboram com os dados já reportados para a Caesalpinaceae por Zindler-Frank (1987). A presença de idioblastos contendo cristais dispersos no mesofilo não é observada em Papilionaceae e em Mimosaceae, sendo, portanto um caráter utilizado para diferenciação entre as subfamílias de Leguminosae.

Espécies do gênero *Senna* vêm sendo amplamente estudadas do ponto de vista químico, revelando uma vasta diversidade de substâncias bioativas, com padrões estruturais variados, derivadas do metabolismo secundário. Tais estudos evidenciaram a ocorrência de substâncias de várias classes químicas, sendo as antraquinonas, flavonoides e outros compostos fenólicos os constituintes mais frequentes na maioria das espécies (Viegas-Junior et al, 2006).

Costa (1975) destaca a presença de flavonoides distribuídos nos tecidos superficiais, nas células epidérmicas, nas camadas em paliçadas, no parênquima lacunoso, dissolvidos no suco celular sob a forma de heterosídeos. Di Stasi e Hiruma-Lima (2002) mencionam ainda que a concentração de compostos fenólicos em geral nas folhas de espécies de *Senna* está condicionada aos diferentes estágios de desenvolvimento do vegetal.

A presença de lipídios revelada pelo teste histoquímico com Sudan III, principalmente na epiderme foliar, poderia justificar a deposição de cera sobre as células epidérmicas relatadas por Metcalfe e Chalk (1950) para espécies do gênero *Senna*.

Em estudos histoquímicos realizados com folhas de *Senna alata* por Rodrigues e colaboradores (2009), foi confirmada a presença de antraquinonas nas células epidérmicas da face abaxial, na região da nervura central e em algumas células dispersas pelo mesofilo, com maior concentração nas proximidades das nervuras. Para *S. occidentalis*, foi observada reação do hidróxido de sódio apenas com as células da região do mesofilo.

Além da similaridade morfológica, o que leva a várias espécies deste gênero receber a mesma nomenclatura popular, a marcante presença de compostos antracênicos e flavonoídicos em comum ao gênero permite que as espécies de *Senna* por vezes se confundam, uma vez que são indicadas para os mesmos fins na medicina popular.

## Conclusão

Para *Senna occidentalis*, foi possível observar a presença de tricomas limitada à face abaxial como uma característica que pode auxiliar em sua diferenciação das demais do gênero, bem como no seu controle de qualidade botânico, pois de acordo com Saheed e Illoh (2010), Ogundipe, Kadiri e Adekanmbi (2009), esta é uma particularidade desta espécie. Desse modo, os estudos anatômicos junto com outros testes, corroboram também para o estabelecimento de parâmetros para o controle de qualidade das drogas vegetais.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (03/2010, ANVISA) e ao CNPQ (312537/2009-3, 483870/2011-0), pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste projeto e à equipe do Herbário Dárdano de Andrade Lima, do IPA-PE, pela identificação da espécie estudada e elaboração da exsiccata.

## Referências

- Aragão TP 2008. *Cassia Virgílica*<sup>®</sup> (*Cassia occidentalis* L.): abordagem farmacológica e toxicológica. Recife, 90p. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
- Côrrea MP 1926. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. Serviço de Informação Agrícola, 1926. v. III.
- Costa AF. *Farmacognosia*. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1975. v. 1.
- Di Stasi LC, Hiruma-Lima, CA 2002. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2ed. São Paulo: Editora UNESP.
- Esau K 1974. *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo: Edgard Blücher.
- Gupta V, Agrawal A, Singh J, Tiwari HP 1989. *Indian J Chem, Sect. B: Org. Chem Incl Med Chem*, 28: 282.
- Hatano T, Mizuta S, Ito H, Yoshida T 1999. C-glycosidic flavonoids from *Cassia occidentalis*. *Phytochem*, 52: 265-271.
- Johansen DA 1940. *Plant Microtech*, London, McGraw-Hill Book Co.
- Joly AB 2002. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 13 ed. São Paulo: Companhia editora nacional.
- Lima HC 2000. *Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica*. Rio de Janeiro. 141p. Tese de Doutorado em Ecologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Botânica. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Lorenzi H, Matos FJA 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Mace ME, Howell CR 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in root of cotton seedlings. *Can J Bot* 52: 2423-2426.

- Metcalf CF, Chalk L 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, Stem and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses*. Oxford: Clarendon Press, 1950. v. 1.
- Mundo, SR, Duarte, MR 2008. Caracteres morfoanatômicos de folha e caule de *Cupania vernalis* Cambess, Sapindaceae. *Rev bras farmacogn*, 19 (2B): 599-606.
- Ogundipe OT, Kadiri AB, Adekanmbi OH 2009. Foliar epidermal morphology of some Nigerian species of *Senna* (Caesalpiniaceae). *Indian J Sci Technol*, 10 (2): 5-9.
- Rezende MH, Cardoso LA, Vannucci AL 1994. Morfologia e anatomia foliar de *Bauhinia curvula* Benth. (Leguminosae - Caesalpinoideae). *Acta Bot Bras*, 8: 19-34.
- Rodrigues IMC, Souza Filho APS, Ferreira,FA, Ilkiu-Borges F, Gurgel ESC 2009. Anatomia e histoquímica das folhas de *Senna alata*. *Planta Daninha*, 27 (3): 515-526.
- Saheed SA, Illoh HC 2010. A Taxonomic Study of some Species in *Cassiinae* (Leguminosae) using Leaf Epidermal Characters. *Not Bot Hort Agrobot Cluj*, 38 (1): 21-27.
- Sass JE 1951. *Botanical microtechnique*. 2. ed. Ames: Iowa: State College Press.
- Silva FO, Oliveira IR, Silva MGV, Braz-Filho R 2010. Constituintes químicos das folhas de *Senna spectabilis* (DC) Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) Irwin & Barneby. *Quím Nova*, 33 (9): 1874-1876.
- Viegas-Junior C, Rezende A, Silva DHS, Castro-Gamboa, I, Bolzani VS, Barreiro EJ, Miranda ALP, Alexandre-Moreira MS, Young MCM. 2006. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. *Quím Nova*, 29(6): 1-8.
- Zindler-Frank E 1987. Calcium crystals in legumes. In *Advances in legume systematics*. C.H. Stirton, Royal Botanic Gardens, Kew, Part 3. .
- Watson L 1981. An automated system of generic description for Caesalpinoideae, and its application to classification and key-making. In: Polhill RM, Raven PH. *Adv Leg Syst*, 1: 65-80.

## ***Capítulo III***

---

*Vanessa da Silva Luna*

## 5 CAPÍTULO III

**Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de *Senna occidentalis* Link**  
**Phytochemical and physicochemical characterization of leaves of *Senna occidentalis***  
**Link**

**Vanessa S. Luna<sup>1</sup>, Waleska F. Leão<sup>2</sup>, Magda R. A. Ferreira<sup>1</sup>,  
Karina P. Randau<sup>1,2</sup>, Luiz A. L. Soares<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup>*Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50670-901, Recife, Brasil*

<sup>2</sup>*Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-521, Recife, Brasil*

Artigo a ser submetido à revista:  
Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

\*Correspondência: Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE,  
Rua Prof. Artur de Sá, s/n; Cidade Universitária; Recife-PE; CEP: 50740-521  
Tel.: +55 81 2126-8511; Fax: +55 812126-8510  
E-mail: [phtech@uol.com.br](mailto:phtech@uol.com.br)

*Vanessa da Silva Luna*

**Resumo:** *Senna occidentalis* Link, conhecida popularmente no Brasil como fedegoso, é bastante utilizada na medicina popular devido suas atividades anti-inflamatória, antioxidante, laxativa, hepatoprotetora e antimalárica, que podem estar relacionadas à presença dos flavonoides e antraquinonas em sua composição. Com o objetivo de estabelecer especificações para o controle de qualidade das folhas de *S. occidentalis* como matéria prima vegetal, foi realizada a caracterização fitoquímica e físico-química, de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição. A prospecção fitoquímica por cromatografia em camada delgada permitiu observar a presença de compostos flavonoídicos, antraquinonas, triterpenos e esteroides, mono e sesquiterpenos e polifenóis. A granulometria identificou o tamanho médio das partículas do pó de 393,0 µm. Os resultados da perda por dessecação se mostraram dentro dos limites aceitáveis pela Farmacopeia ( $10,93\% \pm 0,057$ ), enquanto os valores relativamente altos de cinzas podem ser justificados pelo fato de *S. occidentalis* ser uma espécie de crescimento rasteiro, consequentemente está mais em contato com as impurezas do solo. Dessa forma, os resultados deste estudo são ferramentas importantes para o processo de identificação e padronização de qualidade das folhas de *S. occidentalis* como matéria prima vegetal.

**Palavras-chave:** Matéria prima vegetal. Controle de qualidade. Caracterização físico-química. Prospecção fitoquímica.

**Abstract:** *Senna occidentalis* Link, popularly known in Brazil as fedegoso, is used in folk medicine due its anti-inflammatory, antioxidant, laxative, hepatoprotective and antimalarial properties, which may be related to the flavonoids and anthraquinones present on its composition. Aiming to establish specifications for quality control of the leaves of *S. occidentalis* as plant raw, a phytochemical characterization and also a physicochemical characterization was performed, in according to procedures recommended by the Brazilian Pharmacopoeia 5th edition. The phytochemical screening allowed observing the presence of flavonoid, anthraquinones, triterpenes and steroids, mono and sesquiterpenes and polyphenols compounds. The grain size identified the average particle size of 393.0 µm. The loss on drying results were within acceptable limits for Pharmacopoeia ( $10.93\% \pm 0.057$ ), while the relatively high values of ash can be justified by the fact that *S. occidentalis* is a creeping growth specie and therefore is more in touch with the impurities of the soil. Thus, the results of this study are important for the identification and standardization of quality of the leaves of *S. occidentalis* as plant raw material.

**Keywords:** Plant raw. Quality control. Physicochemical characterization. Phytochemical screening.

## INTRODUÇÃO

*Senna occidentalis* Link, conhecida popularmente como fedegoso (devido ao seu odor fétido), mata pasto (por ser facilmente encontrada como contaminante de áreas de pastoreio), manjerioba e café negro (pois suas sementes são torradas e utilizadas no preparo de uma bebida semelhante ao café), é uma espécie paleotropical, nativa dos neotrópicos, podendo ser encontrada em praticamente todo território brasileiro, sendo uma invasora frequente de áreas de pastagem, pomares, e solos cultivados (Cândido et al., 2010; Lorenzi, 2000).

Estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados com *S. occidentalis* comprovaram que tal espécie possui atividades anti-inflamatória, antiplaquetária, relaxante muscular, antihemolítica e inibidora da peroxidação lipídica, devido aos flavonoides presentes em sua composição, além de laxativa, purgativa, antibacteriana, hepatoprotetora, antifúngica, antimalárica, contra erisipela e doenças cutâneas (Viegas Junior et al., 2009), larvicida (Yang et al., 2003), antirreumática, antipirética, antitumoral, expectorante e diurética (Samy et al., 1998), por ser também uma planta rica em derivados antraquinônicos (Gupta et al., 1989).

A produção de fitoterápicos requer, necessariamente, estudos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas (Sonaglio et al., 2007). Portanto, a definição destes critérios mínimos para aceitação da qualidade é imprescindível para assegurar a eficácia do produto final, principalmente devido à natureza complexa da composição destas matérias primas, bem como às variações relacionadas ao cultivo e colheita da planta, e ainda aos tratamentos utilizados para promover sua estabilidade (Barni; Cechinel-Filho; Couto, 2009).

Tais parâmetros de qualidade para fins farmacêuticos encontram-se descritos nos compêndios oficiais, no entanto, ainda há uma escassez no que se refere às monografias para um grande número de matérias primas vegetais nativas (Marques, 2010), a citar como exemplo *S. occidentalis*.

A fim de determinar parâmetros que possam ser tomados como referência para o controle de qualidade de *S. occidentalis* como droga vegetal, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização fitoquímica e físico-química das folhas desta espécie, de modo a estabelecer uma padronização farmacognóstica da mesma.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

As folhas de *Senna occidentalis* foram coletadas na região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil (08°04'03" S, 34°55'00" O, altitude: 4 m). A exsicata foi depositada no herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco, sob o número 87.030 (IPA-PE).

Na preparação do material vegetal, as folhas foram separadas e colocadas para secagem à sombra, em temperatura média de 32° C, durante 96 horas, e em seguida foram pulverizadas em moinho de facas (Modelo 340, Adamo®).

### Controle de qualidade físico-químico

As técnicas para a avaliação da qualidade do material vegetal foram realizadas de acordo com os testes descritos na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010).

#### Análise granulométrica por tamisação

Foram realizadas três pesagens da amostra de exatamente 25,0 g do material vegetal pulverizado. Em seguida, o material foi submetido ao processo de tamisação utilizando o conjunto de tamises (ABNT) com abertura das malhas de 850, 600, 425, 250 e 150 µm, em agitador eletrônico de peneiras (Bertel®), a 60 vibrações por segundo, durante 15 minutos. Para a análise dos dados, as frações retidas nos tamises e coletor foram pesadas e a média entre as amostras foi calculada utilizando a equação 1:

$$\text{Fração retida (\%)} = \frac{P1}{P2 \cdot 100} \quad (1)$$

*P1*: peso do material retido em cada tamis (g); *P2*: somatório dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (g); 100: fator de porcentagem.

#### Determinação da perda por dessecação

Amostras contendo 1,0 g do pó das folhas foram transferidas para pesa-filtros previamente dessecados durante 30 minutos nas mesmas condições a serem empregadas no

procedimento. As amostras foram colocadas em estufa (Quimis<sup>®</sup>), com temperatura de  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 2 horas, seguidas de resfriamento em dessecador por 30 minutos e pesagem em balança analítica (Shimadzu<sup>®</sup>). A operação foi repetida em ciclos de uma hora até peso constante. O resultado foi expresso pela média de três determinações, em termos de porcentagem, através da equação 2 (Farmacopeia Brasileira 5, 2010):

$$\text{Perda por dessecação (\%)} = \frac{Pu - Ps}{Pa} \times 100 \quad (2)$$

*Pu*: peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação (g); *Ps*: peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação (g); *Pa*: peso da amostra (g); 100: fator de porcentagem.

