

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**



**Estudo comparativo de três espécies de *Phyllanthus* (Phyllanthaceae)  
conhecidas por quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus amarus*  
*Schum & Thonn.* e *Phyllanthus tenellus* Roxb.)**

**João Eudes do Nascimento**

Recife – 2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**



**Estudo comparativo de três espécies de *Phyllanthus* (Phyllanthaceae)**  
**conhecidas por quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus amarus***  
***Schum & Thonn.* e *Phyllanthus tenellus* Roxb.)**

Trabalho de Tese apresentado ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Farmacêuticas como requisito  
parcial para conclusão de Doutorado.

**Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim (Orientadora)**

**Prof. Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque (Co-orientador)**

Nascimento, João Eudes do

Estudo comparativo de três espécies de *Phyllanthus* (*Phyllanthaceae*) conhecidas por quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn. e *Phyllanthus tenellus* Roxb.) / João Eudes do Nascimento. – Recife: O Autor, 2008.

105 fls. .: il.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – UFPE.  
CCS

1. Plantas medicinais 2. *Phyllanthus* 3. Fitoquímica 4.  
Morfologia foliar | Título

633.88

CDU (2<sup>a</sup>. Ed.)

UFPE

615.321

CDD (22<sup>a</sup>. Ed.)

CCB – 2008 – 201



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FARMACÊUTICAS**

Recife, 17 de outubro de 2008.

Defesa de Tese de Doutorado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 17 de outubro de 2008 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim** (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Elba Lúcia C. Amorim

**EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Haroudo Sátiro Xavier** (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Haroudo Sátiro Xavier

**EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Janete Magali de Araújo** (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Janete Magali de Araújo

**EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Antônio Fernando Moraes de Oliveira** (Deptº de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Assinatura: Antônio Fernando Moraes de Oliveira

**EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo** (Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão - UPE)

Assinatura: Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo

*A Cristiane e a Clara, razões da minha vida...*

*Aos meus pais Severino José e Maria Lúcia,  
responsáveis pela minha formação, conduta e  
caráter...*

*Ao Professor e Amigo Dr. Abel Vieira Neto,  
que me apoiou e me concedeu a oportunidade  
de poder concluir a graduação, e a pós-  
graduação....*

*eu dedico este trabalho*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que me guiou em todos os momentos.

Aos meus Orientadores Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim e Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque pela paciência, pela confiança depositada em mim e por me conduzir na elaboração e conclusão deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pelo trabalho desenvolvido de qualidade do Programa.

Aos meus grandes e verdadeiros amigos e amigas Jenifer, Henrique e Júlio que sempre me apoiaram e em especial a Tássia, Jorge, Tadeu, Késsio e Tiago pelo apoio, ajuda, por todos os conselhos em tantas horas difíceis e tantas outras coisas que são impossíveis de serem descritas verbalmente e que contribuíram decisivamente na conclusão deste trabalho.

Aos professores Miracy Muniz, Janete Magali, Antônio Alves, Samuel Daniel, Arquimedes Fernandes e ao pesquisador Marcos José, da UFRPE, que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

*A todos, os meus sinceros agradecimentos.*

*“Se não podes ser uma árvore sobre a colina, sejas um graveto no vale  
Mas sejas o melhor graveto de todas as línguas em derredor.  
Se não podes ser como uma estrada, sejas uma vereda.  
Se não podes ser o sol, sejas uma estrela.  
O valor não se mede nas dimensões.  
Sejas o que fores...  
...Que sejas profundamente”.*

*Martin Luther King*

## RESUMO

O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) compreende cerca de 800 espécies, com distribuição em diversas regiões tropicais do mundo. No Brasil, está representado por mais de 100 espécies, amplamente distribuídas em diferentes ambientes. Destacam-se no Brasil as espécies conhecidas como quebra-pedra, arrebenta-pedra ou erva-pombinha, entre elas *P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn. e *P. tenellus* Roxb., reconhecidas popularmente por suas propriedades diuréticas, sendo utilizadas na eliminação de cálculos renais e outras atividades. Em um levantamento realizado em 54 farmácias comerciais de 4 grandes redes na cidade do Recife, verificou-se que produtos contendo estas espécies foram frequentemente encontrados, e devido a importância de suas indicações, foram selecionadas para este estudo. Foi feita uma extensa revisão das características químicas e propriedades farmacológicas das espécies em questão, revelando um grande número de concordâncias entre o uso popular dessas plantas e as atividades cientificamente comprovadas. Sob o ponto de vista químico, as espécies mostraram semelhanças e diferenças relevantes. A partir daí buscou-se aprimorar métodos que fossem capazes de identificar e diferenciar cada uma das espécies coletadas em diferentes localidades do estado de Pernambuco, com ênfase no controle de qualidade, visto que, como elas apresentam grande semelhança morfológica é necessário desenvolver métodos que sejam capazes de assegurar suas identidades. Inicialmente, foi realizada uma triagem fitoquímica das três espécies associando-a ao bioensaio de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach., no qual se verificou que a toxicidade está relacionada ao aspecto quantitativo dos metabólitos secundários presentes. Posteriormente, foi realizado um estudo morfo-anatômico foliar comparativo das três espécies, abordando caracteres macro e microscópicos, onde os parâmetros analisados foram: morfologia, área foliar e variações do mesofilo em cortes transversais. A estabilidade dos caracteres diagnósticos para cada uma das espécies também foi testada. Nos diferentes ambientes, os indivíduos de uma mesma espécie não apresentaram variações na borda, apenas nos caracteres microscópicos e significativamente nas áreas foliares, e apesar de serem facilmente confundidas, foram evidenciadas as variações macro e microscópicas que podem ser usadas na diferenciação das espécies. Deste modo, verificou-se as características fitoquímicas, toxicologias e morfo-anatômicas comparativamente das três espécies, estabelecendo suas semelhanças e diferenças bem como a estabilidade desses caracteres na mesma espécie coletada em diferentes localidades do estado de Pernambuco.

Palavras Chave: *Phyllanthus*; Fitoquímica; CL<sub>50</sub>; Morfologia foliar

## ABSTRACT

The genus *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) comprises about 800 species, with distribution in many tropical regions of the world. In Brazil, is represented by more than 100 species, widely distributed in different environments. It is the species known in Brazil as “quebra-pedra, arrebenta-pedra ou erva-pombinha”, among them *P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn. and *P. tenellus* Roxb., popularly known by its diuretic properties and is used in the removal of kidney stones and other activities. In a survey conducted in 54 drugstores, 4 large commercial networks from Recife, it was found that products containing these species were often found, and given the importance, were selected for this study. It made an extensive review of pharmacological properties and chemical characteristics of the species in question, revealing a large number of concordances between the popular use of these plants and activities scientifically proven. This species showed relevant similarities and differences. From there we tried to improve methods able to identify and distinguish each species collected in different localities of the state of Pernambuco, with emphasis on quality control, because, as they have great morphological similarity is necessary to develop methods that are capable of ensuring their identities. Initially, we performed a phytochemical screening of the three species linking it to the front bioassay toxicity of the larvae of *Artemia salina* Leach., which found that the toxicity is related to the quantitative aspect of secondary metabolites present. Later, a study was conducted morpho-leaf comparative anatomy of three species, addressing macro and microscopic characters, where the parameters were examined: morphology, leaf area and changes in mesophyll in transverse sections. The stability of the diagnostic characters for each species was also tested. In different environments, individuals of the same species showed no changes at the border only in microscopic characters and significantly in the leaf area, and although they are easily confused, were found macro-and microscopic changes that can be used in the differentiation of species. Thus, it is the characteristics phytochemicals, toxicology and morpho-anatomical comparison of the three species, establishing their similarities and differences as well as the stability of these characters in the same species collected in different localities of the state of Pernambuco.

Key words: *Phyllanthus*; Screening; CL<sub>50</sub>; Leaf morphology

## SUMÁRIO

	Pág.
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>1.1 O gênero <i>phyllanthus</i> e o padrão filantóide</b>	<b>12</b>
<b>1.2 <i>Phyllanthus niruri</i> L.</b>	<b>13</b>
<b>1.3 <i>Phyllanthus amarus</i> Schum e Thonn.</b>	<b>20</b>
<b>1.4 <i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb.</b>	<b>27</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>29</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>31</b>
<b>3.1 Escolha das espécies</b>	<b>32</b>
<b>3.2 Coleta e obtenção dos extratos</b>	<b>33</b>
<b>4. ARTIGO 1: Produtos à base de Plantas Medicinais comercializados em Pernambuco - Nordeste do Brasil</b>	<b>34</b>
<b>5. ARTIGO 2: Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de <i>Artemia salina</i> Leach. de três espécies medicinais do gênero <i>Phyllanthus</i> (Phyllanthaceae)</b>	<b>45</b>
<b>6. ARTIGO 3: Variação morfo-anatômica foliar em três espécies medicinais do gênero <i>Phyllanthus</i> (Phyllanthaceae): implicações para o controle de qualidade</b>	<b>64</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b>	<b>90</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>92</b>

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: a) Planta com padrão filantóide (SILVA e SALES, 2004). b) <i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb. apresentando o mesmo padrão (Foto do autor).	13
Figura 2: a) <i>Phyllanthus niruri</i> L. encontrado no município de São Lourenço da Mata, PE. b) Detalhe da planta evidenciando folhas assimétricas na base e frutos na região distal do ramo (Fotos do autor).	14
Figura 3: <i>Phyllanthus amarus</i> Schum & Thonn. encontrado na praia de Itamaracá, PE (Foto do autor).	20
Figura 4: <i>Phyllanthus amarus</i> evidenciando frutos ao longo de todo o ramo (Foto do autor).	21
Figura 5: <i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb. encontrado na Cidade Universitária – UFPE, Recife, PE onde podem ser observados os frutos com pedicelo longo (Foto do autor).	27
Figura 6: Estrutura química de Pinocembrin-7-O-[4',6''-(S)-hexahidroxidifenoil]-β-D-glicose	28

# **1** *Introdução*

## 1. INTRODUÇÃO

Antes do advento do medicamento sintético, a população só dispunha dos medicamentos naturais para curar suas doenças e das plantas eram retiradas a maior parte das preparações curativas. Nos últimos anos, vem ocorrendo um retorno ao uso de plantas medicinais e medicamentos a partir destas, em um mercado que havia sido dominado por produtos de base sintética, tanto em países considerados pobres como em países desenvolvidos (BELLO *et al.*, 2002). Como consequência o uso de plantas medicinais, assim como a fitoterapia, se encontram em expansão em todo o mundo (BREVOORT, 1988).

Com a evolução industrial, o medicamento à base de planta foi se tornando pouco utilizado pelas grandes massas populacionais, se restringindo a alguns grupos sem acesso a tecnologia como tribos indígenas sul-americanas, ou, no caso de alguns povos como chineses e indianos que mantiveram suas tradições e associaram o uso da terapia moderna às suas medicinas tradicionais.

Porém, as plantas medicinais são, indiscutivelmente, um recurso terapêutico dos mais viáveis, uma fonte que não pode ser desprezada. Por isso, muitos pesquisadores procuram nas plantas fontes de novos medicamentos ou novas moléculas que possam servir de base para síntese de fármacos e a partir de 1999, observou-se um aumento significativo de trabalhos focalizando atividade biológica, sinalizando uma tendência para trabalhos em colaboração e gerando uma perspectiva maior da aplicação desse conhecimento científico para facilitar a obtenção de recursos financeiros para novas pesquisas (PINTO *et al.*, 2002).

Associado a isso vem a preocupação em garantir que a população utilize as plantas de forma segura, sem risco de se intoxicar com o uso inadequado dos vegetais. Assim, tanto na obtenção de um fitomedicamento, quanto de um outro tipo de medicamento, o objetivo a ser alcançado é a eficácia livre de qualquer toxicidade na dose terapêutica, que é comumente considerada um efeito colateral ou adverso. Principalmente nestes casos é que se encaixa um controle químico e toxicológico. Em verdade, a toxicidade de algumas plantas chega a não justificar a sua indicação terapêutica apesar de sua eficácia (VIGNEAU, 1985).

Este trabalho traz um exemplo onde a ciência ratifica o conhecimento popular no uso das plantas já consagradas por diversos povos através de estudos químicos, farmacológicos e botânicos, envolvendo três espécies do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) com padrão filantóide presentes na flora brasileira.

### 1.1 O gênero *Phyllanthus* e o padrão Filantóide

O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) compreende cerca de 800 espécies, com distribuição em diversos ambientes e tipos vegetacionais das regiões tropicais do mundo. Apresenta como importantes centros de diversidade de espécies as Américas (200 espécies), a África (100 espécies) e Madagascar (70 espécies). No Brasil, está representado por mais de 100 espécies, amplamente distribuídas em diferentes ambientes. Este gênero posiciona-se na subfamília Phyllanthoideae, tribo Phyllanthaeae, subtribo Flueggeinae. É reconhecido como um dos maiores e mais complexos gêneros de Phyllanthaceae, devido à ampla diversidade de caracteres vegetativos e florais (SILVA e SALES, 2004).

Entre os poucos representantes do gênero utilizados como medicinais pelo homem destacam-se as espécies conhecidas no Brasil como quebra-pedra, arrebenta-pedra ou erva-pombinha, entre elas *P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn e *P. tenellus* Roxb., reconhecidas popularmente por suas propriedades diuréticas, sendo utilizadas na eliminação de cálculos renais. Mais recentemente foi descoberta atividade antiviral, com possíveis aplicações no tratamento da Hepatite-B e do câncer em várias espécies do gênero (LORENZI e MATOS 2002).

No padrão filantóide (figura 1 a-b) as folhas aparecem no eixo principal, apenas em poucos nós acima dos cotilédones, estando a maioria delas em ramos laterais, plagiotrópicos e caducos, que também produzem as flores, como ocorre em *P. niruri* e *P. amarus* (TORRES *et al.*, 2003). Os ramos possuem aspecto pinatiforme (por apresentar folhas dispostas disticamente, assemelhando-se a uma folha composta pinada) ou bipinatiforme (por apresentar ramos secundários com disposição dística, nos quais as folhas são dispostas disticamente, conferindo aspecto de uma folha composta bipinada). Às vezes os ramos secundários e terciários podem ser modificados em cladódios. Ramificação filantóide com ramos pinatiformes é encontrada em *P. amarus* Schum & Thonn., *P. minutulus* Müll. Arg., *P. niruri* L., *P. stipulatus* (Raf.) Webster e *P. tenellus* Roxb., enquanto ramificação filantóide com ramos bipinatiformes ocorre em *P. acuminatus* Vahl.e *P. klotzschianus* Müll. Arg., sendo modificados em cladódios no segundo (SILVA e SALES, 2004).

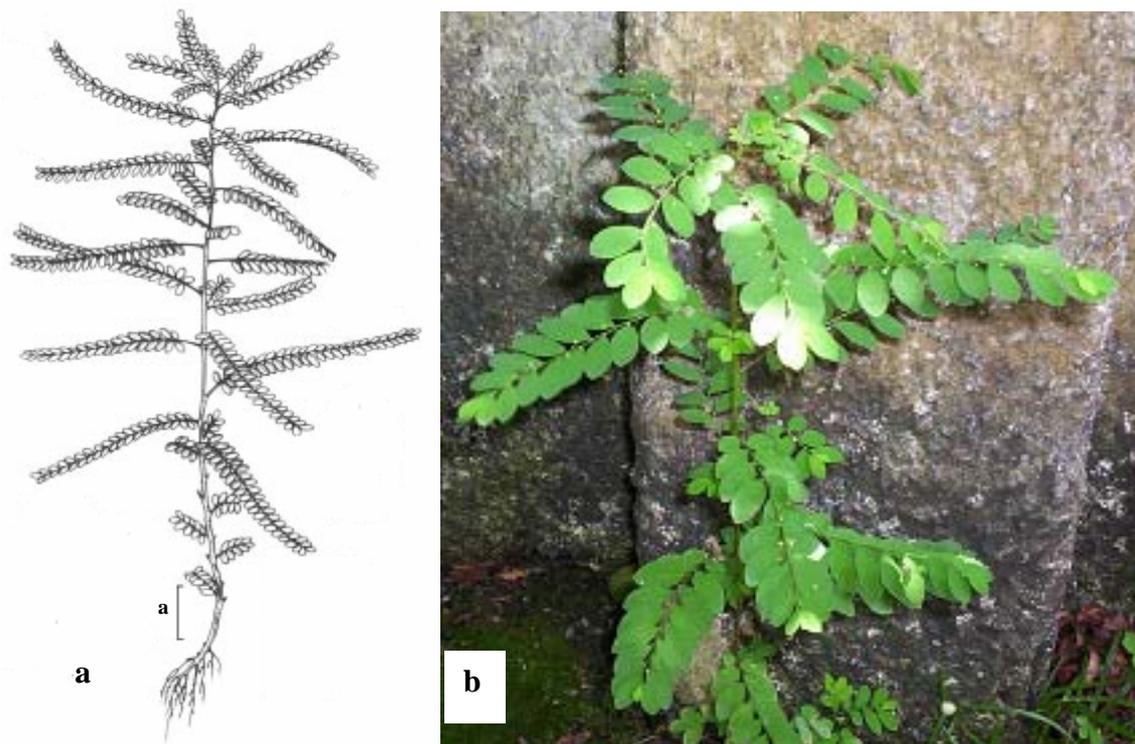


Figura 1: a) Planta com padrão filantóide (SILVA e SALES, 2004). b) *Phyllanthus tenellus* Roxb. apresentando o mesmo padrão (Foto do autor) (Escala a = 2 cm).

## 1.2 *Phyllanthus niruri* L.

*Phyllanthus niruri* L. (figura 2) é uma pequena erva distribuída em regiões tropicais e subtropicais do globo (KHANNA *et al.*, 2002). A planta inteira com flores, caule e frutos é utilizada para o tratamento de diversas doenças, particularmente hepatite (HARISH e SHIVANANDAPPA, 2005). Na medicina popular brasileira esta planta é utilizada por pacientes com urolitíase, por causa de sua ação efetiva em eliminar cálculos renais (FREITAS *et al.*, 2002).

*P. niruri* já foi tratada como sinônimo de *P. amarus*, por compartilhar o hábito, forma de vida e padrão de ramificação, porém, diferenciam-se pelas folhas assimétricas (figura 2b), inflorescências unissexuais e estiletes capitados em *P. niruri* e folhas simétricas, inflorescências bissexuais e estiletes agudos em *P. amarus* (SILVA e SALES, 2004).



**Figura 2:** a) *Phyllanthus niruri* L. encontrado no município de São Lourenço da Mata, PE. b) Detalhe da planta evidenciando folhas assimétricas na base e frutos na região distal do ramo (Fotos do autor).

Além da ação efetiva nos rins e do extenso relato da atividade no fígado, destacam-se na literatura outras ações farmacológicas associadas a *P. niruri* L. Podem ainda ser observadas as ações antiinflamatória, anti-HIV, antimalárica, antilipêmica e antidiabetes.

### **Ação no trato urinário**

No trato urinário, *P. niruri* é capaz de inibir a formação ou a internalização dos cálculos pelas células renais. BARROS *et al.* (2003; 2006) observaram a ação do extrato aquoso de *P. niruri* sobre a formação de cristais de cálcio (CaOx) *in vitro* e *in vivo*, onde a presença do extrato em ratos e na urina humana induziu a precipitação de cristais CaOx significativamente menores quando comparados com a urina controle e reduziu a agregação destes 24 horas após a cristalização. Os resultados mostraram que *P. niruri* tem efeito inibitório sobre a agregação e crescimento dos cristais na urina, sugerindo que o referido extrato interfere no estágio inicial da formação de pedra nos rins e representa uma alternativa para o tratamento e/ou prevenção de urolitíases. FREITAS *et al.* (2002), NISHIURA *et al.* (2004) e MICALI *et al.* (2006) avaliaram o efeito do extrato aquoso de *P. niruri* sobre a excreção urinária de inibidores endógenos de litogênicos, citrato, magnésio e glicosaminoglicanas *in vivo*. O clearance de creatinina não foi afetado nem as concentrações

plasmáticas de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , oxalato, fosfato e ácido úrico e o tratamento com *P. niruri* inibiu o crescimento da matriz do cálculo e reduziu o número de pedras satélites em comparação ao grupo que recebeu água. O cálculo induzido foi dissolvido ou eliminado em alguns animais e a excreção urinária de citrato e magnésio ficou inalterada com o tratamento, porém, a concentração de glicosaminoglicanas foi significativamente baixa nos ratos tratados com CaOx e *P. niruri*, demonstrando que a ação inibitória sobre o crescimento do cristal *in vivo* é independente das trocas na excreção urinária de citrato e magnésio. A internalização do cristal CaOx por endocitose nas células de rins de cães foi também inibida mesmo em altas concentrações de CaOx (CAMPOS e SCHOR, 1999).

### **Atividade hepática**

A atividade hepática é a mais investigada nos diversos centros de estudo no mundo inteiro e *P. niruri* tem demonstrado ação contra o vírus da hepatite B e hepatoprotetora. Os extratos aquoso e metanólico foram capazes de inibir a peroxidação de lipídeos da membrana causada por 1,1-difenil-2-picrilhidrazil com inibição da atividade de espécies reativas de oxigênio *in vitro*. Já a atividade antioxidante e a ação hepatoprotetora *in vivo* podem ser verificadas pela redução da formação de peróxidos de lipídeos induzida por tetracloreto de carbono no fígado de ratos, pré-tratados com os extratos de *P. niruri*, através dos níveis plasmáticos de glutamato oxaloacetato transaminase (TGO) e glutamato piruvato transaminase (TGP) (HARISH e SHIVANANDAPPA, 2005; MANJREKAR *et al.*, 2008). Quanto a ação direta sobre o vírus da Hepatite B, o extrato aquoso é capaz de inibir a DNA polimerase viral e ligar o antígeno ao vírus (VENKATESWARAN *et al.*, 1987).

Podem-se destacar outros trabalhos de pesquisadores que realizaram estudos sobre a atividade de *P. niruri* no fígado evidenciando a ação hepatoprotetora ou anti-hepatite da planta, são eles: WANG *et al.* (1995), MEHROTRA *et al.* (1990), SYAMASUNDAR *et al.* (1985), THYAGARAJAN *et al.* (1982), CHAUAN *et al.* (1977), PRAKASH *et al.* (1995), OTT *et al.* (1995), LEE *et al.* (1993)

### **Atividade anti-retroviral**

Com reconhecida atividade antiviral, verificou-se também o potencial de *P. niruri* sobre o vírus HIV-1, por mecanismos de ação diferentes: 1 – através de um nirurisídeo, isolado do extrato metanólico, com ação inibitória específica em proteínas da transcrição viral

(QIAN-CUTRONE *et al.*, 1996); 2 – inibição da transcriptase reversa do vírus HIV tipo I pelo ácido repandusínico A monossódico, obtido do extrato aquoso por cromatografia (OGATA *et al.*, 1992); 3 – em culturas de células humanas MT-4 por supressão da atividade do HIV-1, com grande seletividade e boa resposta inibitória da fração alcaloidal do extrato sobre o vírus (NAIK e JUVEKAR, 2003).

### **Ação antimalárica**

*P. niruri* apresentou ação antimalárica *in vitro*, com concentração inibitória para o plasmódio (IC<sub>50</sub>) na ordem de 16,3 µg/mL. A fração triterpênica do extrato (IC<sub>50</sub> = 9,2 µg/mL) se mostrou mais ativa, diminuindo com o envelhecimento da planta e a fração alcaloídica da planta foi inativa (CIMANGA *et al.*, 2004a, 2004b).

A toxicidade e a atividade *in vivo* do extrato de *P. niruri* foram investigadas por TONA *et al.* (1999 e 2001) e MUSTOFA *et al.* (2007). Após a administração oral de 200 mg/Kg do extrato do *Phyllanthus* houve supressão da parasitemia na ordem de 70%. Não foi observado efeito tóxico ou mortalidade nos ratos tratados e não foram observadas lesões nos exames histopatológicos dos animais no coração, pulmão, baço, rins, fígado, intestino e cérebro.

### **Ações antiinflamatória, antilipêmica e antidiabética**

O extrato hidroalcoólico de *P. niruri* apresenta grande potencial antinociceptivo, quando administrado peritonealmente em ratos, numa dose de 30 mg/Kg de peso corpóreo, foi capaz de inibir o efeito nociceptivo da formalina e reduzir a dor induzida pela capsaisina sem ser afetado por antagonistas como L-arginina, prazosin e ioimbina. (SANTOS *et al.*, 1995).

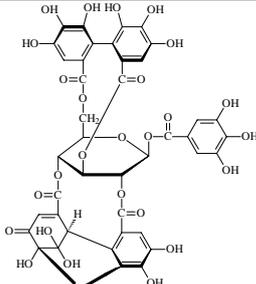
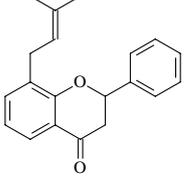
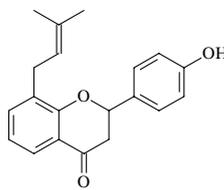
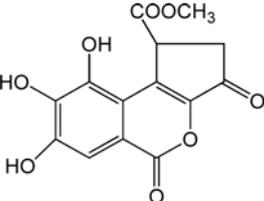
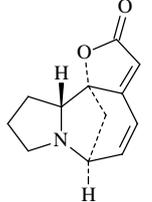
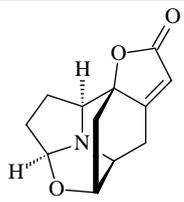
*P. niruri* também reduziu a atividade lipídica em ratos com hiperlipidemia induzida por Triton (WR-1339) numa dose de 250 mg/Kg de peso corpóreo. Observou-se também a inibição na biossíntese de colesterol e aumento da excreção da bile e da enzima colesterol acetil transferase (KHANNA *et al.*, 2002).

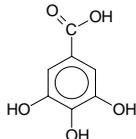
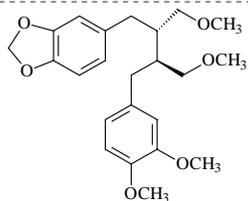
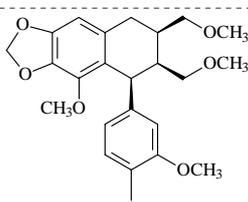
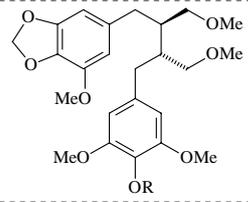
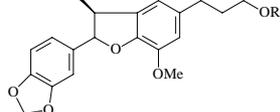
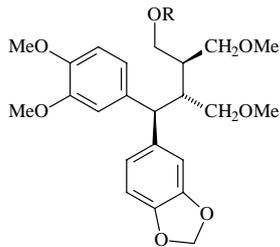
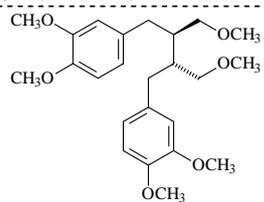
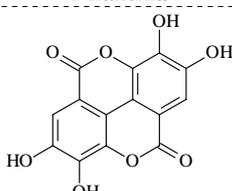
O potencial antidiabetes foi verificado pela inibição da aldose redutase provocada por três substâncias ativas: o ácido elágico, ácido brevifolincarboxílico e etil brevifolincarboxilato, das três, o ácido elágico apresentou ação inibitória seis vezes mais potente que a quercitrina, que é o inibidor natural da enzima (SHIMIZU *et al.*, 1989).

