

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS CURSO DE FARMÁCIA

DAYANNE DA SILVA VIVEIROS

ANÁLISE COMPARATIVA DE REAGENTES UTILIZADOS NA HISTOLOCALIZAÇÃO DE MUCILAGEM EM ESPÉCIES VEGETAIS

DAYANNE DA SILVA VIVEIROS

ANÁLISE COMPARATIVA DE REAGENTES UTILIZADOS NA HISTOLOCALIZAÇÃO DE MUCILAGEM EM ESPÉCIES VEGETAIS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Profa. Dra. Karina Perrelli Randau Coorientador (a): Dr. Cledson dos Santos Magalhães

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Viveiros, Dayanne da Silva.

Análise comparativa de reagentes utilizados na histolocalização de mucilagem em espécies vegetais / Dayanne da Silva Viveiros. - Recife, 2024. 32p: il., tab.

Orientador(a): Karina Perrelli Randau Cooorientador(a): Cledson dos Santos Magalhães Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2024. Inclui referências.

1. Anacardiaceae. 2. Myrtaceae. 3. Moraceae. 4. Histolocalização. 5. Microscopia. I. Randau, Karina Perrelli. (Orientação). II. Magalhães, Cledson dos Santos. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

Aprovado em: 06/09/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente

KARINA PERRELLI RANDAU

Data: 06/09/2024 17:40:11-0300

Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Karina Perrelli Randau

(Presidente e Orientadora) Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente

FELIPE RIBEIRO DA SILVA

Data: 13/09/2024 09:45:33-0300

Verifique em https://validar.iti.gov.br

Msc. Felipe Ribeiro da Silva

(Examinador)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente

DATA: 12/09/2024 19:44:08-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Msc. Herlayne Carolayne Caetano da Silva

(Examinador)
Universidade Federal de Pernambuco

Msc. Auygna Pamyda Gomes da Silva (Suplente)

Universidade Federal de Pernambuco

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO REITOR

Prof. Dr. Alfredo Macedo Gomes

VICE-REITOR

Prof. Dr. Moacyr Cunha de Araújo Filho

DIRETOR(A) DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Profa. Cinthia Kalyne Alves

VICE-DIRETOR(A) DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Profa. Daniela da Silva Feitosa

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Profa. Dra. Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo

COORDENADOR DO CURSO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Profa. Dra. Jane Sheila Higino

VICE- COORDENADOR DO CURSO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio José Alves

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois sem Ele eu não teria conseguido superar todas as adversidades durante a graduação, pelas oportunidades que fez com que meus objetivos fossem alcançados e por sempre guiar meus passos e está comigo em todos os momentos.

Aos meus pais, Maria Eugênia e Oswaldo João, e minha irmã Damaris Viveiros por todo suporte, compreensão e cuidado, por entenderem minha ausência em momentos familiares para dedicar aos estudos.

A todos meus amigos que fiz ao longo da graduação, em especial a Maria de Jesus, Áquila Priscila, Josenilda Moura e Amanda Onduras, por terem dividido esses anos ao meu lado, vocês foram essenciais em deixar minha caminhada acadêmica mais leve com momentos de descontração, conversas e risadas.

À professora Dra. Karina Perrelli Randau por ter aceitado ser minha orientadora, por todo acolhimento, orientação e apoio no desenvolvimento da pesquisa. E a todos do seu laboratório por serem tão atenciosos comigo.

Ao meu coorientador Cledson dos Santos Magalhães por toda paciência, dedicação e confiança, por sua ajuda que me guiou na elaboração desta pesquisa. Sou muito grata por seu incentivo em todos os momentos ao longo do trabalho e por nunca desistir de mim.

À UFPE, docentes e todas as pessoas que contribuíram para minha formação acadêmica e crescimento pessoal, as aulas, projeto de extensão e todos estágios foram fundamentais para tornar a pessoa que sou hoje. Obrigada por todos os ensinamentos e aprendizados.

RESUMO

As espécies vegetais que contêm mucilagem desempenham um papel significativo na indústria, especialmente na farmacêutica, alimentícia e cosmética, devido às propriedades espessantes, estabilizantes e hidratantes desse composto. Além disso, a mucilagem possui propriedades bioativas que podem ser exploradas para o desenvolvimento de medicamentos e suplementos alimentares. Frente a essa importância, a histolocalização da mucilagem nas plantas é um aspecto crítico para a compreensão de sua distribuição e função nos tecidos vegetais. Mediante ao exposto, este trabalho teve o objetivo de realizar análise comparativa de reagentes utilizados na histolocalização de mucilagem em espécies vegetais. Para tal, secções transversais foram obtidas à mão livre, em seguida preparadas e coradas com os reagentes ácido tânico/ cloreto férrico, vermelho de rutênio e azul de toluidina e posteriormente fixadas em lâmina semipermanente. As análises foram realizadas por microscópio óptico, acoplado com câmera digital, através da qual foram obtidas imagens processadas em software. Os resultados indicam que, embora os reagentes sejam destinados à detecção de mucilagem, eles podem produzir resultados distintos em relação à histolocalização e à natureza desse composto. O vermelho de rutênio, por exemplo, embora corroborando os testes com ácido tânico/cloreto férrico e azul de toluidina, destaca especificamente a presenca de pectinas nas espécies analisadas. O azul de toluidina, usado para evidenciar mucilagem, pode, dependendo da coloração, revelar a composição da mucilagem presente nas espécies. A pesquisa também revelou uma escassez de estudos que busquem identificar mucilagem nas espécies estudadas, limitando a comparação com os resultados deste estudo. Além disso, alguns estudos se concentram na extração desse composto dos frutos para aplicação na indústria alimentícia. Diante disso, enfatiza-se a importância de pesquisas que visem otimizar técnicas para histolocalização de mucilagem.

Palavras chave: Anacardiaceae; Myrtaceae; Moraceae; histolocalização; microscopia.