#### Determinação de cinzas totais

Replicatas com 3,0 g da planta pulverizada foram distribuídas uniformemente em cadinhos de porcelana previamente calcinados e pesados nas mesmas condições do experimento. As amostras foram incineradas em mufla por 3 horas, sob gradiente crescente de temperatura (30 minutos a  $200^\circ\text{C}$ , 60 minutos a  $400^\circ\text{C}$  e 90 minutos a  $600^\circ\text{C} \pm 25^\circ\text{C}$ ). Em seguida foram arrefecidos por 30 minutos em dessecador e pesados. Os resultados do experimento foram expressos através da média da triplicata, aplicando a equação 3:

$$\text{Cinzas totais (\%)} = \frac{Cdi - C}{Pa} \times 100 \quad (3)$$

*Cdi*: peso do cadinho contendo a amostra após incineração (g); *C*: peso do cadinho sem a amostra (g); *Pa*: Peso da amostra (g); 100: fator de porcentagem.

#### Determinação de cinzas insolúveis em ácido

Para a determinação de cinzas insolúveis em ácido, o resíduo obtido na determinação de cinzas totais foi fervido em chapa aquecedora, com 25,0 mL de ácido clorídrico a 7% (p/v), durante 5 minutos, no cadinho original coberto com vidro de relógio. Após fervura, o vidro de relógio foi lavado com 5,0 mL de água quente, juntando a água de lavagem ao cadinho. Em seguida, o líquido foi filtrado em papel de filtro isento de cinzas e o resíduo lavado com água quente. O papel de filtro contendo o resíduo foi então colocado no mesmo cadinho, seco na chapa aquecedora e incinerado a  $500^\circ\text{C}$ . A cada 30 minutos, os cadinhos foram retirados da

mufla, dessecados durante 30 minutos e pesados, repetindo-se o procedimento até peso constante. Foi calculada a média das três amostras e a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido à droga seca ao ar pela equação 4:

$$\text{Cinzas insolúveis em ácidos (\%)} = \frac{C_{ai} - C_{di}}{P_a} \times 100 \quad (4)$$

*C<sub>ai</sub>*: peso do cadinho contendo as cinzas (g); *C<sub>di</sub>*: peso do cadinho contendo as cinzas após incineração (g); *P<sub>a</sub>*: Peso da amostra (g); 100: fator de porcentagem.

#### Teor de extrativos

Amostras de 1,0 g das folhas foram submetidas à decocção com 100,0 mL de água, durante 10 minutos. Após arrefecimento, os volumes foram completados para 100,0 mL e as soluções foram filtradas, desprezando-se os 20,0 mL iniciais. Com auxílio de pipeta volumétrica, 20,0 mL do filtrado foram colocados em pesa-filtros (previamente pesados e dessecados) e levados à evaporação até secar o líquido em banho-maria (Lucadema®). Em seguida, as amostras foram levadas a estufa por 2 horas, a 105° C, resfriadas em dessecador por 30 minutos e pesadas. O procedimento foi realizado até obter peso constante. O resultado foi expresso pela média das pesagens e o teor de extrativos foi determinado através da equação 5:

$$\text{Teor de extrativos (\%)} = \frac{g \cdot FD \cdot 500}{m} \quad (5)$$

*g*: massa do resíduo seco (g); *FD*: fator de diluição; *m*: massa da amostra inicial (g); 500: fator de porcentagem.

#### **Prospecção fitoquímica**

Para a realização dos testes de prospecção fitoquímica, foi obtida uma solução extrativa a partir da infusão de 3,0 g das folhas de *Senna occidentalis* devidamente pulverizadas com 30,0 mL de metanol. Alíquotas desta solução foram aplicadas, com o auxílio de capilares de vidro, em placas cromatográficas de alumínio contendo gel de sílica 60 F<sub>254</sub> (Merck®) com 0,200 mm de espessura, empregando-se fases móveis e reveladores

adequados conforme a classe de substâncias pesquisadas, os quais se encontram descritos na tabela 1. Após revelação, as placas foram visualizadas com o auxílio de luz ultravioleta (UV).

**TABELA I-** Sistemas cromatográficos empregados na prospecção fitoquímica para folhas de *Senna occidentalis*.

| Classe de metabólito                                          | Sistema de eluição                      | Proporção (v/v) | Revelador             | Padrão       |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------|-----------------------|--------------|
| Polifenóis                                                    | AcOEt - HCOOH - AcOH - H <sub>2</sub> O | 100: 3: 3: 3    | Cloreto férrico       | Ácido gálico |
| Alcaloides                                                    | AcOEt - HCOOH - AcOH - H <sub>2</sub> O | 100: 11: 11: 27 | Dragendorff           | Pilocarpina  |
| Flavonoides                                                   | AcOEt - HCOOH - AcOH - H <sub>2</sub> O | 100: 11: 11: 27 | NEU                   | Quercetina   |
| Taninos (proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas) | AcOEt - HCOOH - AcOH - H <sub>2</sub> O | 100: 3: 3: 3    | Vanilina Clorídrica   | Epicatequina |
| Mono e sesquiterpenos                                         | Tolueno – AcOEt                         | 97: 3           | Vanilina Sulfúrica    | Timol        |
| Triterpenos e Esteroides                                      | Tolueno – AcOEt                         | 90: 12          | Lieberman/ Burchard   | β-Sitosterol |
| Antraquinonas                                                 | AcOEt - MeOH - H <sub>2</sub> O         | 100: 13,5: 10   | Hidróxido de potássio | Antraquinona |

AcOEt = Acetato de etila; HCOOH = Ácido fórmico; AcOH = ácido acético; H<sub>2</sub>O = água; NEU = ácido etilborilaminoéster a 1% em etanol

Para a identificação de saponinas foi realizado o teste de afrogenicidade. Esse teste consistiu no aquecimento, em placas de Petri, do extrato metanólico para a eliminação do solvente. Os resíduos foram recuperados com água destilada em tubos de ensaio, submetidos à agitação manual por aproximadamente 30 segundos e mantidos em repouso por mais 5 minutos. Em seguida, foi observada a consistência e a persistência da espuma produzida. O critério usado para avaliar a presença de saponosídeos foi a formação de uma espuma abundante e persistente por mais de 15 minutos (Costa, 2001).

### Análise Estatística

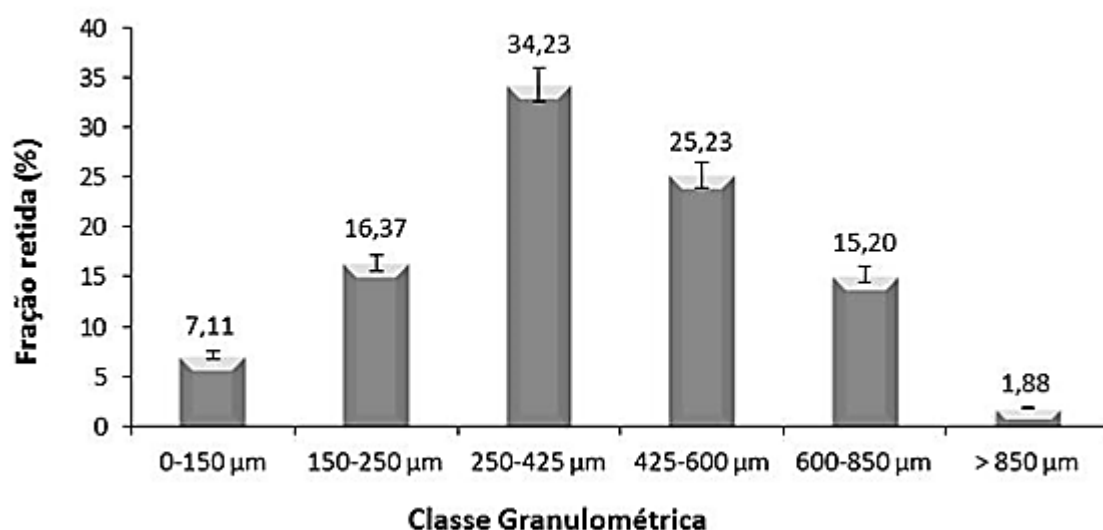
A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do programa computacional Excel (Microsoft Office® 2010).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Controle de qualidade físico-químico

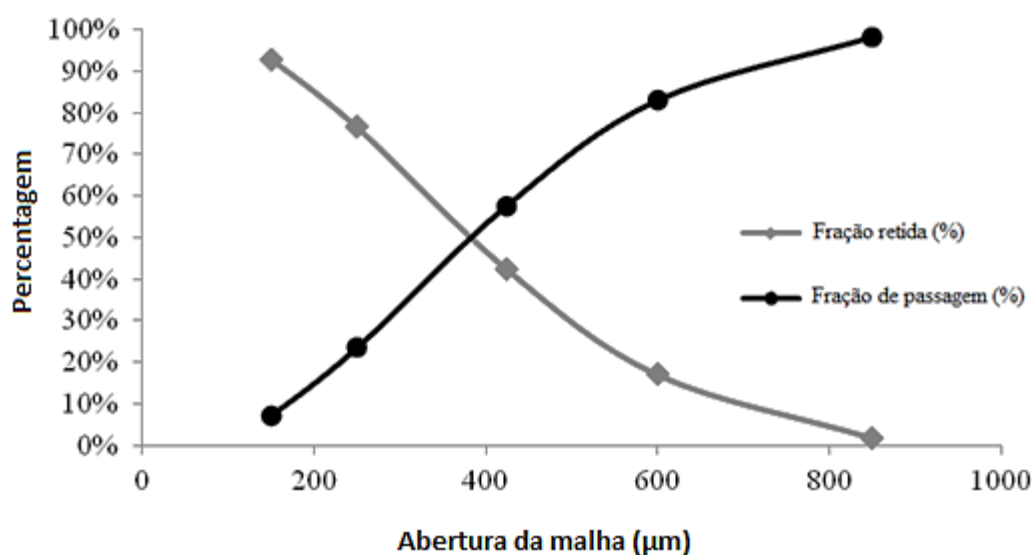
### Análise granulométrica

Segundo Baccarin e colaboradores (2009), a análise granulométrica tem a finalidade de fornecer dados quantitativos a respeito do tamanho médio e a distribuição de tamanho do material vegetal, o que se torna um parâmetro de relevância para o controle de qualidade das drogas vegetais e produtos derivados. O tamanho da partícula é um parâmetro que pode influenciar na identificação macroscópica, conservação química e microbiológica, bem como na reprodutibilidade dos processos extrativos e ainda na velocidade de dissolução dos constituintes ativos encontrados na droga vegetal.



**FIGURA 1-** Histograma de distribuição granulométrica do pó das folhas de *Senna occidentalis*.

Os resultados observados através do histograma de distribuição granulométrica das folhas de *S. occidentalis* (Figura 1) demonstram que as partículas encontram-se predominantemente distribuídas entre os tamises de 250 e 425 μm (34,23%). Além disso, é possível determinar o tamanho médio das partículas pelo ponto interseção das curvas de retenção e passagem, que está representado na figura 2, sendo igual a 393,0 μm. Segundo Barni, Cechinel-Filho e Couto (2009), o conhecimento da distribuição granulométrica é útil na indicação da tamisação como o procedimento prévio aos processos, onde a homogeneidade do tamanho de partículas pode interferir.



**FIGURA 2-** Curva de retenção e passagem das folhas de *Senna occidentalis*.

#### Perda por dessecação

A perda por dessecação é um teste farmacopeico que se destina a determinar o percentual de umidade residual da droga vegetal e reflete um índice de qualidade e garantia de sua conservação. A Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) preconiza um limite de aceitação de 8 a 14% de teor de umidade para drogas vegetais. Para as folhas de *S. occidentalis*, os valores percentuais e respectivo CV obtidos foram de  $10,93 \pm 0,057$ , estando, portanto dentro dos limites estabelecidos. Dessa forma, valores aceitáveis do teor de umidade sugerem que houve eficiência durante o processo de secagem e assegura a boa conservação e estabilidade microbiológica do material vegetal.

O excesso de umidade em uma droga vegetal está diretamente relacionado ao desenvolvimento de micro-organismos, insetos, a hidrólise, bem como favorece a atividade de algumas enzimas, podendo acarretar a degradação dos seus constituintes químicos (Couto et al., 2009).

#### Cinzas totais e insolúveis em ácido

Quanto à determinação do teor de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido clorídrico, os valores encontrados estão apresentados na Tabela 2. Entende-se que, em relação a drogas

vegetais, os ensaios de determinação do teor de cinzas totais avaliam a presença de contaminantes de caráter intrínseco, representando a porção de material inorgânico integrante da espécie, bem como de caráter extrínseco, ou seja, materiais estranhos, como terra e areia (Braga et al., 2007; Farias, 2007). Embora não hajam limites pré-estabelecidos para o teor de cinzas nos compêndios oficiais, valores muito altos sugerem contaminação ou adulteração do material com compostos inorgânicos, comprometendo a qualidade do mesmo.

**TABELA II-** Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido das folhas de *Senna occidentalis*

| <b>Ensaio</b>                          | <b>Resultados (%) - Média <math>\pm</math> DP (CV%)</b> |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Teor de Cinzas totais (%)              | 10,2 $\pm$ 0,17 (1,69)                                  |
| Teor de Cinzas insolúveis em ácido (%) | 7,72 $\pm$ 0,19 (2,49)                                  |

DP = desvio padrão; CV%= coeficiente de variação em percentagem.

Adicionalmente, a determinação do teor de cinzas insolúveis em ácido clorídrico permite a verificação de contaminantes como resíduo de terra e areia, geralmente observada em raízes (Farias, 2007). Os valores relativamente altos de impurezas detectados por ambos os testes são justificáveis pelo fato da *Senna occidentalis* se tratar de uma planta rasteira, estando suas folhas mais próximas do contato com o solo.

#### Teor de extrativos

O valor encontrado para as folhas de *Senna occidentalis* foi de 35,35%  $\pm$  0,061 (0,86%). O teste de teor de extrativos é empregado para indicar a presença de compostos hidrossolúveis presentes no material vegetal, tais como aminoácidos, açúcares, heterosídeos flavonoídicos e mucilagens, não havendo, portanto, de acordo com os compêndios oficiais, limite geral estabelecido para o mesmo (Barni et al., 2009).

#### **Prospecção fitoquímica**

A técnica de cromatografia em camada delgada (CCD) tem por finalidade a caracterização preliminar e qualitativa dos extratos através da determinação do perfil cromatográfico, onde se registra o número, a coloração e a posição das bandas nas placas após a eluição em diferentes sistemas de solventes, contando ainda com reveladores específicos para cada classe de metabólito pesquisada (Rodrigues, 2008).