## Composição química de *P. niruri* L.

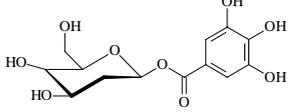
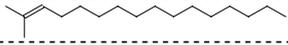
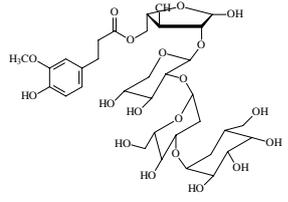
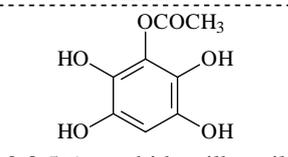
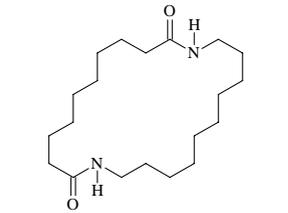
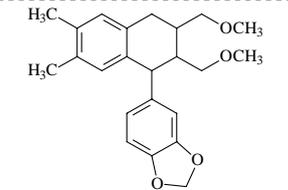
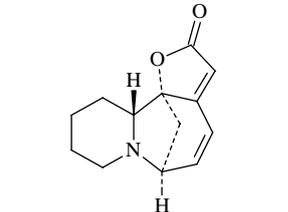
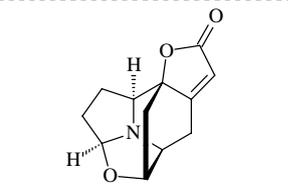
Sob o ponto de vista químico, podemos destacar os trabalhos de vários autores que se preocuparam em isolar e elucidar algumas substâncias presentes em *P. niruri*, conforme a tabela 1.

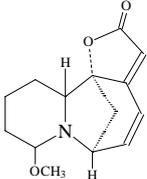
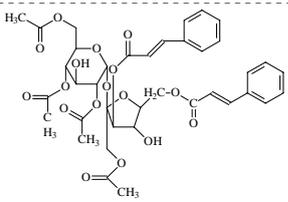
**Tabela 1: Substâncias químicas isoladas de *Phyllanthus niruri* L.**

Grupo químico	Substância isolada	Estrutura	Referência
Tanino	Geranina		UENO <i>et al.</i> (1988)
Flavona	8-(3-Metil-but-2-enil)-2-fenil cromona-4-ona (1)		SHANKIL <i>et al.</i> (2008)
	2-(4-hidroxifenil)-8-(3-metil-but-2-enil)-cromona-4-ona (2)		
Isocumarina	Metil Brevifolincarboxilato		IIZUKA <i>et al.</i> (2007)
Alcalóide	Norsecurinina		JOSHI <i>et al.</i> (1986)
Alcalóide	Nirurina		GUPTA e AHMED (1984)

Grupo químico	Substância isolada	Estrutura	Referência
Fenóis	Ácido gálico (-)- epicatecina (+)- galocatecina (+)- epigalocatecina (+)- epicatecina 3-O- galato (-)- epigalotecina	 Ácido gálico	ISHIMARU <i>et al.</i> (1992)
Lignanas	5-demetoxinirantina		PANCHAGNULA e SOMEPELLI (1991)
Triterpenos	Hexametiltetracoexenol	*	BIKRAM <i>et al.</i> (1989)
Lignanas	Nirantina Nirtretalina Filtretalina	 Nirtretalina	ANJANEYULU <i>et al.</i> (1973)
Lignanas	Nirfilina		SINGH <i>et al.</i> (1989)
Neo Lignanas	Filnirunina		SINGH <i>et al.</i> (1989)
Lignanas	Seco-4-hidroxilintetralina Filantina Nirtretalina	 Seco-4-hidroxilintetralina	SATYANARAYANA <i>et al.</i> (1988)
Lignanas	Filantina Hipofilantina Nirtretalina	 Filantina	HOUSSAIN <i>et al.</i> (1995)
Lignana	Ácido elágico		SHIMIZU <i>et al.</i> (1989)

\* Estrutura não disponibilizada.

Grupo químico	Substância isolada	Estrutura	Referência
Polifenóis	1-O-galoil-5-O-luteoil- $\alpha$ -D-glicose $\beta$ -glicogalina quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosil1-(2 $\rightarrow$ 1)-O- $\beta$ -D-xilopiranosídeo $\beta$ -sitosterol Ácido gálico	 quercetina 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosil1-(2 $\rightarrow$ 1)-O- $\beta$ -D-xilopiranosídeo	SUBEKI <i>et al.</i> (2005)
Terpenóide	2-metilhexadeca-2-eno		KOTOKY <i>et al.</i> (2005)
Polissacarídeos	Xilana Heteroxilana	 Xilana	MELLINGER <i>et al.</i> (2005)
Polifenol	2,3,5,6-tetrahidroxilbenzil acetato 2,2,4,5-trihidroxi-3-(5,6,7-trihidroxi-3-oxo-1,3-dihidroisobenzofurano-5-il)-ácido benzóico metil éster	 2,3,5,6-tetrahidroxilbenzil acetato	WEI <i>et al.</i> (2004)
Lactama	1,12-diazociclodocosano-2,11-diona	 1,12-diazociclodocosano-2,11-diona	WEI e PAN (2002)
Lignan	Isolintretalina		HUANG <i>et al.</i> (1992)
Alcalóide	Securinina		HASSARAJANI e MULCHANDANI, (1991)
Alcalóide	Nirurina		PETCHNARE <i>et al.</i> (1986)

Grupo químico	Substância isolada	Estrutura	Referência
Alcalóide	4-metoxi-nor-securinina		MULCHANDANI e HASSARAJANI (1984)
Ácido graxo	Ácido ricinoléico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	AHMAD <i>et al.</i> (1981)
Poliéster	Nirurisídeo		QIAN-CUTRONE <i>et al.</i> (1996)

### 1.3 *Phyllanthus amarus* Schum e Thonn.

*P. amarus* (figuras 3 e 4), uma das mais importantes plantas medicinais empregadas na medicina popular da Índia, Tailândia e outros países asiáticos (SRIPANIDKULCHAI *et al.*, 2002) é tradicionalmente utilizada para o tratamento de hepatite, diabetes, urolitíases e como diurético (RAPHAEL e KUTTAN, 2003).



Figura 3: *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn. encontrado na praia de Itamaracá, PE (Foto do autor).

Nas Américas ocorre desde os Estados Unidos até a Argentina, incluindo as Antilhas. No Brasil, pode ser encontrado em Alagoas, Bahia, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Em Pernambuco é encontrada desde o litoral até o sertão, em geral associada a ambientes perturbados, ocorrendo em canteiros de jardins, margens de estradas e calçadas, além de ser invasora em áreas de cultivo (SILVA e SALES, 2004).

*P. amarus* é distinguível vegetativamente das outras espécies com ramificação filantóide pelas inflorescências bissexuais com duas flores e os estames completamente unidos (TORRES *et al.*, 2003).



**Figura 4: *Phyllanthus amarus* evidenciando frutos ao longo de todo o ramo (Foto do autor).**

Assim como em *P. niruri*, encontramos um número maior de trabalhos farmacológicos concentrados na ação hepática de *P. amarus* e, além das ações nos rins, antiinflamatória, anti-HIV, antimalárica e antidiabetes a literatura nos trás também outros potenciais terapêuticos extremamente relevantes, são as atividades antimutagênica, antioxidante, antibiótica e contraceptiva.

### **Ação antiinflamatória**

O potencial antiinflamatório de *P. amarus* sobre a óxido nítrico sintetase (iNOS), cicloxigenase (COX-2) e sobre a produção de citoquina *in vitro* e *in vivo* foi demonstrado por

KIEMER *et al.* (2003). Os extratos hidroalcoólico e hexanólico padronizados foram capazes de inibir a produção de NO induzida por lipopolissacarídeos e prostaglandinas em células de Kupfer e atenuaram a secreção induzida por lipopolissacarídeos em tumores de necrose. Ambos os extratos reduziram a expressão de iNOS e COX-2 e inibiram a indução de interleucinas e interferon gama.

A propriedade antinociceptiva do extrato hidroalcoólico foi avaliada em ratos por via intraperitoneal e oral, onde se observou inibição das contrações induzidas por ácido acético (com dose de 0,3 mg/Kg), grande redução da ação nociceptiva no teste com a formalina e na dor neurogênica causada pela capsaisina (com dose de 8,9 mg/Kg) (SANTOS *et al.*, 2000).

*P. amarus* foi também capaz de inibir significativamente lesões gástricas em ratos, causadas por administração de etanol absoluto. A fração metanólica do extrato reduziu a mortalidade, o peso do estômago, as úlceras formadas e os edemas de pata (RAPHAEL e KUTTAN, 2003).

### **Ação antimutagênica e anticarcinogênica**

Importantes descobertas foram feitas a respeito da ação de *P. amarus* sobre células cancerosas induzidas por diversos agentes *in vitro* e *in vivo*.

A atividade antimutagênica *in vivo* e *in vitro* de *P. amarus* foi verificada por RAPHAEL *et al.* (2002) utilizando-se cepas de *Salmonella typhimurium*. O extrato metanólico inibiu a ativação e mutagenicidade de 2-acetaminofluorano, aflatoxina B, nitreto sódico [Na(N)<sub>3</sub>], N-metil-N-nitro-N-notrosoguanidina e 4-nitro-o-fenileneiamina. Já a mutagenicidade urinária produzida em ratos por benzopireno no mesmo estudo também foi significativamente inibida.

A ação do extrato de *P. amarus* sobre carcinoma hepatocelular induzido com N-nitrosodietilamina em ratos Wistar foi estudado por JEENA *et al.* (1999) e RAJESHKUMAR e KUTTAN (2000). No primeiro caso, verificou-se que 100% dos ratos desenvolveram o tumor após a indução com N-notrosodietilamina, porém, o grupo que foi tratado com o extrato (250 mg/Kg) não houve progressão ou teve redução tumoral em doses menores do extrato. No segundo trabalho, o uso do extrato aquoso foi determinante para um aumento significativo da sobrevivência dos animais portadores do carcinoma. Ratos não tratados morreram do tumor após  $33,7 \pm 1,6$  semana. A administração do extrato (150 mg/Kg) após o desenvolvimento do tumor aumentou a sobrevivência dos animais para  $52,2 \pm 2,3$  semanas.

Uma potente atividade anticarcinogênica e antitumoral de *P. amarus* foi demonstrada por RAJESHKUMAR *et al.* (2002) contra o desenvolvimento de sarcoma induzido por 20-metilcolantreno em camundongos. O extrato também foi fundamental para prolongar a vida de animais com linfoma de Dalton e carcinoma de Enrich e reduziu ainda o volume de tumores sólidos transplantados. As atividades de foram associadas com a inibição da ativação metabólica do carcinogênio e também com ciclos regulatórios da célula.

Os efeitos antimutagênico e anticarcinogênico de *P. amarus* foram também estudados por SRIPANIDKULCHAI *et al.* (2002) em Hamsters. O extrato aquoso mostrou efeito antimutagênico contra a indução provocada por 2-aminofluorano, 2-aminiantraceno e 4-nitroquinolona-1-óxido, em cepas de *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* e por 2-nitrofluorano e nitreto de sódio, em cepas de *S. typhimurium*. Todos os resultados foram dose dependentes. O extrato preveniu *in vivo* alterações de células de hamsters causadas por dimetilnitrosamina.

Em um outro estudo, KUMAR e KUTTAN (2004) verificaram a atividade quimioprotetora de *P. amarus* contra a toxicidade induzida por ciclofosfamida. A administração do extrato metanólico na dose de 250 e 750 mg/Kg de peso corpóreo reduziu a mielossupressão causada pela ciclofosfamida, bem como o número de monócitos maduros.

### **Atividade hepática**

YEH *et al.* (1993) sugerem que *P. amarus* pode ser uma alternativa no tratamento da infecção pelo vírus da Hepatite B (HBV). Eles estudaram o efeito do extrato aquoso do *Phyllanthus* sobre culturas de células hepáticas linha HepA2. Esta linha de células pode ser infectada com o DNA do HBV e continuar sintetizando e secretando os antígenos HBsAg e HbeAg. O extrato inibiu reversivelmente a proliferação celular e suprimiu a produção de HBsAg ao nível de RNA mensageiro, mas, não a produção de HbeAg nas células hepáticas. Os resultados indicam que *P. amarus* contém componentes ativos que podem suprimir o gene da expressão de HBsAg em células hepáticas humanas. Esta supressão contribui para a atividade antiviral de *P. amarus in vivo*.

Os resultados anteriores são ratificados por XIN-HUA *et al.* (2001). Neste estudo, 55 pacientes com hepatite B crônica foram divididos em dois grupos randomizados. 30 pacientes foram tratados com *Phyllanthus amarus* (grupo teste) e 25 com interferon humano (grupo controle) por três meses. O grupo teste, tratado com *P. amarus*, mostrou resultados

semelhantes ao controle em níveis de redução da carga viral, negatização de anticorpos, normalização das transaminases e inibição da replicação viral.

Outros pesquisadores realizaram estudos sobre a atividade de *P. amarus* no fígado e ratificaram a ação hepatoprotetora ou anti-hepatite da planta, são eles: FAREMI *et al.* (2008), PRAMYOTHIN *et al.* (2007), THYAGARAJAN *et al.* (2002, 1988), RAM (2001), WANG (2000), NARENDRANATHAN *et al.* (1999), OTT *et al.* (1997), LEE *et al.* (1996), JAYARAN e THYAGARAJAN (1996), DOSHI *et al.* (1994), MUNSHI *et al.* (1993), THAMLIKITKUL *et al.* (1991), MEHROTRA *et al.* (1991), NIU *et al.* (1990), BLUMBERG *et al.* (1989, 1990).

### **Ação antioxidante**

O efeito radioprotetor do extrato de *P. amarus* foi investigado por KUMAR e KUTTAN (2004, 2007). No estudo realizado, os pesquisadores administraram oralmente doses de 250 e 650 mg/Kg de peso corpóreo em ratos, por cinco dias consecutivos. Passado este período os animais foram submetidos a altos níveis de radiação. Os ratos foram sacrificados após períodos de três, seis, nove, doze e trinta dias após a exposição. Os resultados indicaram que o tratamento com o extrato aumentou o mecanismo de defesa antioxidante dos animais, nos quais o nível de peroxidação lipídica foi extremamente reduzido em relação ao controle e a atividade de várias enzimas antioxidantes, como superóxido-dismutase, catalase, glutation-S-transferase, glutation-peroxidase e glutation-redutase foi aumentada após o tratamento.

### **Ação diurética, hipotensora e hipoglicemiante**

As atividades diurética, hipotensora e hipoglicemiante de *P. amarus* foram avaliadas em humanos por SRIVIDYA e PERIWAL (1995). Nove pacientes foram tratados por dez dias (4 diabéticos) observando-se os parâmetros apropriados em amostras de urina e de sangue durante e após o período de tratamento. Houve um aumento expressivo no volume de urina, junto a uma significativa redução na pressão sistólica dos pacientes hipertensos e não diabéticos. A glicose sangüínea foi consideravelmente reduzida no grupo tratado. As observações não revelaram efeitos colaterais e indicaram que *P. amarus* é um potencial agente diurético, hipotensor e hipoglicemiante para uso em humanos.

O poder hipoglicemiante de *P. amarus* foi também demonstrado por RAPHAEL *et al.* (2002). O extrato metanólico foi capaz de reduzir o açúcar sanguíneo de ratos com diabetes melitus induzida em 6% por 4 horas na dose de 200mg/Kg de peso corpóreo, e 18,7% na dose de 1000 mg/Kg. A administração continuada do extrato por 15 dias produziu significativa redução do açúcar sanguíneo.

### **Ação anti-HIV, antimalárica, antibiótica e contraceptiva**

A atividade anti-HIV de *P. amarus* foi descrita por NOTKA *et al.* (2003, 2004). O extrato aquoso foi capaz de inibir potentemente a replicação do vírus HIV-1 em células CD4(+) com dose efetiva DE<sub>50</sub> de 0,9 a 7,6 µg/mL. Dois compostos isolados, geranina e corilagina, foram mais ativos com DE<sub>50</sub> de 0,24 µg/mL. A replicação do vírus HIV-1 também foi bloqueada em células linfóides com valores de CE<sub>50</sub> comparáveis.

A atividade antiplasmodal do extrato de *P. amarus* foi determinada por ADJOBIMEY *et al.* (2004). Foram avaliados os extratos etanólico, metanólico e diclorometanólico da planta e os testes se basearam na obtenção da concentração letal (CL<sub>50</sub>). Os resultados obtidos mostraram uma boa atividade antiplasmodal de *P. amarus*. Os extratos etanólico e metanólico apresentaram CL<sub>50</sub> de 5,00 e 4,44 mg/mL respectivamente, enquanto o extrato diclorometanólico não apresentou toxicidade sobre o parasita.

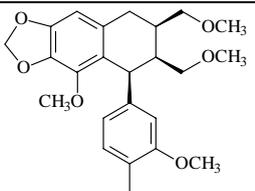
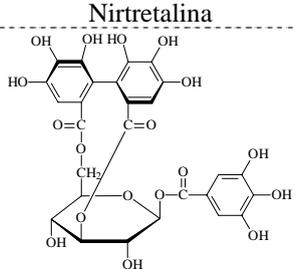
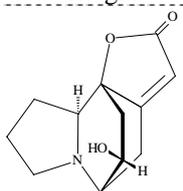
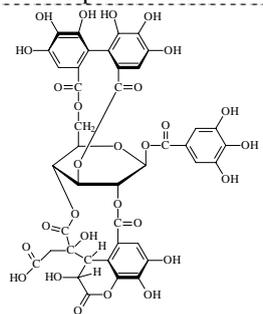
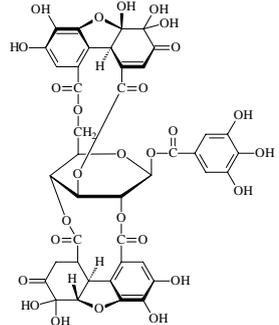
*P. amarus* demonstrou ter promissoras propriedades antibióticas, onde o extrato etanólico inibiu o crescimento de cepas gram positivas e gram negativas com uma concentração mínima inibitória de aproximadamente 0,25 mg/mL (KLOUKEK *et al.*, 2005); o extrato clorofórmico das partes aéreas de *P. amarus* mostrou expressivo efeito contra o fungo dermatofítico *Microsporum gypseum*, reduzindo 53,4% do diâmetro da colônia e redução da esporulação (AGRAWAL *et al.*, 2004).

Foi observado efeito contraceptivo no extrato alcoólico de *P. amarus*. Durante trinta dias o extrato foi administrado a uma dose de 100 mg/Kg em ratas com ciclo estral normal. Não foram observadas alterações no peso dos órgãos, efeitos tóxicos ou distúrbios metabólicos, exceto na concentração plasmática da enzima 3-β e 17-β-hidroxiesteróide desidrogenase. Após a interrupção do tratamento com *P. amarus*, a infertilidade foi revertida (RAO e ALICE, 2001).

## Composição química de *P. amarus* Schum & Tonn.

Sob o ponto de vista químico, podemos citar os trabalhos que relatam o isolamento de algumas substâncias presentes em *P. amarus*, a maioria delas já mencionada em outras espécies do gênero, conforme a tabela 2.

**Tabela 2: Substâncias químicas isoladas de *Phyllanthus amarus* Shum & Thonn**

Grupo químico	Substância isolada	Estrutura	Referência
Lignan	Nirantina Nirtretalina Hiniquinina geranina	 <p>Nirantina</p>	HUANG <i>et al.</i> (2003)
Ploifenol	Geranina Corilagina	 <p>Corilagina</p>	NOTKA <i>et al.</i> (2003, 2004).
Alcalóides	Isobubialina Epibubialina	 <p>Epibubialina</p>	HOUGHTON <i>et al.</i> (1996)
Tanino	Ácido amarínico		FOO (1995)
Tanino	Amarina		FOO (1993)

#### 1.4 *Phyllanthus tenellus* Roxb.

*P. tenellus* (figura 5) é comumente utilizado no tratamento de distúrbios hepáticos na Índia, China, Paquistão, Filipinas, América do Sul e África. Na medicina popular brasileira, é usado no tratamento de cálculo renal, diabetes, hepatite e asma (IGNÁCIO *et al.*, 2001) e sua aparência é muito similar ao *P. niruri* e *P. amarus*, (HUANG *et al.*, 2003)

É encontrada como invasora em áreas cultivadas, terrenos baldios, canteiros de jardins e margens de calçadas em locais úmidos. Esta espécie é facilmente reconhecida pelas flores pistiladas com pedicelo longo (figura 5) (4-6,5 mm), filiforme e flexuoso, visivelmente articulado, com base pulviniforme, dispostas em címulas unifloras na porção distal dos ramos, bem como pelo androceu constituído por cinco estames livres. Floresce e frutifica de dezembro a janeiro. Em Pernambuco é conhecida popularmente como quebra-pedra roxo (SILVA e SALES, 2004).



**Figura 5: *Phyllanthus tenellus* Roxb. encontrado na Cidade Universitária – UFPE, Recife, PE onde podem ser observados os frutos com pedicelo longo (Foto do autor).**

*P. tenellus* é uma planta pouco explorada do ponto de vista farmacológico e químico e ainda são escassos os trabalhos à respeito desta planta nestas áreas, onde se evidenciam as ações anti-bacteriana, anti-hepatite, antiinflamatória e analgésica.

OLIVEIRA *et al.* (2007) verificaram ação antibacteriana de *P. tenellus* sobre *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* pelo método de difusão em Agar.

IGNÁCIO *et al.* (2001) investigaram a taxa imunomodulatória dos extratos aquoso e água/acetona de *P. tenellus* *in vivo* e *in vitro* utilizando macrófagos. O óxido nítrico (NO), induzido na ativação dos macrófagos peritoneais em resposta a muitas infecções, exerce ação antimicrobiana, inibindo a replicação de muitos vírus e parasitas. Nas análises realizadas, observou-se a produção de NO nas culturas de macrófagos e quando o extrato era injetado no peritônio do animal. Constatou-se então, que *P. tenellus* pode pre-ativar macrófagos *in vivo* e induzir a ativação *in vitro*.

A capacidade analgésica do extrato metanólico de *P. tenellus* foi avaliada por SANTOS *et al.* (1994) em vários modelos de dor em ratos. Nas contrações abdominais induzidas por ácido acético ou formalina, *P. tenellus* se mostrou capaz de inibir o número de contrações, porém, o extrato não se mostrou eficaz contra edema na pata induzida por formalina.

*P. tenellus* apresentou atividade hepatoprotetora em ratos nas lesões agudas causadas por tetracloreto de carbono. Após administração oral do extrato metanólico na dose de 1,0 g/Kg de peso corpóreo, induziu o aumento de TGO sérica (LEE *et al.*, 2006), Já SHEAD *et al.* (1992) constataram a atividade direta de *P. tenellus* contra o vírus da Hepatite B, com 50 % de inibição do vírus numa concentração entre 350-800 µg/mL.

Com relação à química de *P. tenellus*, encontrou-se três trabalhos onde se dispunham de algumas informações. No primeiro, SANTIAGO *et al.* (2000) evidenciaram a compartimentação de compostos fenólicos através da observação por microscopia óptica e eletrônica dos vacúolos onde os compostos se acumulavam após impregnação com sulfato de cobre. No segundo HUANG *et al.* (2003) evidenciaram a presença de muitas substâncias comuns no gênero: Nirantina, Nirtretalina, Hiniquinina e geranina. E no terceiro, HUANG *et al.* (1998) isolaram os taninos Pinocembrin-7-O-[4'',6''-(S)-hexahidroxi-difenil]-β-D-glicose(1) (figura 6) e Pinocembrin-7-O-[3''-O-galoil-4'',6''-(S)-hexahidroxi-difenil]-β-D-glicose (2) do extrato metanólico da planta.

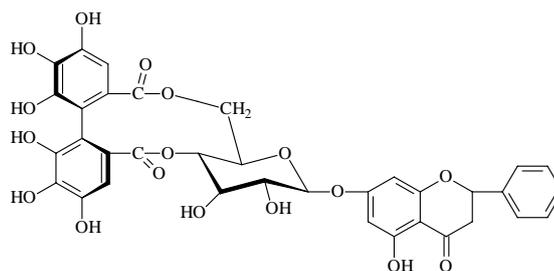


Figura 6: Estrutura química de Pinocembrin-7-O-[4'',6''-(S)-hexahidroxi-difenil]-β-D-glicose.

## **2** *Objetivos*

## 2. Objetivos

### 2.1 Geral

- ✓ Realizar estudo de três espécies de plantas de gênero *Phyllanthus* (*P. niruri*, *P. amarus* e *P. tenellus*), avaliando-as comparativamente do ponto de vista botânico e fitoquímico.

### 2.2 Específicos:

- ✓ Realizar levantamento dos produtos à base de plantas comercializados em Drogarias do grande Recife;
- ✓ Selecionar nestes produtos as espécies de plantas a serem estudadas;
- ✓ Caracterizar as principais classes de metabólitos presentes nas espécies de *Phyllanthus*;
- ✓ Identificar marcadores botânicos nas três espécies;
- ✓ Analisar comparativamente do ponto de vista fitoquímico e botânico as três espécies;
- ✓ Realizar o estudo toxicológico sobre *Artemia salina* Leach das três espécies;
- ✓ Analisar comparativamente o perfil toxicológico das três espécies.

# **3** *Material e Métodos*

### 3. Material e Métodos

#### 3.1 Escolha das espécies

Após um levantamento realizado em 54 farmácias comerciais de 4 grandes redes na cidade do Recife, verificou-se que produtos farmacêuticos contendo plantas chamadas de quebra-pedra foram frequentemente encontrados e, devido a importância de suas indicações, foram selecionadas para este estudo.

Estas espécies oferecem um campo extremamente amplo para a pesquisa pois são ervas ou arbustos facilmente confundíveis uma com a outra, devido às suas semelhanças morfológicas, deixando dúvidas sobre a autenticidade das plantas utilizadas nos produtos e até em muitos trabalhos científicos. Algumas propriedades farmacológicas são semelhantes e possuem também algumas substâncias químicas em comum. Deste modo, a caracterização farmacobotânica e química precede o controle de qualidade dessas espécies e de produtos à base delas.

Durante a revisão das características químicas e propriedades farmacológicas verificamos que, embora *P. niruri* e *P. tenellus* sejam citados na Farmacopéia Brasileira 4ª edição, apenas a caracterização morfológica dessas espécies foi elucidada e os dados farmacopéicos trazem os parâmetros histológicos a serem seguidos na identificação das espécies. No entanto, não havia nenhum estudo da estabilidade desses caracteres diagnósticos em se tratando de plantas amplamente distribuídas nas diversas condições climáticas e de solo. Existe pouca exploração científica para *P. tenellus* e, no caso de *P. amarus*, apenas um trabalho foi encontrado, com a padronização de alguns caracteres botânicos.

Sendo assim, existe a necessidade de investigação das três espécies de *Phyllanthus* selecionadas, principalmente com vista no controle de qualidade, no intuito de colaborar para o complemento de dados científicos, apontando caracteres morfológicos e químicos, considerando-se inclusive, as diferenças e semelhanças intraespécies em função da influência do habitat em que a espécie for encontrada.