ABSTRACT

Plant species that contain mucilage play a significant role in industry, particularly in the pharmaceutical, food, and cosmetic sectors, due to the thickening, stabilising, and moisturising properties of this compound. Furthermore, mucilage possesses bioactive properties that can be exploited for the development of medicines and dietary supplements. Given this importance, the histolocalisation of mucilage in plants is a critical aspect for understanding its distribution and function within plant tissues. In light of this, the present study aimed to conduct a comparative analysis of reagents used in the histolocalisation of mucilage in plant species. To achieve this. transverse sections were manually obtained, then prepared and stained with tannic acid/ferric chloride, ruthenium red, and toluidine blue reagents, and subsequently mounted on semi-permanent slides. The analyses were performed using an optical microscope, coupled with a digital camera, through which images were obtained and processed using software. The results indicate that, although the reagents are intended for the detection of mucilage, they may produce distinct results concerning the histolocalisation and nature of this compound. Ruthenium red, for instance, while corroborating the results of the tannic acid/ferric chloride and toluidine blue tests, specifically highlights the presence of pectins in the species analysed. Toluidine blue, used to reveal mucilage, can, depending on the staining, indicate the composition of the mucilage present in the species. The research also revealed a scarcity of studies that aim to identify mucilage in the studied species, limiting the comparison with the results of this study. Additionally, some studies focus on extracting this compound from the fruits of species for application in the food industry. In light of these findings, the importance of research that seeks to optimise techniques for the histolocalisation of mucilage is emphasised.

Keywords: Anacardiaceae; Myrtaceae; Moraceae; histolocalization; microscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Anacardium occidentale</i>
L20
Figura 2 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Mangifera indica</i> L21
Figura 3 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de Artocarpus altilis
(Parkinson) Fosberg
Figura 4 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de Artocarpus heterophyllus
Lam23
Figura 5 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Eugenia uniflora</i> L24
Figura 6 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de <i>Psidium quajava</i> L 25

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Espécies identificada	as com os respectivos	s tombamentos	18
Quadro 2 – Comparação da	histolocalização de	e mucilagem nas	espécies
vegetais			26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 MUCILAGEM	13
3.2 HISTOQUÍMICA DE MUCILAGEM	14
3.3 DETECÇÃO DE MUCILAGEM	14
3.3.1 Reagente Ácido Tânico/ Cloreto Férrico	14
3.3.2 Reagente Vermelho de Rutênio	15
3.3.3 Reagente Azul de toluidina	15
3.4 ESPÉCIES VEGETAIS	16
3.4.1 Anacardium occidentale L. e Mangifera indica L	16
3.4.2 Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg e Artocarpus heterophyllus La	ı m .16
3.4.3 Eugenia uniflora L. e Psidium guajava L	17
4 METODOLOGIA	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
5.1 Anacardium occidentale L. e Mangifera indica L	19
5.2 Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg e Artocarpus heterophyllus Lam	21
5.3 Eugenia uniflora L. e Psidium guajava L	23
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O emprego de plantas medicinais pela humanidade ocorre desde a antiguidade como um recurso terapêutico (Di Stasi et al., 2002; Seyfried, 2016). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente, 80% da população mundial utiliza plantas medicinais para o tratamento de doenças, e em 2010, o Sistema Único de Saúde (SUS) introduziu em grande parte do país o tratamento com plantas medicinais nos serviços de saúde (Oliveira, 2012; Alba, 2017).

Destaca-se que diversas partes do vegetal, por exemplo, as folhas, caules, raízes, flores, frutos e sementes, possuem propriedades medicinais que estão associadas aos compostos bioativos presentes, esses diferenciam por suas características químicas e são classificados em metabólitos primários ou secundários (Briskin, 2000).

Os metabólitos secundários são divididos em três classes principais: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados, que se caracterizam por possuir baixa massa molecular, estrutura complexa e diferentes atividades biológicas (Briskin, 2000). No que diz respeito aos metabólitos primários, este grupo inclui moléculas de proteínas, nucleotídeos, ácidos graxos, clorofila e polissacarídeos (Briskin, 2000).

Um dos compostos bioativos das plantas é a mucilagem, um metabólito primário rico em polissacarídeos. Ao longo dos anos, a utilização desse metabólito tem crescido, especialmente, pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e médica, por ser biodegradável, atóxico, estabilizante, seguro para consumo, viável economicamente e de fácil obtenção, por ser proveniente de fontes naturais (Bhardwaj et al., 2000; Yeole et al., 2006; Deogade; Deshmukh; Sakarkar, 2012).

É essencial destacar a relevância de realizar estudos científicos com plantas. Apesar do Brasil abrigar a maior variedade genética de plantas, somente 8% das espécies vegetais tiveram seus componentes ativos pesquisados (Heinzmann; Barros, 2007). Portanto, é crucial compreender tais componentes para otimizar o uso desse recurso pela população (Amorozo; Gely, 1988), com o intuito de prevenir possíveis efeitos nocivos que o seu uso possa acarretar ao organismo (Carvalho, 2011).

Sendo assim, para identificar e localizar em que órgãos a planta armazena os compostos bioativos com potencial efeito medicinal é realizado a histoquímica, técnica baseada no uso de reagentes cito ou químico-histológicos previamente estabelecidos, permitindo assim a localização de alguns princípios ativos (Dôres, 2007).

Além disso, a identificação dos metabólitos por meio da histoquímica é um método rápido e de menor custo para analisar a composição química das espécies, além de contribuir para o controle de qualidade das plantas que são encaminhadas às indústrias farmacêuticas e demais setores.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar análise comparativa de reagentes utilizados na histolocalização de mucilagem em espécies vegetais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Histolocalizar os locais de acúmulo de mucilagem nas lâminas foliares de espécies vegetais através da visualização da reação em microscópio óptico;
- Comparar os resultados para determinar possíveis variações que possam impactar a eficiência na identificação de mucilagens utilizando essa técnica.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 MUCILAGEM

A mucilagem é uma fonte de fácil e baixo custo de polissacarídeos hidrofílicos (Koocheki et al., 2009), que formam solução de aspecto viscoso ou géis na presença da água, criando uma matriz hidrofílica funcionando como um reservatório de água *in vivo*, devido a essa propriedade, é conhecida comercialmente como hidrocoloide, que tem como característica predominante seu aspecto amorfo e translúcido (Cárdenas; Arguelles; Goycoolea, 1998). Nas plantas os carboidratos são componentes básicos, e estão na forma de monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos, compondo um importante grupo de metabólitos (Simões et al., 2007).