O perfil fitoquímico por CCD das folhas de *S. occidentalis* revelou a presença de polifenóis (Figura 3), bem como dentro deste grupo, flavonoides e antraquinonas (Figuras 4 e 5), mono e sesquiterpenos (Figura 6), triterpenos e esteroides (Figura 7). Não foram observados: saponinas, alcaloides, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas. De acordo com os estudos de Gupta e Singh (1991), espécies do gênero *Senna* são ricas em flavonoides, polissacarídeos e antraquinonas. Ainda foram relatados para este gênero substâncias pertencentes à classe das xantonas, esteróis, taninos, alcaloides e triterpenos (Lombardo; Kiyota; Kaneko, 2009).



**FIGURA 3-** Placa de cromatografia em camada delgada para polifenóis.

A: amostra; P: padrão Ácido gálico. Sistema de eluição: AcOEt - HCOOH - AcOH - H<sub>2</sub>O (100:3:3:3). Revelador: Cloreto férrico.  $RF_A = 0,93$ ;  $RF_B = 0,84$ ;  $RF_C = 0,22$ ;  $RF_D = 0,18$ ;  $RF_{PADRÃO} = 0,80$ .

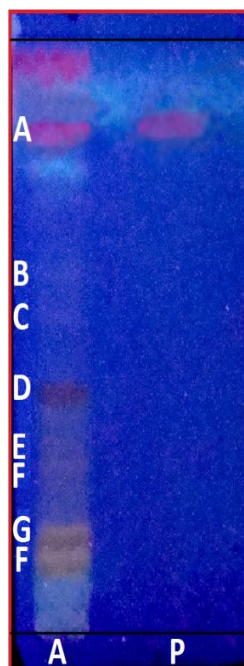
Foi relatado o isolamento de mais de 350 metabólitos secundários em diversas partes de espécies de *Cassia* e *Senna* (Cândido, 2007). As análises realizadas para *Senna occidentalis* evidenciaram a ocorrência de substâncias das diversas classes de metabólitos secundários, merecendo um maior destaque a presença marcante de antraquinonas e flavonoides. Gupta e Singh (1990) destacam a presença de flavonoides *O* e *C*-glicosilados nas folhas da espécie e, Singh e Singh (1985) e Purwar e colaboradores (2003) evidenciaram flavonas e apigenina nas folhas deste vegetal. Deste modo, os resultados obtidos neste estudo corroboram com os dados encontrados na literatura (Figura 4).



**FIGURA 4-** Placa de cromatografia em camada delgada para flavonoides.

A: amostra; P: padrão Quercetina. Sistema de eluição: AcOEt - HCOOH - AcOH - H<sub>2</sub>O (100:11:11:27). Revelador: NEU; Observado em luz UV ( $\lambda = 365$  nm);  $RF_A = 0,89$ ;  $RF_B = 0,83$ ;  $RF_C = 0,78$ ;  $RF_D = 0,71$ ;  $RF_E = 0,20$ ;  $RF_F = 0,14$ ;  $RF_{PADRÃO} = 0,80$ .

O gênero *Senna* se destaca pela à notável abundância derivados de antracênicos em sua composição. Rai e Shok (1983) destacam a presença desta classe de metabólito em todas as partes de *S. occidentalis*, chamando atenção para as folhas e as sementes, as quais apresentam maiores teores de antraquinonas quando comparadas ao caule e às raízes deste vegetal. A figura abaixo (Figura 5) comprova as informações discutidas sobre esta classe de metabólitos.



**FIGURA 5-** Placa de cromatografia em camada delgada para antraquinonas.

A: amostra; P: padrão Antraquinona. Sistema de eluição: AcOEt - MeOH - H<sub>2</sub>O (100:13,5:10). Revelador: hidróxido de potássio; Observado em luz UV ( $\lambda = 365$  nm);  $RF_A = 0,81$ ;  $RF_B = 0,75$ ;  $RF_C = 0,60$ ;  $RF_D = 0,53$ ;  $RF_E = 0,43$ ;  $RF_F = 0,35$ ;  $RF_G = 0,33$ ;  $RF_H = 0,20$ ;  $RF_I = 0,16$ ;  $RF_{PADRÃO} = 0,82$ .

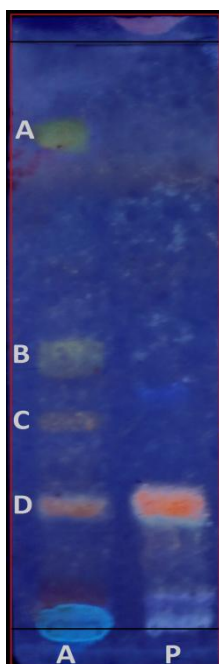
Em estudos anteriores, não são observadas discussões em relação à presença de mono e sesquiterpenos no gênero *Senna*. No entanto, a observação deste metabólito mereceu destaque em virtude da intensidade das bandas e quantidades dos mesmos nas folhas de *S. occidentalis* (Figura 6).



**FIGURA 6-** Placa de cromatografia em camada delgada para mono e sesquiterpenos.

A: amostra; P: padrão Timol. Sistema de eluição: Tolueno-AcOEt (97:3). Revelador: Vanilina sulfúrica; Aquecida após aplicação do revelador.  $RF_A = 0,89$ ;  $RF_B = 0,85$ ;  $RF_C = 0,74$ ;  $RF_D = 0,66$ ;  $RF_E = 0,60$ ;  $RF_F = 0,58$ ;  $RF_G = 0,47$ ;  $RF_H = 0,41$ ;  $RF_I = 0,31$ ;  $RF_J = 0,25$ ;  $RF_K = 0,17$ ;  $RF_L = 0,12$ ;  $RF_{PADRÃO} = 0,34$ .

Em relação à presença de triterpenos e esteroides, os resultados foram positivos (Figura 7). Entretanto, Rizvi, Lal e Gupta (1971) e Lal e Gupta (1973) só identificaram esses metabólitos em raízes e sementes de *Senna occidentalis*. Aragão (2008) comprova a presença de triterpenos e esteroides também nas folhas e no caule, confirmando os resultados do presente estudo.



**FIGURA 7-** Placa de cromatografia em camada delgada para triterpenos e esteroides.

A: amostra; P: padrão  $\beta$ -Sitosterol; Sistema de eluição: Tolueno-AcOEt (90:12). Revelador: Lieberman/Burchard; Aquecida após aplicação do revelador; Observado em luz UV ( $\lambda = 365$  nm).  $RF_A = 0,78$ ;  $RF_B = 0,50$ ;  $RF_C = 0,39$ ;  $RF_D = 0,26$ ;  $RF_{PADRÃO} = 0,25$ .

Os estudos relacionados à confirmação de alcaloides na espécie são bastante discutíveis, uma vez que os autores se dividem quanto à presença desta classe de metabólitos. Os testes para identificação de alcaloides nas folhas de *Senna occidentalis* não foram positivos, estando de acordo com os relatos de Aragão (2008). Contudo, Lombardo e colaboradores (2009) e Viegas-Junior e colaboradores (2006) observaram tal metabólito nas folhas da espécie estudada.

Para a detecção de componentes saponosídeos em vegetais, o teste de afrogenicidade tem se mostrado bastante útil, sendo rápido e de fácil execução. Para *Senna occidentalis*, o teste se mostrou negativo, pois a formação de espuma não persistiu por mais de 5 minutos. Tais resultados discordam dos estudos de Evans e colaboradores (2002), Ogunkunle e

Ladejobi (2006), que comprovaram a presença destes compostos nas folhas e raízes desta espécie.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho forneceram informações preliminares importantes quanto ao perfil de produção de metabólitos secundários produzidos por *Senna occidentalis*, sendo coerente com o descrito na literatura para a espécie. Os testes farmacopéicos para a caracterização das folhas como droga vegetal apresentaram resultados aceitáveis de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição, compreendendo assim ferramentas importantes para a padronização e controle de qualidade da matéria prima vegetal.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (03/2010, ANVISA) e ao CNPQ (312537/2009-3, 483870/2011-0), pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste projeto e à equipe do Herbário Dárdano de Andrade Lima, do IPA-PE, pela identificação da espécie estudada e elaboração da exsiccata.

## REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, T. P. **Cassia Virgínica<sup>®</sup> (*Cassia occidentalis* L.): abordagem farmacológica e toxicológica**. 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.
- BACCARIN, T.; CZEPULA, A. I.; FERREIRA, R. A.; LUCINDA SILVA, R. Análise morfoanatômica das partes aéreas de *Wedelia paludosa* DC. (*Acmela brasiliensis*, *Sphagneticola trilobata*), Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 19(2B): p. 612-616, Abr./Jun. 2009.
- BARNI, S. T.; CECHINEL FILHO, V.; COUTO, A. G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 865-870, 2009.
- BRAGA, T. V.; OLIVEIRA, T. T.; PINTO, J. T.; DORES, R. G. R.; NAGEM, T. J. Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *verticillata* e avaliação do processo de

secagem em estufa com ventilação forçada. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 287-290, 2007.

CÂNDIDO, A. C. da S. **Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Leguminosae, Caesalpinoideae): bioensaios em laboratório e em casa de vegetação**. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Departamento de biologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2007.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. III, 2001.

COUTO, R. O.; VALGAS, A. B.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 3, p. 59-69, 2009.

DUKE, J. A. **Handbook of phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants**. Boca Raton: CRC Press; 1992.

EVANS, C. E.; BANSO, A. O. Efficacy of some Nupe medicinal plants against *Salmonella typhi*: an in vitro study. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 80, p. 21-24, 2002.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. 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**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007.

FARMACOPÉIA Brasileira. 5. ed., **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: ANVISA, 2010.

GUPTA, V.; AGARWAL, A.; TIWARI, H. P. Isolation and characterization of two flavonol and a xanthone glycosides from the stem bark of *Cassia fistula* Linn. **Indian Journal of Chemistry, Sect. B: Organic Chemistry including Medicinal Chemistry**, v. 28, p. 282-284, 1989.

GUPTA, D.; SINGH, J. Flavonoid glycosides from *Cassia alata*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 8, p. 2761-2763, 1991.

LAL, J.; GUPTA, P. C. Anthraquinone glycoside from the seeds of *Cassia occidentalis* Linn. **Cellular and molecular life sciences**, v. 29, n. 2, p. 141-142, 1973.

LOMBARDO, M.; KIYOTA, S.; KANEKO, T. M. Aspectos étnicos, biológicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 30, n., p. 9-17, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MARQUES, G. S. **Desenvolvimento e avaliação de metodologias analíticas para quantificação de flavonoides totais e canferitrina em folhas de *Bauhinia forficata* Link**. 2011. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

- OGUNKUNLE, A. T. J.; LADEJOBI, T. A. Ethnobotanical and phytochemical studies on some species of *Senna* in Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 21, p. 2020-2023, 2006
- PURWAR, C.; RAI, R.; SRIVASTANA, N.; SINGH, J. New flavonoid glycosides from *Cassia occidentalis*. **Indian Journal Chemistry**, Sect B, v. 42, n. 2, p. 434-436, 2003.
- RAI, P. P.; SHOK, M. Anthraquinoneglycosides from plant parts of *Cassia occidentalis*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 2, p. 87-88, 1983.
- RIZVI, S. A.; LAL, J.; GUPTA, P. C. Examination of a phytosterolin and a sterol from *Cassia* plants. **Phytochemistry**, n. 10, p. 670, 1971.
- RODRIGUES, I. M. C. **Histoquímica e prospecção de compostos produzidos por *Senna alata* (L.) Roxb. com potencial atividade alelopática**. 2008. 76p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- SAMY, R. P.; IGNACIMUTHU, S.; SEN, A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 62, p. 173-181, 1998.
- SINGH, M.; SINGH, J. Two flavonoids glycosides from *C. occidentalis* pods. **Planta Medica**, v. 6, p. 1525-1526, 1985.
- SONAGLIO, D.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. 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**. 6.ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007.
- VIEGAS-JUNIOR, C.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; MIRANDA, A. L. P.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; YOUNG, M. C. M. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1-8, 2006.
- YANG, Y-C.; LIM, M-Y.; LEE, H-S. Emodin isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) seed shows larvicidal activity against three mosquito species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 26, p. 7629-7631, 2003.

## ***Capítulo IV***

---

*Vanessa da Silva Luna*

## 6 CAPÍTULO IV

### **Desenvolvimento e validação de método analítico por espectrofotometria no Ultravioleta/Visível para quantificação de flavonoides totais em folhas de *Senna occidentalis* Link**

Development and validation of analytical method by Ultraviolet/Visible spectrophotometry for quantification of total flavonoids in leaves of *Senna occidentalis* Link

Vanessa S. Luna<sup>1</sup>, Waleska F. Leão<sup>2</sup>, Magda R. A. Ferreira<sup>1</sup>, Karina P. Randau<sup>1,2</sup>, Luiz A. L. Soares<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50670-901, Recife, Brasil*

<sup>2</sup>*Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-521, Recife, Brasil*

Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia

\*Correspondência: Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE,  
Rua Prof. Artur de Sá, s/n; Cidade Universitária; Recife-PE; CEP: 50740-521  
Tel.: +55 81 2126-8511; Fax: +55 812126-8510  
E-mail: [phtech@uol.com.br](mailto:phtech@uol.com.br)

Vanessa da Silva Luna

**RESUMO:** *Senna occidentalis* Link (Fabaceae), conhecida como fedegoso, é utilizada na medicina popular devido suas atividades anti-inflamatória, antioxidante, relaxante muscular e inibidora da peroxidação lipídica, associadas à presença de flavonoides em sua composição. A espécie também é constituinte de produtos industrializados e comercializados em várias partes do mundo inclusive no Brasil, embora sejam escassos os relatos na literatura acerca do desenvolvimento de método analítico para quantificação dos flavonoides na mesma. O objetivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento e validação de um método analítico para determinar o teor de flavonoides totais para o controle de qualidade na matéria prima vegetal de *S. occidentalis*. Para o desenvolvimento do método, foram avaliados os parâmetros: proporção droga: solvente, concentração de cloreto de alumínio e tempo de leitura. A quantificação de flavonoides totais foi obtida após reação com cloreto de alumínio pela técnica de espectrofotometria no UV/Vis. Os resultados revelaram que a melhor resposta (absorvância máxima em 392 nm) foi com 0,5 g de droga vegetal em 100 mL de solvente, não havendo influência significativa entre as diferentes concentrações de cloreto de alumínio nem das soluções hidroalcoólicas analisadas. A avaliação do tempo de reação permitiu caracterizar a cinética como lenta, estabilizando a partir de 60 min, escolhendo-se este como tempo de leitura. O método mostrou-se específico, linear, preciso, exato e robusto, de acordo com as especificações estabelecidas na legislação vigente para validação. Por fim, os resultados do estudo permitiram concluir que a metodologia avaliada é simples e precisa, e pode ser aplicada para a avaliação da qualidade da espécie *S. occidentalis*.