## **3.2 Coleta e obtenção dos extratos**

### **Coleta de material botânico e identificação**

As amostras das espécies selecionadas foram coletadas em dias claros e sem chuva no intervalo de tempo entre 08:00 e 10:00h e à tarde entre 16:00 e 18:00h e cada uma foi analisada do ponto de vista botânico. O material foi coletado em Recife e região metropolitana: Cidade Universitária, Campus da UFPE e UFRPE, Torre e Paulista. No litoral, em Itamaracá. Na região de Mata Atlântica as coletas foram em Penedo e Aldeia. No Agreste, em Caruaru e Garanhuns. As plantas foram encontradas em diferentes tipos de áreas : terrenos baldios, jardins, praias, mangue. Dez indivíduos de cada local foram acondicionado em álcool a 70° GL para as análises morfológicas.

A identificação do material coletado foi confirmada pelo pesquisador Marcos José da Silva, do Laboratório de Taxonomia Vegetal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O material testemunho foi depositado no Herbário Prof. Geraldo Mariz (UFP) da Universidade Federal de Pernambuco, sob números 45.197, 45.198, 45.199, 45.200, 45.201, 45.202, 45.203, 46.194, 46.195, 46.196, 46.197, 46.198 e 46.224.

### **Secagem, trituração, pesagem e extração**

As plantas frescas foram submetidas a secagem e as partes mais utilizadas na medicina popular foram separadas (caule, folhas e frutos). Cada planta foi triturada e pesada para posterior cálculo de rendimento. Em seguida procedeu-se a extração com álcool etílico 96° GL até o esgotamento.

### **Filtração e evaporação**

Os extratos foram filtrados em intervalos de oito dias e posteriormente foram evaporados com o auxílio de um evaporador rotativo, com temperatura controlada de aproximadamente 50 °C. Os extratos obtidos foram estocados em vidro âmbar, em dessecador, para posterior análise.

# 4 *Artigo 1*

**Título:** Produtos à base de Plantas Medicinais comercializados em Pernambuco - Nordeste do Brasil

**Revista:** Acta Farmaceutica Bonaerense v. 24, n. 1, p. 113-22, 2005

## Produtos à base de Plantas Medicinais comercializados em Pernambuco - Nordeste do Brasil

João Eudes do NASCIMENTO <sup>1</sup>, Erlandson Uchôa LACERDA <sup>1</sup>, Viviany Teixeira do NASCIMENTO <sup>2</sup>, Joabe Gomes de MELO <sup>2</sup>, Bruno de Souza ALVES <sup>1</sup>, Luis Gustavo de Melo e SILVA <sup>1</sup>, Marcelo Alves RAMOS <sup>2</sup>, Claudia Sampaio de Andrade LIMA <sup>3</sup>, Ulysses Paulino de ALBUQUERQUE <sup>2</sup>, Elba Lúcia C. AMORIM <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Depto. de Ciências Farmacêuticas/UFPE;

<sup>2</sup> Depto. de Biologia área de Botânica/UFRPE;

<sup>3</sup> Depto. de Biofísica e Radiobiologia/UFPE. Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, CEP: 50740-521, Recife-PE, Brasil

**RESUMO.** No Brasil existe um mercado sólido e crescente de produtos à base de plantas medicinais. Além das tradicionais ervarias, produtos industriais são vendidos livremente em drogarias e supermercados. Este estudo se propõe a realizar uma análise exploratória sobre os produtos à base de plantas comercializados em drogarias da cidade do Recife - estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Em 54 estabelecimentos de duas grandes redes foi realizada coleta de dados com preenchimento de um formulário padronizado, em que foram transcritas as informações do rótulo de cada produto como nome, composição vegetal, forma farmacêutica e indicações terapêuticas. Estas informações foram organizadas em planilhas e trabalhadas estatisticamente, sendo possível avaliar a quantidade de produtos e plantas, formas de uso, processos tecnológicos utilizados e associações de espécies. Constatou-se que nestes estabelecimentos são comercializados 584 produtos, entre formas sólidas (285), líquidas (266) e semi-sólidas (33), sendo predominante o uso de baixa tecnologia e formas farmacêuticas simples, com um grande número de associações de espécies vegetais. A maioria desses produtos não atende as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no que diz respeito ao uso de nomenclatura oficial adequada, e é constituída sem base científica, ficando evidente o descaso das indústrias com as determinações dos órgãos reguladores e a dúvida com relação à qualidade desses produtos.

**SUMMARY.** "Medicinal plants products traded in Pernambuco - Northeastern Brazil". In Brazil there is a developed and growing market of medicinal plant products. Traditional and industrial products are freely traded in drugstores. This work proposes an analysis of products traded in the city of Recife - Pernambuco State, in Northeastern Brazil. Data were collected in 54 drugstores using a standardized guide for transcription of name, plant composition, pharmaceutical form and therapeutic actions. The amounts of products and numbers of plants, users information, technology and plants mixtures were evaluated. 584 products were traded in these drugstores: 285 in solid forms, 266 in liquid forms and 33 in semi-solid forms, with low degrees of technology, in simple pharmaceutical forms and a great number being plant mixtures. Most of these products do not follow the National Agency of Sanitary Vigilance (ANVISA) recommendations in respect to the official nomenclature and scientific basis for uses.

### INTRODUÇÃO

Nos últimos anos vem ocorrendo um retorno ao uso de plantas medicinais e medicamentos a partir destas, em um mercado que havia sido dominado por produtos de base sintética, tanto em países considerados pobres como em países desenvolvidos <sup>1</sup>. Como consequência, o uso de plantas medicinais, assim como a fitoterapia, se encontram em expansão em todo o mundo e constituem um mercado bastante promissor <sup>2-4</sup>,

movimentando mundialmente cerca de US\$ 22 bilhões por ano. Com isso, este setor vem atraindo cada vez mais o interesse dos países desenvolvidos, chegando os Estados Unidos a movimentar cerca de US\$ 6,5 bilhões em 2000 e a Europa US\$ 8,5 bilhões, sendo a Alemanha o maior mercado mundial <sup>5</sup>.

No Brasil, além do comércio tradicional dos erveiros, são comercializados livremente em farmácias/drogarias e supermercados produtos in-

**PALAVRAS CHAVE:** Fitoterápicos, Plantas medicinais, Nordeste do Brasil.

**KEY WORDS:** Medicinal plants, Northeastern Brazil, Phytotherapy.

\* Autor a quem dirigir correspondência. E-mail: elba@ufpe.br

dustrializados à base de plantas, cujo consumo tem sido ainda mais estimulado nos últimos anos, sob um apelo das empresas que oferecem produtos como sanativos para todos os males, mostrando propriedades mirabolantes nem sempre verdadeiras <sup>6</sup>. No entanto, muitos fatores como a grande variedade de espécies vegetais, a desinformação sobre o tema e o fraco desenvolvimento tecnológico desta área, comprometem a real eficácia e a segurança dos produtos utilizados <sup>7</sup>. Para Grauds <sup>8</sup>, essa escassez de informações atinge inclusive farmacêuticos e médicos, que estão ainda em busca de fontes confiáveis sobre o assunto.

A partir de 1999 observou-se um aumento significativo de trabalhos focalizando atividade biológica, sinalizando uma tendência para trabalhos em colaboração, e gerando uma perspectiva maior da aplicação desse conhecimento científico para facilitar a obtenção de recursos financeiros para novas pesquisas <sup>5</sup>. Porém, esta realidade está muito longe das indústrias de fitomedicamentos brasileiras, onde a produção da maioria dos fitoterápicos está fundamentada no uso popular das plantas sem nenhuma comprovação pré-clínica ou clínica <sup>9</sup>. Como resultado, apesar da diversidade de sua flora, o Brasil não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente <sup>9</sup>.

O presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo exploratório dos produtos à base de plantas comercializados em farmácias da cidade do Recife, Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil, focalizando a quantidade de produ-

tos e de plantas, as formas de uso e tecnologias associadas à produção. Inicialmente o estudo foi focado em uma análise descritiva da situação em que eles se encontram. Em seguida, os resultados foram confrontados com as resoluções da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e com a literatura científica, com o intuito de verificar se os produtos estão legalmente adequados e se são cientificamente confiáveis.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de dados

A pesquisa foi realizada entre os meses de março a agosto de 2002 nos seis distritos sanitários da cidade do Recife, como se encontra dividida pela secretaria municipal de saúde (Fig. 1). Para coleta de dados foram visitadas duas redes de farmácias e duas redes de supermercados, totalizando 54 estabelecimentos que se distinguem de outros estabelecimentos comerciais por se distribuírem homogênea pela cidade e estarem presentes em todos os distritos, sendo freqüentados pela população independentemente de sua posição social.

Em cada estabelecimento foi aplicada uma ficha padronizada de catalogação dos produtos. As informações foram transcritas diretamente dos produtos presentes nas prateleiras das casas comerciais ou informados pelo funcionário responsável quando o acesso aos mesmos não era permitido. Para cada produto eram colhidas informações como o nome comercial, a composição vegetal, a forma farmacêutica, as indicações terapêuticas e o laboratório que o produziu. A única fonte de informações para o preen-



**Figura 1.** Localização e divisão da cidade do Recife-Pernambuco (Nordeste do Brasil), em seis distritos sanitários.

chimento desses dados foi os rótulos das embalagens. Houve informações não catalogadas devido a ausência nos respectivos rótulos ou porque estas estavam contidas dentro da caixa lacrada.

Os produtos catalogados foram divididos em três categorias, segundo a forma física: a) produtos sólidos; b) produtos líquidos e c) produtos semi-sólidos. Nos produtos sólidos, além das formas farmacêuticas sólidas como comprimidos, cápsulas, drágeas, pós, pastilhas, sabonetes, granulados e velas, também foram considerados os sachês contendo partes das plantas trituradas (chás). Para os produtos líquidos, além das soluções orais, xaropes, sprays bucais, elixires, óleos essenciais, tinturas, suspensões e sabonetes líquidos, foram considerados os produtos à base de mel, devido a grande quantidade de itens encontrados na pesquisa. Quanto aos produtos semi-sólidos foram considerados a cápsula gelatinosa mole, pomadas, cremes, géis e sabonetes cremosos.

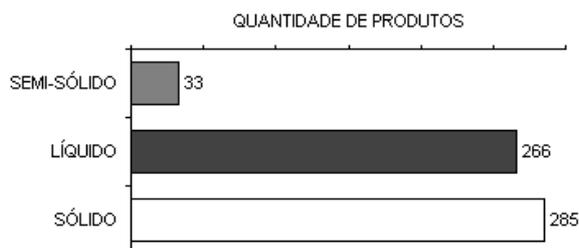
Foram desconsideradas das informações repetidas para não superestimar a quantidade de produtos, isto é, cada item foi contabilizado como uma unidade, mesmo que tenha sido encontrado diversas vezes. Também não foi possível quantificar o número exato de plantas, isso por que muitos termos populares podem ser atribuídos para a mesma espécie e também o mesmo nome vulgar pode ser empregado para espécies diferentes. Como a intenção era verificar a qualidade das informações, os nomes científicos das plantas foram transcritos de forma idêntica à escrita dos rótulos, mesmo que contendo erros de nomenclatura ou ortografia.

Para as informações referentes às associações de plantas e a utilização de espécies validadas, foi aplicado o teste de Qui-quadrado utilizando-se o software BIO-STAT 2.0<sup>®</sup> para verificar se as diferenças encontradas entre as diferentes formas farmacêuticas são significativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

São oferecidos nas farmácias pesquisadas do grande Recife, 584 produtos à base de plantas. Desses produtos, conforme verifica-se na Fig. 2, 285 (48,80%) são apresentados na forma sólida, 266 (45,55%) são apresentados na forma líquida e 33 desses produtos (5,65%) se apresentam na forma semi-sólida.

Nas Tabelas 1, 2 e 3 constam das plantas citadas na composição dos 584 produtos. As citações estão organizadas por nome científico, nome vulgar e ambos (quando presentes nos



**Figura 2.** Quantidade de produtos à base de plantas comercializados na cidade do Recife divididos em três categorias.

rótulos dos produtos), ressaltando que todos os nomes foram transcritos de forma idêntica às informações contidas nos rótulos.

Três abordagens podem ser feitas a partir desses dados: em primeiro lugar, é notória a falta de padronização das informações referentes a composição dos produtos, como pode ser observado nas Tabelas 1 a 3. Os constituintes dos produtos podem ser citados apenas pelo nome científico (167 casos), pelo nome popular (191 casos), e em uma minoria (28 casos) constam os dois nomes, contrariando a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 17-24/02/2000 10 e a RDC n° 140 03/2003 11 da ANVISA que regulamenta quanto da obrigatoriedade de constar a nomenclatura botânica oficial (gênero, espécie, variedade, autor do binômio e família). Mesmo as citações encontradas pelo nome científico estão incompletas, pois a maioria não apresenta o autor do binômio, neste caso, em um universo de 386 citações, apenas três (Tabela 1), estão de acordo com as normas oficiais: *Mentha arvensis* L, *Camelia sinensis* L. e *Rosmarinus officinalis* L. Pelo que se constataram, essa falta de padronização se reflete também em outros aspectos, como foi verificado por Bello *et al.*<sup>1</sup>, que constatou uma grande quantidade de irregularidades relacionadas às informações contidas nos rótulos e bulas de medicamentos à base de plantas, normalmente por falta de informações importantes e dizeres obrigatórios.

Em segundo lugar vem a autenticidade da espécie. Não há certeza de que as plantas citadas nas embalagens foram identificadas corretamente, pois uma mesma espécie pode ter vários nomes populares como é o caso de *Cymbopogon citratus* Stapf., conhecido popularmente como capim santo, capim limão, capim cidreira e capim cidrão (Tabela 2), entre outros; ou um nome popular pode ser empregado para muitas espécies diferentes, como o maracujá (Tabela 2) que é associado a várias espécies de *Passiflora* (como *P. allata*, *P. edulis* e *P. incarnata*) e tam-

<i>Acanthospermum hispidum</i>	<i>Citrus aurantium</i>	<i>Ipecacuanha cephaelis</i>	<i>Poligala senega</i>
<i>Aconitum napellus</i>	<i>Citrus limonum</i>	<i>Jasminum officinalis</i>	<i>Polygonum acre</i>
<i>Adonis vernalis</i>	<i>Citrus medica</i>	<i>Jatrorrhiza palmata</i>	<i>Polygonum hidropiper</i>
<i>Aerulus lipocastanus</i>	<i>Collinsonia canadensis</i>	<i>Juglans rigia</i>	<i>Polygonum punctatum</i>
<i>Aesculus hippocastanum</i>	<i>Colocasia antiquorum</i>	<i>Lepidium sativum</i>	<i>Polypodium lepidopteris</i>
<i>Aipum graveolens</i>	<i>Cordia salicifolia</i>	<i>Leptolobium elegans</i>	<i>Psylium plantago</i>
<i>Alium sativum</i>	<i>Coriandrum sativum</i>	<i>Lilicium verum</i>	<i>Ptychopetalum olacoide</i>
<i>Aloe</i>	<i>Crataegus oxyacantha</i>	<i>Lilicium verim</i>	<i>Ptychopitalum zingiber</i>
<i>Aloes humilis</i>	<i>Croton perdicips</i>	<i>Limonium brasiliensi</i>	<i>Punica granatum</i>
<i>Ananais sativos</i>	<i>Curcum zedoária</i>	<i>Lobelia inflatur</i>	<i>Pyrus malus</i>
<i>Anchieta salutaris</i>	<i>Cyamoysis tetragonolobus</i>	<i>Malva silvestris</i>	<i>Rhamnus purshiana</i>
<i>Anemopaegma mirandum</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Masturtium officinale</i>	<i>Rhamus pursiana</i>
<i>Aparagus officinalis</i>	<i>Cynara scolymus</i>	<i>Matricaria camomila</i>	<i>Roripa Nasturtium</i>
<i>Apodanthera smilacifolia</i>	<i>Cypura palidosa</i>	<i>Matricaria recutita</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
<i>Archangelica officinalis</i>	<i>Datura stramonium</i>	<i>Maytenus ilicifolia</i>	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>
<i>Arctosta phylos</i>	<i>Davilla rugosa</i>	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Ruscus aculeatus</i>
<i>Arnica montana</i>	<i>Dorstenia multiformis</i>	<i>Mentha arvensis</i>	<i>Salix alba</i>
<i>Arninca granatum</i>	<i>Echinacea purpurea</i>	<i>Mentha arvensis L.</i>	<i>Salsamo copoivae</i>
<i>Atropa belladona</i>	<i>Echinodorus macrophylus</i>	<i>Mentha crispa</i>	<i>Salsamo tolutani</i>
<i>Baccharis genistelloides</i>	<i>Equisetum arvensi</i>	<i>Mentha piperita</i>	<i>Schinus teribinthifolius</i>
<i>Bacharis trimera</i>	<i>Erisimum oficinales</i>	<i>Mikania glomerata</i>	<i>Seguieria guaranitica</i>
<i>Bauhinia forficata</i>	<i>Erythrina mulungu</i>	<i>Mikania hirsutisima</i>	<i>Senna alexandrina</i>
<i>Berberis laurina</i>	<i>Eucaliptus globulus</i>	<i>Miroxylon balsamo</i>	<i>Serenoa repens</i>
<i>Bixa orellana</i>	<i>Eugenia caryophyllata</i>	<i>Myracroduom urundeuva</i>	<i>Siparuna apiosyce</i>
<i>Camelia sinensis</i>	<i>Exogonium purga</i>	<i>Myristica fragans</i>	<i>Smilax papyracea</i>
<i>Camelia sinensis L.</i>	<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Nasturtium oficinalis</i>	<i>Smilax sp</i>
<i>Cammphora myrrha</i>	<i>Fumaria officinalis</i>	<i>Ocimum bacilicum</i>	<i>Solanum melogena</i>
<i>Caphealis ipepacunha</i>	<i>Garcinia camboja</i>	<i>Oenotela birennis</i>	<i>Solanum paniculatum</i>
<i>Caryophyllus aromaticus</i>	<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Panax ginseng</i>	<i>Stevia rebaudiana</i>
<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Glycyrhiza glabra</i>	<i>Passiflora alata</i>	<i>Strychnus nux vomica</i>
<i>Cassia angustifolia</i>	<i>Gossypium herbaceum</i>	<i>Passiflora incarnata</i>	<i>Tamarindus indica</i>
<i>Cassia fistula</i>	<i>Grendélia squamosa</i>	<i>Paulinea cupana</i>	<i>Tinnantus fasciculatus</i>
<i>Cassia occidentalis</i>	<i>Hamamelis virginiana</i>	<i>Peltodon radicans</i>	<i>Trianosperma tayuya</i>
<i>Cassia senna</i>	<i>Hammamellis virginiana</i>	<i>Persia gratissima</i>	<i>Trichilla catigua</i>
<i>Cayaponis tayuya</i>	<i>Heckeria umbellata</i>	<i>Peumus boldus</i>	<i>Triticum vulgare</i>
<i>Centela asiática</i>	<i>Heteropteris anceps</i>	<i>Pfaffia paniculata</i>	<i>Uncaria tomentosa</i>
<i>Centella asiatica</i>	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	<i>Phylantus niruri</i>	<i>Valeriana officinales</i>
<i>Chiococa brachiata</i>	<i>Hipericum perforatum</i>	<i>Pilocarpus pinatifolius</i>	<i>Vanila planifolia</i>
<i>Chlorrella pyrenoidosa</i>	<i>Hynenae coubaril</i>	<i>Pimpinella anisum</i>	<i>Viburnum prunifolium</i>
<i>Chondrodendro platyphyllum</i>	<i>Hyoscyamus nigos</i>	<i>Piper methysticum</i>	<i>Vitex agnus</i>
<i>Cimifuga racemosa</i>	<i>Hypericum perforarun</i>	<i>Plantago ovata</i>	<i>Zingiber officinale</i>
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Ilex paraguaiensis</i>	<i>Plumeria lancifolia</i>	

**Tabela 1.** Plantas encontradas nos produtos comercializados na cidade do Recife que foram citadas pelo nome científico.

bém o quebra-pedra (Tabela 2), que é o nome popular de pelo menos três espécies de *Phyllanthus* (*P. niruri*, *P. tenellus* e *P. amarus*).

Por último, constatou-se que a quantidade de plantas utilizadas é muito maior do que a que existe na literatura oficial e no órgão regulador (ANVISA). Na RDC nº 17-24/02/2000<sup>10</sup> consta uma relação de 11 plantas (Tabela 4) que são consideradas validadas, ou seja, com atividade terapêutica confirmada e segurança quanto a sua utilização, número bem menor do que o presente nas tabelas apresentadas anteriormente. Comparando-se as plantas com o trabalho

pioneiro desenvolvido por Matos<sup>12</sup>, chamado “Farmácias vivas”, na Universidade Federal do Ceará, onde foram catalogadas até 1998, 52 plantas medicinais validadas (Tabela 5), observa-se que ainda estão presentes muitas plantas não estudadas. Nos produtos sólidos apenas 21 plantas consideradas validadas foram citadas. Nos líquidos, foram citadas 31 plantas, e nos semi-sólidos, três plantas. Quando aplicado o teste do Qui-quadrado, verifica-se que a quantidade de plantas validadas observadas entre as diferentes formas não apresentaram diferenças significativas ( $\chi^2 = 0,76$ ;  $p > 0,05$ ).

Abacate	Bom-nome	Confrei	Ipê roxo	Poejo
Abacaxi	Bromellia	Copaiba	Ipeca	Polígala
Absinto	Cabacinho	Corama	Ipecacuanha	Primula
Abútua	Cacau	Coroba	Ipê-roxo	Quebra pedra
Acerola	Cactus	Coroma	Jaborandi	Quebra-faca
Agoniada	Cadeiro	Couve	Jacarandá caroba	Quina
Agrião	Cajirú	Crataegus	Jalapa	Quina-quina
Alcachofra	Caju azedo	Cravo	Jatobá	Quixaba
Alçaçuz	Cajueiro	Cravo da índia	Juá	Raiz de São João
Alçaçuz	Cajú-roxo	Cumapu	Jucá	Romã
Alecrim	Calêndula	Cumarú	Kava-Kava	Rosa canina
Alfafa	Camapu	Dente de leão	Laranja	Rosa corona
Alfazema	Camará	Endro	Laranja amarga	Ruibarbo
Algodoeiro	Camomila	Equinácea	Leite do Amapá	Sabina
Alho	Canela	Erva de são João	Limão	Sabugueiro
Alho roxo do mato	Canela da índia	Erva do bicho	Limão bravo	Sacaca
Altéia	Capim cidrão	Erva doce	Lobélia	Salsa caroba
Ameixa	Capim cidreira	Espinheira santa	Lotus	Salsa parrilha
Andiroba	Capim limão	Eucalipto	Louro	Sálvia
Angélica	Capim santo	Fedegoso	Maçã	Samambaia
Angico	Caraguatá	Fumária	Malva	sambuco negra
Anis	Caroba	Funcho	Mandacaru	Saw palmetto
Aperta-ervão	Carqueja	Garcinia	Mangará	Sena
Ardósio	Carqueja amarga	Garra do diabo	Maracujá	Sene
Arnica	Cáscara sagrada	Gengibre	Marapuama	Senne
Arnica do mato	Castanha da índia	Gimnema	Marcela	Soja
Aroeira	Catuaba	Ginkgo	Mastruço	Taiuíá
Arruda	Cavalinha	Ginseng	Mastruz	Tamarindo
Assa peixe	Cebola branca	Ginseng Brasileiro	Melissa	Tanacetó
Babaçu	Cedro	Grindelia	Menta	Tanchagem
Babatimon	Centella	Guaçatonga	Mil folhas	Tayuya
Babosa	Chá bulgre	Guaco	Morango	Urtiga branca
Badiana	Chambá	Guaraná	Mulungu	Urucum
Baicuru	Chapéu de couro	Hamamelis	Noz de cola	Valeriana
Barbatimão	Cidreira	Hera	Orégano	Viburno
Beladona	Cipó cabeludo	Hortelã	Passiflora	Zedoaria
Bergamota	Cipó suma	Hortelã graudo	Pepaconha	
Boldo	Coentro	Imburana	Plantago	
Boldo do chile	Colônia	Inhame	Pobre velho	

**Tabela 2.** Plantas encontradas nos produtos comercializados na cidade do Recife que foram citadas pelo nome popular.

### **Produtos na forma sólida**

Pode-se constatar, na Fig. 3, que a grande maioria dos produtos na forma sólida (82,81%) são obtidos por processos tecnológicos simples, que envolvem poucas etapas operacionais; 126 produtos (44,21%) são transformados em cápsulas, originando produtos com posologia mais precisa e reprodutível, enquanto que 110 produtos (38,60%) passam apenas pelo processo de trituração de partes das plantas, originando produtos mais simples, como pós e chás acondicionados em sachês. Processos que exigem etapas tecnológicas mais complexas aparecem em proporções muito baixas, como é o caso de 46 produtos obtidos por compressão (16,14%), que são os comprimidos, drágeas, pastilhas e outros.

A possibilidade de utilização de processos tecnológicos mais simples para a obtenção da maioria desses produtos permite a atuação de empresas de pequeno porte, muitas vezes funcionando precariamente e de forma empírica, como foi verificado por Zuccoloto *et al.*<sup>13</sup>. Como consequência, o controle de qualidade desses produtos é freqüentemente negligenciado.

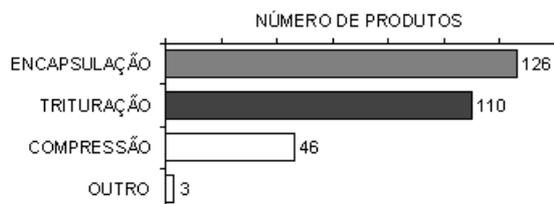
Com relação ao quantitativo de formas farmacêuticas à base de plantas acessíveis ao público (Fig. 4), observa-se que os itens comercializados na forma sólida apresentam grandes percentuais de produtos sob a forma de cápsulas e de chás, que somam juntos 79,6%. São comercializados 126 itens na forma de cápsulas (44,2%) e 101 na forma de chá (35,4%). Outras

Nome popular	Nome científico
Acônito	<i>Aconitum napelus</i>
Alcachofra	<i>Cynara scolymus</i>
Alho	<i>Allium sativum</i>
Angélica	<i>Angelica archangelica</i>
Berinjela	<i>Solanum melogena</i>
Capeba	<i>Heckeria umbellata</i>
Capim cidreira	<i>Cymbopogon citratus</i>
Cáscara sagrada	<i>Rhamnus purshiana</i>
Catuaba	<i>Anemopaegma mirandum</i>
Catuaba	<i>Jumiperus brasiliensis</i>
Chá bugre	<i>Casaria sylvestris</i>
Crataegus	<i>Crataegus oxyacantha</i>
Erva doce	<i>Pimpinella anisum</i>
Erva mate	<i>Ilex paraguariensis</i>
Gengibre	<i>Zinziber officinalis</i>
Guaraná	<i>Paullinia cupana</i>
Japacanga	<i>Smilax japacanga</i>
Laranja amarga	<i>Citrus aurantium amara</i>
Limão bravo	<i>Siparuma apiosyce</i>
Malva	<i>Malva sylvestris</i>
Maracujá	<i>Passiflora alata</i>
Marapuama	<i>Ptychopetalum olacoides</i>
Marapuama	<i>Ptychopetalum uncinatum</i>
Mastruço	<i>Lepidium sativum</i>
Melissa	<i>Melissa officinalis</i>
Noz de kola	<i>Sterculia acuminata</i>
Pitanga	<i>Eugenia uniflora</i>
Polígala	<i>Polygala senega</i>

**Tabela 3.** Plantas encontradas nos produtos comercializados na cidade do Recife que foram citadas por nome científico e popular, conforme grafia nas embalagens e rótulos dos produtos.

apresentações aparecem em percentuais muito baixos: 17 produtos (6,0%) são comprimidos, 15 (5,3%) são drágeas, 9 (3,2%) são pós, 7 (2,5%) são pastilhas, 5 (1,8%) são sabonetes e outros produtos somam também 1,8%.