Os polissacarídeos são macromoléculas formadas pela ligação de mais de 10 monossacarídeos unidos por meio de ligações glicosídicas (Rodwell et al., 2017). Esse composto bioativo da planta pode apresentar longas cadeias lineares ou ramificadas e uma forma de classifica-los é com base nos monômeros que o compõem. Quando constituído por apenas um tipo de monômero, é chamado de homopolissacarídeo; já quando formado por diferentes tipos de monômeros, é denominado heteropolissacarídeo (Voet et al., 2014).

A síntese da mucilagem é própria do metabolismo das plantas, sem necessidade de provocar feridas na planta (Qadry, 2008). As cadeias que compõem a mucilagem são normalmente constituídas por monômeros diferentes, entre os monossacarídeos mais comuns que podem estar inseridos a sua cadeia, estão a D-galactose, a D-xilose, a L-ramnose, e a L-arabinose, e apresentam ácidos urônicos incorporados, sendo estes evidenciados após o processo de hidrólise, além de apresentarem formato altamente ramificado (Goycoolea; Cárdenas, 2004).

A indústria farmacêutica e alimentícia usa amplamente as mucilagens, principalmente por sua propriedade de retenção de água e formação de géis. São empregadas como estabilizantes, gelificante e espessantes de alimentos. No setor farmacêutico é usado nas formulações de medicamentos como espessantes, aglutinantes e desagregantes. Podem ser eficazes no tratamento de inflamações,

reações locais, tosse, queimaduras, possuem propriedades laxantes e protetoras das mucosas (Morton, 1990; Jyoti et al., 2013;).

3.2 HISTOQUÍMICA DE MUCILAGEM

A mucilagem de acordo com a estrutura química faz parte do grupo dos polissacarídeos heterogêneos de caráter neutro ou ácido. São macromoléculas de alto peso molecular em razão da ligação de unidades de monômeros diferentes entre si. A estrutura primária, natureza e sequência dos monossacarídeos, grau de polimerização que indica o número de monossacarídeos que foram unidos para formá-los, pode chegar até 3.000 unidades e a conformação espacial das cadeias interferem nas propriedades físico-químicas (Jani et al., 2009)

Esse componente realiza várias funções nas plantas como a proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, retenção de água, armazenamento de carboidratos, diminuição da transpiração, proteção contra radiação e herbivoria, lubrificante do ápice das raízes, captura de insetos em plantas insetívoras, como adesivos na dispersão de sementes e na regulação da germinação de sementes (Gregory; Baas, 1989; Fahn, 1979; Roshchina; Roshchina, 1993; Clifford et al., 2002; Martini et al., 2003; Pimentel et al., 2011).

A histoquímica busca identificar substâncias químicas relacionadas à histologia, um aspecto molecular, aos compostos encontrados nos tecidos e onde estão localizados. Neste estudo da histoquímica caracterizam-se, especialmente, os polissacarídeos e os hidratos de carbono conjugados com proteínas (glicoproteínas) ou com lipídios (glicolipídios). Para realizar a detecção são feitas reações que caracterizam um ou mais radicais ou grupos funcionais, que pertencem ao grupo de carboidratos ou não. Dessa maneira, é preciso executar reações múltiplas para diferenciar as diversas classes e reações de controle para determinar a especificidade dos métodos de reação escolhidos (Figueiredo et al., 2007)

3.3 DETECÇÃO DE MUCILAGEM

3.3.1 Reagente Ácido Tânico/ Cloreto Férrico

O reagente cloreto férrico revela o complexo ácido tânico-amina formado pela reação de complexação do ácido tânico com as aminas das mucilagens. Como produto da reação tem-se um precipitado escuro, que indica a presença de mucilagens animais. Esse teste não é muito viável para aplicação nos vegetais, pois as mucilagens vegetais são polissacarídeos, diferentemente das mucilagens animais que são glicoproteínas (Figueiredo et al., 2007).

3.3.2 Reagente Vermelho de Rutênio

Este reagente é um corante para detectar mucilagens e pectinas em plantas. O vermelho de Rutênio é uma substância catiônica hexavalente que na ausência de Tetroxido do Osmio, *in vitro*, reage com substâncias de caráter ácido nos vegetais. O vermelho de rutênio e ácido tânico com cloreto férrico, têm sido usados para evidenciar mucilagens nas secreções dos coléteres em muitos vegetais (Gregory;Bassm, 1989; Thomas; Dave, 1990; Klein et al., 2004; Demarco, 2005; Paiva; Machado, 2006).

Esse corante é classificado como metacromático por ter capacidade de corar as estruturas celulares com tons de cores diferentes dos correntes em solução diluída, nesse caso são usados para diferenciar polissacáridos ácidos de polissacarídeos neutros. Seu uso é discutido por não caracterizar nenhum composto, grupo funcional peculiar, ademais está relacionado diretamente com a densidade de carga da superfície do cromotrópico. O resultado negativo não é indicativo de ausência de polissacarídeos ácidos (Figueiredo et al., 2007).

3.3.3 Reagente Azul de toluidina

O azul de toluidina é um corante metacromático, que apresenta coloração distinta de acordo com o substrato que reage. A substância mucilagem e as paredes dos vegetais contendo pectinas apresentam coloração roxa, paredes celulósicas coram em azul e paredes lignificadas e fenólicos não estruturais coram de verde (Ventrella et al., 2013).

3.4 ESPÉCIES VEGETAIS

3.4.1 Anacardium occidentale L. e Mangifera indica L

As espécies vegetais *A. occidentale* e *M. indica* pertencem à família Anacardiaceae R. Br e são conhecidas popularmente como caju e manga, respectivamente. A família Anacardiaceae é representada por cerca de 80 gêneros, incluindo 600 espécies, conhecidas pela produção de deliciosas frutas, excelentes madeiras e compostos para uso na indústria e na medicina (Barroso et al., 2002).

O caju é uma fonte de pró-vitamina A, também apresenta qualidades no sabor e aroma (Maia; Sousa; Lima, 2007). As folhas do cajueiro têm uma variedade de ações benéficas como atividade anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, cicatrizante e citotóxica (Oliveira et al.,2022). A manga é originaria do sudeste asiático e da Índia, tem um sabor acentuado e característico (Dak; Verma; Sharma, 2006). Suas folhas possuem propriedades anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral e imunoestimulante (Oliveira et al.,2022)

3.4.2 Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg e Artocarpus heterophyllus Lam.