**Palavras-chave:** *Senna occidentalis*, Flavonoides totais, Espectrofotometria no Ultravioleta-Visível, Validação.

**ABSTRACT:** *Senna occidentalis* Link (Fabaceae), known as fedegoso, had been used in folk medicine due anti-inflammatory, antioxidant and muscular relaxant effects, inputted to flavonoids contained in its composition. The specie also is a constituent of processed and commercialized products in many parts of the world including in Brazil, although the literature reports about the development of analytical methodology for quantifying of its metabolites are few. The main purpose of this research was the evaluation of an analytical methodology to determinate the total flavonoids content in leaves of *S. occidentalis*, for quality control. The parameters evaluated were: drug: solvent ratio, aluminum chloride concentration and reaction time. The procedure for quantification of total flavonoids in the raw material was evaluated after reaction with aluminum chloride by UV/Vis

spectrophotometry. The results revealed a maximum absorption peak ( $\lambda = 392$  nm) was the amount of 0,5 g of plant raw in 100 mL of solvent and there were no significant influences between the concentrations of aluminum chloride or hydroalcoholic solutions analyzed. The assessment of reaction time allowed characterizing the kinetics as slow, stabilizing from 60 min, choosing this as reading time. The method was specific, linear, precise, accurate and robust, according to the specifications set in RE n. 899/2003. Finally, the results of the study showed that the measured methodology is simple and accurate, and can be applied for quality control of *S. occidentalis*.

**Keywords:** *Senna occidentalis*, Total flavonoids, Ultraviolet-Visible spectrophotometry, Validation

## Introdução

*Senna occidentalis* Link (Fabaceae), popularmente conhecida como fedegoso, mata pasto, manjerioba ou café negro, é uma espécie nativa dos neotrópicos, podendo ser encontrada em praticamente todo território brasileiro, sendo uma invasora frequente de áreas de pastagem, pomares, margens de estradas e solos cultivados, especialmente com a soja (Lorenzi, 2000; Cândido et al., 2010).

Estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados com folhas e frutos de *S. occidentalis* comprovaram que tal espécie destaca-se como fonte majoritária de compostos antraquinônicos e flavonoídicos, apresentando atividade anti-inflamatória, relaxante muscular, e inibidora da peroxidação lipídica associada à presença de flavonoides (Viegas Junior et al., 2006). Embora existam na literatura estudos relacionados à pesquisa de antraquinonas nesta espécie, tratando-se de flavonoides, as referências acerca do desenvolvimento analítico ainda são escassas, a julgar pela importância deste metabolito na composição do vegetal.

Os flavonoides, um importante grupo dentro dos compostos polifenólicos oriundos do metabolismo secundário das plantas, são marcadores químicos e farmacológicos de grande importância para o controle de qualidade de plantas medicinais e produtos fitoterápicos (Petry et al., 2001; Soares et al., 2003; Xu et al., 2005; Silva et al., 2009; Fernandes et al., 2012; Marques et al., 2012). Diversas técnicas podem ser empregadas para o doseamento de flavonoides em materiais vegetais, sendo a espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV/Vis) de grande aplicabilidade, devido à sua simplicidade operacional, rapidez, baixo custo de implementação e ampla disponibilidade em laboratórios de controle de qualidade

(Lombard et al., 2002; Popova et al., 2004; Komarova et al., 2009; Chabariberi et al., 2009; Silva et al., 2009; Luo et al., 2011; Marques, 2012).

Alguns procedimentos foram desenvolvidos com o intuito de diminuir a quantidade de interferentes que possam comprometer a absorção dos compostos de interesse para o estudo, dentre os quais, o uso do cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) (Rocha; Teixeira, 2004). Harborne em 1954 sugeriu o uso deste reagente para o reconhecimento de grupos orto-diidroxílicos em flavonoides. O cátion alumínio forma complexos de ácidos lábeis com os flavonoides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um deslocamento batocrômico para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção (Mabry; Markham; Thomas, 1970; Marcucci; Woisky; Salatino, 1998).

A padronização química de medicamentos fitoterápicos e a garantia da sua eficácia e segurança requerem métodos analíticos adequados para a detecção e quantificação dos princípios ativos (Carvalho et al., 2008). De grande aplicabilidade nos ramos da indústria alimentícia e farmacêutica, principalmente no que se refere ao controle de qualidade de drogas vegetais, as técnicas utilizadas para quantificação dos teores de flavonoides vêm sendo bastante estudadas, em função da escassez de monografias nos compêndios oficiais. Para isto, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos simples e eficazes para quantificação destes compostos (Marques, 2011).

O desenvolvimento de novas metodologias e otimização das existentes é de grande significância para o lançamento de produtos fitoterápicos no mercado, uma vez que a Resolução - RDC 14 de 31 de março de 2010, legislação oficial que regulamenta o registro de fitoterápicos, estabelece todos os requisitos necessários para sua concessão, baseando-se principalmente na garantia de qualidade. A permanência ou entrada no mercado desses produtos estão relacionadas ao desenvolvimento de estudos científicos objetivando a obtenção de matérias-primas controladas, o desenvolvimento de tecnologias apropriadas para a obtenção de extratos vegetais e, especialmente, a realização de ensaios clínicos (Dresch et al., 2006).

De acordo com a Resolução nº 17 de 16 de abril de 2010 (Brasil, 2010b), que trata de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, os métodos analíticos não oficiais devem ser validados antes de serem inseridos na rotina do laboratório, levando em consideração as condições físicas e tecnológicas do mesmo. Os estudos de validação constituem uma exigência da RDC nº 14 (Brasil, 2010a) e devem garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (Brasil, 2003).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e validação de uma metodologia por espectrofotometria no UV/Vis capaz de quantificar o teor de flavonoides totais nas folhas de *Senna occidentalis*.

## **Material e Métodos**

### *Material vegetal*

As folhas de *Senna occidentalis* foram coletadas na região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil (08°04'03" S, 34°55'00" O). A exsicata foi depositada no herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, sob o número 87.030 (IPA-PE).

Na preparação do material para os estudos, as folhas da planta foram separadas e colocadas para secagem à sombra, em temperatura média de 32°C, durante 96 horas, e em seguida foram pulverizadas em moinho de facas (Modelo 340, Adamo®).

### *Solventes, reagentes e vidrarias*

Os solventes e reagentes utilizados no preparo e extração da amostra foram de grau de pureza analítica (P.A.): cloreto de alumínio (Vetec®), etanol (Cinética®, Carlo Erba®). O padrão utilizado foi Vitexina (USP).

As vidrarias volumétricas utilizadas foram devidamente calibradas, com certificado de calibração por lote do fabricante Satelit®, Pyrex® e Premier®.

### *Preparação da solução extrativa*

Para o doseamento de flavonoides pela técnica de diluição direta, a solução extrativa foi obtida através de extração sob refluxo com solução hidroalcoólica 40% (v/v), baseando-se no método desenvolvido e validado por Petry e colaboradores (1998).

A extração foi realizada em balão de fundo redondo, no qual 0,5 g das folhas de *S. occidentalis* foram extraídos com 30,0 mL de solução hidroalcoólica durante 30 minutos. O extrato foi resfriado à temperatura ambiente (25°C) e filtrado em algodão, sendo o resíduo (algodão e material vegetal) re-extraído, por duas vezes, durante 10 minutos com mais 30,0 mL de solução hidroalcoólica em cada vez. As frações filtradas foram reunidas em balão volumétrico e o volume ajustado para 100,0 mL com solução hidroalcoólica.

### *Preparação da amostra*

Foram transferidas alíquotas da solução extrativa para balões volumétricos de 25,0 mL, aos quais foi adicionado 2,0 mL de solução etanólica de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) 5% (m/v). O volume foi completado com solução hidroalcoólica (40%, v/v) e as absorvâncias das amostras foram mensuradas em espectrofotômetro UV/Vis (Modelo Evolution 60S, Thermo Scientific®) através de varredura (200-500 nm), tomando como branco a mesma solução amostra sem a adição da solução de cloreto de alumínio.

### *Otimização do método espectrofotométrico*

#### Determinação da concentração da amostra e do comprimento de onda para leitura

Várias amostras, diluídas a partir de alíquotas crescentes da solução extrativa, foram submetidas à varredura em espectrofotômetro na faixa de 200 a 500 nm após 60 minutos da adição da solução etanólica de  $\text{AlCl}_3$  à amostra, para identificação da diluição e comprimento de onda cujo valor de absorvância se mostrasse mais adequado para o método.

#### Determinação da concentração da solução hidroalcoólica

Foram avaliadas as soluções extrativas preparadas com o solvente hidroalcoólico em três diferentes concentrações (30, 40 e 50% v/v).

#### Avaliação do tempo de reação

O tempo de reação foi determinado através de varreduras na faixa de 200 a 500 nm, realizada em intervalos de 5 minutos durante 120 minutos, após adição da solução etanólica de  $\text{AlCl}_3$ .

#### Teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais (TFT), expresso em mg/mL de vitexina, foi calculado utilizando a seguinte equação:

$$TFT = \frac{A \cdot FD}{m \cdot E_{1cm}^{1\%}} \quad (1)$$

Onde:  $A$  = absorvância mensurada;  $FD$  = fator de diluição;  $m$  = massa da droga;  $E_{1cm}^{1\%}$  = absorvância específica do padrão vitexina (628).

#### *Avaliação do método espectrofotométrico*

##### Avaliação da proporção droga-solvente

Para a avaliação da metodologia apresentada, foram obtidas soluções extrativas variando-se a quantidade de material vegetal (0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 e 1,5 g). A proporção droga-solvente foi avaliada através da relação entre concentração das seis soluções extrativas e o respectivo teor de flavonoides totais, expressados pela média de três determinações.

##### Avaliação da influência da concentração do reagente

Avaliou-se também a influência da concentração da solução etanólica de  $AlCl_3$  sobre a resposta do método. Para tal, foram preparadas três soluções em concentrações diferentes (2,5, 5,0 e 7,5%) de  $AlCl_3$  hexahidratado (Peso Molecular = 241,33), utilizando como solvente 5,0 mL de água, completando com etanol até o volume final de 100 mL.

#### *Validação do método analítico*

O método analítico desenvolvido foi validado quanto à especificidade/seletividade, linearidade, precisão (intermediária e repetitividade), exatidão e robustez, de acordo com as normas estabelecidas pela RE nº 899/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2003). Todos os testes foram executados em triplicata e a confiabilidade dos parâmetros foi verificada através do coeficiente de variação (CV%). Não foram aceitos valores de CV superiores a 5%.

##### Especificidade

O ensaio de especificidade foi conduzido através da sobreposição do espectro do padrão e amostras do extrato com e sem adição da solução de  $\text{AlCl}_3$  (m/v), obtidos na faixa de 200 a 500 nm. Vitexina foi utilizada como padrão.

### Linearidade

Para avaliação da linearidade foi usada a média de três curvas autênticas construídas com amostras da solução extrativa, em seis níveis de concentração na faixa de 0,2 a 0,7 mg/mL. A curva foi construída pela representação dos valores médios das absorvâncias em função da concentração. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente através de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.

### Precisão

O parâmetro precisão foi avaliado pela repetitividade (precisão intracorrida), na qual foram examinadas, em um único dia, seis determinações individuais para amostras 100% da concentração teste, obtidas a partir de soluções extrativas diferentes, e pela precisão intermediária (precisão intercorridas), a qual foi determinada por dois analistas em dois dias consecutivos, para amostras também na concentração de 100%.

### Exatidão

A exatidão foi avaliada através do parâmetro da recuperação, por meio da adição de quantidades conhecidas de solução extrativa a amostras 100% da concentração teste. Os valores de recuperação, expressos em porcentagem, foram determinados através da razão entre as concentrações médias determinadas experimentalmente e as concentrações teóricas correspondentes. Para a execução do teste, quantidades crescentes (1,0, 2,0 e 3,0 mL) da solução extrativa (5,0 mg/mL) foram acrescidas à solução amostra, resultando em três soluções (0,7, 0,9 e 1,1 mg/mL de concentração final de solução extrativa), com três réplicas cada.

### Robustez

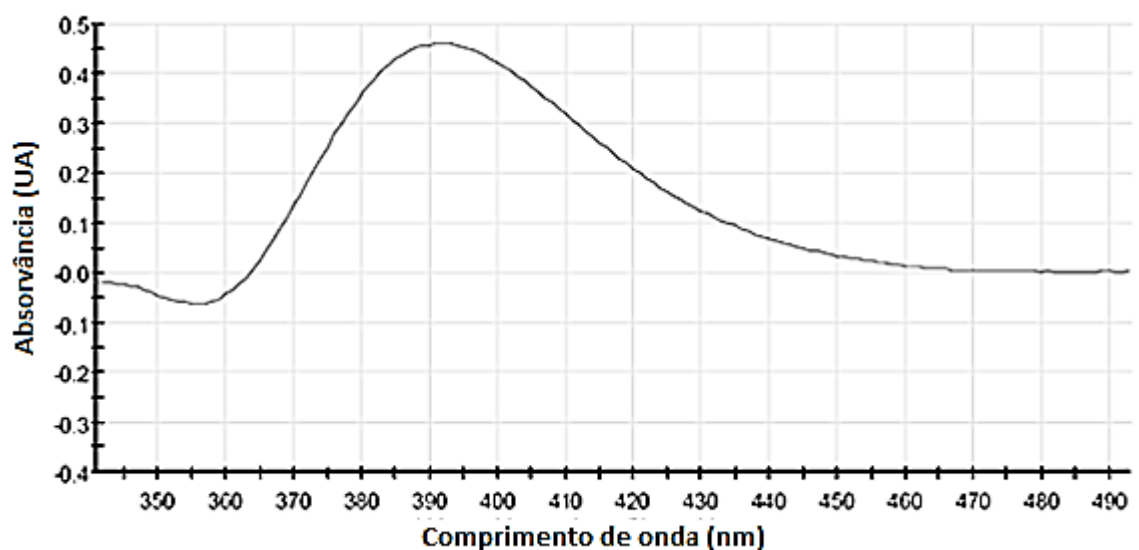
Os fatores a serem considerados na análise da robustez foram: influência da luminosidade (presença e ausência de luz) e diversos fabricantes do solvente etanol (Marca A e Marca B) estando de acordo com o preconizado pela legislação em vigor (BRASIL, 2003).