Verifica-se, na Fig. 5, que os produtos apresentam associações de até seis espécies, sendo

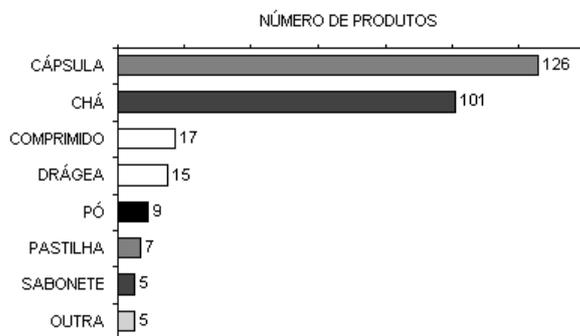


**Figura 3.** Processos tecnológicos utilizados na obtenção de produtos na forma sólida à base de plantas medicinais.

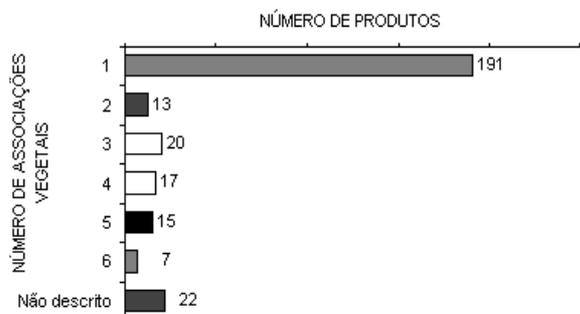
Nome popular	Nome científico	Família
Alcachofra	<i>Cynara scolymus</i> L.	Asteraceae
Alho	<i>Allium sativum</i> L.	Liliaceae
Babosa	<i>Aloe vera</i> (L.) Burn f.	Liliaceae
Boldo-do-chile	<i>Peumus boldus</i> Mol.	Monimiaceae
Calêndula	<i>Calendula officinalis</i> L.	Asteraceae
Camomila	<i>Matricaria recutita</i> L.	Asteraceae
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae
Hortelã pimenta	<i>Mentha x piperita</i> L.	Lamiaceae
Melissa	<i>Melissa officinalis</i> L.	Lamiaceae
Maracujá	<i>Passiflora incarnata</i> L.	Passifloraceae
Sene	<i>Senna alexandrina</i> Miller	Caesalpiniaceae

**Tabela 4.** Plantas consideradas validadas pela ANVISA. Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (www.anvisa.gov.br)

que 67% dos produtos (191) apresentam uma única planta em sua composição, 4,6% (13 produtos) apresenta duas plantas, 7,0% (20 produtos) apresenta três plantas, 6,0% (17 produtos) apresenta quatro plantas, 5,3% dos produtos (15) contém cinco plantas na composição e 2,5% (7 produtos) contém seis plantas na composição.



**Figura 4.** Quantidade de produtos à base de plantas medicinais encontrados para cada forma farmacêutica sólida.



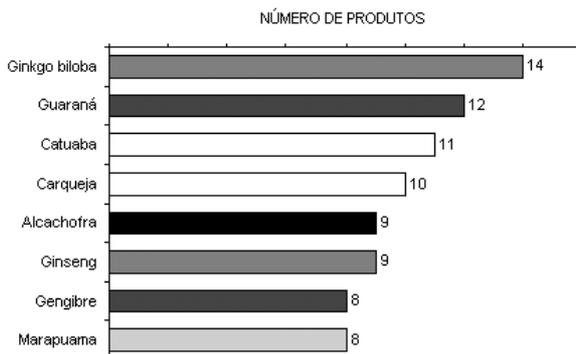
**Figura 5.** Quantidade de produtos sólidos e o número de associações vegetais.

Nome popular	Nome científico	Família
Acerola	<i>Malpighia glabra</i> L.	Malpighiaceae
Açafrão	<i>Curcuma longa</i> L.	Zingiberaceae
Agrião-bravo	<i>Acmella uliginosa</i> (S.W.) Cass.	Asteraceae
Agrião-do-brejo	<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	Asteraceae
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae
Alecrim-da-chapada	<i>Lippia gracillis</i> H.B.K.	Verbenaceae
Alecrim-de-tabuleiro	<i>Lippia microphylla</i> Cham.	Verbenaceae
Alecrim-pimenta	<i>Lippia sidoides</i> Cham.	Verbenaceae
Alfavaca-cravo	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Lamiaceae
Alho	<i>Allium sativum</i> L.	Liliaceae
Aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (Syn.: <i>Astronium urundeuva</i> Engl.)	Anacardiaceae
Babosa	<i>Aloe vera</i> L. Burm. f.	Liliaceae
Batata-de-purga	<i>Oxperculina macrocarpa</i> (L.) Farwel <i>O. alata</i> (Ham.) Urban.	Convolvulaceae
Boldo	<i>Peumus boldus</i> Molina	Monimiaceae
Cajazeira	<i>Spondias mombim</i> Jacq.	Anacardiaceae
Cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae
Camomila	<i>Chamomilla recutita</i> L. (Syn. <i>Matricaria chamomila</i> L.)	Asteraceae
Capim santo	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	Poaceae
Chá-do-rio	<i>Capraria biflora</i> L.	Scrophulariaceae
Chá-preto	<i>Thea sinensis</i> Sims	Ternstroemiaceae
Chambá	<i>Justicia pectoralis</i> Jacq. var. <i>stenophylla</i> Leon	Acanthaceae
Colônia	<i>Alpinia speciosa</i> Schum. (Syn. <i>A. nutans</i> Roscoe)	Zingiberaceae
Confrei	<i>Symphytum officinale</i> L.	Boraginaceae
Cumarú	<i>Amburana cearensis</i> (Fr. All) A. C. Smith. (Syn. <i>Torresea cearensis</i> Fr. All.)	Fabaceae
Erva cidreira	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Brown	Verbenaceae
Estramônio	<i>Datura stramonium</i> L. <i>D. stramonium</i> var. <i>tatula</i> Moor. <i>D. metel</i> L.	Solanaceae
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i> Labil.	Myrtaceae
Gengibre	<i>Zinziber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae
Goiabeira-vermecha	<i>Psidium guajava</i> L. var. <i>pomifera</i> L.	Myrtaceae
Guaco	<i>Mikania glomerata</i> Spreng	Asteraceae
Hortelã japonesa	<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> Hormes	Lamiaceae
Hortelã-pimenta	<i>Mentha x piperita</i> L.	Lamiaceae
Hortelão rasteira	<i>Mentha x villosa</i> Huds.	Lamiaceae
Juazeiro	<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	Rhamnaceae
Macela	<i>Egletes viscosa</i> (L.) Less.	Asteraceae
Macela-do-reino	<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch. Blp. (Syn. <i>Chrysanthemum parthenium</i> (L.) Bernh.)	Asteraceae
Malva-santa	<i>Plectranthus barbatus</i> Andr. (Syn. <i>Coleus barbatus</i> Benth.)	Lamiaceae
Malvariço	<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng. (Syn. <i>Coleus amboinicus</i> Lour.)	Lamiaceae
Maracujá	<i>Passiflora edulis</i> Sims.	Passifloraceae
Mastruço	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. var. <i>anthelmintica</i> (L.) A. Gray.	Chenopodiaceae
Mentrasito	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Asteraceae
Moringa	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Moringaceae
Mororó	<i>Bauhinia unguolata</i> L.	Caesalpiniaceae
Mostarda	<i>Brassica integrifolia</i> O.E. Schulz. <i>Brassica nigra</i> L.	Cruciferae
Pau d'arco	<i>Tabebuia avellanedeae</i> Lor. ex Griseb <i>T. serratifolia</i> (Vahl.) Nich. <i>T. impetiginosa</i> (Mart.) Standl.	Bignoniaceae
Poejo	<i>Mentha pulegium</i> L.	Lamiaceae
Quebra-pedra	<i>Phyllanthus amarus</i> Schum. e Thorn. <i>P. niruri</i> L. <i>P. urinaria</i> L.	Euphorbiaceae
Romã	<i>Punica granatum</i> L.	Punicaceae
Sene	<i>Senna alexandrina</i> P. Miller	Caesalpiniaceae
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Solanaceae
Torém	<i>Cecropia glaziovii</i> Sneath.	Moraceae
Vassourinha	<i>Scoparia dulcis</i> L.	Scrophulariaceae

Tabela 5. Plantas validadas no projeto Farmácias Vivas (Matos <sup>12</sup>).

Embora a maioria dos produtos apresente uma única planta na sua composição, 13,68% apresentam associação de mais de três plantas, numa prática não muito adequada, haja vista a grande possibilidade de interações não previstas entre as substâncias presentes nas plantas. Segundo Martins <sup>14</sup> não se deve associar um número elevado de plantas para evitar o risco de interações de potencialização ou inibição dos efeitos farmacológicos. Porém, o dado mais interessante é o fato de 7,7% dos produtos catalogados (22) não descrever a sua composição no rótulo, e, como a maioria dos produtos é considerada de venda livre, o consumidor acaba não tendo acesso as informações completas sobre o produto.

Como existem menos plantas que produtos, observa-se uma frequência maior para algumas plantas como é o caso do ginkgo, guaraná, catuaba e outras. Na Fig. 6 são apresentadas as oito plantas mais encontradas nos produtos na forma sólida. Quando se compara com o trabalho de Bello *et al.* <sup>1</sup> duas dessas oito plantas, o guaraná e a alcachofra, estão também presentes entre as cinco plantas mais citadas em produtos



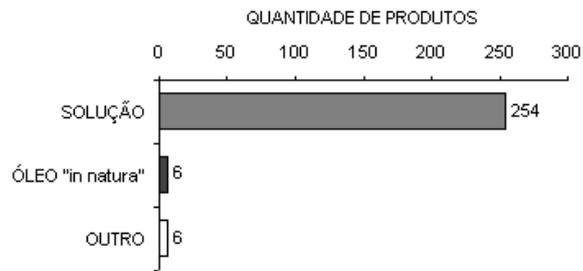
**Figura 6.** Plantas mais frequentes em produtos na forma sólida comercializadas na cidade do Recife.

comercializados em Porto Alegre, onde ocupam a primeira e a quarta posições, respectivamente. O extrato de *Ginkgo biloba* L. é um dos mais vendidos no mundo e no Brasil <sup>5</sup>.

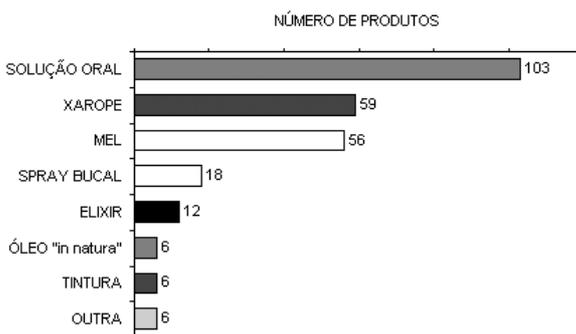
### Produtos na forma líquida

Na Fig. 7 observa-se que a principal tecnologia utilizada para a produção de formas líquidas é a extração dos princípios ativos das plantas através de uma solução simples, e numa pequena quantidade a extração de óleos essenciais. 254 produtos (95,49%) passam apenas pelo processo de dissolução e seis produtos (2,26%) são obtidos pela extração de óleo essencial.

Por se tratar de um processo simples, a dissolução dos princípios ativos em solventes



**Figura 7.** Processos tecnológicos utilizados na obtenção de produtos na forma líquida à base de plantas medicinais.

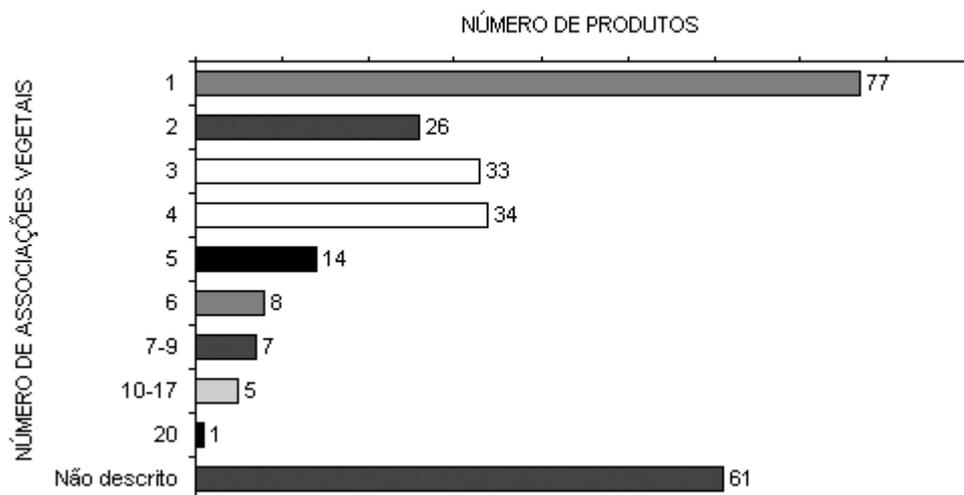


**Figura 8.** Quantidade de produtos à base de plantas medicinais encontrados para cada forma farmacêutica líquida.

aquosos ou hidroalcoólicos são rotineiramente utilizados pela indústria, se tornando um procedimento bem adequado às indústrias já que, como citado anteriormente, são constituídas por empresas de pequeno porte <sup>13</sup>.

Na Fig. 8 observa-se que os produtos na forma líquida são predominantemente apresentados sob a forma de soluções, com 103 itens (38,7%), seguido de xarope, com 59 itens (22,2%) e mel, com 56 (21,1%). Com percentuais bem mais baixos, encontram-se o spray bucal, com 18 (6,8%), o elixir, com 12 (4,5%), e os óleos e tinturas, ambos com seis itens cada (2,3%).

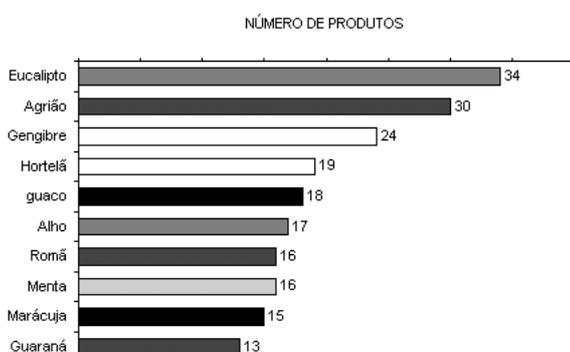
Na Fig. 9 verifica-se que o número de plantas associadas no mesmo produto pode chegar até vinte, enquanto que na forma sólida essas associações chegam no máximo a seis plantas. Dentre os produtos na forma líquida, verifica-se um grande número que apresenta associações de duas ou mais plantas (48,12%). Destes, 25,94% apresentam associação de mais de três plantas, com uma grande chance de interações entre os seus constituintes, inclusive efeitos antagônicos ou tóxicos. Enquanto que na forma sólida 67% dos produtos apresentavam uma planta na composição, na forma líquida esse número é de 28,95% (77 produtos). 26 produtos contêm duas plantas associadas (9,77%), 33 pro-



**Figura 9.** Quantidade de produtos líquidos e o número de associações vegetais.

produtos com três e 34 com quatro plantas, somam 12,41% e 12,78%, respectivamente. Bem abaixo, encontramos 14 itens com cinco plantas associadas (5,26%), oito produtos com seis plantas (3,01%) e sete produtos com sete a nove plantas associadas (2,63%). Porém os produtos que contêm as associações mais inadequadas são os três que apresentam associações de 10 a 17 plantas (1,88%) e um produto com a associação de 20 plantas (0,38%). E, enquanto que 7,7% dos produtos na forma sólida não apresentam a composição descrita no rótulo, na forma líquida esse número chega a 22,93% (61 produtos). Verifica-se, pelo teste do Qui-quadrado, que essas diferenças são significativas ( $\chi^2 = 58,07$ ;  $p < 0,01$ ).

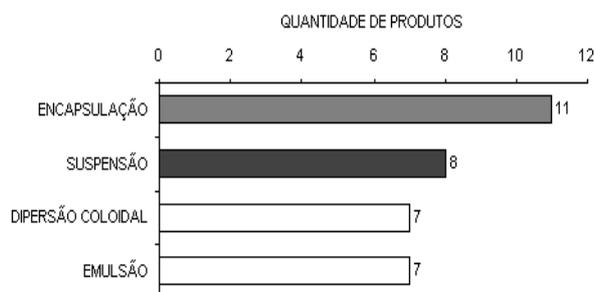
Assim como nas formas sólidas, existem menos plantas que produtos, e o número de citações para algumas é ainda maior, como é o caso do eucalipto, agrião, gengibre e outras, como se observa na Fig. 10, que mostra as dez plantas mais encontradas nos produtos líquidos. Comparando com o trabalho de Bello *et al.*<sup>1</sup>, o maracujá e o guaraná tiveram o mesmo número de citações, 15 e 13, respectivamente.



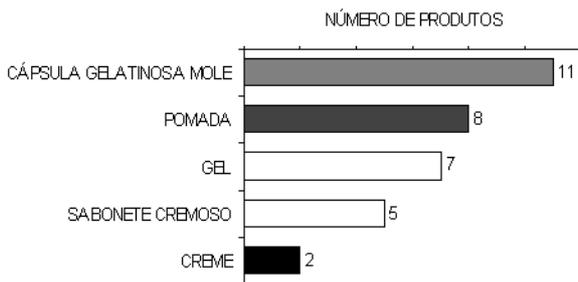
**Figura 10.** Plantas mais freqüentes em produtos na forma líquida comercializadas na cidade do Recife.

**Produtos na forma semi-sólida**

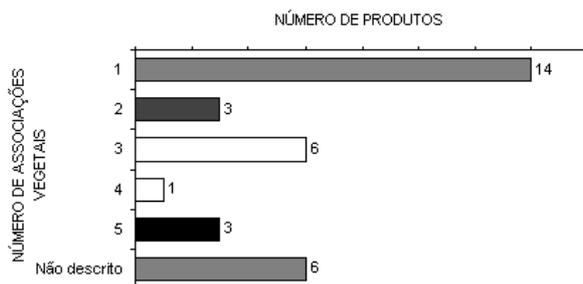
Contrastando com a quantidade de produtos sólidos (285) e líquidos (266), o número de produtos semi-sólidos é consideravelmente menor, sinalizando com apenas 5,65% desse mercado. Pode-se analisar esse pequeno número de preparações sob dois aspectos. Primeiro, há uma tendência da maioria das plantas utilizadas tanto na medicina popular como as estudadas cientificamente serem indicadas para uso interno (via oral), e as formas semi-sólidas são mais adequadas ao uso tópico. Segundo, essas formas apresentam uma menor estabilidade em relação às formas líquidas e sólidas. Pode-se considerar que esse problema se agrave no caso de plantas, pois num extrato contendo várias substâncias, a probabilidade de que uma interação química entre o extrato e os adjuvantes venha a desestabilizar as preparações é bem maior que nos outros casos citados, principalmente nos casos de dispersão, dispersão coloidal e emulsão. Como se observa na Fig. 11, esses processos ocupam as últimas posições, prevalecendo a forma mais estável que é o uso de cápsulas gelatinosas moles.



**Figura 11.** Processos tecnológicos utilizados na obtenção de produtos na forma semi-sólida à base de plantas.



**Figura 12.** Quantidade de produtos à base de plantas medicinais encontrados para cada forma farmacêutica semi-sólida.



**Figura 13.** Quantidade de produtos semi-sólidos e o número de associações vegetais.

Na Fig. 12, verifica-se que 22 produtos (66,67%) são destinados ao uso tópico como pomada, com oito itens (24,2%), gel com sete (21,2%), sabonete cremoso com cinco (15,2%) e creme com dois itens (6,1%). Porém a forma predominante é a cápsula gelatinosa mole, com 11 produtos (33,3%).

A discrepância no uso de plantas isoladas e associações é muito semelhante aos casos anteriores, onde se verifica na Fig. 13 a predominância de produtos contendo uma planta (42,4%) e associações de duas plantas (9,1%), três plantas (18,2%), quatro plantas (3,0%) e cinco plantas (9,1%). Igualmente aos casos anteriores, existe uma grande quantidade de produtos com a composição não descrita (18,2%) o que contraria a resolução nº 17-24/02/2000<sup>10</sup>.

Com relação ao número de plantas, há 29 para 33 produtos semi-sólidos sem predominância de nenhuma delas. Normalmente elas fazem parte de, no máximo, dois produtos diferentes.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A falta de padronização das informações referentes à composição dos produtos à base de plantas indica um alto nível de descaso da maioria das indústrias com relação às determinações da ANVISA, o que gera dúvidas sobre a autenticidade das informações contidas nas embalagens. Nota-se, também, que existe carência

de estudos científicos sobre a atividade terapêutica e efeitos adversos da maior parte desses produtos, não havendo preocupação, portanto, com a eficácia e o uso seguro dos mesmos.

Nas formas sólidas e líquidas encontramos uma quantidade elevada de produtos contendo associação de plantas. Essas associações variam de duas a vinte espécies vegetais. Esta prática pode ser considerada como, no mínimo, perigosa, visto que existe risco de interações entre os constituintes das plantas, tanto de inibição como de potencialização dos efeitos farmacológicos. Por fim, é notória a carência de investimentos no setor para uma fiscalização mais efetiva.

**Agradecimentos.** À FACEPE/Ministério da Saúde pelo suporte financeiro e aos programas PIBIC/CNPq/UFPE e PIBIC/CNPq/UFRPE pela concessão de bolsas de iniciação científica.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bello, C.M., J.A. Montanha & E.P Schenkel, (2002) *Rev. Brasil. Farmacognosia*. **12**: 75-83.
- Calixto, J.B (2000) *Brazilian J. Med.Biol. Res.* **33**: 179-89.
- Brevoort, P. (1988) *Herbal Gram*. **44**: 33-46.
- Einsenber, D.M., E.B. Davis & S. Etnnwr (1998) *J. Amer. Med. Assoc.* **280**: 1569-75.
- Pinto, A.C., D.H.S. Silva, V.S. Bolzani, N.P. Lopes & R.A Epifanio (2002) *Química Nova*. **25**: 45-61.
- Batistic, M.A., M.T. Auricchio, V.R. Hoppen & I.Y. Yamashita (1989) *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. **49**: 45-9.
- Brandão, M.G.L., R.M.S. Alves, R.A. Moreira, P. Oliveira, M.T.Vieira & L.M. Moreira-Campos (2002) *Rev. Brasil. Plantas Med.* **5**: 56-9.
- Grauds, C (1996) *Pharm. Times* **62**: 92.
- Yunes, R.A., C.P. Pedrosa & V. Checinel Filho (2001) *Química Nova* **24**: 147-52.
- ANVISA (2000) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000.
- ANVISA (2003) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 140 de 29 de março de 2003.
- Matos, F.J.A. (1998) *"Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades"*. Editora UFC, Fortaleza, págs. 16-60.
- Zuccoloto, T., Apel, M. & Rates, S.M.K (1999) *Revista do Instituto Adolfo Lutz* **58**: 25-31.
- Martins, E.R., D.M. Castro, D.C. Castellani & J.E. Dias, (2000) *"Plantas medicinais"*. Editora UFV. Viçosa, pág. 15.

# 5 *Artigo 2*

**Título:** Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae)

**Revista:** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada - Submetido

**Estudo fitoquímico e toxicológico de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus***

**(Phyllanthaceae)**

**Phytochemical screening and toxicological bioassay with brine shrimp larvae**

**(*Artemia salina* Leach) of three medicinal species of the genus *Phyllanthus***

**(Phyllanthaceae)**

João Eudes do Nascimento<sup>1</sup>, Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo<sup>1</sup>,  
Tássia Campos de Lima e Silva<sup>1</sup>, Jorge Veras Filho<sup>1</sup>, Eliana Maria dos Santos<sup>1</sup>, Ulysses  
Paulino Albuquerque<sup>2</sup>, \*Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE,  
Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE,  
Brasil.

Autor correspondente:

**Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim**

Departamento de Ciências Farmacêuticas

Universidade Federal de Pernambuco,.

Av. Prof. Arthur Sá, s/n - Cidade Universitária

CEP. 50740-520 – Recife - PE, Brasil

Telefone: (81) 2126-8511 - Fax (81) 2126-8510

e-mail: elba@ufpe.br

Título resumido: Estudo de espécies do gênero *Phyllanthus*

## RESUMO

Avaliou-se o perfil fitoquímico e a toxicidade de três espécies do gênero *Phyllanthus* (*P. niruri*, *P. amarus* e *P. tenellus*), coletadas em diferentes localidades do estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. Os extratos brutos das três espécies foram submetidos a testes convencionais por cromatografia em camada delgada analítica para verificação das classes de metabólitos presentes, e testados frente a larvas de *Artemia salina* para obtenção das concentrações letais médias (CL<sub>50</sub>). Os testes fitoquímicos demonstraram a presença de flavonóides, saponinas, terpenos, naftoquinonas, alcalóides, antraquinonas, lignanas e taninos. As três espécies de *Phyllanthus* apresentaram variações na composição fitoquímica e na toxicidade frente a *A. salina*. Dependendo do local de coleta, os valores de CL<sub>50</sub> variaram de 404,43 ± 49,64 µg/mL a 770,84 ± 51,78 µg/mL para *P. niruri*, 837,65 ± 61,45 µg/mL a 1075,89 ± 70,72 µg/mL para *P. amarus* e 534,60 ± 46,83 µg/mL a 1003,62 ± 65,15 µg/mL para *P. tenellus*.

*Palavras-chave:* *Phyllanthus niruri*; *Phyllanthus amarus*; *Phyllanthus tenellus*; análise fitoquímica preliminar; bioensaio toxicológico; CL<sub>50</sub>

**ABSTRACT**

Phytochemical screening and toxicological bioassay were carried out on extracts from three herbaceous species of *Phyllanthus* (*P. niruri*, *P. amarus* and *P. tenellus*), collected from different places in Pernambuco state in the Northeast of Brazil. The extracts were tested by conventional thin layer chromatography (TLC) tests to check the chemical groups present and the lethal concentrations ( $LC_{50}$ ) in *Artemia salina* shrimps were determined. The phytochemical tests demonstrated the presence of flavonoids, saponins, terpenes, naphthoquinones, alkaloids, anthraquinones, lignans and tannins and the absence of coumarins and anthocyanins. The species showed variations in chemical composition and toxicity to *Artemia salina*. In plants from different places, the  $LC_{50}$  varied from  $404.43 \pm 49.64 \mu\text{g/mL}$  to  $770.84 \pm 51.78 \mu\text{g/mL}$  for *P. niruri*,  $837.65 \pm 61.45 \mu\text{g/mL}$  to  $1075.89 \pm 70.72 \mu\text{g/mL}$  for *P. amarus* and  $534.60 \pm 46.83 \mu\text{g/mL}$  to  $1003.62 \pm 65.15 \mu\text{g/mL}$  for *P. tenellus*.

