

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**Fernando Henrique Marques Costa**

**CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS DE BOLDOS  
*IN NATURA* E PRODUTOS COMERCIAIS DERIVADOS DO BOLDO**

**Diamantina**

**2017**

**Fernando Henrique Marques Costa**

**CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS DE BOLDOS  
*IN NATURA* E PRODUTOS COMERCIAIS DERIVADOS DO BOLDO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério  
Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Gevany Paulino de Pinho

**Diamantina**

**2017**

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM

Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa CRB-6/2972

C837c Costa, Fernando Henrique Marques.  
Caracterização da composição química de extratos de boldos *in natura* e produtos comerciais derivados do boldo / Fernando Henrique Marques Costa – Diamantina, 2017.  
66 p. : il.

Orientador: Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério  
Coorientador: Prof. Dr. Gevany Paulino de Pinho

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Química) –Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

1. *V. condensata*. 2. *P. barbatus*. 3. *P. boldus*. 4. Plantas medicinais.  
5. Boldo. I. Silvério, Flaviano Oliveira. II. Pinho, Gevany Paulino de. III.  
Título.

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

**Fernando Henrique Marques Costa**

**CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS DE BOLDOS  
*IN NATURA* E PRODUTOS COMERCIAIS DERIVADOS DO BOLDO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério  
Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Gevany Paulino de Pinho

Data de aprovação 14/06/2017.

---

Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério  
Instituto de Ciências Agrárias- UFMG

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gevany Paulino de Pinho  
Instituto de Ciências Agrárias- UFMG

---

Prof. Dr. Ulisses Alves Pereira  
Instituto de Ciências Agrárias – UFMG

**Diamantina**

**2017**

## DEDICATÓRIA

---

Dedico este trabalho aos meus pais, Sérgio e Rosaura.

Aos meus amigos, Luciano e Wagner

Às minhas tias, Michele e Raquel.

Aos meus avós, Terezinha e Orlando.

Ao meu orientador, Prof. Flaviano.

E a Deus, por estar presente em minha vida.

## AGRADECIMENTOS

---

Ao meu orientador, professor Flaviano, por ter me acolhido em seu laboratório com carinho e respeito.

À professora Gevany, pelas sugestões ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

A Ane e Érica, pela paciência, acolhimento e incentivo durante o desenvolvimento do trabalho. A força que vocês me deram foi importante para o meu crescimento e amadurecimento.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri pela oportunidade.

À Universidade Federal de Minas Gerais por ter proporcionado a realização deste trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida.

Ao CNPQ e a FAPEMIG pelo apoio.

## AGRADECIMENTOS

---

A Deus e a Maria por ter me dado força e coragem para superar todos os obstáculos que enfrentei durante a minha trajetória no mestrado.

Aos meus amados pais que me deram a vida, se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus.

À professora Roqueline pelos ensinamentos, amizade e carinho maternal.

Ao professor Leandro por toda a ajuda durante o mestrado.

Aos meus avós, Celeste, Dalberto, Orlando e Terezinha por estarem sempre presentes. Nada me faz mais feliz do que conhecer a vida através dos seus exemplos.

À minha família pelo apoio. Cada um tem sua peculiaridade que me fez aprender algo diferente.

Aos meus tios Michele, Raquel e Ricardo que me ampararam quando eu mais precisei.

Aos meus amigos, Bárbara, Bruna, Dilton, Guilherme, Letícia, Luciano, Marcos, Tarciane, e Wagner, pela amizade e por todos os momentos bons que passamos juntos. Vocês são um dos melhores pedaços da minha vida.

Aos amigos que fiz durante a minha vida acadêmica, Camila, Gabriele, Mainara, Maísa, Mariana, Natalha, e Paulo. Obrigado por tudo!