## Resultados e discussão

### *Otimização do método espectrofotométrico*

#### Determinação da concentração da amostra e comprimento de onda

O comprimento de onda no qual foi observado o máximo de absorvância após a reação de complexação com  $\text{AlCl}_3$  foi de 392 nm. Considerando as diluições das soluções extrativas testadas, a que apresentou valor de absorvância mais apropriado para o procedimento foi a de 2,5:25,0 mL, com valor de absorvância igual a 0,469 UA, cuja concentração final foi 0,5 mg/mL de solução extrativa e o espectro está representado na Figura 1.



**Figura 1-** Varredura espectrofotométrica do extrato de *Senna occidentalis* após reação com  $\text{AlCl}_3$ .

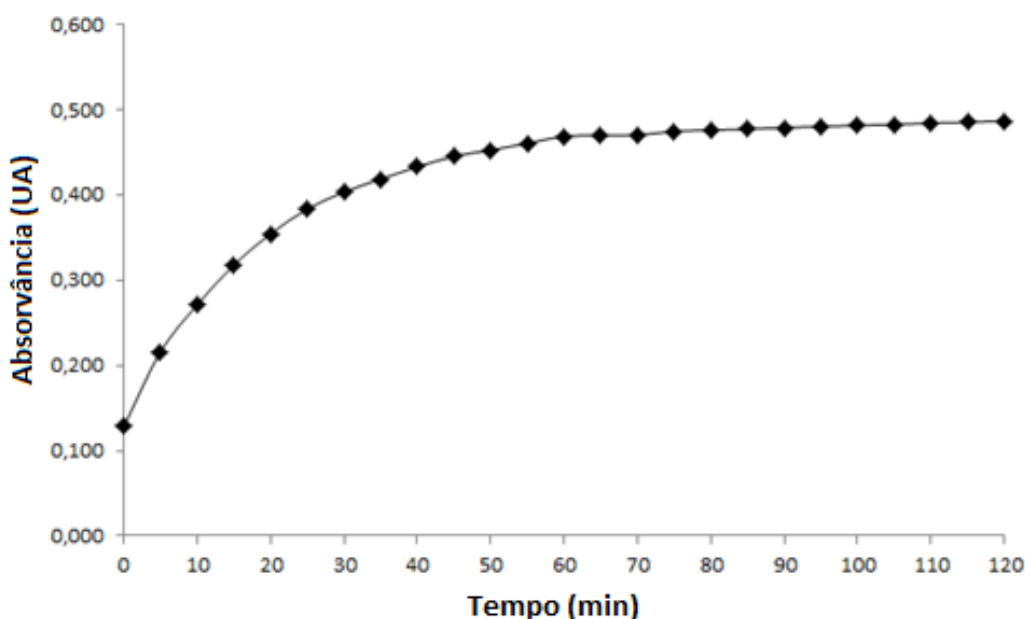
#### Determinação da concentração do solvente extrator

Na avaliação das soluções extrativas preparadas com as três concentrações do solvente (30, 40 e 50%), obtiveram-se TFT expressos em vitexina, de  $2,86 \pm 0,009$  (0,34%),  $3,03 \pm$

0,037 (1,23%) e  $2,75 \pm 0,016$  (0,61%) mg/mL, respectivamente. Deste modo, a concentração da solução hidroalcoólica empregada como solvente para a realização dos testes foi a de 40%, devido ao fato de apresentar melhor resposta para o processo extrativo.

#### Avaliação do tempo de reação

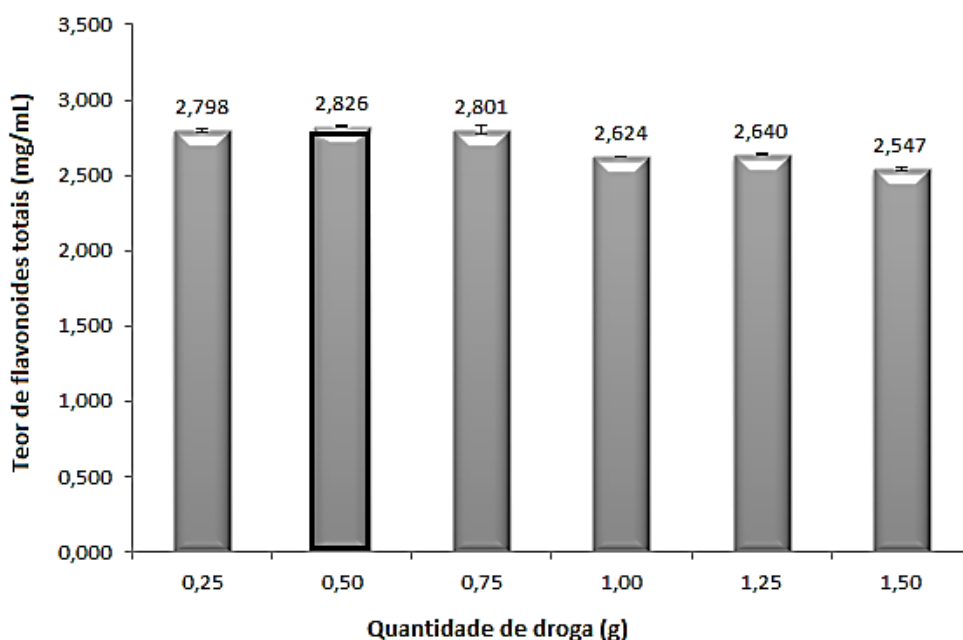
Várias pesquisas mostram que a metodologia mais corrente para doseamento de flavonoides por UV/Vis é utilizando o reagente cloreto de alumínio. Isso por que o cátion alumínio é capaz de complexar-se de maneira estável com os flavonoides, de forma a proporcionar um desvio para maiores comprimentos de onda e consequente intensificação da absorção (Marcucci; Woisky; Salatino, 1998). Dessa forma, torna-se possível determinar a quantidade de flavonoides com o mínimo de interferência possível de outros compostos fenólicos. O tempo de reação necessário para formação do complexo flavonóide- $\text{Al}^{3+}$  exerce função importante na resposta do método e depende de fatores tais como padrão de substituição da aglicona e da razão aglicona- $\text{Al}^{3+}$ . Para *S. occidentalis*, a cinética de reação com o tempo máximo de 120 minutos da adição de  $\text{AlCl}_3$  5% permitiu caracterizar a complexação como de cinética lenta. Verificou-se uma tendência a estabilização em tempo posterior a 60 min na absorvância máxima após a adição do reagente (Figura 2) sendo portanto padronizado como tempo de leitura.



**Figura 2-** Cinética de complexação dos flavonoides com  $\text{AlCl}_3$ .

### Avaliação da proporção droga-solvente

Os resultados da influência da proporção de droga-solvente na obtenção das soluções extrativas mostraram que a condição na qual se obteve uma maior resposta foi com 0,5 g de droga vegetal em 100,0 mL de etanol 40% (Figura 3), havendo diferença estatisticamente significativa entre as quantidades de droga avaliadas ( $F_{\text{calculado}} = 217,6$  e  $F_{\text{crítico}} = 3,10$ ). A aparente diminuição do teor de flavonoides com o aumento na proporção de planta tem sido justificada nos estudos de List e Schmidt (1989), no qual se explica pela possível saturação do solvente e diminuição da eficiência da extração dos flavonoides na amostra.



**Figura 3-** Avaliação proporção droga: solvente

### Avaliação da influência da concentração do reagente

Na avaliação das diferentes concentrações de cloreto de alumínio, os valores do teor de flavonoides totais obtidos foram de 2,90 mg/mL  $\pm$  0,057 (1,98%) para a concentração de 2,5%, 2,98 mg/mL  $\pm$  0,045 (1,54%) para 5,0% e 2,90 mg/mL  $\pm$  0,023 (0,79%) para a concentração de 7,5%. A análise estatística por ANOVA *one-way* possibilitou observar que não houve influência estatisticamente significativa da concentração do reagente cloreto de alumínio sobre a resposta do método (Tabela 1). Desta forma, a concentração intermediária a 5,0%, por apresentar melhor resposta, foi selecionada para o desenvolvimento dos testes.

**Tabela 1-** ANOVA para a influência da concentração de reagente.

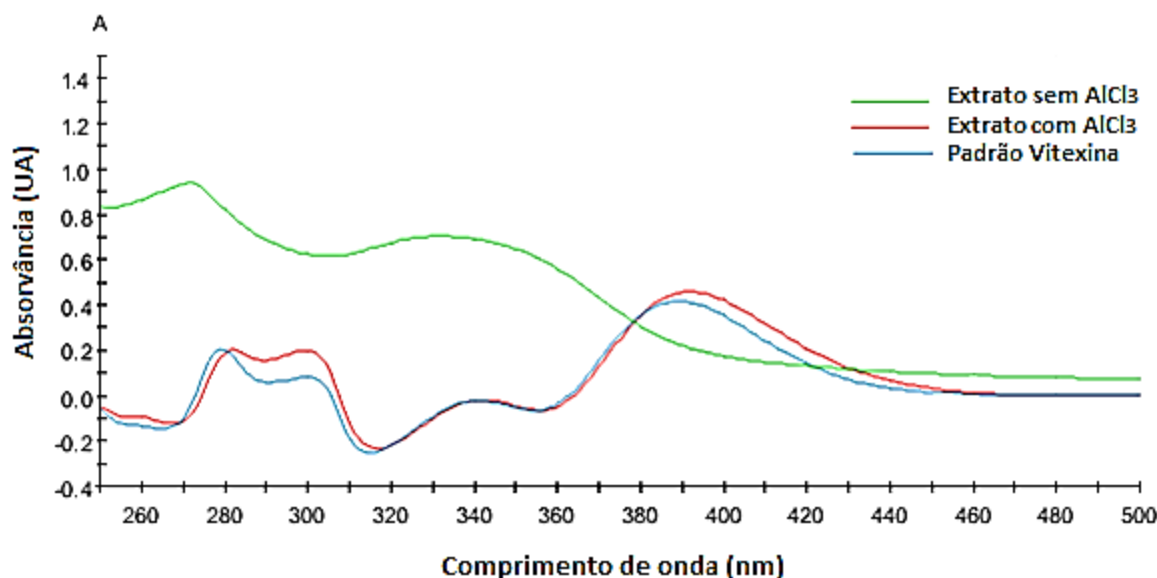
| Variável              | <i>F</i> | <i>F</i> crítico |
|-----------------------|----------|------------------|
| AlCl <sub>3</sub> (%) | 2,33     | 4,459            |

\* Significância de  $\alpha = 0.05$ .

### Validação do método analítico

#### Especificidade

A especificidade é definida pela ICH (1995) como a capacidade de determinado método em distinguir um ou o analito em presença de outros componentes da matriz. Tipicamente, estes componentes podem incluir impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (Brasil, 2003). A Figura 4 ilustra a sobreposição dos espectros obtidos para o extrato de *S. occidentalis* e para o padrão vitexina, na faixa de 200 a 500 nm. Após a adição de AlCl<sub>3</sub>, verificou-se um pico aproximado da amostra em relação ao padrão, no qual o primeiro teve seu máximo de absorvância em 392 nm, enquanto para o segundo, a resposta foi observada em 390 nm.



**Figura 4-** Especificidade do método construído com o padrão Vitexina e com o extrato de *S. occidentalis* (com e sem AlCl<sub>3</sub>) na amplitude de comprimento de onda entre 200-500 nm.

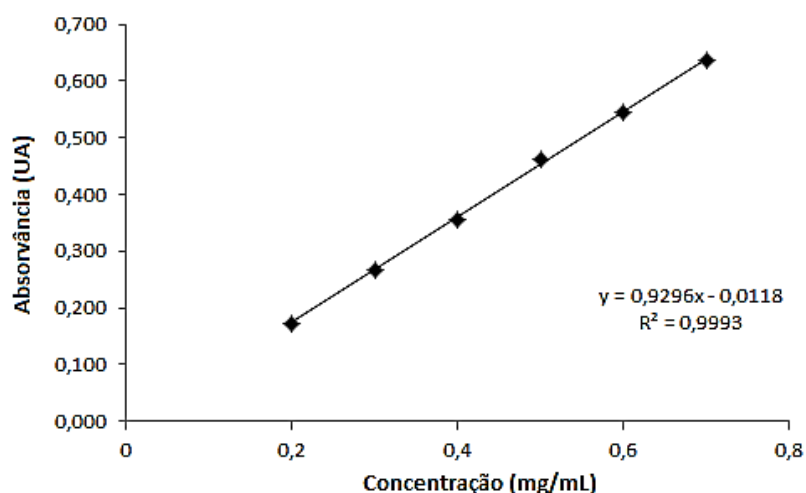
Este resultado reflete que nesta faixa de comprimento de onda é possível quantificar especificamente o padrão para flavonoide e as substâncias desta classe contidas no extrato, mesmo na presença de outros compostos ou impurezas.

A escolha do padrão vitexina se deu devido ao fato de relatos na literatura mostrarem a presença de flavonoides com estrutura química C-glicosilada, isolados em *S. occidentalis* (Gupta; Singh, 1991; Hatano et al., 1999). Esses compostos são mais resistentes à hidrólise e menos solúveis em acetato de etila do que as agliconas de flavonas, desse modo, permanecendo na fase aquosa após tal reação (Vilegas, 2000; Müller, 2006; Pereira).

### Linearidade

A resolução nº 899/2003 (Brasil, 2003) define linearidade como a capacidade de uma metodologia analítica em demonstrar que os resultados obtidos (variável dependente y) são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (variável independente x), dentro de um intervalo especificado. A equação matemática que expressa essa dependência é chamada de curva analítica ou de calibração (Ribeiro et al., 2008).

Os valores dos pontos das três curvas das soluções extrativas estão plotados na Figura 5, onde y é a absorvância (UA) e x a concentração da droga vegetal (mg/mL). A análise da regressão resultou em um coeficiente de determinação  $R^2 = 0,9993$ , implicando que 99,93% da variação total em torno da média são explicados pela regressão e comprovando a adequação do método ao intervalo avaliado, bem como sua conformação aos requisitos mínimos exigidos ( $R^2 > 0,99$ ).



**Figura 5-** Curva de linearidade, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e equação da reta da metodologia descritiva de flavonoides totais.

### Precisão

A análise de precisão é tida como uma avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de amostragens múltiplas de uma mesma amostra, sendo analisada através da repetibilidade e da precisão intermediária, de forma que podem ser expressas através do desvio padrão relativo (*dpr*) ou coeficiente de variação (CV) (Brasil, 2003).