*Keywords:* *Phyllanthus niruri*; *Phyllanthus amarus*; *Phyllanthus tenellus*; phytochemical screening; toxicological bioassay;  $LC_{50}$

## INTRODUÇÃO

Plantas do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) encontram-se largamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do globo e, segundo Calixto et al. (1998), são muito utilizadas na medicina popular para tratar os rins e distúrbios urinários, infecções intestinais, diabetes e hepatite B. Algumas espécies, conhecidas como quebra-pedra, arrebenta-pedra ou erva-pombinha são utilizadas, em geral, no tratamento de patologias associadas ao sistema urinário, entre estas *P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn. e *P. tenellus* Roxb. (Silva & Sales, 2004).

Além do potencial farmacológico dessas espécies destaca-se a baixa toxicidade em ratos. O extrato de *P. niruri*, por exemplo, apresenta baixa toxicidade aguda (Venkateswaran et al., 1987; Tona et al., 2001) e proteção da hepatotoxicidade induzida por tetracloreto de carbono (Harish & Shivanandappa, 2006). Foi observada, também, quimioproteção da ação tóxica provocada por ciclofosfamida com a utilização de *P. amarus* (Kumar & Kuttan, 2005) e baixa toxicidade de *P. tenellus* sobre os macrófagos com a ativação da atividade fagocitária (Ignácio et al., 2001).

Uma forma de complementar os estudos fitoquímicos é associá-los a bioensaios, por esta razão muitos laboratórios de Produtos Naturais têm inserido dentro de suas rotinas ensaios biológicos simples, no intuito de selecionar e monitorar a pesquisa de extratos de plantas na procura de substâncias bioativas. Dentre esses bioensaios, encontra-se a toxicidade sobre *Artemia salina* Leach, que é um microcrustáceo de água salgada comumente usada como alimento para peixes. A simplicidade com que pode ser manuseado, a rapidez dos ensaios e o baixo custo favorece a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de

letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral (Luna et al., 2005).

A constituição química de espécies vegetais pode ser influenciada qualitativamente e quantitativamente por variações climáticas, com repercussão direta sobre a atividade biológica. Neste estudo, buscou-se avaliar tais influências, sobre as três espécies de *Phyllanthus* (*P. niruri*, *P. amarus* e *P. tenellus*) a partir de dois ensaios práticos e reprodutíveis: a determinação da CL<sub>50</sub> sobre *A. salina* e o perfil fitoquímico.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta e identificação do material vegetal**

As três espécies selecionadas para este estudo foram coletadas entre os meses de junho e novembro de 2004, em diferentes localidades do estado de Pernambuco, nordeste do Brasil (Tabela 1). A identificação do material foi confirmada pelo pesquisador Marcos José da Silva, do Laboratório de Taxonomia Vegetal da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O material testemunho foi depositado no Herbário Prof. Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

### **Obtenção dos extratos**

As partes aéreas das plantas foram secas durante duas semanas à temperatura ambiente e trituradas em processador industrial (Bermar BM30 TB2L). Em seguida, foram submetidas à maceração com etanol 96°GL na proporção de duas partes de solvente por parte de planta seca e pulverizada. A cada período de sete dias o material

foi filtrado e submetido a nova extração até total de 5 extrações. Os filtrados foram concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida, acondicionados em frasco âmbar e armazenados em dessecador.

**Tabela 1 - Locais de coleta de três espécies do gênero *Phyllanthus* conhecidas popularmente como quebra-pedra no estado de Pernambuco.**

<b>Região</b>	<b>Coordenadas geográficas</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Espécie coletada</b>	<b>Registro no Herbário</b>
Litoral	Lat.: -07° 44' 52" Long.: -34° 49' 32" Alt.: 0	Itamaracá	<i>P. amarus</i>	45.197
Zona de Floresta Atlântica	Lat.: -08° 00' 08" Long.: -35° 01' 06" Alt.: 58 metros	Aldeia	<i>P. niruri</i>	45.199
	Lat.: -08° 01' 18" Long.: -34° 58' 52" Alt.: 55 metros	São Lourenço da Mata	<i>P. niruri</i>	46.198
Zona Antropizada	Lat.: -08° 03' 14" Long.: -34° 52' 52" Alt.: 4 metros	Cidade Universitária (CDU)	<i>P. amarus</i>	46.224
		Dois Irmãos	<i>P. tenellus</i>	46.194
		Torre	<i>P. amarus</i>	46.196
			<i>P. tenellus</i>	46.195
Região Metropolitana	Lat.: -07° 56' 27" Long.: -34° 52' 23" Alt.: 13 metros	Paulista	<i>P. amarus</i>	45.197
Agreste	Lat.: -08° 53' 25" Long.: -36° 29' 34" Alt.: 842 metros	Garanhuns	<i>P. tenellus</i>	45.200
			<i>P. niruri</i>	45.198

### **Estudo fitoquímico**

Foi realizada a análise fitoquímica dos extratos através de cromatografia em camada delgada (CCD), seguindo as metodologias descritas por Markhan (1982), Harbone (1984) e Wagner & Bladt (1996) com a utilização de padrões e reveladores

específicos para alcalóides, saponinas, flavonóides, taninos, fenóis, quinonas, terpenóides, antocianinas e cumarinas.

### **Preparação das amostras e ensaio toxicológico**

O bioensaio com *A. salina* foi baseado na técnica descrita por Meyer *et al.* (1982). Foram utilizados 10 mg do extrato bruto de cada uma das amostras, nos quais foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de Cremophor<sup>®</sup> e 1 mL de Tween 80 a 5% para ajudar a solubilização dos mesmos. As soluções foram homogeneizadas e o volume completado para 5 mL com água do mar filtrada a pH = 8,0. Destas soluções foram retiradas alíquotas de 2500, 1875, 1250, 625, 250 e 125  $\mu\text{L}$  que foram transferidas para outros balões de 5 mL e os volumes completados com o mesmo solvente, obtendo-se concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50  $\mu\text{g/mL}$  para cada extrato.

Os ovos de *A. salina* (20 mg) foram incubados sob iluminação artificial por 48 horas para que houvesse a eclosão das larvas (metanáuplios), e estas, separadas em sete grupos com 10 a 13 indivíduos cada. O primeiro grupo recebeu a solução controle (solvente e tensoativos) e os seis seguintes receberam as soluções dos extratos em diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas, após este período foram contabilizadas as larvas vivas e mortas. O experimento foi realizado em triplicata para cada extrato.

### **Análise estatística**

Para obtenção dos valores de  $CL_{50}$  foi utilizada a análise PROBIT, através do software STATPLUS<sup>®</sup> 2005, com 95% de confiança. Para comparação dos valores de

CL<sub>50</sub> entre as espécies, nos diferentes locais de coleta, foi utilizado o intervalo de confiança obtido pela análise PROBIT.

## RESULTADOS

### Análise fitoquímica

Os testes demonstraram a presença de antraquinonas, flavonóides, taninos e terpenóides, e a ausência de antocianinas e cumarinas nas partes aéreas das três espécies estudadas, independente do local de coleta. Foram detectados alcalóides em todos os extratos de *P. amarus* e *P. tenellus*, enquanto que *P. niruri* foi a única espécie que não apresentou este metabólito e onde foram reveladas antraquinonas glicosídicas. Ficaram evidentes as duas classes de taninos, hidrolisáveis, nas amostras estudadas de *P. niruri*, e condensados, nas amostras de *P. tenellus* e *P. amarus*. Saponinas foram reveladas em todos os extratos de *P. amarus*, variando nas outras espécies. Também ocorreu variação na composição química em relação à presença de naftoquinonas. Todas as amostras de *P. niruri* apresentam esta classe de metabólico, bem como as de *P. amarus* coletadas em Dois Irmãos e em Itamaracá, e as de *P. tenellus* oriundas da Cidade Universitária e de Paulista (Tabela 2).

**Tabela 2 - Classes de metabólitos presentes nas partes aéreas em espécies de *Phyllanthus* coletadas em diferentes localidades do estado de Pernambuco e os respectivos valores de CL<sub>50</sub> encontrados para os extratos brutos com 95% confiança.**

Grupo Químico	<i>P. amarus</i> Schum. & Thonn.				<i>P. niruri</i> Linn.			<i>P. tenellus</i> Roxb.		
	Itamaracá	CDU	Dois Irmãos	Torre	Aldeia	São Lourenço da Mata	Garanhuns	CDU	Paulista	Garanhuns
Alcalóides	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Antocianinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas agliconas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Antraquinonas glicosídicas	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonóides	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mono, sesqui e diterpenos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Triterpenos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Naftoquinonas	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
Saponinas	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
Taninos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>CL<sub>50</sub> (µg/mL) (N=18)</b>	1075,89 (±70,72)	849,10 (± 73,39)	860,67 (± 63,07)	837,65 (± 61,45)	570,16 (± 59,42)	770,84 (± 51,78)	404,43 (± 49,74)	642,91 (± 39,02)	534,60 (± 46,83)	1003,62 (± 65,15)

(+) Presença (-) Ausência

## Análise toxicológica

Todos os extratos testados de *P. amarus* mostraram baixa toxicidade (Figura 1a e Tabela 2) com valores de  $CL_{50}$  acima de  $837,65 \pm 61,45 \mu\text{g/mL}$ , com exceção da amostra coletada em Itamaracá que apresentou  $CL_{50}$  de  $1075,89 \pm 70,72 \mu\text{g/mL}$ , sendo considerada praticamente atóxica. Verificou-se, com 95% de confiança, que não há diferença significativa entre os valores de  $CL_{50}$  das amostras coletadas em CDU, Dois Irmãos e no Bairro da Torre.

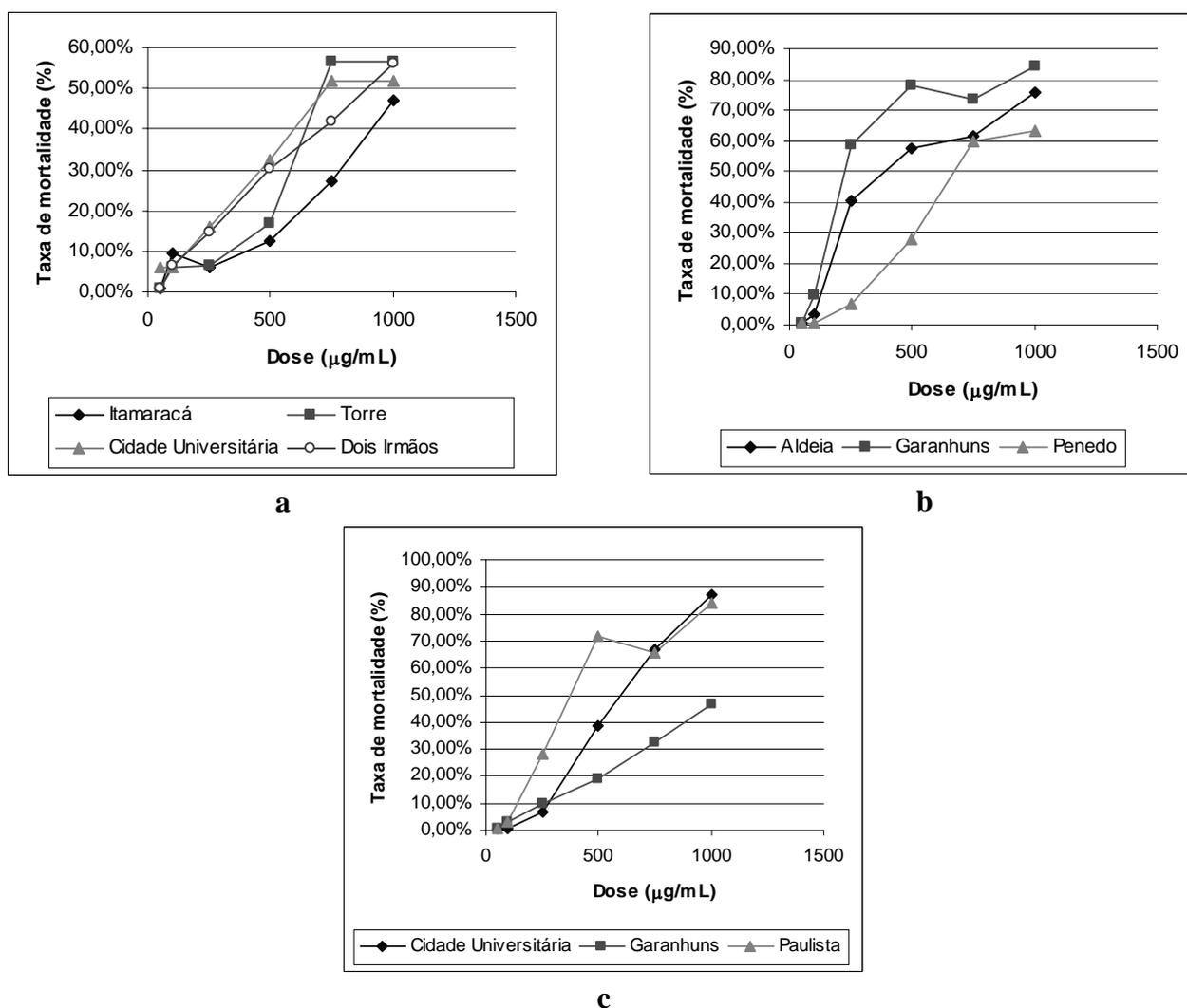


Figura 1. Taxas de mortalidade de *Artemia salina* em função da dose dos extratos das três espécies de *Phyllanthus* nos diferentes locais de coleta. a) *P. amarus*; b) *P. niruri* e c) *P. tenellus*.

Todas as amostras de *P. niruri* apresentaram diferenças significativas nos valores de  $CL_{50}$ , na faixa de 95% de confiança, variando de  $404,43 \pm 49,74$  a  $770,84 \pm 51,78$   $\mu\text{g/mL}$  constatando-se que sofreram influência do local de coleta (Figura 1b e Tabela 2).

*P. tenellus* apresentou a maior variação entre os valores de  $CL_{50}$  (Figura 1c e Tabela 2). Esta espécie se mostrou atóxica para um local de coleta (Garanhuns), com valor de  $CL_{50}$  da ordem de  $1003,62 \pm 65,15$   $\mu\text{g/mL}$  e tóxica para os demais locais ( $CL_{50}$  de  $534,60 \pm 46,83$   $\mu\text{g/mL}$  e  $CL_{50}$  de  $642,91 \pm 39,02$   $\mu\text{g/mL}$ ).

## DISCUSSÃO

### Análise fitoquímica

As três espécies estudadas apresentaram perfis semelhantes para algumas classes de metabólitos, independente do local de coleta, tanto pela presença, caso das antraquinonas, flavonóides, taninos e todos os terpenóides, quanto pela ausência de alguns grupos, caso das antocianinas e cumarinas (Tabela 2).

A resposta negativa para alcalóides nos extratos de *P. niruri* foi um resultado inesperado, uma vez que diversos trabalhos citam a sua presença em partes aéreas da planta (Mulchandani & Hassarajani, 1984; Joshi et al., 1986; Petchnare et al., 1986; Hassarajani & Mulchandani, 1990). Entretanto, Cimanga et al. (2004) verificaram variações qualitativas e, principalmente, quantitativas desta classe em *P. niruri*, as quais foram atribuídas à influência das condições de crescimento vegetal. A sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento vegetal, temperatura, disponibilidade hídrica,

incidência de radiação ultravioleta, disponibilidade de nutrientes, altitude e índice de poluição são apontados por Gobbo-Neto & Lopes (2007) como fatores que influenciam na produção dos metabólitos secundários das plantas.

Nos estudos encontrados sobre as três espécies, tanto os fitoquímicos como os que se referem à toxicidade, não foram consideradas as diferenças geográficas dos locais de coleta, mesmo sendo esse um gênero amplamente distribuído no globo, ficando demonstrado que a constituição química dessas espécies vegetais pode ser diferente, dependendo do ambiente.

Já a constatação de antraquinonas glicosídicas corrobora com o trabalho de Mellinger et al. (2005), no qual, foi citada a existência desse grupo em *P. niruri*, e não há menção de polissacarídeos nas outras espécies.

A presença de taninos está de acordo com os dados da literatura consultada que cita a presença desta classe de metabólito (Foo 1993; 1995; Huang et al., 1998; Subeki et al., 2005) e de outras classes de compostos fenólicos em *P. niruri* (Ishimaru et al., 1992) e *P. tenellus* (Santiago et al., 2000).

### **Análise toxicológica**

Meyer *et al.* (1982) estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média, CL<sub>50</sub>, apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima 1000 µg/mL, estes, são considerados praticamente atóxicos. Sendo assim, *P. amarus* coletado em Itamaracá pode ser considerado atóxico e os demais extratos testados da mesma espécie apresentaram baixa toxicidade. Além desta constatação, uma larga faixa nos valores de CL<sub>50</sub> são encontrados na literatura, ratificando as variações no nível tóxico

dessa espécie, Krishnarajua et al. (2005) descrevem a toxicidade de *P. amarus* coletada no Sudoeste da Índia sobre *A. salina*, relatando CL<sub>50</sub> da ordem de 2900 µg/mL e Macrae et al. (1988) encontraram CL<sub>50</sub> acima de 1000 µg/mL para a mesma espécie coletada na Amazônia Colombiana.

Todos os extratos analisados de *P. niruri* mostraram duas características: a primeira é que nenhum pode ser considerado atóxico; e a segunda, é que as concentrações letais sofreram influência do local de coleta. Não foram verificados na literatura, dados que relatem a CL<sub>50</sub> sobre *A. salina* que possam servir como parâmetro de comparação, no entanto, nossos resultados apresentam outro ponto discrepante com relação aos trabalhos consultados, onde alguns estudos reportam baixa toxicidade do extrato de *P. niruri* em ratos (Venkateswaran et al., 1987; Tona et al., 2001; Harish & Shivanandappa, 2006).

*P. tenellus* também sofreu influência do local de coleta em todas as amostras analisadas, com 95% de confiança. Na literatura consultada, foi constatada baixa toxicidade desta espécie em ratos (Ignácio et al., 2001), porém, não foram encontrados outros estudos que tenham verificado sua toxicidade sobre *A. salina*.

Por se tratar de espécies pertencentes ao mesmo gênero, embora algumas semelhanças com relação ao perfil fitoquímico fossem esperadas, no presente trabalho estudou-se as diferenças, ocasionadas pelo ambiente em que cada espécie foi coletada. Conclui-se que houve variação na composição química intraespécie, especificamente nos grupos de saponinas e naftoquinonas.

Verificamos que as variações químicas qualitativas não tiveram relação com os valores de CL<sub>50</sub> e com o nível de toxicidade, sendo estas respostas atribuídas a possíveis

diferenças quantitativas ou pela presença de outras substâncias que não foram avaliadas, uma vez que, espécies com valores de  $CL_{50}$  estatisticamente diferentes, foram qualitativamente semelhantes. A toxicidade não apresentou nenhuma relação com o período de coleta da planta, tampouco se a área em que a planta foi encontrada era urbana ou protegida.

Há relatos sobre a toxicidade sobre *A. salina* apenas para *P. amarus* (Krishnarajua et al., 2005; Macrae et al., 1988); no presente estudo, obteve-se os mesmos resultados e as amostras foram consideradas praticamente atóxicas, já as análises feitas em *P. niruri* e *P. tenellus*, mostraram haver toxicidade, embora a literatura aponte essas duas espécies como tendo baixo nível tóxico. Apenas uma amostra de *P. niruri* apresentou baixa toxicidade e uma de *P. tenellus* pode ser considerada atóxica. Os resultados observados mostraram claramente que para esses casos existe a necessidade de avaliar-se as características geográficas e as condições climáticas do seu habitat, pois em função do local de coleta a atividade biológica pode ser diferente.

## REFERÊNCIAS

Calixto JB, Santos AR, Cechinel Filho V, Yunes RA. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Med Res Rev* 1998; 18(4):225-58.

Cimanga RK et al. In vitro antiplasmodial activity of callus culture extracts and fractions from fresh apical stems of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae): part 2. *J Ethnopharmacol* 2004; 95:399-404

Foo LY. Amariin, a di-dehydrohexahydroxydiphenoyl hydrolysable tannin from *Phyllanthus amarus*. *Phytochemistry* 1993; 33(2):487-91.

Foo LY. Amariinic acid and related ellagitannins from *Phyllanthus amarus*. *Phytochemistry* 1995; 39(1):217-24.

Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova* 2007; 30(2):374-81.

Harbone JB. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman & Hall; 1984. 216p.

Harish R, Shivanandappa T. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. *Food Chem* 2006; 95(2):180-5.

Hassarajani SA, Mulchandani NB. Securinine type of alkaloids from *Phyllanthus niruri*. *Indian J Chem* 1990; 29 (9):801-3.

Huang YL, Chen CC, Hsu FE, Chen CF. Two tannins from *Phyllanthus tenellus*. *J Nat Prod* 1998; 61:523-4.

Ignacio SR, Ferreira JL, Almeida MB, Kubelka CF. Nitric oxide production by murine peritoneal macrophages in vitro and in vivo treated with *Phyllanthus tenellus* extracts. *J Ethnopharmacol* 2001; 74(2):181-7.

Ishimaru K, Yoshimatsu K, Yamakawa T, Kamada H, Shimomura K. Phenolic constituents in tissue cultures of *Phyllanthus niruri*. *Phytochemistry* 1992; 31(6):2015-8.

Joshi BS, Gawad DH, Pelletier SW, Kartha G, Bhandary K. Isolation and structure (X-ray analysis) of ent-norsecurinine, an alkaloid from *Phyllanthus amarus*. *J Nat Prod* 1986; 49(4):614-20.

Krishnarajua AV, Raoa TVN, Sundararajua D, Vanisreeb M, Tsayb H, Subbarajua GV. Assessment of bioactivity of indian medicinal plants using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. *Int J Eng Sci* 2005; 3(2):125-34.

Kumar KB, Kuttan R. Chemoprotective activity of an extract of *Phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine* 2005; 12(6-7):494-500.

Luna JS, Santos AF, Lima MRF, Omena MC, Mendonça FAC, Bieber LW, Sant'Ana AEG. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. *J Ethnopharmacol* 2005; 97(2):199-206.

Macrae WD, Hudson JB, Towers GHN. Studies on the pharmacological activity of amazonian Euphorbiaceae. *J Ethnopharmacol* 1988; 22(2):143-72.

Markhan KR. Techniques of flavonoid identification. London: Academic Press; 1982. 113p.

Mellinger CG, Carbonero ER, Cipriani TR, Gorin PAJ, Iacomini M. Xylans from the medicinal herb *Phyllanthus niruri*. *J Nat Prod* 2005; 68(1):129-32.

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam LB, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *J Med Plant Res* 1982; 45:31-4.

Mulchandani NB, Hassarajani SA. 4-methoxy-nor-securinine, a new alkaloid from *Phyllanthus niruri*. *Planta Med* 1984; 1:104-5.

Petchnaree P, Bunyapraphatsara N, Cordell GA, Cowe HJ, Cox PJ, Howie RA, Patt SL. X-ray crystal and molecular-structure of nirurine, a novel alkaloid related to the securinega alkaloid skeleton, from *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae). *J Chem Soc* 1986; 1(9):1551-6.

Santiago LJM, Louro RP, Oliveira DE. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonialyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their induction by copper sulphate. *Ann Bot* 2000; 86(5):1023-32.

Silva MJ, Sales MF. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae - Euphorbiaceae Juss.) no bioma caatinga do estado de Pernambuco-Brasil. *Rodriguésia* 2004; 55(84):101-26.

Subeki S et al. Anti-babesial and anti-plasmodial compounds from *Phyllanthus niruri*. *J Nat Prod* 2005; 68(4):537-9.

Tona L et al. In-vivo antimalarial activity of *Cassia occidentalis*, *Morinda morindoides* and *Phyllanthus amarus*. *Ann Trop Med Parasitol* 2001; 95(1):47-57.

Venkateswaran PS, Millman I, Blumberg BS. Effects of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: in vitro and in vivo studies. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84(1):274-8.

Wagner H, Bladt S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. 2<sup>nd</sup>.ed. Berlin: Springer Verlag; 1996. 384p.

# 6 *Artigo 3*

**Título:** Variação morfo-anatômica foliar em três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae): implicações para o controle de qualidade

**Varição morfo-anatômica foliar em três espécies medicinais do gênero  
*Phyllanthus* (Phyllanthaceae): implicações para o controle de qualidade**

João Eudes do Nascimento<sup>1</sup>, Tiago de Lima Barros Gomes<sup>1</sup>, Késsio Carlos de Macedo  
Cardoso<sup>1</sup>, Tássia Campos de Lima e Silva<sup>1</sup>, Jorge Veras Filho<sup>1</sup>, Tadeu José da Silva  
Peixoto Sobrinho<sup>1</sup>, Ulysses Paulino Albuquerque<sup>2</sup>, Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim<sup>1\*</sup>

\*Endereço para correspondência:

Av. Prof. Arthur Sá, s/n, Cidade Universitária,

Recife-PE, CEP.: 50.740-521

e-mail: elba@ufpe.br

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade federal de Pernambuco

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal Rural de Pernambuco

## RESUMO

*Phyllanthus* é um complexo gênero da família Phyllantaceae com importantes espécies do ponto de vista medicinal. Vários produtos fitoterápicos e drogas vegetais obtidas dessas espécies são comercializadas no Brasil. A similaridade morfológica entre algumas espécies oferece um desafio para a correta identificação botânica. Este trabalho visou contribuir para o controle de qualidade de produtos derivados dessas espécies realizando um estudo morfo-anatômico foliar em três espécies conhecidas popularmente no Brasil por “quebra-pedra: *Phyllanthus niruri* Linn., *P. amarus* Schum. & Thonn. e *P. tenellus* Roxb. Os parâmetros analisados foram: morfologia, área foliar e variações do mesofilo em cortes transversais. A estabilidade dos caracteres diagnósticos para cada uma das espécies foi testada considerando dados de populações coletadas em diferentes localidades do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Em diferentes ambientes, os indivíduos de uma mesma espécie não apresentaram variações na borda, mas sofreram nos caracteres microscópicos e significativamente nas áreas foliares, e apesar de ser facilmente confundidas, foram evidenciadas as variações macro e microscópicas que podem ser usadas na diferenciação das espécies.

Palavras Chave: *Phyllanthus*, Anatomia foliar

## Introdução

A partir de 1980, o uso de plantas ganhou muito prestígio devido ao modismo dos produtos naturais medicamentos e cosméticos. Como até então poucos trabalhos haviam sido feitos no sentido de monitoração desses produtos, os empresários, visando lucro e aproveitando a falta de informação das pessoas, apresentavam os produtos como sanativos para todos os males, mostrando propriedades mirabolantes nem sempre verdadeiras (BATISTIC *et al.*, 1989). Os problemas mais comuns em produtos à base de plantas são a adulteração, a substituição e a falta de comprovação científica das propriedades medicinais (ZUCCOLOTTO *et al.*, 1999) e o reconhecimento botânico é sem dúvida um passo fundamental para impedir falsificações, por se tratar de uma análise rápida, eficiente e menos dispendiosa que as análises químicas e/ou microbiológicas. Desse modo, a caracterização farmacobotânica é a primeira etapa para o controle da autenticidade de plantas medicinais (OLIVEIRA *et al.*, 1985).