As espécies *A. altilis* e *A. heterophyllus* pertencem à família Moraceae Gaudich, e são originárias da Oceania e do sul da Ásia, respectivamente. A família Moraceae engloba 60 gêneros, incluindo cerca de 1400 espécies, que estão distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia. O gênero *Artocarpus*, é composto principalmente por árvores frutíferas, como a fruta-pão e a jaqueira (Jagtap; Bapat, 2010).

A. altilis é popularmente conhecida como fruta-pão, e foi introduzida no país em 1801 no Pará (Corrêa, 1926). As folhas da planta possuem atividade anti-hipertensivas na preparação de um medicamento (Nwokocha et al., 2012) e propriedade citotóxica e inibidora de catepsina da espécie (Pereira; Kaplan, 2013).

A. heterophyllus é popularmente conhecida como jaqueira. A espécie apresenta propriedades antibacterianas, antifúngicas, antidiabéticas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Devido a jaca possuir diversas características

benéficas a saúde do organismo, além do sabor vem se tornando de grande interesse para as indústrias (Ranasinghe et al., 2019).

3.4.3 Eugenia uniflora L. e Psidium guajava L

E. uniflora e P. guajava pertencem à família Myrtaceae Juss, que apresenta uma grande diversidade de plantas, com cerca de 142 gêneros e 5.500 espécies (Heywood et al., 2007; Wilson, 2011). Originária da América do Sul, E. uniflora é amplamente distribuída no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai (Consolini; Sarubbio, 2002) e popularmente conhecida como pitangueira e vem sendo utilizada na indústria farmacêutica (Schapoval et al., 1994; Ogunwande et al., 2005; Oliveira et al., 2005), pela indústria de cosméticos (Melo et al., 2007) e em áreas de reflorestamento, sendo ecologicamente importante como espécie colonizadora em áreas perturbadas (Rodrigues; Nave, 2000; Botrel et al., 2002; Bianchini et al., 2003; Pinto et al., 2005).

As folhas e frutos de *E. uniflora* apresentam um potencial poder medicinal, sendo usado para realizar infusões com anti-febris, antidiarreicos, anti-hipertensivos e anti-reumáticos (Auricchio et al., 2007). Além disso possuem atividades biológicas, como antimicrobiano e antioxidante (Victoria et al., 2012), hepatoprotetor (Victoria et al., 2013), antifúngico (Costa et al., 2010), antinociceptivo, hipertérmico (Amorim et al., 2009) e antitumoral (Ogunwande et al., 2005)

A espécie *P. guajava*, popularmente conhecida como goiabeira, é uma árvore de pequeno porte, originária de regiões tropicais, desde o sul do México até o norte da América do Sul sendo cultivadas em diversos países com climas tropicais e subtropicais (Díaz-De-Cerio et al., 2017), permitindo sua produção em escala global.

O uso das folhas e da casca da goiabeira para fins medicinais vem desde a antiguidade, *P. guajava* apresentar a capacidade antioxidante e eliminadora de radicais livres (Chene et al., 2007). Também é eficaz na diarreia, disenteria e gastroenterite em razão da ação antibacteriana (Anas et al., 2008; Lozoya, 2002).

4 METODOLOGIA

As espécies vegetais Anacardium occidentale L., Mangifera indica L., Eugenia uniflora L., Psidium guajava L., Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg e Artocarpus heterophyllus Lam. foram coletadas e encaminhadas ao Herbário Dárdano de Andrade Lima, para legitimação da identificação botânica, recebendo seus devidos tombamentos (Quadro 1).

Quadro 1 - Espécies identificadas com os respectivos tombamentos

FAMILIAS	ESPÉCIES	TOMBAMENTOS
Anacardiaceae	Caju (Anacardium occidentale)	89979
	Manga (Mangifera indica)	91429
Moraceae	Fruta pão (Artocarpus altilis)	91180
	Jaca (Artocarpus heterophyllus)	91181
Myrtaceae	Pitanga (Eugenia uniflora)	88149
	Goiaba (Psidium guajava)	88150

Fonte: Dados das pesquisas (2023)

Para a análise histoquímica secções transversais da lâmina foliar foram obtidas a mão livre com o uso da lâmina de barbear comum, tendo como suporte a medula do pecíolo de embaúba (Cecropia sp). Posteriormente as secções foram coradas com os seguintes reagentes para indicar a presença de mucilagem: ácido tânico/ cloreto férrico, vermelho de rutênio e azul de toluidina.

Foram realizados controles em paralelo aos testes histoquímicos e serão preparadas lâminas semipermanentes contendo as seções transversais. A análise foi realizada por microscopia óptica (Leica DM750M), acoplado com câmera digital (Leica ICC50W), através da qual foram obtidas imagens processadas em software (LAS EZ) (Sá et al., 2019).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Anacardium occidentale L. e Mangifera indica L.

Nas figuras 1A-1D e 2A-2F estão os resultados da caracterização histoquímica das lâminas foliares de *A. occidentale* e *M. indica* em secções transversais, apresentando nas figuras 1A e 2A as lâminas foliares sem adição de nenhum reagente.

Em A. occidentale, através do reagente ácido tânico/ cloreto férrico foi observado mucilagem no parênquima (Figura 1B). Com vermelho de rutênio, assim como para o reagente ácido tânico/ cloreto férrico, foi evidenciado no parênquima (Figura 1C), diferenciando-se na presença de mucilagem na parede celular e colênquima (Figura 1C). Utilizando azul de toluidina os resultados encontrados corroboram os testes anteriores, entretanto, evidenciando mucilagem apenas no parênquima (Figura 1D).

Em estudo histoquímico com *Spondias dulcis* Forst. F. espécie tropical da família Anacardiaceae foram detectados na parede celular do caule reação positiva com o vermelho de rutênio, indicando a presença de pectinas. É interessante mencionar que o ácido tânico/cloreto de ferro III, utilizado para detecção de mucilagem, não confirmou a sua presença na espécie (Sant'Anna-Santos et al., 2006).