A precisão é considerada como uma das análises mais representativas, por revelar o efeito das variações relacionadas aos dias, analistas ou equipamentos distintos implicando na garantia da reprodutibilidade do método (Bueno, 2010).

Ao analisar o cálculo do coeficiente de variação da repetitividade, nota-se que o método mostrou-se preciso neste nível, apresentando valor médio do teor de flavonoides totais de 2,97 mg/mL  $\pm$  0,070 (2,33%). Os valores da precisão intermediária não apresentaram diferença estatisticamente significativa, o que indica que o método é preciso para as análises realizadas por analistas diferentes em um mesmo dia e em dias diferentes (Tabela 2).

**Tabela 2-** Análise da precisão intermediária.

|                   | <b>Dia 1 <math>\pm</math> <i>dp</i> (CV%)</b> | <b>Dia <math>\pm</math> <i>dp</i> (CV%)</b> | <b>Analista</b>               | <b>Dia</b>                    |
|-------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>Analista 1</b> | 2,66 $\pm$ 0,0015<br>(0,36%)                  | 2,68 $\pm$ 0,0057<br>(0,13%)                | $F_{\text{calculado}} = 0,62$ | $F_{\text{calculado}} = 0,69$ |
| <b>Analista 2</b> | 2,66 $\pm$ 0,0023<br>(0,55%)                  | 2,76 $\pm$ 0,0011<br>(0,26%)                | $F_{\text{crítico}} = 161,4$  | $F_{\text{crítico}} = 161,4$  |

Resultado expresso mg de vitexina por mL de extrato.

### Exatidão

A exatidão reflete a proximidade dos resultados obtidos por um método analítico em relação aos valores verdadeiros. É calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionado à amostra, ou ainda como a diferença percentual entre as médias e o valor aceito como verdadeiro (ICH, 1995; Brasil, 2003).

A exatidão foi calculada através do teste de recuperação e os valores encontrados mostraram-se dentro do limite pré-estabelecido (> 95%) (Tabela 3).

**Tabela 3-** Teste de recuperação (%).

| Amostra         | Valor teórico | Valor real $\pm dp$ (CV%) | Recuperação (%) |
|-----------------|---------------|---------------------------|-----------------|
| 1,0 mL + 2,5 mL | 4,11          | 4,18 $\pm$ 0,0038 (0,58)  | 101,7           |
| 2,0 mL + 2,5 mL | 5,30          | 5,47 $\pm$ 0,0040 (0,47)  | 103,2           |
| 3,0 mL + 2,5 mL | 6,41          | 6,32 $\pm$ 0,0017 (0,17)  | 98,59           |

Resultados dos valores teórico e real expressos mg de vitexina por mL de extrato.

### Robustez

A robustez de um método analítico é a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, sem perder sua exatidão e precisão (Brasil, 2003). Este teste fornece uma indicação de confiança do processo, durante o seu desenvolvimento usual (ICH, 1995; Brasil, 2003). Para testar a robustez deste método desenvolvido, foram avaliados dois parâmetros, presença de iluminação e variação da marca do solvente utilizado na obtenção das amostras. A análise estatística por ANOVA *one-way* revelaram que os valores não apresentaram interferências significativas frente às pequenas variações avaliadas (Tabela 4).

**Tabela 4-** Análise da robustez.

| Parâmetros                        | Variáveis       | Média $\pm dp$ (CV%)     | F                              |
|-----------------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------------|
| <b>Luminosidade</b>               | Ausência de luz | 3,03 $\pm$ 0,0373 (1,23) | $F_{\text{calculado}} = 11,56$ |
|                                   | Presença de luz | 2,80 $\pm$ 0,0452 (1,61) | $F_{\text{crítico}} = 39,0$    |
| <b>Marca do solvente (etanol)</b> | Marca A         | 2,82 $\pm$ 0,0481 (1,70) | $F_{\text{calculado}} = 2,19$  |
|                                   | Marca B         | 2,82 $\pm$ 0,0331(1,17)  | $F_{\text{crítico}} = 39,0$    |

Resultado expresso mg de vitexina por mL de extrato.

### **Conclusão**

O procedimento analítico avaliado nesta pesquisa apresentou adequação aos parâmetros de validação estabelecidos pela RE nº 899/2003 da ANVISA, sendo qualificada como uma técnica específica, linear, precisa, exata e robusta para análise quantitativa de flavonoides totais nas folhas de *Senna occidentalis*, garantindo assim confiabilidade suficiente para sua adoção na rotina de controle de qualidade. Além disso, esta técnica espectrofotométrica se mostrou de simples execução e baixo custo. Dessa forma, a

importância deste estudo tem como finalidade contribuir no processo de identificação, controle e padronização de parâmetros de qualidade para as folhas de *S. occidentalis*.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (03/2010, ANVISA) e ao CNPQ (312537/2009-3, 483870/2011-0) pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste projeto e à equipe do Herbário Dárdano de Andrade Lima, do IPA-PE, pela identificação da espécie estudada e elaboração da exsicata.

### Referências

- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010a. Resolução RDC nº 14 de 31 de março de 2010; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 05 abr. 2010, seção 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010b. Resolução RDC nº 17 de 16 de abril de 2010; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 abr. 2010, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2003. Resolução (RE) n. 899 de 29 de Maio de 2003; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 jun. 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.
- Bueno FG 2010. *Controle de qualidade, desenvolvimento de metodologia analítica e avaliação da atividade cicatrizante de Caesalpinia peltophoroides Benth.* Maringá. 120p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá.
- Cândido ACS 2007. *Potencial alelopático da parte aérea de Senna occidentalis (L.) Link (Leguminosae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório e em casa de vegetação.* Campo Grande. 99p. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Carvalho ACB, Balbino EE, Maciel A, Perfeito JPS 2008. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 314-319.
- Chabariberi RAO, Pozzi ACS, Zeraik ML, Yariwake JH 2008. Determinação espectrométrica dos flavonoides das folhas de *Maytenus* (Celastraceae) e de *Passiflora* (Passifloraceae) e comparação com método CLAE-UV. *Rev Bras Farmacogn*, 19: 860-864.

- Dresch AP, Montanha JÁ, Matzenbacher NI, Mentz LA 2006. Controle de qualidade de espécies do gênero *Baccharis* L. (Asteraceae) por CCD a partir de extratos rápidos. *Infarma*, 18: (11/12), 37-40.
- Fernandes AJD, Ferreira MRA, Randau KP, De Souza TP, Soares LAL 2012. Total flavonoids content in the raw material and aqueous extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpiniaceae). *The Scientific World Journal*, Article ID 923462.
- Gupta D, Singh J 1991. Flavonoid Glycosides from *Cassia alata*. *Phytochemistry*, 30: (8), 2761- 2763.
- Hatano T, Mizuta S, Ito H, Yoshida T 1999. C-Glycosidic flavonoids from *Cassia occidentalis*. *Phytochemistry*, 52: 1379-1383.
- ICH 1995. International Conference on Harmonisation, Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95).
- Komarova NI, Rogachev AD, Chernyak EI, Morozov SV, Fomenko VV, Salakhutdinov NF 2009. Quantitative HPLC determination of main flavonoid content of *Rhododendron adamsii* leaves and stems. *Chem Nat Compd* 45: 26-29.
- List PM, Schimidt PC 1989. *Phytopharmaceutical technology*. Boca Raton: CRC.
- Lombard KA, Geoffriau E, Peffley E 2002. Flavonoid quantification in onion by spectrophotometric and high Performance Liquid Chromatography analysis. *Hortscience* 37: 682-685.
- Lorenzi H, Matos FJA 2002. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Luo C, Zou X, Li Y, Sun C, Jiang Y, Wu Z 2011. Determination of flavonoids in propolis-rich functional foods by reversed phase high performance liquid chromatography with diode array detection. *Food Chem* 127: 314-320.
- Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB 1970. *The systematic identification of Flavonoids*. Springer: New York.
- Marcucci MC, Woisky RG, Salatino A 1998. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. *Mensagem Doce*, 46: 3-8.
- Marques GS 2011. Desenvolvimento e avaliação de metodologias analíticas para quantificação de flavonoides totais e canferitrina em folhas de *Bauhinia forficata* Link. Recife, 129p. Dissertação de Mestrado, Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.
- Marques GS, Leão WF, Lyra MAM, Peixoto MS, Monteiro RPM, Rolim LA, Xavier HS, Rolim-Neto PJ, Soares LAL 2012. Comparative evaluation of UV/VIS and HPLC analytical methodologies applied for quantification of flavonoids from leaves of *Bauhinia forficata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, print version. Disponível at:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2012005000143&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2012005000143&script=sci_arttext)>. Access in: 02/01/2013.

- Müller SD 2006. *Determinação de alcalóides e flavonóides através de CLAE e UV de extratos de Passiflora alata Curtis, Passifloraceae – Maracujá-doce*. Itajaí, 90p.. Dissertação de Mestrado, Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí.
- Pereira CAM, Vilegas JHY 2000. Constituintes químicos e farmacologia do gênero *Passiflora* com ênfase a *Passiflora alata* Dryander, *P. edulis* Sims e *P. incarnata* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 3: (1), 1-12.
- Petry RD, Souza KCB, Bassani VL, Petrovick, PR, González-Ortega G 1998. Doseamento do teor de flavonoides totais em extratos hidroalcoólicos de *Passiflora alata* Dryander (maracujá). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 79: 7-10.
- Petry RD, Ortega GG, Silva WB 2001. Flavonoid content assay: influence of the reagent concentration and reaction time on the spectrophotometric behaviour of the aluminium chloride - flavonoid complex. *Die Pharmazie* 56: 465-470.
- Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V, Damyanova BN, Sabatini AG, Marcuzzan GL, Bogdanov S 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type *Propolis* *Phytochemical Analysis*, 15: 235-240.
- Ribeiro FAL, Ferreira MMC, Morano SC, Silva LRS, Schneider RP 2008. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova*, 31: 164-171.
- Rocha FRP, Teixeira LSG 2004. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. *Química Nova*, 27: 807-812
- Samy RP, Ignacimuthu S, Sen A 1998. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 62: 173-81.
- Silva KGH, Xavier Júnior FH, Farias IEG, Silva AKA, Caldas Neto JA, Souza LCA, Santiago RR, Alexandrino Júnior F, Nagashima Júnior T, Soares LAL, Santos-Magalhães NS, Egito EST 2009. Stationary cuvette: a new approach to obtaining analytical curves by UV-VIS spectrophotometry. *Phytochemical Analysis*, 20: 265-271.
- Soares LAL, Bassani VL, Ortega GG, Ros Petrovick P 2003. Total flavonoid determination for the quality control of aqueous extractives from *Phyllanthus niruri* L. *Latin American Journal of Pharmacy*, 22: 203-207
- Viegas-Junior C, Rezende A, Silva DHS, Castro-Gamboa, I, Bolzani VS, Barreiro EJ, Miranda ALP, Alexandre-Moreira MS, Young MCM 2006. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. *Química Nova*, 29(6): 1-8.
- Xu X, Ye H, Wang W, Chen G 2005. An improved method for the quantitation of flavonoids in *Herba Leonuri* by capillary electrophoresis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5853-5857.

Yang YC, Lim MY, Lee HS 2003. Emodin isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) seed shows larvicidal activity against three mosquito species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7629-7631

# ***Perspectivas***

---

*Vanessa da Silva Luna*

## 7 PERSPECTIVAS

- Desenvolver e validar uma metodologia para a quantificação do teor de flavonoides por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Desenvolver e validar uma metodologia para a quantificação de antraquinonas nesta espécie, utilizando espectrofotometria UV-Vis;
- Desenvolver e validar uma metodologia para a quantificação do teor de antraquinonas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);

## ***Conclusão***

## 8 CONCLUSÃO

Através do levantamento de dados da literatura referentes à *Senna occidentalis*, foi possível observar que a sua aplicabilidade na medicina tradicional está fundamentada em uma pluralidade de estudos científicos realizados, que relacionam os resultados do perfil fitoquímico com as atividades farmacológicas, reportando os principais efeitos laxativo e anti-inflamatório, à presença de compostos antraquinônicos e flavonoídicos, respectivamente.

O estudo botânico desta espécie permitiu além da visualização de estruturas características do gênero *Senna*, a observação da presença de tricomas restrita à face abaxial do folíolo, o que de acordo com os relatos disponíveis na literatura, é uma particularidade desta espécie, auxiliando na diferenciação entre as demais espécies e no controle de qualidade botânico da mesma.

A caracterização físico-química e o perfil fitoquímico contribuíram no processo de identificação e padronização de parâmetros de qualidade para a espécie, uma vez, para este último, foi confirmada a presença de compostos da classe dos flavonoides, antraquinonas, compostos fenólicos, triterpenos e esteroides, polifenóis, mono e sesquiterpenos, resultados que corroboram com os encontrados em estudos semelhantes disponíveis na literatura. Os resultados dos testes físico-químicos mostraram-se dentro dos padrões estabelecidos na Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

O método analítico desenvolvido para o doseamento de flavonoides totais por espectrofotometria no UV/Vis em folhas de *S. occidentalis* foi validado conforme os parâmetros estabelecidos pela RE nº 899/03 da ANVISA, apresentando-se como uma técnica específica, sensível, precisa, exata e robusta, sendo possível a sua inclusão na rotina laboratorial. Tratando-se de flavonoides, embora o procedimento de hidrólise ácida apresentem melhores respostas quando comparado ao de diluição direta, para a espécie estudada, a presença de flavonoides com estrutura química C-glicosídica faz com que apenas este último procedimento seja aplicável para tal finalidade, uma vez que estes flavonoides são mais resistentes à hidrólise quando comparado aqueles com a estrutura O-glicosídica.

Desse modo, os resultados obtidos neste estudo confirmam a viabilidade da adoção de técnicas espectrofotométricas como alternativa para a quantificação de flavonoides em folhas de *S. occidentalis*. Apesar de a espectrofotometria no UV/Vis apresentar limitações de seletividade e especificidade, principalmente tratando-se de matrizes complexas como as drogas vegetais, neste estudo, esta técnica apresentou confiabilidade suficiente para a sua

adoção no controle de qualidade da espécie em questão, além da simplicidade operacional e rapidez na obtenção dos resultados.

## ***Referências***

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2003. **Resolução (RE) n. 899 de 29 de Maio de 2003**; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 jun. 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 14 de 31 de março de 2010**; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 05 abr. 2010, seção 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos, 2010.