Apesar de existirem cada vez mais estudos dedicados a padronização botânica de drogas vegetais, tendo em vista o controle de qualidade, poucos avaliam a plasticidade dos caracteres tidos como diagnósticos para as espécies estudadas. Por exemplo, as características morfológicas de folhas são importantes na caracterização de muitas plantas medicinais, mas existe variabilidade fenotípica resultante de respostas ao meio ambiente. Tal variabilidade pode ocorrer mesmo não havendo modificações genotípicas (ROCHA FILHO, 2006). Variações fenotípicas foram registradas para algumas espécies vegetais do mesmo gênero em ambientes diferentes, em pesquisas que apontaram que a heterogeneidade ambiental está associada aos caracteres somáticos, reprodutivos e adaptativos de uma planta (ROCHA FILHO, 2006). Nesse sentido, considerar a plasticidade fenotípica em estudos de padronização botânica é, sem dúvida, importante.

Um grupo de plantas, por exemplo, de grande interesse fitoterapêutico e que cuja variabilidade morfológica já foi reportada, é o pertencente as espécies do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) que compreende cerca de 800 espécies no mundo, e no Brasil está representado por mais de 100 espécies, amplamente distribuídas em diferentes ambientes (SILVA & SALES, 2004). É reconhecido como um dos maiores e mais complexos gêneros de Phyllanthaceae, devido à ampla diversidade de caracteres vegetativos e florais (SILVA & SALES, 2004). Algumas espécies do gênero, conhecidas como quebra-pedra, são utilizadas na medicina popular, em geral no tratamento de patologias associadas ao sistema urinário, entre elas *P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn e *P. tenellus* Roxb. (SILVA e SALES, 2004). Essas espécies serão analisadas neste trabalho, com o intuito de verificar as variações na morfologia foliar, sob os pontos de vista micro e macroscópico. Mesmo que alguns pesquisadores (GARCIA *et al.*, 2004; KHATOON, *et al.* 2006) tenham realizado estudos de caracterização morfológica, é importante verificar a estabilidade e se existe variações nesses caracteres, visto que estão distribuídas em todo o globo e estão submetidas a diferentes regimes climáticos e tipos de solo.

Este trabalho se propôs a determinar as variações morfo-anatômicas das folhas de três espécies de *Phyllanthus* (*P. niruri* L., *P. amarus* Schum. & Thonn. e *P. tenellus* Roxb) considerando amostras de populações coletadas em diferentes localidades, visando contribuir nos estudos e pesquisas para o controle de qualidade de produtos à base das plantas estudadas.

## **Material e Métodos**

### **Material Vegetal**

As três espécies selecionadas para este estudo foram coletadas entre junho e novembro de 2004, em cinco localidades diferentes do estado de Pernambuco, classificadas como Região Metropolitana, Mata, Agreste e Litoral (Tabela 1). Coletou-se dez indivíduos de cada população e em seguida foram fixados em álcool a 70% para posterior análise. No total, obteve-se três populações de *P. niruri* L., cinco de *P. amarus* Schum & Thonn. e cinco de *P. tenellus* Roxb.

A identificação do material coletado foi confirmada pelo MSc. Marcos José da Silva e o material testemunho foi depositado no Herbário Prof. Geraldo Mariz (UFP), da Universidade Federal de Pernambuco.

### **Caracteres morfológicos analisados**

Selecionou-se as seguintes características para análise: morfologia foliar, área foliar, e características qualitativas do mesofilo foliar. Optou-se por esses descritores gerais pela sua praticidade, reprodutibilidade, e velocidade de avaliação principalmente em Laboratórios de Controle de Qualidade. A morfologia foliar externa é útil na avaliação de drogas constituídas de folhas inteiras, e a análise anatômica é eficaz no estudo de drogas rasuradas ou pulverizadas. De cada indivíduo foram retiradas 20 folhas localizadas da região intermediária do ramo, totalizando 200 folhas para cada local de coleta (população). Com o auxílio de uma régua, foram tomados as medidas do comprimento e largura da lâmina foliar e comprimento do pecíolo.

As áreas foliares foram obtidas por meio do seguinte procedimento: uma secção do papel milimetrado de 1cm<sup>2</sup> foi recortada com estilete e pesada em balança analítica

SHIMADZU AX200 e utilizado como padrão (P). No mesmo papel cada folha foi decalcada, recortada e também pesada (F). As áreas foram calculadas através da proporção entre os pesos utilizando-se a fórmula:

$$\text{Área} = \frac{F}{P}$$

A análise dos caracteres microscópicos foi realizada através de cortes transversais, à mão livre, com o auxílio de lâmina comum de barbear e medula de embauba (*Cecropia* sp.) como suporte, para observação de características qualitativas do mesofilo. Os cortes foram submetidos à dupla coloração seguindo Etzold (1983). As lâminas foram montadas em solução de glicerina e água (50%).

**Tabela 1: Locais de coleta de três espécies do gênero *Phyllanthus* conhecidas popularmente como quebra-pedra no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil)**

Região	Cidade	Coordenadas geográficas	Local de coleta	Espécie coletada	Registro no herbário
Litoral	Goiana	Lat.: -07° 44' 52" Long.: -34° 49' 32" Alt.: 0	Itamaracá	<i>P. amarus</i>	45.197
Zona de Floresta Atlântica	Camaragibe	Lat.: -08° 00' 08" Long.: -35° 01' 06" Alt.: 58 metros	Aldeia	<i>P. niruri</i>	45.199
	São Lourenço da Mata	Lat.: -08° 01' 18" Long.: -34° 58' 52" Alt.: 55 metros	Penedo	<i>P. niruri</i>	46.198
Centro	Recife	Lat.: -08° 03' 14" Long.: -34° 52' 52" Alt.: 4 metros	Cidade Universitária (CDU)	<i>P. amarus</i>	46.224
				<i>P. tenellus</i>	46.194
			Dois Irmãos	<i>P. amarus</i>	46.196
				<i>P. tenellus</i>	45.203
	Torre	<i>P. amarus</i>	46.195		
Região Metropolitana	Paulista	Lat.: -07° 56' 27" Long.: -34° 52' 23" Alt.: 13 metros	Jardim Paulista	<i>P. tenellus</i>	46.197
Agreste	Garanhuns	Lat.: -08° 53' 25" Long.: -36° 29' 34" Alt.: 842 metros	Parque Ruber Van der Linden (RVL)	<i>P. tenellus</i>	45.200
				<i>P. niruri</i>	45.198
	Caruaru	Lat.: -8° 17' 00" Long.: -35° 58' 34" Alt.: 554 metros	Maurício de Nassau	<i>P. tenellus</i>	45.202
				<i>P. amarus</i>	45.201

## **Análise dos dados**

Uma vez verificada a normalidade das respostas, para comparação das áreas, comprimentos e larguras foliares foi utilizada a análise de variância (ANOVA) “one way”, utilizando-se o programa Microsoft Excel 2003.

## **Resultados e discussão**

### **Área foliar**

#### **Análise dos caracteres macroscópicos**

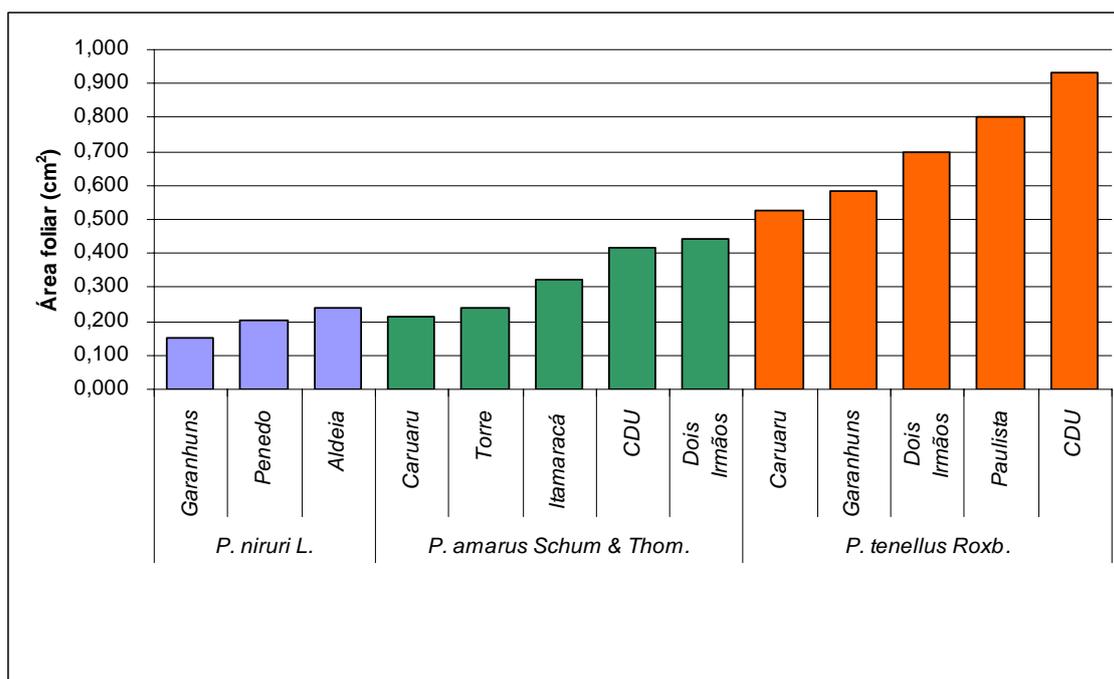
As três espécies apresentaram o mesmo comportamento comparando-se as áreas foliares e os locais de coleta (tabela 2 e figura 1). As amostras coletadas na região do agreste, os indivíduos apresentaram as menores áreas calculadas, enquanto que nos indivíduos localizados da região metropolitana foram maiores.

Nos valores médios das áreas, verificou-se que as medidas encontradas interespecies foram estatisticamente diferentes ( $F_c = 19,51$ ;  $F_{tab} = 4,10$ ;  $P < 0,001$ ), com 95% de confiança, demonstrando que, embora compartilhem do mesmo hábito e possuam semelhanças morfológicas, as áreas foliares são estatisticamente diferentes e podem ser consideradas como fator de diferenciação macroscópica das espécies.

**Tabela 2: Medidas do comprimento e da largura foliar e áreas foliares médias calculadas e a análise de variância (ANOVA) com 95% de confiança das três espécies de *Phyllanthus* nos diferentes locais de coleta**

<b>Espécie</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Comprimento Foliar médio (mm) (Desvio padrão)</b>	<b>Largura Foliar média (mm) (Desvio padrão)</b>	<b>Área Foliar média (cm<sup>2</sup>) (Desvio padrão)</b>
<i>P. niruri</i> Linn	Garanhuns	6,71 (0,28)	2,86 (0,19)	0,151 (0,027)
	Penedo	6,53 (0,55)	3,33 (0,50)	0,202 (0,039)
	Aldeia	6,99 (0,47)	3,27 (0,45)	0,240 (0,036)
<b>ANOVA</b>		F = 0,73 P = 0,493	F = 3,41 P = 0,056	F = 10,16 P = 0,016
<i>P. amarus</i> Schum. & Thonn.	Caruaru	6,12 (0,60)	3,05 (0,18)	0,211 (0,033)
	Recife - Torre	7,27 (0,65)	3,44 (0,35)	0,239 (0,048)
	Itamaracá	8,50 (0,64)	3,78 (0,28)	0,321 (0,039)
	Recife - CDU	9,83 (0,94)	4,56 (0,35)	0,414 (0,065)
	Recife - Dois Irmãos	10,61 (1,29)	4,37 (0,50)	0,441 (0,088)
<b>ANOVA</b>		F = 16,10 P < 0,001	F = 11,65 P < 0,001	F = 24,98 P < 0,001
<i>P. tenellus</i> Roxb.	Caruaru	10,58 (1,91)	6,05 (0,93)	0,524 (0,168)
	Garanhuns	11,33 (1,05)	6,99 (1,02)	0,586 (0,105)
	Recife - Dois Irmãos	11,94 (1,70)	7,37 (0,78)	0,700 (0,192)
	Paulista	13,11 (1,49)	7,17 (0,71)	0,804 (0,154)
	Recife - CDU	13,44 (2,01)	7,48 (0,73)	0,934 (0,227)
<b>ANOVA</b>		F = 3,59 P = 0,013	F = 3,69 P = 0,011	F = 7,59 P < 0,001

Existe diferença significativa intraespécie em *P. niruri* L., apresentando as menores áreas foliares [0,151(0,027) – 0,240(0,036) cm<sup>2</sup>], em *P. Amarus* Schum. & Thonn. [0,211(0,033) – 0,441(0,088) cm<sup>2</sup>] e *P. tenellus* Roxb. com as maiores áreas foliares [0,524 (0,168) – 0,934 (0,227) cm<sup>2</sup>], com 95% de confiança, confirmando que houve variação fenotípica provocada pelo ambiente.



**Figura 1: Comparação entre as áreas foliares calculadas das três espécies de *Phyllanthus* nos diferentes locais de coleta**

Além das áreas, as dimensões foliares são também um ponto de diferenciação entre as espécies. No comprimento e na largura foliar, as amostras apresentaram diferenças significativas, com 95% de confiança. Quando aplicada a análise de variância ANOVA, nos valores encontrados interespecies, verifica-se que as populações são estatisticamente diferentes tanto nas medidas dos comprimentos ( $F_c = 15,93$ ;  $P < 0,001$ ), como nas medidas das larguras foliares ( $F_c = 61,22$ ;  $P < 0,001$ ).

As variações intraespécie ficaram evidentes nos diferentes pontos de coleta. *P. niruri* L. foi a única que não apresentou diferença significativa, tanto nos comprimentos como nas larguras foliares. Já *P. amarus* Schum & thonn. e *P. tenellus* Roxb. apresentaram diferenças significativas nos comprimentos e nas larguras foliares com 95% de confiança (Tabela 2)

## Borda foliar

Das três plantas, *Phyllanthus tenellus* Roxb. apresenta forma e tamanho foliares bem diferentes das demais, com folhas de base simétrica e ápice agudo, margem lisa e contorno oval, diferenciando-se das outras pelo ápice e pelo contorno. Já *P. amarus* Schum & Thonn. e *P. niruri* L. possuem grande semelhança, e, ao contrário de *P. tenellus* Roxb., ambas as espécies têm folhas de ápice obtuso e contorno oblongo, são também semelhantes quanto a margem lisa e o único ponto de diferenciação na morfologia da borda foliar é a base da folha, sendo assimétrica em *P. niruri* L. e simétrica em *P. amarus* Schum & Thonn (tabela 3).

**Tabela 3: Forma da borda foliar das três espécies**

Caractere	Espécie		
	<i>P. niruri</i>	<i>P. tenellus</i>	<i>P. amarus</i>
Contorno	Oblongo	Oval	Oblongo
Base	Assimétrica	Simétrica	Simétrica
Margem	Lisa	Lisa	Lisa
Ápice	Obtuso	Agudo	Obtuso

A forma da folha é um importante meio de diferenciação entre as três espécies já que as bordas não sofreram modificações em virtude do ambiente, verificando-se apenas as variações naturais entre as espécies e essa uniformidade ajuda a identificar a planta independente das dimensões foliares.

## Análise microscópica

### *Phyllanthus tenellus* Roxb.

#### Características microscópicas comuns

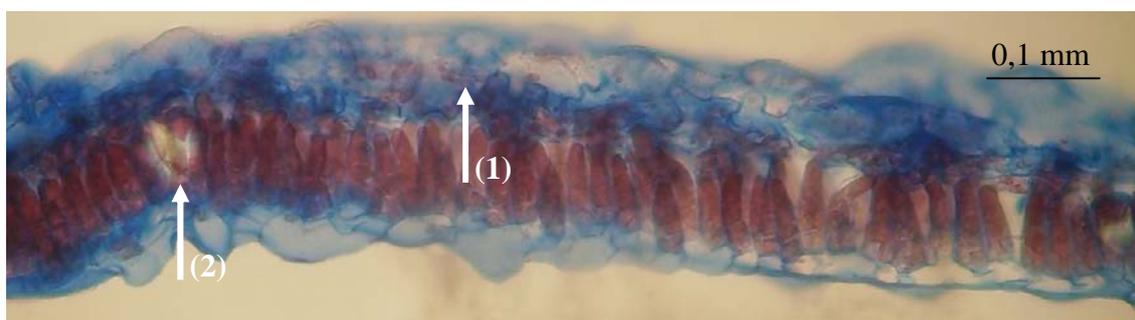
A epiderme superior apresenta células de contorno retangular, algumas vezes papilosas, sendo geralmente maiores do que as células da epiderme inferior. A cutícula é fina em ambas as epidermes. A simetria do mesofilo é dorsiventral. O parênquima lacunoso é formado por até 2 camadas de células alongadas periclinalmente. No nível da nervura central observa-se nas epidermes abaxial e adaxial uma camada de colênquima angular. Apresenta feixe vascular do tipo colateral exibindo de 3 a 6 raios<sup>(1)</sup> (figura 2).



**Figura 2:** Corte histológico da nervura central de *P. tenellus* Roxb. evidenciando os caracteres morfo-anatômicos gerais (aumento 400x)

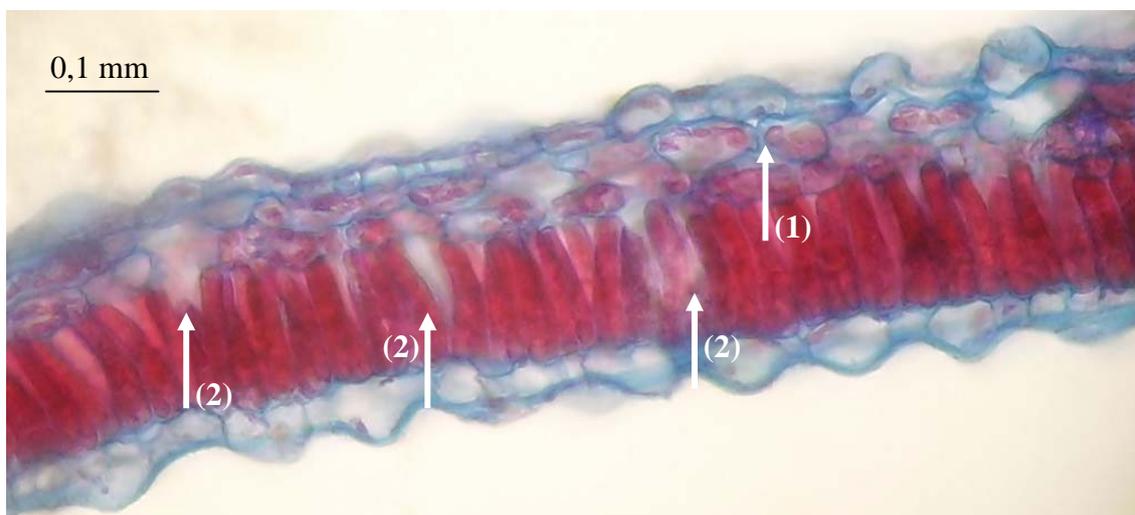
### Diferenciações microscópicas

Nos indivíduos coletados na Cidade Universitária, o parênquima paliçádico é uniestratificado com células (relativamente frouxas) ocupando da metade até pouco mais da metade do mesófilo<sup>(1)</sup>. Visualizados raros (pouquíssimos) cristais romboédricos de oxalato de cálcio no parênquima paliçádico<sup>(2)</sup> (figura 3).



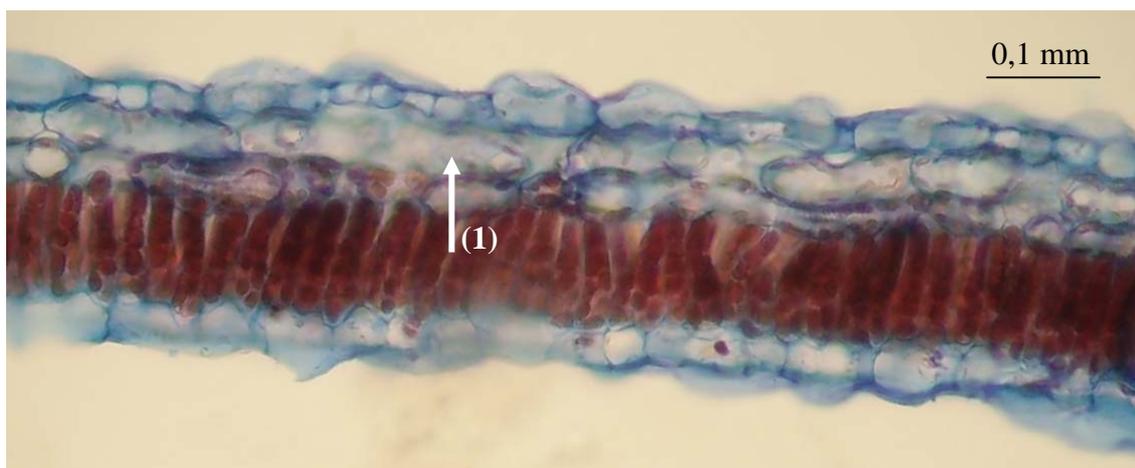
**Figura 3: Corte histológico do mesófilo de *P. tenellus* Roxb coletado na Cidade Universitária (aumento 400x)**

Em *P. tenellus* Roxb. obtido em Caruaru o parênquima paliçádico possui de 2 a 3 camadas, as células são mais justapostas e com menos espaços intercelulares, mais estreitas<sup>(1)</sup>. Epiderme com maior quantidade de cristais romboédricos visualmente<sup>(2)</sup> (figura 4).



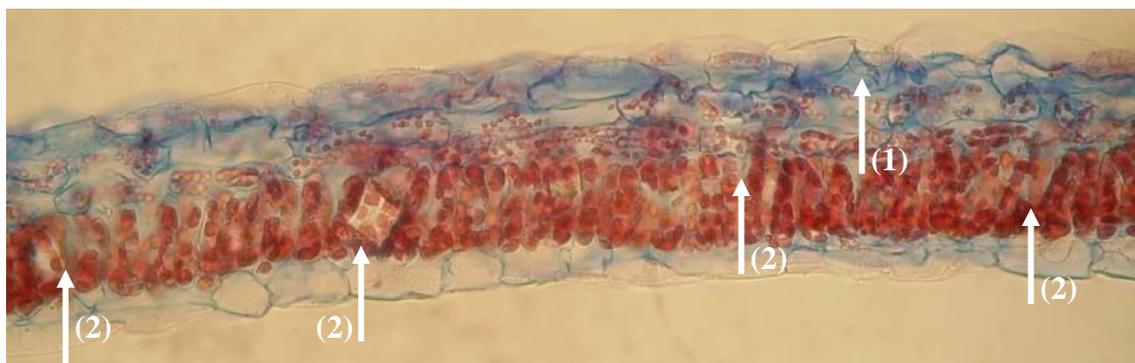
**Figura 4: Corte histológico do mesófilo de *P. tenellus* Roxb coletado em Caruaru (aumento 400x)**

As células do parênquima paliçádico das amostras coletadas em Paulista assemelham-se com as coletadas na Cidade Universitária, diferenciando-se por apresentar maior espaço intercelular e suas células são ligeiramente mais curtas, ocupando metade do mesófilo, variando de frouxas a justapostas. Quantidade de cristais visualmente menores (figura 5).



**Figura 5:** Corte histológico do mesófilo de *P. tenellus* Roxb coletado em Paulista (aumento 400x)

Nas plantas obtidas em Garanhuns o parênquima paliçádico ocupa menos da metade até a metade do mesófilo com células geralmente curtas<sup>(1)</sup>. As células da epiderme adaxial ficam progressivamente maiores a medida que se aproximam da nervura principal e apresentam dimensões relativamente maiores que as demais áreas. Foram visualizados cristais em abundância<sup>(2)</sup> (figura 6).



**Figura 6:** Corte histológico do mesófilo de *P. tenellus* Roxb coletado em Garanhuns (aumento 400x)

Podemos destacar que as características microscópicas comuns encontradas também são descritas na no trabalho de GARCIA *et al.*, (2004) e na farmacopéia brasileira 4ª edição. As características da epiderme, o tipo de cutícula, a simetria do mesófilo, parênquima lacunoso, as epidermes e vascularização podem ser utilizadas na identificação da espécie junto com outros caracteres morfológicos externos da planta. Porém algumas diferenciações microscópicas foram encontradas e ocorreram especificamente no parênquima paliçádico e no numero de cristais romboédricos. Na maioria dos casos, o parênquima paliçádico se mostrou uniestratificado, como descrito por GARCIA *et al.*, (2004) e pela farmacopéia brasileira, porém, verificamos que tal tecido vegetal pode apresentar maior espessura, com duas a três camadas com células mais justapostas (figura 6). A quantidade de cristais romboédricos variou muito, estes são descritos na farmacopéia, mas não são mencionados no trabalho de GARCIA *et al.*, (2004).

### ***Phyllanthus niruri* Linn.**

#### **Características microscópicas comuns**

A cutícula é fina em ambas as epidermes, tornando-se relativamente mais espessas à medida que se aproxima da nervura principal. A epiderme em ambas as faces apresenta células que variam de contorno retangular a ligeiramente circular e paredes anticlinais relativamente mais espessadas, sendo abundante as papilas. As células da epiderme superior têm maiores dimensões que a inferior (face), sendo essas dimensões progressivamente maiores à medida que se aproxima da nervura principal. Parênquima lacunoso é constituído por 2 camadas de células de contorno variado, alongados no sentido periclinal com cristais pequenos isolados nessa área. Na nervura principal o parênquima

paliçádico é distribuído continuamente. Região abaxial apresenta uma camada de células colenquimáticas do tipo angular. Feixe vascular é colateral com 2 a 6 raios. Ocorrem cristais romboédricos. A simetria do mesofilo é dorsiventral. Apresenta drusas. O parênquima paliçádico é uniestratificado formado por células curtas com espaços intracelulares (figura 7).



Figura 7: Corte histológico da nervura central de *P. niruri* L. evidenciando os caracteres morfo-anatômicos (aumento 400x)

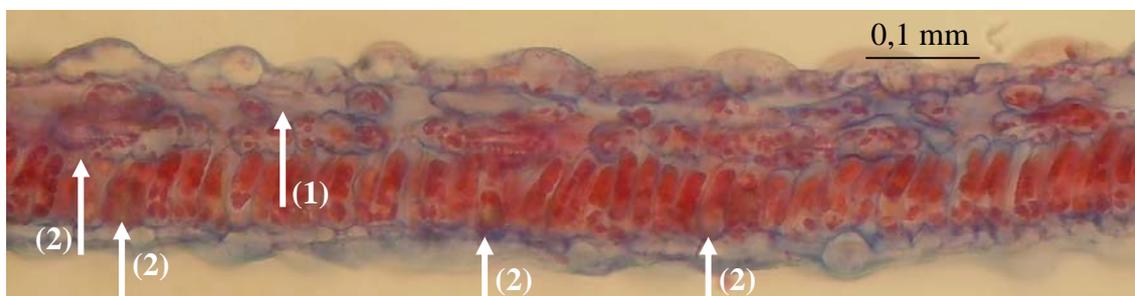
### Diferenciações microscópicas

O parênquima paliçádico da amostra obtida em Camaragibe ocupa até metade da estrutura do mesofilo<sup>(1)</sup>, não foram visualizados cristais romboédricos, porém foram encontrados cristais de diferentes formatos<sup>(2)</sup> (figura 8).