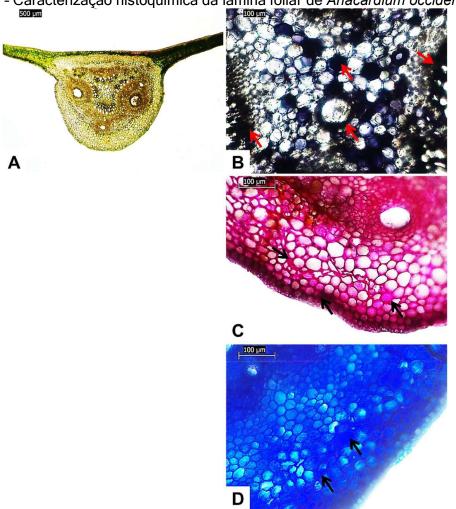


Figura 1 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de Anacardium occidentale L.

A: Controle; B: Ácido Tânico/ Cloreto Férrico; C: Vermelho de Rutênio; D: Azul de toluidina. Fonte: Autoria própria.

Em *M. indica*, através do reagente ácido tânico/ cloreto férrico foi observado mucilagem no parênquima (Figura 2B e 2C) e no canal secretor (Figura 2C). Com vermelho de rutênio foi evidenciado apenas no parênquima (Figura 2D). O teste com azul de toluidina corrobora os resultados evidenciados pelos reagentes ácido tânico/ cloreto férrico e vermelho de rutênio evidenciando mucilagem no parênquima e no canal secretor (Figura 2E), destacando a coloração roxo-rósea da mucilagem contendo pectinas.

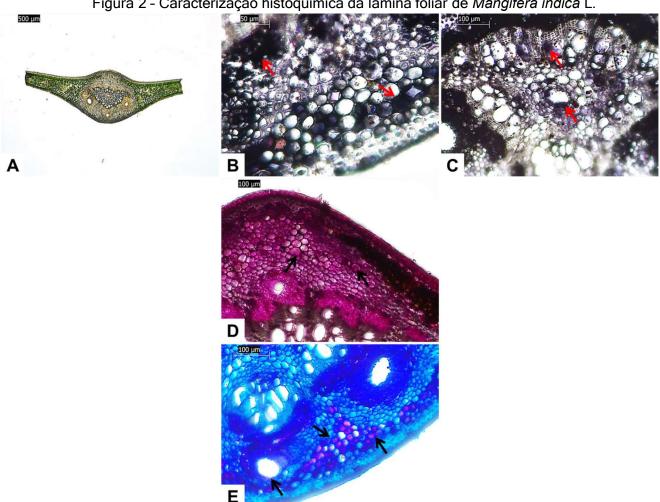


Figura 2 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de Mangifera indica L.

A: Controle; B-C: Ácido Tânico/ Cloreto Férrico; D: Vermelho de Rutênio; E: Azul de toluidina. Fonte: Autoria própria.

5.2 Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg e Artocarpus heterophyllus Lam.

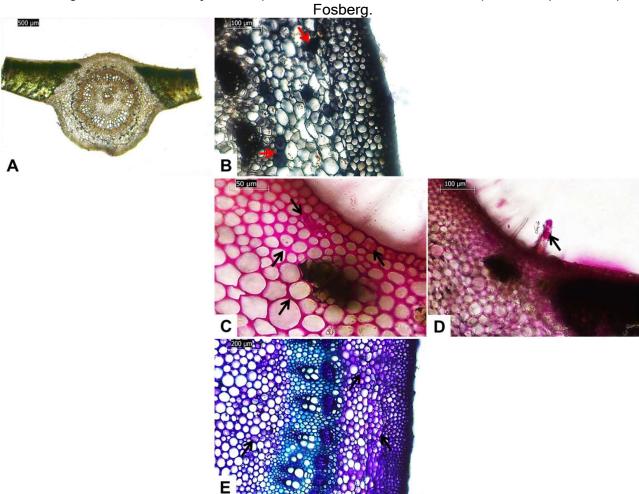
Nas figuras 3A-3E e 4A-4D estão os resultados da caracterização histoquímica das lâminas foliares de A. altilis e A. heterophyllus em secções transversais, apresentando nas figuras 3A e 4A as lâminas foliares sem adição de nenhum reagente.

Em A. altilis, através do reagente ácido tânico/ cloreto férrico foi observado mucilagem no parênquima (Figura 3B). Com vermelho de rutênio foi evidenciado na epiderme, parede celular do parênquima e colênquima (Figuras 3C) e no tricoma (Figura 3D). O reagente azul de toluidina evidenciou mucilagem no parênquima medular (Figura 3E), destacando a coloração roxo-rósea demonstrando que a mucilagem contém pectinas. Destaca-se que houve diferenciação nos resultados se

comparando os reagentes vermelho de rutênio e azul de toluidina que nesses resultados evidenciaram pectinas em diferentes estruturas.

Pectinas são comumente relatadas no pseudofruto de A. altilis (Felippe, 2005), compostos químicos necessários para produção de rede de geleificação nas preparações culinárias (Araújo et al., 2014).

Figura 3 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Artocarpus altilis* (Parkinson)



A: Controle; B: Ácido Tânico/ Cloreto Férrico; C-D: Vermelho de Rutênio; E: Azul de

toluidina. Fonte: Autoria própria.

Em A. heterophyllus, através dos reagentes ácido tânico/ cloreto férrico (Figura 4B) e azul de toluidina (Figura 4D), foi observado mucilagem no parênquima e com vermelho de rutênio foi evidenciado no mesmo tecido e, além disso, na parede celular do colênquima (Figura 4C).

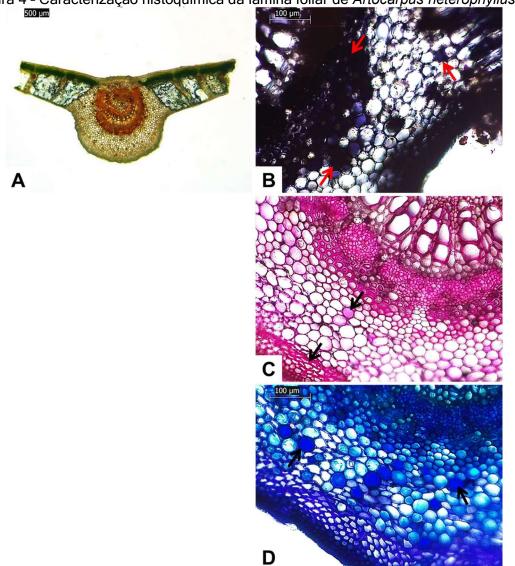


Figura 4 - Caracterização histoquímica da lâmina foliar de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

A: Controle; B: Ácido Tânico/ Cloreto Férrico; C: Vermelho de Rutênio; D: Azul de toluidina. Fonte: Autoria própria.