CHABARIBERI, R. A. O.; POZZI, A. C. S.; ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Determinação espectrométrica dos flavonoides das folhas de *Maytenus* (Celastraceae) e de *Passiflora* (Passifloraceae) e comparação com método CLAE-UV. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 19, p. 860-864, 2008.

FRASSON, A. P. Z.; BITTENCOURT, C. F.; HEINZMANN, B. M. Caracterização físico-química e biológica do caule de *Caesalpinia férrea* Mart.. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.13, n.1, p.35-39, 2003.

HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química nova**, v. 31, n. 6, p.1378-1384, 2008.

KOES, R. E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J. N. M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. **Bioessays**, vol.16, n. 12, p.123-132, 1994.

MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M.B. **The systematic identification of Flavonoids**. Springer: New York, 1970.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. **Mensagem Doce**, n. 46: 3-8, 1998.

MARKHAM, K. R. **Techniques of flavonoid identification**. New York: Academic Press, 1982. 113 p.

MARQUES, G. S. **Desenvolvimento e avaliação de metodologias analíticas para quantificação de flavonoides totais e canferitrina em folhas de *Bauhinia forficata* Link.** 2011. 129p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

MARQUES, G. S.; LEÃO, W. F.; LYRA, M. A. M.; PEIXOTO, M. S.; MONTEIRO, R. P. M.; ROLIM, L. A.; XAVIER, H. S.; ROLIM-NETO, P. J.; SOARES, L. A. L. Comparative evaluation of UV/VIS and HPLC analytical methodologies applied for quantification of flavonoids from leaves of *Bauhinia forficata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia** print version, 2012. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102695X2012005000143&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102695X2012005000143&script=sci_arttext).  
Acesso em: 02/01/2013

MORETONI, C. B. Avaliação fitoquímica e das atividades antioxidante, citotóxica e hipoglicemiante dos frutos de *Cucumis anguria* L. (Cucurbitaceae). 2008. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

PETRY, R. D.; SOUZA, K. C. B.; BASSANI, V. L.; PETROVICK, P. R.; GONZÁLEZ-ORTEGA, G. Doseamento do teor de flavonoides totais em extratos hidroalcoólicos de *Passiflora alata* Dryander (maracujá). **evista Brasileira de Farmacognosia**, n.79: p. 7-10, 1998.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Quim Nova**, v. 27, p. 807-812, 2004

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. 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**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007.

SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonoides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, vol. 21 n. 2, p. 135-140, 1998.

SCHMIDT, P. C.; ORTEGA, G. G. Passionsblumenkraut. Bestimmung des Gesamtflavonoidgehaltes von Passiflorae herba. **Deutsche Apotheker Zeitung**, n. 133, p. 17-26, 1983.

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**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007.

SOUZA, R. F. V.; GIOVANI, W. F. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al (III) and Zn (II) complexes with flavonoids. **Spectrochimica Acta A**, n.61, p. 1985–1990, 2005.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; FERRERES, F.; VALBUENA, A. O.; MAESO, M. C. F. Estudio sobre el contenido en flavonoides de las mieles de La Alcarria: su aplicación a la caracterización geográfico-botánica. CSIC, **Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de La Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha**, 9-12, 1994.

WOISKY, R. G. **Métodos de controle químico de amostras de própolis**. 1998. 74p. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, São Paulo, 1998.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, p. 99-105, 1996.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. 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**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2007.

***Anexos***

---

*Vanessa da Silva Luna*

## **ANEXO A- Normas para submissão de manuscritos à Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**

### *Instruções aos autores*

#### **ESCOPO E POLÍTICA**

A Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada/Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences é um periódico especializado de conteúdo multidisciplinar, aberto à comunidade científica nacional e internacional, arbitrada e distribuída aos leitores do Brasil e de vários outros países.

Esta Revista é editada pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista - UNESP. Publica pesquisas originais nos diferentes campos das Ciências Farmacêuticas, sobre temas relevantes envolvendo pesquisas básicas e aplicadas, na forma de artigos originais, comunicações breves e trabalhos de revisão. Os manuscritos poderão ser encaminhados em português, inglês ou espanhol. Publica um volume por ano, constituído por três fascículos ou números.

A Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada/Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences segue as regras dos “Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos” (Norma de Vancouver - <http://www.icmje.org>). O estilo e formato das referências são baseados em grande parte ao do Instituto Nacional Americano de Normas e Estilo adaptado pela National Library of Medicine NLM, para seus bancos de dados. Os autores devem consultar: Patrias K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers [Internet]. 2nd. ed. Wendling DL, technical editor. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2007 [updated 2009 Jan 14]. <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine> sobre seus formatos recomendados para uma variedade de tipos de referências

É vedada a submissão integral ou parcial do manuscrito a qualquer outro periódico. A responsabilidade do conteúdo dos artigos é exclusiva dos autores.

#### **SUBMISSÃO DE TRABALHO**

Os manuscritos deverão ser submetidos de preferência no formato eletrônico da revista no seguinte endereço: [http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/cien\\_farm/about/submissions#onlinesubmissions](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/cien_farm/about/submissions#onlinesubmissions)

Cada manuscrito deve ser acompanhado de carta de submissão assinada pelo autor correspondente.

## **Preparação de artigo original**

Os manuscritos devem ser digitados no editor de texto MS Word versão 6.0 ou superior, em uma só face, fonte Times New Roman 12, em folha de papel branco, formato A4 (210x297mm), mantendo margens laterais de 3 cm e espaço duplo em todo o texto. Todas as páginas devem ser numeradas a partir da página de identificação.

O manuscrito deve ser organizado de acordo com a seguinte ordem: página de identificação, resumo, palavras-chave, introdução, material e métodos, resultados, discussão, agradecimentos, referências, figuras, legendas de figuras e tabelas.

### **Página de identificação:**

- a) Título do artigo: deve ser conciso, informativo e completo, evitando palavras supérfluas. Os autores devem apresentar versão para o inglês, quando o idioma do texto for português ou espanhol e para o português, quando redigido em inglês ou espanhol.
- b) Autores: nome e sobrenome de cada autor por extenso.
- c) Afiliação: indicar a afiliação institucional de cada um dos autores.
- d) Autor correspondente: indicar o autor para o qual a correspondência deve ser enviada, com endereço completo, incluindo e-mail, telefone e fax.
- e) Título resumido: o título resumido será usado como cabeçalho em todas as páginas impressas, não deve exceder 40 caracteres.

### **Resumo e Abstract:**

Os artigos deverão vir acompanhados do resumo em português e do abstract em inglês. Devem apresentar os objetivos do estudo, abordagens metodológicas, resultados e as conclusões e conter no máximo 250 palavras.

### **Palavras-chave e Keywords:**

Deve ser apresentada uma lista de 3 a 6 termos indexadores em português e inglês, utilizando Tesouro Medline, ou descritores da área da Saúde DeCS Bireme <<http://decs.bvs.br>>.

### **Introdução:**

Deve determinar o propósito do estudo e oferecer uma breve revisão da literatura, justificando a realização do estudo e destacando os avanços alcançados através da pesquisa.

**Material e Métodos:**

Devem oferecer, de forma breve e clara, informações suficientes para permitir que o estudo possa ser repetido por outros pesquisadores. Técnicas padronizadas podem ser apenas referenciadas.

**Resultados:**

Devem oferecer uma descrição clara e concisa dos resultados encontrados, evitando-se comentários e comparações. Não repetir no texto todos os dados contidos nas figuras e tabelas.

**Discussão:**

Deve explorar o máximo possível os resultados obtidos, relacionado-os com os dados já registrados na literatura. Somente as citações indispensáveis devem ser incluídas.

**Agradecimentos:**

Devem se restringir ao necessário. O suporte financeiro deve ser incluído nesse item.

**Referências bibliográficas:**

Devem ser citadas apenas aquelas essenciais ao conteúdo do artigo. Devem ser ordenadas alfabeticamente de acordo com o estilo de Vancouver. Nas publicações com até dez autores, citam-se todos; acima, o primeiro seguido da expressão et alii (abreviada et al.). Os títulos de revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus. Consultar a lista de periódicos indexados no Index Medicus publicada no seguinte endereço eletrônico: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html>.

- Artigos de periódicos

Docherty JR. Subtypes of functional  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  adrenoceptors. Eur J Pharmacol. 1998; 361(1):1-15.

Martins MBG, Martins AR, Cavaleiro AJ, Telascrêa M. Caracterização biométrica e química da folha de *Mentha pulegium* x *spicata* (Lamiaceae).

Rev Ciênc Farm., Araraquara, 2004;25(1):17-23. Araujo N, Kohn A, Katz N. Activity of the artemether in experimental

Schistosomiasis mansoni. Mem Inst Oswaldo Cruz 1991; 86(Suppl 2):185-8.

Yue WJ, You JQ, Mei JY. Effects of artemether on Schistosoma japonicum adult worms and ova. Acta Pharmacol Sin. 1984;5 (2 Pt 1):60-3.

- Artigo sem volume e número

Combes A. Etude d'excipients utilisés dans l'industrie pharmaceutique. STP Pharma 1989:766-90.

- Artigo sem autor

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. Br Med J Clin Res. 1981 Sep 5;283(6292):628.

- Artigo de periódico no formato eletrônico

Rocha JSY, Simões BJG, Guedes GLM. Assistência hospitalar como indicador da desigualdade social. Rev Saúde Pública [Internet] 1997 [citado 1998 mar 23];31(5):479-87. Disponível em: <http://www.fsp.usp.br/~rsp>.

Guan M, Chen Y. Aberrant expression of DeltaNp73 in benign and malignant tumours of the prostate: correlation with Gleason score. J Clin Pathol [Internet]. 2005 Nov [cited 2007 Jan 9];58(11):1175-9. Available from: <http://jcp.bmj.com/cgi/content/full/58/11/1175>.

Bernhardt JM, Felter EM. Online pediatric information seeking among mothers of young children: results from a qualitative study using focus groups. J Med Internet Res [Internet]. 2004 Mar 1 [updated 2006 Dec 10; cited 2007 Jan 5];6(1):e7 [about 13 p.]. Available from: <http://www.jmir.org/2004/1/e7/>.

Prevention strategies for asthma-secondary prevention. CMAJ [Internet]. 2005 Sep 13 [cited 2007 Jan 5];173(6 Suppl):S25-7. Available from: [http://www.cmaj.ca/cgi/content/full/173/6\\_suppl/S25](http://www.cmaj.ca/cgi/content/full/173/6_suppl/S25).

- Artigos com Identificador de Objeto Digital - DOI

Harrison JJ, Ceri H, Yerly J, Stremick CA, Hu Y, Martinuzzi R, Turner RJ. The use of microscopy and three-dimensional visualization to evaluate the structure of microbial biofilms cultivated in the Calgary Biofilm Device.

Biol Proc Online[Internet]. 2006 [cited 2007 Jan 8];8(1):194-215. Available from: <http://www.biologicalprocedures.com/bpo/arts/1/127/m127.pdf>. DOI: 10.1251/bpo127

Bhutta ZA, Darmstadt GL, Hasan BS, Haws RA. Community-based interventions for improving perinatal and neonatal health outcomes in developing countries: a review of the evidence. *Pediatrics*. 2005 Feb;115(2 Suppl):519-617. DOI:10.1542/peds.2004-1441.

- Instituição como autor

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension* 2002;40(5):679-86.

- Instituição como autor e editor

Brasil. Ministério da Saúde. Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis. 3ª ed. Brasília (DF); 1999. Ministerio de Salud de Nicaragua. Política nacional de salud 1997-2002: descentralización y autonomía. Managua: Ministerio de Salud; 2002. p.42-9.

- Trabalho apresentado em congresso

Alencar LCE, Seidl EMF. Levantamento bibliográfico de estudos sobre doadoras de leite humano produzidos no Brasil. In: 2. Congresso

Internacional de Bancos de Leite Humano; 2005; Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kay SV, editors. Indoor air and human Health. Proceedings of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville, TN. Chelsea, MI: Lewis, 1985:69-78.

- Livros

Goodman LS. The pharmacological basis of therapeutics. 2nd. ed. New York: Macmillan; 1955.

Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 11th. ed. Chicago: McGraw-Hill; 2006.

- Capítulos de livros

Laurenti R. A medida das doenças. In: Forattini OP. Ecologia, epidemiologia e sociedade. São Paulo: Artes Médicas; 1992. p.369-98.

Fisberg RM, Marchioni D, Slater B. Avaliação da dieta em grupos populacionais [on-line]. In: Usos e aplicações das Dietary Reference Intakes – DRIs ILSI/SBAN; 2001. [citado 2004 fev] Disponível em: <http://www.sban.com.br/educ/pesq/LIVRO-DRI-ILSI.pdf>.

- Editores, Compiladores

Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug induced headache. New York: Spring-Verlag; 1988.

- Livro em CD-ROM

Martindale: the complete drug reference [CD-ROM]. Englewood, CO: Micromedex; 1999. Based on: Parfitt K, editor. Martindale: the complete drug reference. London: Pharmaceutical Press; 1999. International Healthcare Series.

- Dissertação e Tese

Moraes EP. Envelhecimento no meio rural: condições de vida, saúde e apoio dos idosos mais velhos de Encruzilhada do Sul, RS. [Tese]. Ribeirão Preto: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2007.

Chorilli M. Desenvolvimento e caracterização de lipossomas contendo cafeína veiculados em géis hidrofílicos: estudos de estabilidade e liberação in vitro [Dissertação]. Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2004.

- Documentos legais

#### *Leis publicadas*

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 30 de março de 2007. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados - SNGPC estabelece a implantação do módulo para drogarias e farmácias e dá outras providências. Diário Oficial da União, nº 63, 2 de abril de 2007. Seção 1. p. 62-4.

São Paulo (Estado). Decreto nº 42.822, de 20 de janeiro de 1998. Lex: coletânea de legislação e jurisprudência, São Paulo, 1998; 62(3): 217-220. Prefeitura Municipal de São Paulo. Lei Municipal nº 12.623, de 6 de maio de 1998. Proíbe a comercialização de água mineral com teor de flúor acima de 0,8 mg/l no município e dá outras providências. Diário Oficial do Município. 13 maio 1998.

### *Projetos de lei*

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong., 1st Sect. (1995).

### *Código de regulamentações federais*

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.257 (1995).

#### • Patente

Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Expoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.

#### • Software

HINTZE JL. NCSS: statistical system for Windows. Version 2001. Kaysville, UT: Number Cruncher Statistical Systems; 2002.

Epi Info [computer program]. Version 6. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 1994.

EPI Info: a database and statistics program for public health professionals Version 3.2.2. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2005. [cited 2006 May 30]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/biblio.htm>.