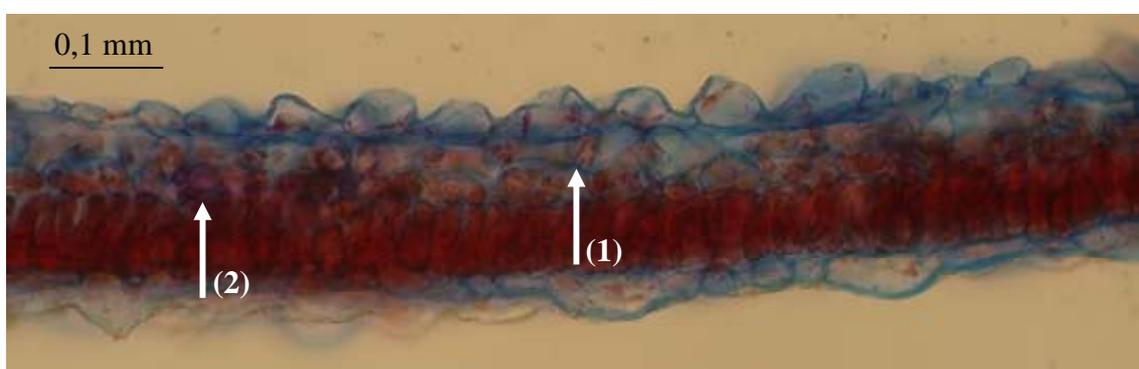


Figura 8: Corte histológico do mesófilo de *P. niruri* L. coletado em Camaragibe (aumento 400x)

Nos indivíduos de Garanhuns e São Lourenço da Mata, o parênquima paliçádico não chega a ocupar  $2/3$  da espessura do mesófilo<sup>(1)</sup>, sendo que os primeiros apresentam muitas drusas<sup>(2)</sup> (figuras 9 e 10).



**Figura 9:** Corte histológico do mesófilo de *P. niruri* L. coletado em Garanhuns (aumento 400x)



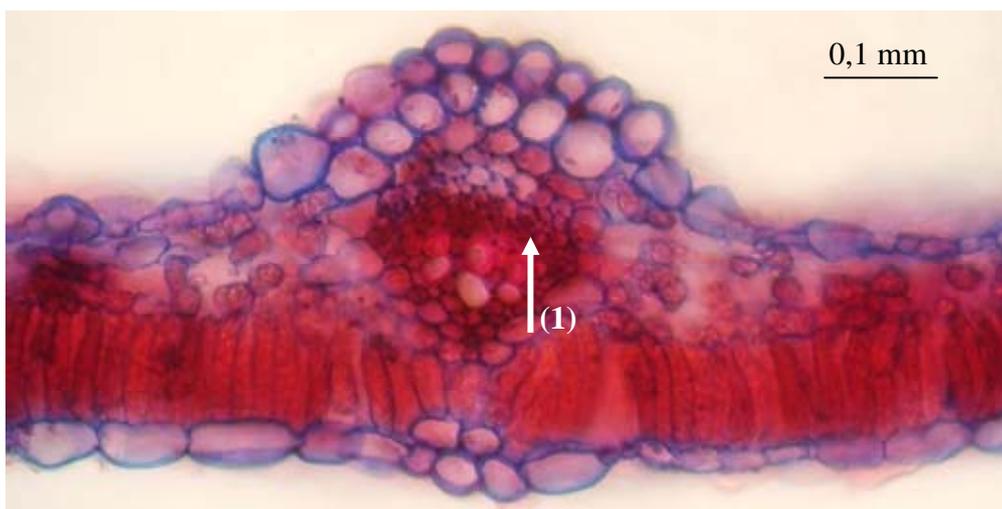
**Figura 10:** Corte histológico do mesófilo de *P. niruri* L. coletado em São Lourenço da Mata (aumento 400x)

Das três espécies estudadas, *P. niruri* L. apresentou menor número de diferenciações. As características gerais coincidem com as descritas por GARCIA *et al.*, (2004) e pela farmacopéia brasileira, no entanto, foi verificado que os cristais podem apresentar diversos formatos (figura 10) e, enquanto a farmacopéia brasileira descreve que o parênquima ocupa menos da metade do mesófilo, ele pode se apresentar mais espesso, ocupando  $2/3$  da espessura do mesófilo (figuras 9 e 10).

## *Phyllanthus Amarus* Schum & Thonn.

### Características microscópicas comuns

A cutícula em ambas as epidermes é fina e a epiderme é uniestratificada em ambas as faces. As células da epiderme algumas vezes apresentam papilas, mas não tão destacadas. O parênquima esponjoso é constituído por 2 ou 3 camadas de contorno irregular, se alongadas é no sentido periclinal. O parênquima paliçádico é contínuo e apresenta uma camada de colênquima na face abaxial. A simetria do mesofilo é dorsiventral. Na nervura central o feixe vascular é colateral<sup>(1)</sup> (figura 11).

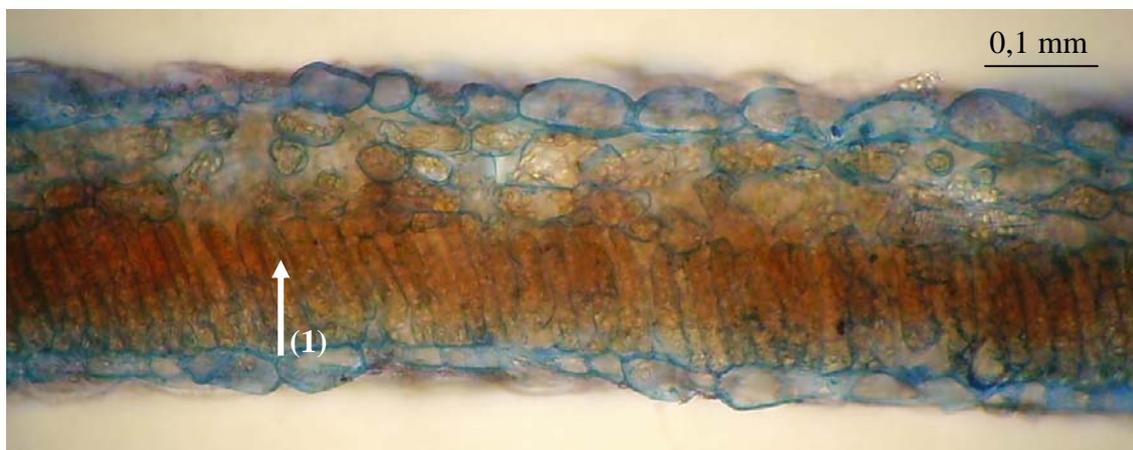


**Figura 11:** Corte histológico da nervura central de *P. amarus* Schum. & Thonn. evidenciando os caracteres morfo-anatômicos (aumento 400x)

### Diferenciações microscópicas

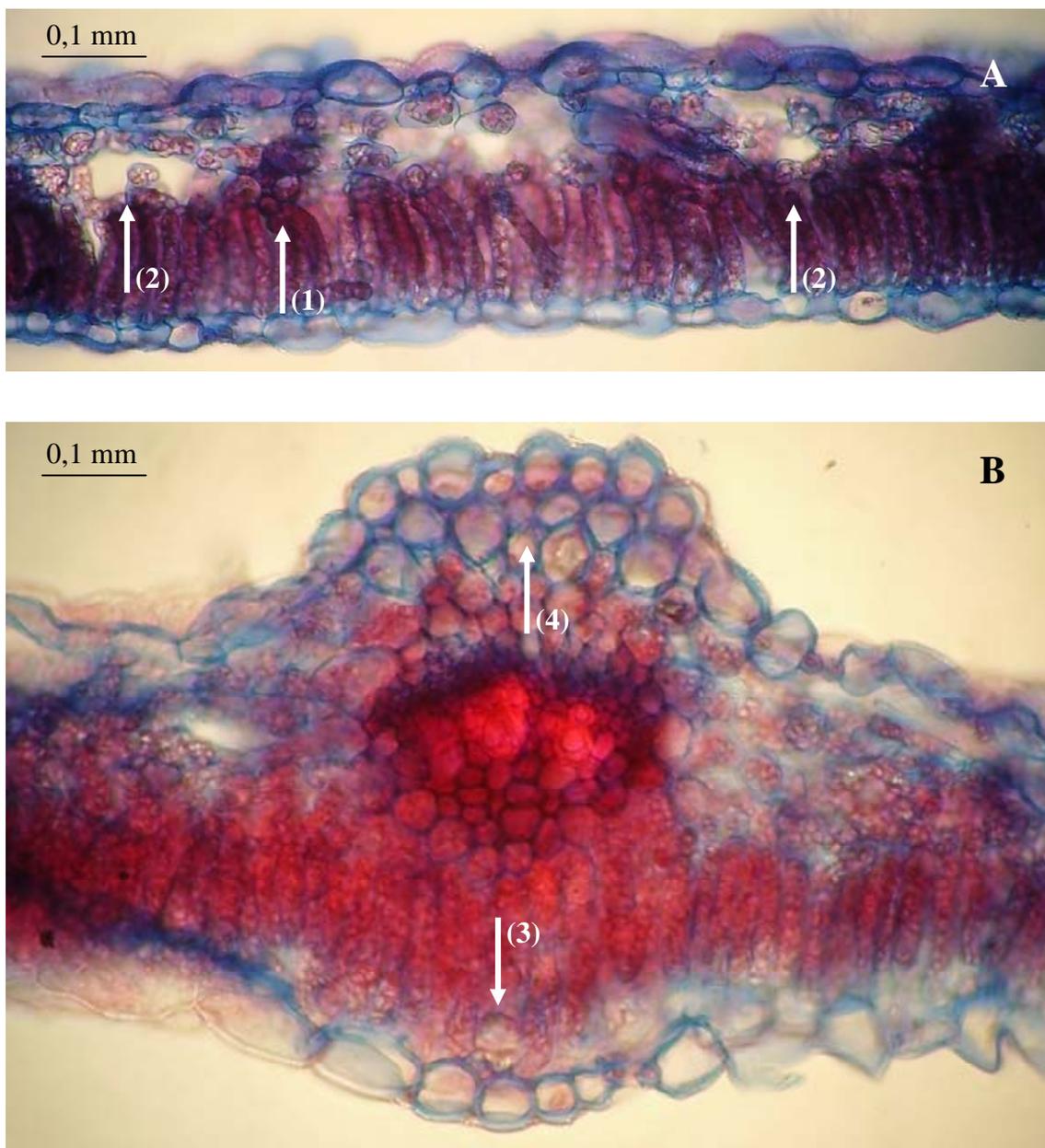
O parênquima paliçádico é uniestraificado na amostra coletada no Bairro da Torre, ocupando metade da espessura do mesofilo e as células são estreitas, curtas e justapostas. Não são visualizados cristais de nenhum tipo. As células da epiderme

adaxial são de contorno retangular e relativamente de iguais dimensões que as da epiderme abaxial, sendo menos frequentemente maiores (figura 12).



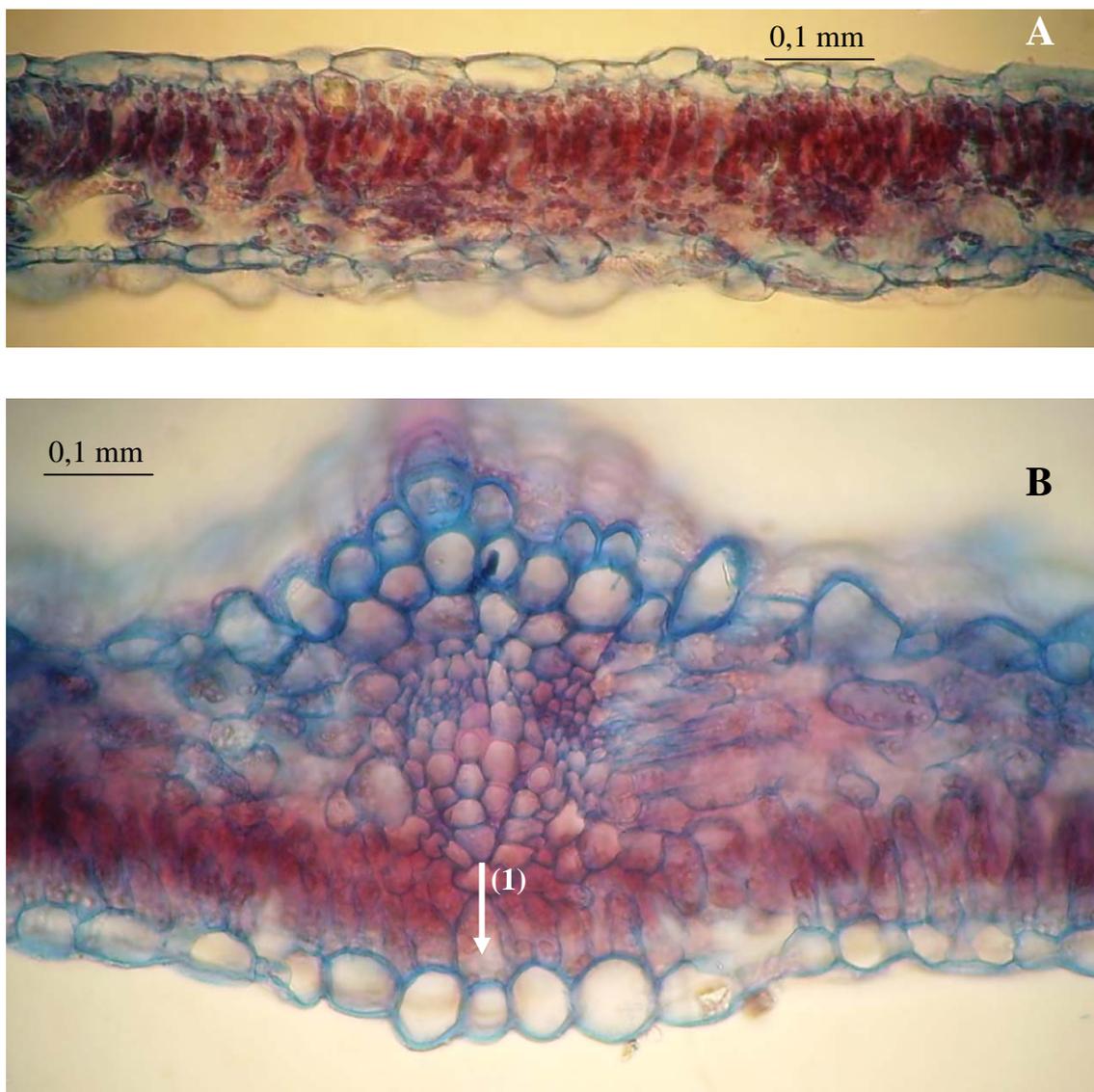
**Figura 12:** Corte histológico do mesófilo de *P. amarus* Schum. & Thonn. coletado na Torre (aumento 400x)

Em *P. amarus* Schum & Thonn. coletado em Itamaracá, algumas vezes o parênquima paliçádico ocupa 2/3 da espessura do mesófilo<sup>(1)</sup>, onde são encontrados cristais diminutos<sup>(2)</sup> (figura 13A). No nível da nervura central e no parênquima paliçádico são encontradas drusas<sup>(3)</sup> e o Parênquima lacunoso apresenta de 1 a 2 camadas de células<sup>(4)</sup> (figura 13B).



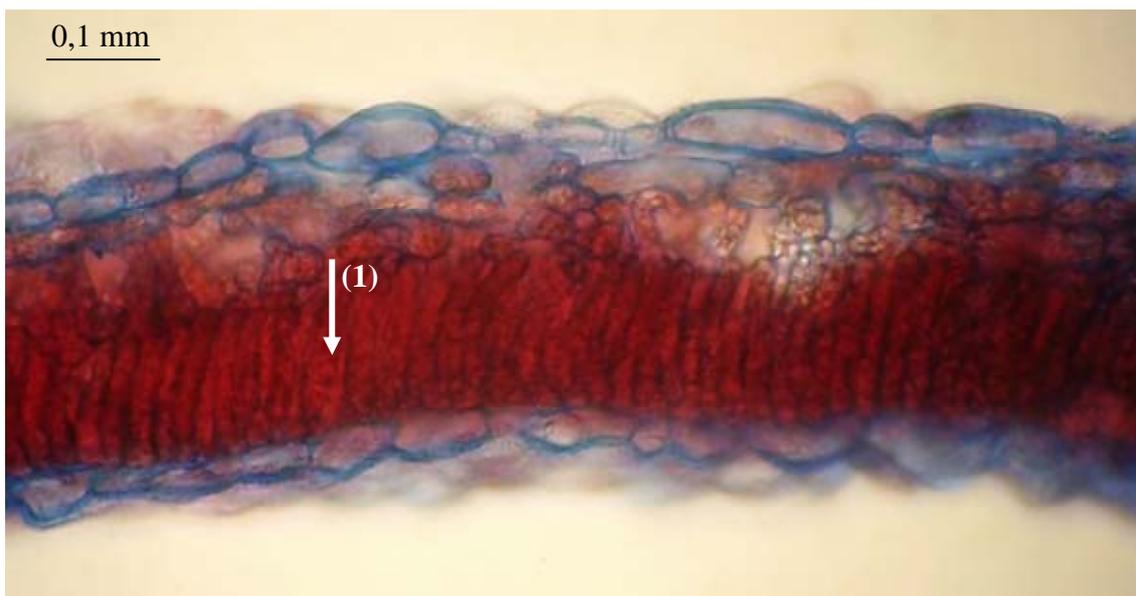
**Figura 13:** Corte histológico do mesófilo (A) e da nervura central (B) de *P. amarus* Schum. & Thonn. coletado em itamaracá (aumento 400x)

Já nas plantas encontradas na Cidade Universitária, as células da nervura central da epiderme abaxial mostram-se geralmente maiores que as da face adaxial<sup>(1)</sup>. Não são visualizados cristais de nenhum tipo (figura 14).



**Figura 14:** Corte histológico do mesófilo (A) e da nervura central (B) de *P. amarus* Schum. & Thonn. coletado na Cidade Universitária (aumento 400x)

Em *P. amarus* Schum & Thonn. coletado em Caruaru, as células do parênquima paliçádico são perfeitamente justapostas e ocupam até 2/3 do mesófilo<sup>(1)</sup>. As células da parede da epiderme são relativamente espessadas. Algumas vezes as células da face abaxial são maiores que as da adaxial. Não são visualizados cristais de nenhum tipo (figura 15).



**Figura 15:** Corte histológico do mesófilo de *P. amarus* Schum. & Thonn. coletado em Caruaru (aumento 400x)

Das três espécies abordadas neste estudo, *P. amarus* Schum & Thonn. não é descrito na farmacopéia brasileira e foi encontrada apenas uma citação (KHATOON, *et al.*, 2006) com estudo farmacognóstico sobre a espécie.

Das características comuns verificadas em *P. amarus* Schum & Thonn., células epidérmicas alongadas também são descritas por KHATOON, *et al.* (2006) e os demais caracteres encontrados não são abordados pelo autor. A espécie apresentou diferenciações tanto em nível de mesófilo como na nervura central, além das encontradas no parênquima paliádico e nos cristais, como ocorreu em *P. tenellus* Roxb. e *P. niruri* L. Foram verificadas variações nas células da epiderme. A diferenciação mais marcante foi a presença de cristais na amostra coletada em Itamaracá, e a ausência dos mesmos nas amostras dos demais locais de coleta.

## Conclusão

As espécies estudadas apresentaram variações fenotípicas tanto no aspecto macroscópico como nos caracteres microscópicos. As plantas de uma mesma espécie apresentaram áreas, comprimentos e larguras foliares estatisticamente diferentes. Em nosso estudo, as áreas foliares de todas as espécies coletadas no agreste foram menores que as obtidas na região metropolitana com diferenças interespecies estatisticamente significativas. A forma da folha é um importante meio de diferenciação e identificação das três espécies já que as bordas não sofreram modificações em virtude do ambiente, se verificando apenas as variações naturais. A análise microscópica permitiu padronizar critérios de identificação para cada uma das espécies com precisão através dos caracteres comuns, mesmo em diferentes locais de coleta, criando uma forma de “identidade” na observação microscópica. As características que sofreram diferenciações na observação microscópica da mesma espécie em diferentes locais devem ser considerados no momento da identificação, mas, não podem ser utilizadas como fator de identificação nem de diferenciação entre as mesmas, já que tais modificações são passíveis de ocorrer, dependendo do ambiente em que a planta foi coletada.

Em *P. niruri* L. e *P. tenellus* Roxb. todas as diferenciações foram observadas no mesófilo, enquanto que em *P. amarus* Schum. & Thonn. as modificações ocorreram no mesófilo e na nervura central, porém, todas elas estavam relacionadas à espessura do parênquima e ao número de cristais visualizados.

Como as espécies são muito semelhantes e facilmente confundíveis visualmente, faz-se necessário um instrumento que possa verificar a autenticidade dessas plantas e o analista do controle de qualidade deve estar atento para não se deparar com resultados

errôneos, mesmo seguindo técnicas corretas se não conhecer as variações provocadas pelo ambiente em que a planta foi coletada. Neste sentido, nosso trabalho forneceu recursos que possibilitam diferenciá-las desde o ato da coleta, através dos caracteres morfológicos externos, associados à descrição botânica, até mesmo se a planta estiver seca e triturada, pelas características microscópicas, colaborando com laboratórios de controle de qualidade que precisem identificar e diferenciar as espécies de *Phyllanthus* em questão.

## Referências Bibliográficas

BATISTIC, M. A.; AURICCHIO, M. T.; HOPPEN, V. R.; YAMASHITA, I. Y. Verificação da qualidade e identidade de chás medicinais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 1, p.45-49, 1989.

GARCIA, C. M.; ZANETTI, G. D.; ZAGO, A. M.; BITTENCOURT, C. F.; HEINZMANN, B. M. Estudo Morfo-Anatômico de *Phyllanthus niruri* L. e *Phyllanthus tenellus* Roxb. *Acta Farmaceutica. Bonaerense*, v.23, n. 1, p. 67-70, 2004.

HUANG, R. L.; HUANG, Y. L.; OU, J. C.; CHEN, C. C.; HSU, F. L.; CHANG C. Screening of 25 compounds isolated from *Phyllanthus* species for anti-human hepatitis B virus in vitro. **Phytotherapy Resource**, v. 17, n. 5, p. 449-53, 2003.

KHATOON, S.; RAI, V.; RAWAT. A. K. S.; MEHROTRA, S. Comparative pharmacognostic studies of three *Phyllanthus* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, n. 1-2, p. 79–86, 2006.

KHANNA, A. K.; RIZVI, F.; CHANDER, R. Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 82, n. 1, p. 19-22, 2002.

KVET, J.; ONDOK, J. P.; NECAS J.; JARVIS, P. G. Methods of growth analysis. In: SESTAK, Z.; CATSKY, J.; JARVIS, P.G. (ED.). **Plant Photosynthetic production: Manual of methods**. The Hauge, W. Junk, N. V. Publishers, p.343-384, 1971.

MONTEIRO, J. E. B. A.; SENTELHAS, P. C.; CHIAVEGATO, E. J.; GUISELINI, C.; SANTIAGO, A. V.; PRELA, A. Estimação da área foliar do algodoeiro por meio de dimensões e massa das folhas. **Bragantia, Campinas**, v.64, n.1, p.15-24, 2005.

ROCHA FILHO, L.C.; LOMÔNACO, C. Variações fenotípicas em subpopulações de *Davilla elliptica* A. St.-Hil. (Dilleniaceae) e *Byrsonima intermedia* A. Juss. (Malpighiaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. **Acta Botanica Brasílica**, v. 20, n. 3, p. 719-725, 2006.

SEVERINO, L. S.; CARDOSO, G. D.; VALE, L. S.; SANTOS, J. W. Método para determinação da área foliar da mamoneira. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 8, n. 1, p.753-762, 2004.

SILVA, M. J.; SALES, M. F. O gênero *Phyllanthus* L. (*Phyllanthaceae* - Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco – Brasil. **Rodriguésia**, v. 55, n. 84, p. 101-126, 2004.

TORRES, D. S. C.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, BA. **Acta Botanica Brasílica**, v. 17, n. 2, p. 265-278, 2003.

XAVIER, A. C.; SOARES, J. V.; ALMEIDA, A. C. Variação do índice de área foliar em clones de eucalipto ao longo de seu ciclo de crescimento. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 26, n. 4, p.421-427, 2002.

# **7** *Conclusão*

## 7. CONCLUSÃO

A partir do levantamento realizado, podemos observar que a falta de padronização dos produtos à base de plantas indica um alto nível de descaso da maioria das indústrias com relação à qualidade destes, o que, junto à carência de estudos científicos sobre a atividade terapêutica e efeitos adversos da maior parte desses produtos, gera dúvidas sobre a autenticidade das informações contidas nas embalagens e sobre a eficácia e o uso seguro dos mesmos.

As três espécies estudadas são amplamente utilizadas na medicina popular e despertam interesse científico e econômico pela importância das atividades que apresentam, facilidade de obtenção das plantas e facilidade do manuseio. Os estudos realizados confirmam suas atividades, respaldando o uso popular e estimulando a indústria farmacêutica a produzir medicamentos fitoterápicos contendo estas plantas, sendo necessários estudos voltados para o controle de qualidade das mesmas.

É possível verificar também que todas as espécies são ervas ou arbustos e que são facilmente confundíveis devido às suas semelhanças morfológicas, deixando dúvidas sobre a autenticidade das plantas utilizadas em muitos trabalhos onde os pesquisadores não se preocuparam com a identificação botânica da espécie. Desse modo, a caracterização farmacobotânica precede o controle da autenticidade de plantas medicinais.

Pode-se notar também que as espécies apresentam propriedades farmacológicas bastante semelhantes, tendo atividades comprovadas para as mesmas doenças e isso pode ser comparado ao aspecto químico, com a presença de grupos químicos e substâncias em comum, mesmo sendo coletadas nos mais diversos locais, destacando-se as lignanas e os alcalóides.

Um fato marcante nos trabalhos apresentados é que poucos testes farmacológicos são realizados com substâncias isoladas. A maioria dos ensaios é conduzida com o extrato bruto das plantas, havendo uma lacuna muito grande em se identificar quais as substâncias ou grupos químicos portadores das ações terapêuticas na maioria dos casos.

As plantas mostraram ser pouco tóxicas e apresentaram variações na sua composição fitoquímica em função do local de coleta que não puderam ser relacionadas com a toxicidade das mesmas.

As variações mais evidentes sofridas pelas espécies ocorreram nas dimensões da folha e na morfologia interna da plantas, nos caracteres microscópicos, onde se verificaram as mudanças provocadas pelos diferentes ambientes.

# *Referências*

**REFERÊNCIAS**

ADJOBIMEY, T.; EDAYÉ, I.; LAGNIKA, L.; GBENOU, J.; MOUDACHIROU, M.; SANNI, A. Activités antiplasmodiales in vitro de quelques plantes antipaludiques de la pharmacopée béninoise. **C. R. Chimie**. v. 7, p. 1023–1027, 2004.

AGRAWAL, A.; SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, J.N.; SRIVASAVA, M.M. Evaluation of inhibitory effect of the plant *Phyllanthus amarus* against dermatophytic fungi *Microsporum gypseum*. **Biomed Environ Sci**. v. 17, n. 3, p. 359-65, Set. 2004.

AHMAD M.U.; HUSAIN, S.K.; OSMAN, S.M. Ricinoleic acid in *Phyllanthus-niruri* seed oil. **Jour Am Oil Chem Soc**. v. 58, n. 6, p. 673-674, 1981.

ANJANEYULU, A. S. R.; JAGANMOHAN RAO, K. L. R. R.; SUBRAHMANYAM, C. Crystalline constituents of euphorbiaceae - XII : Isolation and structural elucidation of three new lignans from the leaves of *Phyllanthus amarus* Linn. **Tetrahedron**, v. 29, n. 10, p. 1291-1298, 1973.