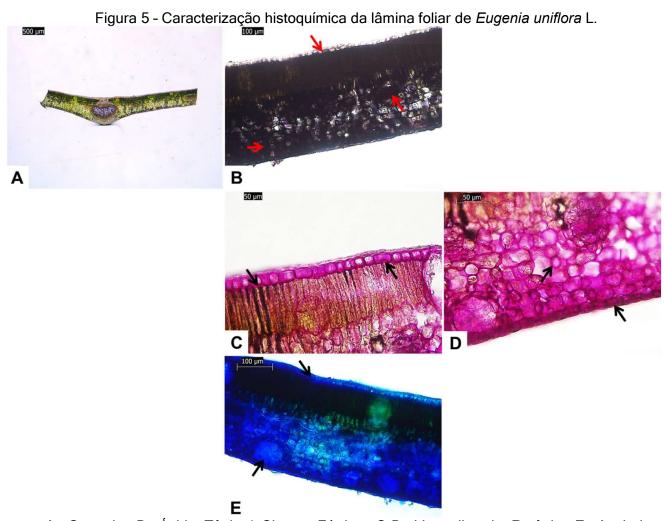
5.3 Eugenia uniflora L. e Psidium guajava L.

Nas figuras 5A-5E e 6A-6E estão os resultados da caracterização histoquímica das lâminas foliares de *E. uniflora* e *P. guajava* em secções transversais, apresentando nas figuras 5A e 6A as lâminas foliares sem adição de nenhum reagente.

Em *E. uniflora*, através dos reagentes ácido tânico/ cloreto férrico (Figura 5B) e azul de toluidina (Figura 5E) foi observado mucilagem na epiderme, parênquima e no canal secretor no mesofilo da espécie. Corroborando os resultados com adição

do reagente vermelho de rutênio foi evidenciado o mesmo composto nas paredes celulares e parênquima (Figura 5C e 5D).

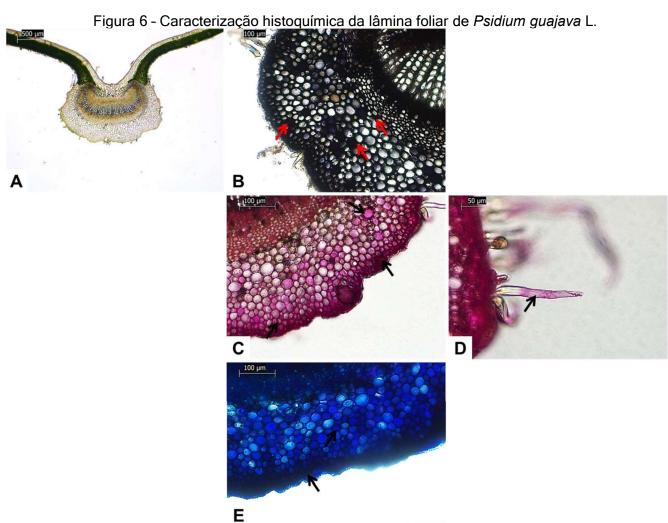
Pectinas foram identificadas com vermelho de rutênio no floema de folhas de *E. uniflora*, diferenciando do encontrado no presente estudo (Beschorner; Bündchen, 2020). Em estudo histoquímico com sementes maduras de *Eugenia stipitata*, espécie da família Myrtaceae, revelou uma forte reação com o reagente vermelho de rutênio na parede celular do tegumento, devido ao alto teor de pectinas (Mendes & Mendonça 2020)



A: Controle; B: Ácido Tânico/ Cloreto Férrico; C-D: Vermelho de Rutênio; E: Azul de toluidina. Fonte: Autoria própria.

Em *P. guajava*, através do reagente Ácido Tânico/ Cloreto Férrico foi observado mucilagem no parênquima (Figura 6B). Utilizando o reagente vermelho de rutênio foi observado mucilagem no parênquima, no colênquima (Figura 6C) e no

tricoma (Figura 6D), assim como utilizando o reagente azul de toluidina foi evidenciado nas mesmas estruturas (Figuras 6E), diferenciando da observação desse composto no tricoma utilizando o azul de toluidina.



A: Controle; B: Ácido Tânico/ Cloreto Férrico; C-D: Vermelho de Rutênio; E: Azul de toluidina. Fonte: Autoria própria.

Durante a análise histoquímica, foi identificado a presença de mucilagem em diferentes estruturas, como o parênquima, colênquima, canal secretor e tricoma. Vale ressaltar a coloração roxo-rósea da mucilagem, que apresentou pectina ao reagente azul toluidina (Quadro 2).

Quadro 2 - Comparação da histolocalização de mucilagem nas espécies vegetais.

ESPÉCIES	Reagentes			
	Ácido Tânico/Cloreto Férrico	Vermelho de Rutênio	Azul de Toluidina	
Caju (Anacardium occidentale)	Parênquima	Parênquima, parede celular e colênquima	Parênquima	
Manga (Mangifera indica)	Parênquima e canal secretor	Parênquima	Parênquima e canal secretor. E coloração roxo-rósea evidenciando pectina na mucilagem	
Fruta pão (Artocarpus altilis)	Parênquima	Epiderme, parede celular do parênquima, colênquima e tricoma	Parênquima medular, destacando a coloração roxo-rósea da mucilagem contendo pectinas	
Jaca (Artocarpus heterophyllus)	Parênquima	Parênquima e parede celular do colênquima	Parênquima	
Pitanga (Eugenia uniflora)	Epiderme, parênquima e canal secretor	Parede celular e parênquima	Epiderme, parênquima e canal secretor	
Goiaba (Psidium guajava)	Parênquima	Parênquima, colênquima e tricoma	Parênquima e colênquima	

Fonte: Dados das pesquisas (2024)

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados evidenciam que os reagentes embora sejam destinados a detecção de mucilagem, podem gerar diferentes resultados no que diz respeito à histolocalização desse composto e de sua natureza. Os testes com vermelho de rutênio embora corrobore os resultados dos testes com ácido tânico/ cloreto férrico e azul de toluidina evidencia especificamente a presença de pectinas nas espécies estudadas. Assim como o azul de toluidina que utilizado para evidenciar mucilagem, dependendo da coloração, pode evidenciar a composição da mucilagem presente nas espécies.