#### • website

Health on the net foundation. Health on the net foundation code of conduct (HONcode) for medical and health web sites. [cited 1998 June 30]. Available from: <http://www.hon.ch/Conduct.html>.

Hoffman DL. St John's Wort. 1995; [4 screens]. [cited 1998 July 16]. Available from: <http://www.healthy.net/library/books/hoffman/materiamedica/stjohns.htm>.

### **Preparação de Artigo de Revisão**

Deve conter uma revisão crítica de assunto atual e relevante baseando-se em artigos publicados e em resultados do autor. O Artigo de Revisão não deve ultrapassar oito páginas impressas (aproximadamente 24 páginas impressas no manuscrito). Deve apresentar resumo na língua em que estiver redigido e um Abstract quando redigido em português ou espanhol.

## **Preparação de Comunicação Breve**

Deve ser breve e direta sendo seu objetivo comunicar resultados ou técnicas particulares. No entanto recebe a mesma revisão e não é publicada mais rapidamente que um artigo original. Deve ser redigida de acordo com as instruções dadas para Artigo Original mas sem subdivisão em capítulos. As referências devem ser citadas no final do texto, usando o mesmo formato utilizado para Artigo Original. Um resumo breve e três palavras-chave devem ser apresentadas. O autor deve informar que o manuscrito é uma Comunicação Breve de modo a ser avaliado adequadamente durante o processo de revisão.

## **INFORMAÇÕES ADICIONAIS**

**Citações bibliográficas no texto:** Devem ser apresentadas no texto pelo(s) sobrenome(s) dos autores seguida do ano da publicação, conforme os exemplos:

- Um autor:

Croft (1999) ou (Croft, 1999)

- Dois autores:

Sogin & Bacci (1998) ou (Sogin & Bacci, 1998)

- Mais que dois autores:

Kreiger et al. (1990) ou (Kreiger et al., 1990).

## **Ilustrações**

**Figuras:** Fotografias, gráficos, mapas ou ilustrações devem ser apresentadas em folhas separadas, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos segundo a ordem que aparecem no texto. As legendas correspondentes deverão ser claras e concisas, e devem ser enviadas também em folha separada. Os locais aproximados das figuras deverão ser indicados no texto. Deve-se indicar no verso de cada figura o seu número, o nome do autor e uma seta apontando a orientação correta. A elaboração dos gráficos, mapas e ilustrações deverá ser feita em preto e branco ou em tons de cinza. As fotografias deverão ser encaminhadas em original preto e branco ou com cópia digitalizada em formato .tif ou .jpg com no mínimo 300dpi. Essas fotos deverão estar em arquivos separados e não inseridas no texto do Word.

**Tabelas:** Devem complementar e não duplicar o texto. Elas devem ser numeradas em algarismos arábicos. Um título breve e descritivo deve constar no alto de cada tabela. Se necessário, utilizar notas de rodapé identificadas.

**Ética:** Os pesquisadores que utilizam em seus trabalhos experimentos com seres humanos, ou material biológico humano, devem observar as normas vigentes editadas pelos órgãos oficiais. Os trabalhos que envolvem experimentos que necessitam de avaliação do Comitê de Ética deverão ser acompanhados de cópia do parecer favorável.

**Os manuscritos que não estiverem de acordo com as Instruções aos autores não serão analisados.**

Endereço:

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Rodovia Araraquara-Jaú, km 01 - Caixa Postal 502

14801-902 - Araraquara, SP- Brasil.

Fone: 55-16-33016887

E-mail:rcfba@fcfar.unesp.br

## **ANEXO B- Normas para submissão de manuscritos à Revista Brasileira de Farmacognosia**

This template is to be used to prepare manuscripts for submission to Revista Brasileira de Farmacognosia. Please consult the Guidelines to Authors or a recent issue of the journal for the appropriate paragraph styles. Use of this template is a benefit to the author in that the entire manuscript (text, tables, and graphics) may be submitted in one file. Inserting figures and tables close to the point at which they are discussed in the text of the manuscript can also be a benefit for the reviewer. Use of the template is not a requirement for submission.

### **Using the template**

1. Type your manuscript directly into the template, select (highlight) the text of the template that you want to replace and begin typing your manuscript (*i.e.*, select the Title section for typing in your title).
2. There are many different components of a manuscript (*i.e.*, title, abstract, main text, figure captions etc.) that are represented in the template.
3. To insert graphics within the text or as a figure, chart, scheme, or table, create a new line and insert the graphic where desired. If your graphic is not visible, ensure that the Word Style is “Normal” with an automatic height adjustment. If the size of the artwork needs to be adjusted, re-size the artwork in your graphics program and re-paste the artwork into the template (maximum width for single-column artwork, 8.5 cm; maximum width for double-column artwork, 17.8 cm).
4. Delete all sections from the template that are not needed, including these instructions.
5. Save the file with the graphics in place: select Save As (File menu) and save it as a document file (.doc).

## Title

(The title must be brief and grammatically correct, in accordance with the contents of the article, taking in consideration the scope and objectives of the Journal.

**Author 1,<sup>1</sup> Author 2,<sup>2</sup> Autor 3\*<sup>1</sup>** (Use first names, initials, and surnames (*e.g.*, José R. Santos;

At least one author must be designated with an asterisk as the author to whom correspondence should be addressed)

<sup>1</sup>*Affiliation of author 1* (The affiliation should be the institution where the work was conducted)

<sup>2</sup>*Affiliation of author 2.*

**ABSTRACT:** Species of ..... by comparing the information based on literature.

(A brief and concise abstract (maximum 200 words) of the article highlighting the more important information, the methodology, the results, and the conclusions. This will allow the reader to evaluate their interest in the article and thus avoid having to read the full work.)

**Keywords:** up to six keywords, separated by commas.

(The authors should identify a maximum of six keywords to represent the content of the article.

Keywords are very important for data base searches, thus validating the article. The keywords should be separated by commas.)

## Introduction

Manuscript text...

The Introduction should clearly establish the objective of the work and its relationship with other works in the same field. Extensive literature reviews should be replaced by references to more recent publications, where these reviews have been published and are available.

Citations: Author in lower case, followed by the publication year between parenthesis, *e.g.* Pereira (1999); at the end of the citation: Author in lower case and year, both between parenthesis. *e.g.* (Silva, 1999) or (Silva & Souza, 1998) or (Silva et al., 1999) or (Silva et al., 1995a,b); textual citation: the page must be provided, *e.g.* (Silva, 1999, p. 24).

## Materials and Methods

The description of the material and the methods used should be brief, but sufficiently clear to make possible the comprehension and the reproducibility of the work. Processes and techniques already published, unless extensively modified, should be referenced. Plant names should be complete including author name and family according to <http://www.tropicos.org/>, <http://www.theplantlist.org/> or <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/>.

### *Plant material*

Leaves of full name of the plant including *Genus species* Author, Family, was collected.... and identified by... number of deposit.

### *Assays*

Briefly description of the experimental procedures...

## **Results**

or

## **Results and Discussion**

The Results should be presented with a minimum personal discussion or interpretation, and whenever possible, be accompanied by adequate tables and figures. The data, when pertinent, should be submitted to statistical analysis

The Discussion must be restricted to the significance of the obtained data and the achieved results, avoiding conclusions not based on them. Alternatively, at the discretion of the author, the Results and Discussion could be presented in one section.

## **Acknowledgment**

This is an optional item and should appear before the references.

Acknowledge people, organizations, and financing (you may state grant numbers and sponsors here). Please use “The authors thank”, instead of “we would like to thank.”. Also, avoid using the institution's name and its initials.

## **Authors’ contributions**

ABC (PhD student) contributed in collecting plant sample and identification, confection of herbarium, running the laboratory work, analysis of the data and drafted the paper. DEF contributed to biological studies. GH contributed in plant identification and herbarium confection. IJ contributed to chromatographic analysis. SE contributed to critical reading of the manuscript. KLM contributed to plant collection. NO and PQR designed the study, supervised the laboratory work and contributed to critical reading of the manuscript. All the authors have read the final manuscript and approved the submission.

## **References**

References are placed at the end of the article. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references. Authors should check all parts of each reference listing against the original document. Please use the appropriate style for the journal. Detailed information on reference style can be found in *Guideline to the authors* at [www.sbfgnosia.org.br/revista](http://www.sbfgnosia.org.br/revista).

### References:

Periodical    abbreviations    conform    *Chemical Abstracts Service Source Index*

(<http://www.cas.org/sent.html> or <http://library.caltech.edu/reference/abbreviations/>).

### **Article from a periodical**

Bilan MI, Vinogradova EV, Tsvetkova EA, Grachev AA, Shashkov AS, Nifantiev NE, Usov AI 2008.

A sulfated glucuronofucan containing both fucofuranose and fucopyranose residues from the brown alga *Chordaria flagelliformis*. *Carbohydr Res* 343: 2605-2612.

Chung HJ, Jeun J, Hounng SJ, Jun HJ, Kweon DK, Lee SJ 2010. Toxicological evaluation of fucoidan from *Undaria pinnatifida* *in vitro* and *in vivo*. *Phytother Res* 24: 1078-1083.

### **Book and book chapter**

Buckingham J 1992. *Dictionary of natural products*. London: Chapman and Hall scientific data division.

Gaziano TA, Gaziano JM 2008. Epidemiology of cardiovascular disease. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J (org.) *Principles of internal medicine*. New York: McGraw Hill, p 1375-1379.

### **Thesis**

Singab ANBI 1996. Phytochemical studies of some potential bioactive Egyptian plants. Tokyo, 173p. PhD Thesis, Meiji College of Pharmacy.

### **\*Correspondence**

Name of the corresponding author

Affiliation

Full address

Institutional e-mail address

Tel.

Fax:

.....

**Other important information:**

FIGURE CAPTIONS: Each figure must have a caption that includes the figure number and a brief description, preferably one or two sentences. The caption should immediately follow the figure with the format “**Figure X.** Figure caption”. All figures must be mentioned in the text consecutively and numbered with Arabic numerals. The caption should be understandable without reference to the text.

SCHEME TITLES: Chemical reactions and flow diagrams may be called schemes. Schemes may have brief titles describing their contents. The artwork for each scheme should immediately follow the scheme title. The title should follow the format “**Scheme X.** Scheme Title”. All schemes must be mentioned in the text consecutively and numbered with Arabic numerals.

TABLES: Each table must have a brief (one phrase or sentence) title that describes its contents. The title should follow the format “**Table X.** Table Title” The title should be understandable without reference to the text. Put details in footnotes, not in the title. Tables should supplement, not duplicate, text and figures. Tables should be simple and concise. It is preferable to use the Table Tool in your word-processing package, placing one entry per cell, to generate tables.

Chemical structures should be drawn according to the ACS (American Chemical Society) style. Structure drawing preferences can be found as preset style in appropriate software.

## **ANEXO C- Normas para submissão de manuscritos ao Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**

### **Manuscript's form and presentation**

#### **STRUCTURE**

**Title Page:** This must include the manuscript full title (it must be brief providing exact information of the contents), authors' full names, institutional affiliations (University, College, Department) through numbers. The corresponding author must be identified with an asterisk, giving the complete address, including the electronic mail. Those information must be left in the text and after the filiation.

**Abstract:** On a separate page, provide a summary of not more than 200 words. It must concisely and specifically describe the objectives of the study, techniques used, the essential results and what the authors concluded from the results.

**Uniterms:** These should be strictly related to the contents and limited to 6 (six).

**Abstract in Portuguese:** It should be presented after the conclusions. This should follow the same content of the abstract presented in English.

**Uniterms in Portuguese:** must follow uniterms in English and be presented after the abstract in Portuguese.

**Introduction:** This should state briefly and clearly the objectives of the investigation with reference to previous works. Extensive review of the literature should be avoided and substituted for references of recent publications where such reviews may be found.

**Material and Methods:** These should be described in sufficient detail that the work can be reproduced. Procedures and techniques readily available in the literature require only a citation of the original source, except when they are substantially modified. Reports of experimental studies on humans and animals must certify that the research received prior approval by the appropriate institutional review body (Committee of Bioethics).

**Results and Discussion:** Results must be presented concisely and in logical order. Where possible, use figures or tables to present data rather than text. When appropriate give the range, standard deviation and indicate the significances of differences between numerical values obtained. Discussion should interpret the results and assess their significance in relation to previous work in the field. Speculation not warranted by actual data should be avoided. Presenting those items separately is optional.

**Conclusions:** These must be drawn from the text and restricted to the limits of data obtained

**Acknowledgments:** These should be typed in a special paragraph under separate heading preceding the section of References. They should be kept to a minimum consistent with the requirements of courtesy and disclosure.

**References:** They should be prepared and listed according to The Brazilian Association of Technical Standards (ABNT.NBR 6023). Entries should be arranged in alphabetical order by author at the end of the paper. All authors' names should be given. "Accuracy of reference data is the responsibility of the author". For examples see the site [www.bcq.usp.br](http://www.bcq.usp.br)

## PRESENTATION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be sent in 30-36 lines, 1,5 spaced, in the Word for Windows. All manuscripts must be accompanied with a letter signed by the authors, and submitted, only, by electronic way.

### *Additional Information*

**Text citations:** References should be cited in the text by the authors' names, with only the first letter in capital letter followed by the year of publication. For more than three authors, the first has to be cited followed by the expression *et al.* (in italics). For more than one citation with the same authors and year of publication they must be differentiated by small letters close to the year.

**Illustrations:** Graphs, tables, chemical structures, equations, maps, figures, photos must be included in the text immediately after being cited. Maps, figures and photos must be presented also in separate files with the extensions TIF or JPG, and 300 dpi resolution. **Each BJPS issue will present a chosen illustration in its cover.** Tables should be numbered consecutively in Roman numerals and Figures in Arabic, followed by their titles. The word TABLE and FIGURE should appear in capital letters in the title or in the legend, but not in the text. Legends should accompany them as well as be present in the text.

**Nomenclature:** Unities of weight and measurements, names of plants, animals and chemicals should be mentioned according to International Rules available. For national manuscripts names of drugs must follow the current Denominações Comuns Brasileiras (DCB). Trademarks may be mentioned only once in the text (between parenthesis and initial in capital letter).

### **Submitting manuscripts**

The manuscripts must be submitted, only, by electronic way. Use the electronic mail through the e-mail: [bjps@usp.br](mailto:bjps@usp.br) and send enclosed to the message the files: the manuscript's Word for Windows file, a electronic copy of the submission letter signed for all authors and the figures files em JPEG.