BARROS, M. E.; LIMA, R.; MERCURI, L. P.; MATOS, J. R.; SCHOR, N.; BOIM, M. A. Effect of extract of *Phyllanthus niruri* on crystal deposition in experimental urolithiasis. **Urol Res**. v. 34, n. 6, p.351-7, Dez 2006

BARROS, M. E.; SCHOR, N.; BOIM, M. A. Effects of an aqueous extract from *Phyllanthus niruri* on calcium oxalate crystallization in vitro. **Urol Res**. v.30, n. 6, p. 374-9, Fev 2003.

BELLO, C. M.; MONTANHA, J. A.; SCHENKEL, E. P. Análise de bulas de medicamentos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 12, n. 2, p. 75-83, jul-dez. 2002.

BIKRAM, S.; PAWAN, K.; A,RAGHUNATH, S. T. An acyclic triterpene from *Phyllanthus amarus*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 7, p. 1980-1981, 1989.

BLUMBERG, B.S.; MILLMAN, I.; VENKATESWARAN, P.S.; THYAGARAJAN, S.P. Hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma--treatment of HBV carriers with *Phyllanthus amarus*. **Cancer Detect Prev.** v. 14, n. 2, p. 195-201, 1989.

BLUMBERG, B.S.; MILLMAN, I.; VENKATESWARAN, P.S.; THYAGARAJAN, S.P. Hepatitis B virus and primary hepatocellular carcinoma: treatment of HBV carriers with *Phyllanthus amarus*. **Vaccine.** v. 8, Supl. S, p. 86-92, Mar 1990.

BREVOORT, P. The Booming U. S. Botanical Market. A New Overview. **Herbal Gram.** v. 44, p. 33-46, 1988.

CAMPOS, A. H. , SCHOR, N. *Phyllanthus niruri* inhibits calcium oxalate endocytosis by renal tubular cells: its role in urolithiasis. **Nephron.** v. 81, n. 4, p. 393-7, 1999.

CHAUHAN, J.S.; SULTAN, M.; SRIVASTAVA, S.K. Two new glycoflavones from the roots of *Phyllanthus niruri*. **Planta Med.** v. 32, n. 3, n. 217-22, Nov. 1977.

CIMANGA, R.K.; TONA, L.; MESIA, K.; MUSUAMBA, C.T.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; HERNANS, N.; VAN MIERT, S.; PIETERS, L.; TOTTE, J.; VLIETINCK, A.J. In vitro antiplasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo. **J Ethnopharmacol.** v. 93, n. 1, p.27-32, Jul 2004.

CIMANGA, R.K.; TONA, L.; MESIA, K.; MUSUAMBA, C.T.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; HERNANS, N.; VAN MIERT, S.; PIETERS, L.; TOTTE, J.; VLIETINCK, A.J. In vitro antiplasmodial activity of callus culture extracts and fractions from fresh apical stems of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae): part 2. **J Ethnopharmacol.** v. 95, n. 2-3, p. 399-404, Dez 2004.

DOSH, I J.C.; VAIDYA, A.B.; ANTARKAR, D.S.; DEOLALIKAR, R.; ANTANI, D.H. A two-stage clinical trial of *Phyllanthus amarus* in hepatitis B carriers: failure to eradicate the surface antigen. **Indian J Gastroenterol.** v. 13, n. 1, p. 7-8. Jan 1994.

- FAREMI, T. Y.; SURU, S. M.; FAFUNSO, M. A.; OBIOHA, U. E. Hepatoprotective potentials of *Phyllanthusamarus* against ethanol-induced oxidative stress in rats. **Food Chem Toxicol.** v. 46, n. 8, p. 2658-64, Ago 2008.
- FOO, L. Y. Amariin, a di-dehydrohexahydroxydiphenoyl hydrolysable tannin from *Phyllanthus amarus*. **Phytochemistry**, v. 33, n. 2, p. 487-491, Mai 1993.
- FOO, L. Y. Amariinic acid and related ellagitannins from *Phyllanthus amarus*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 1, p. 217-224, Mai 1995.
- FREITAS, A. M.; SCHOR, N.; BOIM, M. A. The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. **BJU Int**, v. 89, n. 9, p. 829-34, Jun 2002.
- GUPTA DR, AHMED B. Nirurin: a new prenylated flavanone glycoside from *Phyllanthus niruri*. **J Nat Prod**; v. 47, n. 6, p. 958-63, Nov-Dec 1984.
- HARISH, R.; SHIVANANDAPPA, T. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. **Food Chemistry**. Article in press, 2005.
- HASSARAJANI, S.A. e MULCHANDANI, N.B. Securinine type of alkaloids from *Phyllanthus-niruri*. **Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**. v. 29, n. 9, p. 801-803, Set 1990.
- HOUGHTON, P. J.; WOLDEMARIAM, T. Z.; O'SHEA, S.; THYAGARAJAN, S. P. Two securinega-type alkaloids from *Phyllanthus amarus*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 3, p. 715-717, Out 1996.
- HOUSSAIN, R.A.; DICKEY, J.K.; ROSSER, M.P.; MATSON, J.A. KOZLOWSKI, M.R. A novel class of non-peptidic endotelin antagonists isolated from the medicinal herb *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**. v. 58, n. 10, p. 1515-1520, Out 1995.

HUANG, R.L.; HUANG, Y.L.; OU, J.C.; CHEN, C.C.; HSU, F.L.; CHANG, C. Screening of 25 compounds isolated from *Phyllanthus* species for anti-human hepatitis B virus in vitro. **Phytother Res**, v. 17, n. 5, p. 449-53, Mai 2003.

HUANG, S-T.; YANG, R-C.; YANG, L-J; LEE, P-N.; PANG, J-H. S. *Phyllanthus urinaria* tiggers the apoptosis and BCL-2 down-regulation in Lewis lung carcinoma cells. **Life Sciences**. V. 72, p. 1705-1716, 2003.

HUANG, Y.L.; CHEN, C.C.; OU, J.C. Isolintetralin - a new lignan from *Phyllanthus niruri*. **Planta Medica**. v. 58, n. 5, p. 473-474, Out 1992.

HUANG. Y-L.; CHEN, C-C.; HSU, F-E.; CHEN, C-F. Two tannins from *Phyllanthus tenellus*. **J. Nat. Prod.** v. 61, p. 523-524, Set 1998.

IGNÁCIO, S.R.; FERREIRA, J.L.; ALMEIDA, M.B.; KUBELKA, C.F. Nitric oxide production by murine peritoneal macrophages in vitro and in vivo treated with *Phyllanthus tenellus* extracts. **J Ethnopharmacol**, v. 74, n. 2, p. 181-7, Fev 2001.

IIZUKA, T.; NAGAI, M.; TANIGUCHI, A.; MORIYAMA, H.; HOSHI, K. Inhibitory effects of methyl brevifolincarboxylate isolated from *Phyllanthus niruri* L. on platelet aggregation. **Biol Pharm Bull**. v. 30, n. 2, p. 382-4. Fev 2007.

ISHIMARU, K.; YOSHIMATSU, K.; YAMAKAWA, T.; KAMADA, H.; SHIMOMURA, K. Phenolic constituents in tissue-cultures of *Phyllanthus niruri*. **Phytochemistry**. v. 31, n. 6, p. 2015-2018, Jun 1992.

JAYARAM, S. e THYAGARAJAN, S.P. Inhibition of HBsAg secretion from Alexander cell line by *Phyllanthus amarus*. **Indian J Pathol Microbiol**. v. 39, n. 3, p. 211-5, Jul 1996.

JEENA, K.J.; JOY, K.L.; KUTTAN, R. Effect of *Embllica officinalis*, *Phyllanthus amarus* and *Picrorrhiza kurroa* on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis. **Cancer Lett**. V. 8 n. 136(1), p. 11-6, Fev 1999.

JOSHI, B.S.; GAWAD, D.H.; PELLETIER, S.W.; KARTHA, G.; BHANDARY, K. Isolation and structure (X-ray analysis) of ent-norsecurinine, an alkaloid from *Phyllanthus amarus*. **J Nat Prod.** v. 49, n. 4, p. 614-20, Jul-Aug 1986.

KHANNA, A.K.; RIZVI, F.; CHANDER, R. Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. **J Ethnopharmacol.** v. 82, n. 1, p. 19-22, Set 2002.

KIEMER, A.K.; HARTUNG, T.; HUBER, C.; VOLLMAR, A.M. *Phyllanthus amarus* has anti-inflammatory potential by inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the NF-kappaB pathway. **J Hepatol.** v. 38, n. 3, p. 289-97, Mar 2003.

KLOUCEK, P.; POLESNY, Z.; SVOBODOVA, B.; VLKOVA, E. KOKOSKA, L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District. **J Ethnopharmacol.** v. 3, n. 99(2), p. 309-12, Jun 2005.

KOTOKY, R.; KANJILAL, P.B.; BORDOLOI, M. 2-methylhexadec-2-ene from *Phyllanthus niruri* Linn. **Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry.** v. 44, n. 2, p. 434-435, Fev 2005.

KUMAR, K.B. e KUTTAN, R. Protective effect of an extract of *Phyllanthus amarus* against radiation-induced damage in mice. **J Radiat Res (Tokyo).** v. 45, n. 1, p. 133-9, Mar 2004.

KUMAR, K. B., KUTTAN, R. An extract of *Phyllanthus amarus* protects mouse chromosomes and intestine from radiation induced damages. **J Radiat Res (Tokyo).** v. 48, n. 6, p. 469-76, Nov 2007.

LEE, C. Y.; PENG, W. H.; CHENG, H. Y.; CHEN, F. N.; LAI, M. T.; CHIU, T. H. Hepatoprotective effect of *Phyllanthus* in Taiwan on acute liver damage induced by carbon tetrachloride. **Am J Chin Med.** v. 34, n. 3, p. 471-82, 2006

LEE, C.D.; OTT, M.; THYAGARAJAN, S.P.; SHAFRITZ, D.A.; BURK, R.D.; GUPTA, S. *Phyllanthus amarus* down-regulates hepatitis B virus mRNA transcription and replication. **Eur J Clin Invest.** v. 26, n. 12, p. 1069-76. Dez 1996.

LEE, C.D.; THYAGARAJAN, S.P.; SHAFRITZ, D.A.; BURK, R.D.; GUPTA, S. Regulation of hepatitis-b virus-replication and gene-expression by an extract from *Phyllanthus-niruri*. **Hepatology**.v. 18, n. 4, A117-A117 Part 2, Out 1993.

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

MANJREKAR, A. P.; JISHA, V.; BAG, P. P.; ADHIKARY, B.; PAI, M. M.; HEGDE, A.; NANDINI, M. Effect of *Phyllanthus niruri* Linn. treatment on liver, kidney and testes in CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxic rats. **Indian J Exp Biol**. v. 46, n. 7, p. 514-20, Jul 2008.

MEHROTRA, R.; RAWAT, S.; KULSHRESHTHA, D.K.; GOYAL, P.; PATNAIK, G.K.; DHAWAN, B.N. In vitro effect of *Phyllanthus amarus* on hepatitis B virus. **Indian J Med Res**. v. 93, p.71-3, Mar 1991.

MEHROTRA, R.; RAWAT. S.; KULSHRESHTHA, D. K.; PATNAIK, G.K.; DHAWAN, B.N. In vitro studies on the effect of certain natural products against hepatitis B virus. **Indian J Med Res**. v. 92, p. 133-8, Abr 1990.

MELLINGER, C.G.; CARBONERO, E.R.; CIPRIANI, T.R.; GORIN, P.A.J.; IACOMINI, M. Xylans from the medicinal herb *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**. v. 68, n. 1p. 129-132, Jan 2005.

MICALI, S.; GRANDE, M.; SIGHINOLFI, M. C.; DE CARNE, C.; DE STEFANI S.; BIANCHI, G. Medical therapy of urolithiasis. **J Endourol**. v. 20, n. 11, p. 841-7, Nov 2006.

MULCHANDANI, N.B. e HASSARAJANI, S.A. 4-methoxy-nor-securinine, a new alkaloid from *Phyllanthus-niruri*. **Planta Medica**. v. 1, p. 104-105, 1984.

MUNSHI, A.; MEHROTRA, R.; RAMESH, R.; PANDA, S.K. Evaluation of anti-hepadnavirus activity of *Phyllanthus amarus* and *Phyllanthus maderaspatensis* in duck hepatitis B virus carrier Pekin ducks. **J Med Virol**. v. 41, n. 4, p. 275-81. Dez1993.

MUSTOFA; SHOLIKHAH, E. N.; WAHYUONO, S. In vitro and in vivo antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts of *Phyllanthus niruri* L. herbs traditionally used to treat malaria in Indonesia. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**. v. 38, n. 4, p. 609-15, Jul 2007.

NAIK, A.D.; JUVEKAR, A.R. Effects of alkaloidal extract of *Phyllanthus niruri* on HIV replication. **Indian J Med Sci**. v. 57, n. 9, p. 387-93, Set 2003.

NARENDRANATHAN, M.; REMLA, A.; MINI, P.C.; SATHEESH, P. A trial of *Phyllanthus amarus* in acute viral hepatitis. **Trop Gastroenterol**. v. 20, n. 4, p. 164-6. Out-dez 1999.

NISHIURA, J.; CAMPOS, A.; BOIM, M.; HEILBERG, I.; SCHOR, N. *Phyllanthus niruri* normalizes elevated urinary calcium levels in calcium stone forming (CSF) patients. **Urological Research**. v. 32, n. 5, p. 362-366, Out. 2004.

NIU, J.Z.; WANG, Y.Y.; QIAO, M.; GOWANS, E.; EDWARDS, P.; THYAGARAJAN, S.P.; GUST, I.; LOCARNINI, S. Effect of *Phyllanthus amarus* on duck hepatitis B virus replication in vivo. **J Med Virol**. v. 32, n. 4, p. 212-8, Dez 1990.

NOTKA, F.; MEIER, G.; WAGNER, R. Concerted inhibitory activities of *Phyllanthus amarus* on HIV replication in vitro and ex vivo. **Antiviral Res**. v. 64, n. 2, p. 93-102, Nov 2004.

NOTKA, F.; MEIER, G.R.; WAGNER, R. Inhibition of wild-type human immunodeficiency virus and reverse transcriptase inhibitor-resistant variants by *Phyllanthus amarus*. **Antiviral Res**. v. 58, n. 2, p. 175-86. Abr 2003.

OGATA T.; HIGUCHI H.; MOCHIDA S.; MATSUMOTO H.; KATO A.; ENDO T.; KAJI A.; KAJI H. HIV-1 reverse transcriptase inhibitor from *Phyllanthus amarus*. **AIDS Res Hum Retroviruses**, v. 8, n. 11, p. 1937-44, Nov 1992.

OLIVEIRA, D. F.; PEREIRA, A..C.; FIGUEIREDO, H. C.; CARVALHO, D. A.; SILVA, G.; NUNES, A. S.; ALVES, D. S. ; CARVALHO, H. W. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian southeast region. **Fitoterapia**, v. 78, n. 2, p. 142-5, Fev 2007.

OTT, M.; THYAGARAJAN, S.P.; GUPTA, S. *Phyllanthus amarus* suppresses hepatitis B virus by interrupting interactions between HBV enhancer I and cellular transcription factors. **Eur J Clin Invest**. v. 27, n. 11, p. 908-15. Nov 1997.

OTT, M.; THYAGARAJAN, S.P.; GUPTA, S. Regulation of hepatitis-b virus enhancer activity by *Phyllanthus-niruri* is involved in its antiviral effects. **Gastroenterology**. v. 108, n. 4, Suppl. S, Abr 1995.

PANCHAGNULA, S. e SOMEPALLI, V. Isolation, structure and synthesis of new diarylbutane lignans from *Phyllanthus amarus* : Synthesis of 5' -desmethoxy niranthin and an antitumour extractive. **Tetrahedron**, v. 47, n. 42, p. 8931-8940, October 1991.

PETCHNAREE, P.; BUNYAPRAPHATSARA, N.; CORDELL, G.A.; COWE, H.J.; COX, P.J.; HOWIE, R.A.; PATT, S.L. X-ray crystal and molecular-structure of *nirurine*, a novel alkaloid related to the securinega alkaloid skeleton, from *Phyllanthus-niruri* (Euphorbiaceae). **Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions**. v. 1, n. 9, p. 1551-1556, Set 1986.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**. v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.

PRAKASH, A.; SATYAN, K.S.; WAHI, S.P.; SINGH, R.P. Comparative hepatoprotective activity of three *Phyllanthus* species, *P. urinaria*, *P. niruri* and *P. simplex*, on carbon tetrachloride induced liver injury in the rat. **Phytotherapy Research**. v. 9, n. 8, p. 594-596, Dez 1995.

PRAMYOTHIN, P.; NGAMTIN, C.; POUNGSHOMPOO, S.; CHAICHANTIPYUTH, C. Hepatoprotective activity of *Phyllanthus amarus* Schum. et. Thonn. extract in ethanol treated rats: in vitro and in vivo studies. **J Ethnopharmacol**. v. 114, n. 2, p. 169-73, Nov 2007.

QIAN-CUTRONE, J.; HUANG, S.; TRIMBLE, J.; LI, H.; LIN, P.F.; ALAM, M.; KLOHR, S.E.; KADOW, K.F. *Niruriside*, a new HIV REV/RRE binding inhibitor from *Phyllanthus amarus*. **J Nat Prod**, v. 59, n. 2, p. 196-9, Feb1996.

RAJESHKUMAR, N.V.; JOY, K.L.; KUTTAN, G.; RAMSEWAK, R.S.; NAIR, M.G.; KUTTAN, R. Antitumour and anticarcinogenic activity of *Phyllanthus amarus* extract. **J Ethnopharmacol**, v. 81, n. 1, p. 17-22, Jun 2002.

RAJESHKUMAR, N.V.; KUTTAN, R. *Phyllanthus amarus* extract administration increases the life span of rats with hepatocellular carcinoma. **J Ethnopharmacol**. v. 73 n. 1-2, p. 215-9. Nov 2000.

RAM, V.J. Herbal preparations as a source of hepatoprotective agents. **Drug News & Perspectives**. v. 14, n. 6, p. 353-363, Ago. 2001.

RAO, M.V. e ALICE, K.M. Contraceptive effects of *Phyllanthus amarus* in female mice. **Phytother Res**. v. 15, n. 3, p. 265-7. Mai 2001.

RAPHAEL, K,R.; SABU, M.C.; KUTTAN, R. Hypoglycemic effect of methanol extract of *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn on alloxan induced diabetes mellitus in rats and its relation with antioxidant potential. **Indian J Exp Biol**, v. 40, n. 8, p. 905-9, Ago 2002.

RAPHAEL, K. R. e KUTTAN, R. Inhibition of experimental gastric lesion and inflammation by *Phyllanthus amarus* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, In Press, Corrected Proof, Available online 21 Mai 2003

SANTIAGO, L.J.M.; LOURO, R.P.; OLIVEIRA, D.E. Compartmentation of Phenolic Compounds and Phenylalanine Ammonia-Lyase in Leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their Induction by Copper Sulphate. **Annals of Botany**, v. 86, n. 5, p. 1023-1032 November 2000.

SANTOS, A.R., CECHINEL FILHO, V.; NIERO, R.; VIANA, A.M.; MORENO, F.N.; CAMPOS, M.M., YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Analgesic effects of callus culture extracts from selected species of *Phyllanthus* in mice. **J Pharm Pharmacol**, v. 46, n. 9, p. 755-9, Sep 1994.

SANTOS, A.R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Analysis of the mechanisms underlying the antinociceptive effect of the extracts of plants from the genus *Phyllanthus*. **Gen Pharmacol**. v. 26, n. 7, p.1499-1506, Nov 1995.

SANTOS, A.R.; DE CAMPOS, R.O.; MIGUEL, O.G.; CECHINEL FILHO, V.; SIANI, A.C.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Antinociceptive properties of extracts of new species of plants of the genus *Phyllanthus* (Euphorbiaceae). **J Ethnopharmacol**. v. 72, n. 1-2, p. 229-38, Set 2000.

SATYANARAYANA, P.; SUBRAHMANYAM, P.; VISWANATHAN, K.N. New seco- and hidroxi-lignanas from *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**. v. 51, n. 1, p. 44-48, Jan 1988.

SHAKIL, N. A.; PANKAJ; KUMAR, J.; PANDEY, R. K.; SAXENA, D. B. Nematicidal prenylated flavanones from *Phyllanthus niruri*. **Phytochemistry**. v. 69, n. 3, p. 759-64, Fev 2008.

SHEAD, A.; VICKERY, K.; PAJKOS, A.; MEDHURS, T.R.; FREIMAN, J.; DIXON, R.; COSSART, Y. Effects of *Phyllanthus* plant extracts on duck hepatitis B virus in vitro and in vivo. **Antiviral Res**, v. 18, n. 2, p. 127-38, Jun 1992.

SHIMIZU M, HORIE S, TERASHIMA S, UENO H, HAYASHI T, ARISAWA M, SUZUKI S, YOSHIZAKI M, MORITA N. Studies on aldose reductase inhibitors from natural products. II. Active components of a Paraguayan crude drug "Para-parai mi," *Phyllanthus amarus*. **Chem Pharm Bull (Tokyo)**, v. 37, n. 9, p. 2531-2, Sep 1989.

SILVA, M. J.; SALES, M. F. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae – Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco – Brasil. **Rodriguésia**. v. 55, n. 84: p. 101-126, 2004

SINGH, B.; AGRAWAL, P. K.; THAKUR, R. A new lignan and a new neolignan from *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**. v. 52, n. 1, p. 48-51, Jan 1989.

SRIPANIDKULCHAI, B.; TATTAWASART, U.; LAUPATARAKASEM, P.; VINITKETKUMNEUN, U.; SRIPANIDKULCHAI, K.; FURIHATA, C.; MATSUSHIMA, T. Antimutagenic and anticarcinogenic effects of *Phyllanthus amarus*. **Phytomedicine**. v. 9, n. 1, p. 26-32. Jan 2002.

SRIVIDYA, N.; PERIWAL, S. Diuretic, hypotensive and hypoglycaemic effect of *Phyllanthus amarus*. **Indian J Exp Biol**, v. 33, n. 11, p. 861-4, Nov 1995.

SUBEKI, S.; MATSUURA, H.; TAKAHASHI, K.; YAMASAKI, M; YAMATO, O.; MAEDE, Y.; KATAKURA, K.; KOBAYASHI, S.; TRIMURNINGSIH, T.; CHAIRUL C.; YOSHIHARA, T. Anti-babesial and anti-plasmodial compounds from *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**. v. 68, n. 4, p. 537-539, Abr 2005.

SYAMASUNDA, R K.V.; SINGH, B.; THAKUR, R.S.; HUSAIN; A.; KISO, Y.; HIKINO, H. Antihepatotoxic principles of *Phyllanthus niruri* herbs. **J Ethnopharmacol**. v. 14, n. 1, p. 41-4, Set 1985.

THAMLIKITKUL, V.; WASUWAT, S.; KANCHANAPEE, P. Efficacy of *Phyllanthus amarus* for eradication of hepatitis B virus in chronic carriers. **J Med Assoc Thai**. v. 74, n. 9, p. 381-5. Set 1991.

THYAGARAJAN, S.; JAYARAM, S.; GOPALAKRISHNAN, V.; HARI, R.; JEYAKUMAR, P.; SRIPATHI, M. Herbal medicines for liver diseases in India. **J Gastroenterol Hepatol**. v. 17 Supl. 3, p. 370-376, Dez 2002.

THYAGARAJAN, S.P.; SUBRAMANIAN, S.; THIRUNALASUNDARI, T.; VENKATESWARAN, P.S.; BLUMBERG, B.S. Effect of *Phyllanthus amarus* on chronic carriers of hepatitis B virus. **Lancet**. v. 1, n. 2, p. 764-6. Out 1988.

THYAGARAJAN, S.P.; THIRUNEELAKANTAN, K.; SUBRAMANIAN, S.; SUNDARAVELU, T. In vitro inactivation of HBsAg by *Eclipta alba* Hassk and *Phyllanthus niruri* Linn. **Indian J Med Res.** v. 76, Suppl, p. 124-30, Dez 1982.

TONA, L.; MESIA, K.; NGIMBI, N.P.; CHRIMWAMI, B.; OKOND'AHOKA; CIMANGA, K.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. In-vivo antimalarial activity of *Cassia occidentalis*, *Morinda morindoides* and *Phyllanthus amarus*. **Ann Trop Med Parasitol**, v. 95, n. 1, p. 47-57, Jan 2001.

TONA, L.; NGIMBI, N. P.; TSAKALA, M.; MESIA, K.; CIMANGA, K.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; PIETERS, L.; TOTTE, J.; VLIETINCK, A. J. Antimalarial activity of 20 crude extracts from nine African medicinal plants used in Kinshasa, Congo. **J Ethnopharmacol.** v. 15, n. 68(1-3), p.193-203, Dez. 1999.

TORRES, D. S. C.; CORDEIRO, I.; GIULIETTI, A. M. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, BA. **Acta bot. bras.** v. 17, n. 2, p. 265-278, 2003.

UENO, H.; HORIE, S.; NISHI, Y.; SHOGAWA, H.; KAWASAKI, M.; SUZUKI, S.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; SHIMIZU, M.; YOSHIZAKI, M. Chemical and pharmaceutical studies on medicinal plants in Paraguay. Geraniin, an angiotensin-converting enzyme inhibitor from "paraparai mi," *Phyllanthus niruri*. **J Nat Prod**, v. 51, n. 2, p. 357-9, Mar-Apr 1988.

VENKATESWARAN PS, MILLMAN I, BLUMBERG BS. Effects of an extract from *Phyllanthus amarus* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: in vitro and in vivo studies. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 84, n. 1, p. 274-8, Jan 1987.

VIGNEAU, C. **Plantes Médicinales-Thérapeutique-Toxicité**. Paris: Masson, 1985. 290p.

WANG, B.E. Treatment of chronic liver diseases with traditional Chinese medicine. **J Gastroenterol Hepatol.** v. 15, Supl. E, p. 67-70, Mai 2000.

WANG, M.; CHENG, H.; LI, Y.; MENG, L.; ZHAO, G.; MAI, K. Herbs of the genus *Phyllanthus* in the treatment of chronic hepatitis B: observations with three preparations from different geographic sites. **J Lab Clin Med.** v. 126, n. 4, p. 350-2, Out 1995.

WEI, W.X. e PAN, Y.J. The crystal structure of one natural compound cyclo-(1,10-docandiamino-11,20-docanedioic) amide (1,12-diazacyclodocosane-2,11-dione). **Bulletin of The Korean Chemical Society.** v. 23, n. 11, p. 1527-1530, Nov 2002.

WEI, W.X.; PAN, Y.J.; ZHANG, H.; LIN, C.W.; WEI, T.Y. Two new compounds from *Phyllanthus niruri*. **Chemistry of Natural Compounds.** v. 40, n. 5, p. 460-464 Set-Out 2004.

XIN-HUA, W.; CHANG-QING, L.; XING-BO, G.; LIN-CHUN, F. A comparative study of *Phyllanthus amarus* compound and interferon in the treatment of chronic viral hepatitis B. **Southeast Asian J Trop Med Public Health.** v. 32, n. 1, p. 140-2, Mar 2001.

YEH, S.F.; HONG, C.Y.; HUANG, Y.L.; LIU, T.Y.; CHOO, K.B.; CHOU, C.K. Effect of an extract from *Phyllanthus amarus* on hepatitis B surface antigen gene expression in human hepatoma cells. **Antiviral Res,** v. 20, n. 3, p. 185-92, Mar 1993.