Além disso, através das buscas na literatura, ficou evidente a escassez de estudos que busquem identificar mucilagem nas espécies estudas para discutir com os resultados encontrados no presente estudo. Além disso, vale destacar que alguns estudos se concentram em extrair esse composto dos frutos das espécies para aplicação na indústria de alimentos.

Frente a estes fatos, ressalta-se a necessidade de trabalhos como esse, que buscam otimizar técnicas bastante utilizadas na histolocalização de mucilagem.

REFERÊNCIAS

ALBA, T. M. Aspectos morfo-anatômicos e histoquímicos de *Lantana fucata* L.(Verbenaceae). 2017. Disponível em:< https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/360>.

AMORIM, A. C. L. et al. Avaliação antinociceptiva e hipotérmica do óleo essencial de folhas e terpenóides isolados de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga Brasileira). **Fitomedicina**, v. 16, n. 10, p. 923-928, 2009.

AMOROZO, M. C. M.; GÉLY, A. **Uso de plantas medicinais por caboclos do baixo Amazonas Barcarena, PA, Brasil**. 1988. Disponível em < http://repositorio.museu-goeldi.br/handle/mgoeldi/310>

ANAS, K. et al. In vitro antibacterial activity of Psidium guajava Linn. leaf extract on clinical isolates of multidrug resistant Staphylococcus aureus. **Indian Journalof Experimental Biology**, n. 46, v. 1, p. 41-46, 2008.

ARAÚJO, W. M. C. et al. Alquimia dos Alimentos. Brasília: Senac, 2014.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L.(pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

BARROSO, G. M. et al. **Sistemática das Angiospermas do Brasil.** 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. v. 1, 309p.

BESCHORNER, A. B.; BÜNDCHEN, M. Análise anatômica e histoquímica das folhas de *Eugenia uniflora* L. **ScientiaTec**, v. 7 n. 3, p. 146-153, 2020.

BIANCHINI, E. et al. Diversidade e estrutura de espécies arbóreas em área alagável do município de Londrina, sul do Brasil. **Acta BotanicaBrasilica**, v.17, n.3, p.405-419, 2003.

BHARDWAJ, T. R. *et al.* Natural Gums and Modified Natural Gums as Sustained-Release Carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 10, p. 1025-1038, 2000.

BOTREL, R. T. et al. Influência do solo e topografia sobre as variações da composição florística e estrutura da comunidade arbóreo-arbustiva de uma floresta estacional semidecidual em Ingaí, MG. **Revista Brasileira Botânica**, v.25, n.2, p.195-213, 2002

BRISKIN, D. P. Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. **Plant Physiology**, v. 124, n. 2, p. 507-514, 2000.

CÁRDENAS, A.; ARGUELLES, W. M.; GOYCOOLEA F. M. Sobre o possível papel da mucilagem de Opuntia ficus-indica no desempenho da argamassa de cal na

- proteção de edifícios históricos. **Jornal da Associação Profissional para o Desenvolvimento de Cactus**, v. 3, p. 64-71, 1998.
- CARVALHO, L. S. Alterações clínicas e histológicas decorrentes de neurointoxicação por plantas medicinais. 2011. In: SEMINÁRIOS APLICADOS, Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2011.
- CLIFFORD, S. C. et al. Mucilages and polysaccharides in Ziziphus species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. **Journal of experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 131-138, 2002.
- CONSOLINI, A. E.; SARUBBIO, M. G. Efeitos farmacológicos do extrato bruto aquoso de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) no coração de rato. **Revista de etnofarmacologia**, v. 81, n. 1, pág. 57-63, 2002.
- COSTA, D. P. et al. Influência de biótipos de frutos na composição química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de folhas de *Eugenia uniflora*. **Revista da Sociedade Brasileira de Química**, v. 21, p. 851-858, 2010.
- CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. **Serviço de informação Agrícola**, v. 3, p. 340-345, 1926.
- DEMARCO, D. Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de Cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceael.s.). Dissertação de Mestrado, 226 p. Tese de Doutorado, 2005.
- DEOGADE, U. M.; DESHMUKH, V. N.; SAKARKAR, D. M. Natural Gums and Mucilage's in NDDS: Applications and Recent approaches. **International Journal of Pharm Tech Research**, v.4, p 799-814, 2012.
- DÍAZ-DE-CERIO, E. et al. Efeitos das folhas de *Psidium guajava* L. na saúde: uma visão geral da última década. **Jornal internacional de ciências moleculares**, v. 18, n. 4, p. 897, 2017.
- DÔRES, R. G. R. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d'anta** (*Dimorphandra mollis* **Benth.**). 2007. 374 f. Tese (Pós-graduação em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- FAHN, A. et al. Tecidos secretores em plantas. Imprensa Acadêmica., 1979.
- FELIPPE, G. Frutas: Sabor à Primeira Dentada. São Paulo: Editora Senac, 2005.
- FIGUEIREDO, A. C. S. et al. Histoquímica e citoquímica em plantas: princípios e protocolos. **Cell. Res**, v. 11, p. 640-643, 2007.
- GREGORY, M.; BAAS, P. Um levantamento das células da mucilagem nos órgãos vegetativos das dicotiledôneas. **Israel Journal of Botany**, v. 2-3, pág. 125-174, 1989.

- GOYCOOLEA, F.; CÁRDENAS, A. Pectins from opuntia spp.: a short review.

 Journal of the Professional Association for Cactus Development, v. 5, p. 17-29, 2004
- HEINZMANN, B. M.; BARROS, F. M. C. Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de fitomedicamentos tendo como exemplo *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae). **Saúde (Santa Maria)**, p. 43-48, 2007.
- HEYWOOD, V. H. et al. **Flowering plant families of the world**. Richmond Hill: Firefly Books, 2007. p. 225-226.
- CHEN, H-Y.; YEN, G-C. Atividade antioxidante e capacidade eliminadora de radicais livres de extratos de folhas de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Química dos Alimentos**, v. 101, n. 2, p. 686-694, 2007.
- JAGTAP, U. B.; BAPAT, V. A. *Artocarpus*: Uma revisão de seus usos tradicionais, fitoquímica e farmacologia. **Journal of ethnopharmacology**, v. 129, n. 2, p. 142-166, 2010.
- JANI, G. K. et al. Gomas e mucilagens: excipientes versáteis para formulações farmacêuticas. **Asiático J Pharm Sci**, v. 5, pág. 309-323, 2009.
- JYOTI, W. et al. Potencial de mucilagens vegetais em produtos farmacêuticos e terapia. **Entrega atual de medicamentos**, v. 10, n. 2, p. 198-207, 2013.
- KLEIN, D. E. et al. A estrutura dos coléteres em diversas espécies de *Simira* (Rubiaceae). **Anais de Botânica**, v. 94, n. 5, pág. 733-740, 2004.
- KOOCHEKI, A. et al. Propriedades reológicas da mucilagem extraída da semente de *Alyssum homolocarpum* como nova fonte de agente espessante. **Jornal de engenharia de alimentos**, v. 91, p. 490-496, 2009.
- LOZOYA, X. et al. Efeito antiespasmódico intestinal de um fitofármaco de *Psidium guajava* folia no tratamento de doença diarreica aguda". **Revista de Etnofarmacologia**, v. 83, n. 1-2, p. 19-24, 2002.
- MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; LIMA, A. S. L. **Processamento de frutas tropicais**. Fortaleza: Edições UFC, 2007.
- MARTINI, M. H.; LENCI, C. G.; TAVARES, D. Q. Bolsas de mucilagem em tecido cotiledonar de Theobroma speciosum. **Acta Microscópica**, v. 1, p. 56-70, 2003.
- MELO, R. M. et al. Identification of impact aroma compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) leafessentialoil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18, n.1, p.179-183, 2007.
- MENDES, Angela Maria Da Silva; DE MENDONÇA, Maria Sílvia. Análise anatômica e histoquímica de sementes maduras de Eugenia stipitata ssp. sororia Mc Vaugh (araçá-boi)-Myrtaceae. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77510-77522, 2020.

- MORTON, J.F. Mucilaginous plants and their uses in medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 3, p. 245-266, 1990.
- NWOKOCHA, C. R. et al. Possíveis mecanismos de ação do extrato aquoso das folhas de *Artocarpus altilis* (fruta-pão) na produção de hipotensão em ratos Sprague-Dawley normotensos. **Biologia Farmacêutica**, v. 50, n. 9, p. 1096-1102, 2012.
- OGUNWANDE, I. A. et al. Estudos sobre a composição, antibacteriana e citotoxicidade dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. **International Journal of Aromatherapy**, v.15, n.3, p.147-152, 2005.
- OLIVEIRA, A. L. et al. Volatile Compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v.99, n.1, p.1-5, 2005.
- OLIVEIRA, A. C. D. et al. Estimativa das propriedades do biodiesel metílico produzido a partir da pupunha e aspectos biotecnológicos. **Revista Principia-Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 59, n. 1, p. 41-51, 2022.
- PEREIRA, V. J.; KAPLAN, M. A. C. *Artocarpus*: um gênero exótico de grande bioatividade. **Floresta e Ambiente**, v. 20, p. 1-15, 2013.
- PAIVA, E. A.; MACHADO, S. R. Colleters em Caryocar brasiliense (Caryocaraceae) ontogênese, ultraestrutura e secreção. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 66, p. 301-308, 2006.
- PRADO, E. M. L. et al. Potencial terapêutico de plantas com mucilagens na cicatrização de feridas. **Tópicos Especiais em Ciência Animal VII**, v. 198, 2018.
- PIMENTEL, R. R.; MACHADO, S. R.; ROCHA, J. F. Estruturas secretoras de *Pavonia alnifolia* (Malvaceae), uma espécie ameaçada de extinção. **Rodriguésia**, v. 62, p. 253-262, 2011.
- PINTO, J. R. R.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; HAY, J. D. V. Influência do solo e da topografia na composição de uma comunidade arbórea em uma floresta de vale central do Brasil. **Edinburgh Journal of Botany**, v.62, n.1-2, p.69-90, 2005.
- QADRY, J. S. **Farmacognosia de Shah e Qadry**. Ahmedabad, Índia: B S Shah Prakashan, 2008.
- RANASINGHE, R. et al. Benefícios nutricionais e de saúde da jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.): uma revisão. **Jornal internacional de ciência alimentar**, v. 2019, 2019.
- RODWELL, V. W. et al. **Bioquímica Ilustrada de Harper**. New York, New York: AMGH, 2017. Único.
- RODRIGUES, R. R.; NAVE, A. G. Heterogeneidade florística das matas ciliares. In: RODRIGUES, R. R.; LEITÃO FILHO, H. F. (Eds.). **Matas ciliares**. São Paulo: EDUSP, p. 45-71, 2000.

ROSHCHINA, V. V.; ROSHCHINA, V. D. **The excretory fuction of higher plants**. Berlin, Springer-Verlag, 1993.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F. et al. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **R. Árvore**, v.30, n. 3, p. 481-489, 2006.

SÁ, R. D. et al. Comparative anatomy and histochemistry of the leafblade of two species of *Artocarpus*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 1, p. e20170922, 2019.

SCHAPOVAL, E. E. et al. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia* uniflora L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 44, n. 3, p. 137-142, 1994.

SEYFRIED, M. et al. Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 1, p. 201-214, 2016.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS Editora, Florianópolis: Editora da UFSC, 2007, 1104 p

THOMAS, V.; DAVE, Y. Modo de secreção nos coléteres de *Alstonia scholaris* (Apocynaceae). **Phyton (Corno)**, v. 2, p. 209-212, 1990.

VENTRELLA, M. C. et al. **Métodos histoquímicos aplicados às sementes**. Viscoça: Ed. UFV,2013

VICTORIA, F. N. et al. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L. antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, n.8, p.2668-2674, 2012.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**: a vida em nível molecular. [s.l]: Artmed, 2014. Único.

WILSON, P. G. Myrtaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). **Flowering plants**. Eudicots: The families and genera of vascular plants. v.10. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2011. p.212-271

YEOLE, P. g. et al. Design and evaluation of *Xanthan* gum-based sustained release Matrix tablets of Diclofenac sodium. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, n. 2, p. 185, 2006.