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*



**RESUMO**

---

O consumo popular do boldo (*P. boldus*) é feito com fins medicamentosos para tratar problemas relacionados ao fígado e a má digestão. Apesar de ser uma planta mundialmente conhecida, no Brasil outras espécies também recebem o nome de boldo, portanto é comum a confusão entre os seus vários tipos. Nesse contexto, o presente estudo objetiva estudar a composição química dos extratos de duas espécies de boldos (*V. condensata* e *P. barbatus*) e quatro produtos comerciais (boldo, eparema, hepatilon, e chá de boldo) provenientes do *P. boldus*. Além disso, é feita uma comparação dos extratos com os produtos comerciais. As folhas das espécies *V. condensata* e *P. barbatus* foram submetidas à maceração para o preparo dos extratos aquoso (EA) em duas temperaturas (25 e 100 °C), etanólico (EE) e hexânico (EH) na proporção de 1:10 (amostra/solvente). Para o preparo dos produtos comerciais, cinco amostras de 10 mL de cada produto, de mesmo lote, foram misturadas e armazenadas em frasco âmbar. Tanto os extratos preparados quanto os produtos comerciais foram secos em fluxo de ar e aquecimento para posterior derivatização antes da análise por CG-EM. Os extratos polares foram os que extraíram a maior quantidade de compostos, destacando-se os extratos aquosos que se assemelham aos produtos comerciais. Os carboidratos foram os compostos majoritários nas duas espécies e nos quatro produtos comerciais. Em relação aos ácidos graxos, estes foram identificados em maiores quantidades nos extratos hexânicos, e os compostos aromáticos, apenas nos produtos comerciais. Ao final do estudo, concluiu-se que a técnica da derivatização e posterior análise por CG-EM se mostrou eficiente na identificação de compostos presentes nas espécies do boldo e nos produtos comerciais que não foram encontrados na literatura.

**Palavras-chave:** *V. condensata*, *P. barbatus*, *P. boldus*, plantas medicinais, boldo.

## ABSTRACT

---

The popular consumption of boldo (*P. boldus*) is made for medical purposes to treat problems related to liver and poor digestion. In spite of being a world-known plant, in Brazil other species also receive the name of Boldo, therefore is common the confusion between its several types. In this context, the present study aims to study the chemical composition of the extracts of two species of boldos (*V. condensata* and *P. barbatus*) and four commercial products (boldo, eparema, hepatilon, and boldo) from *P. boldus*. In addition a comparison of the extracts with the commercial products is made. The leaves of the species *V. condensata* and *P. barbatus* were submitted to maceration to prepare aqueous extracts (EA) at two temperatures (25 and 100 ° C), ethanolic (EE) and hexane (EH) in the ratio of 1:10 (Sample / solvent). For the preparation of the commercial products, five 10 ml samples of each product of the same batch were mixed and stored in an amber bottle. Both the prepared extracts and the commercial products were dried in air stream and heated for further derivatization prior to GC-MS analysis. The polar extracts were the ones that extracted the largest amount of compounds, standing out the aqueous extracts that resemble the commercial products. Carbohydrates were the major compounds in both species and in the four commercial products. In relation to fatty acids, these were identified in greater amounts in the hexane extracts, and the aromatic compounds, only in commercial products. At the end of the study, it was concluded that the technique of derivatization and subsequent analysis by CG-EM was efficient in identifying compounds present in Boldo species and in commercial products that were not found in the literature.

**Keywords:** *V. condensata*, *P. barbatus*, *P. boldus*, medicinal plants, boldo.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BSTFA	((N, O-bis (trimetilsilil)-trifluoroacetamida)
CG	Cromatografia gasosa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
EA25	Extrato aquoso a 25°C
EA100	Extrato aquoso a 100°C
EE	Extrato etanólico
EH	Extrato hexânico
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos
HPLC-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
OMS	Organização Mundial da Saúde
PI	Padrão interno
TMCS	Trimetilclorosilano

## LISTA DE SÍMBOLOS

---

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
g	Gramas
°C	Graus Celsius
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{m}$	Micrômetro
mg	Miligramas
$\text{mg L}^{-1}$	Miligramas por litro
mL	Militros
$\text{mL min}^{-1}$	Militros por minuto
min	Minutos
m	Metros
%	Porcentagem

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1: Fotografia da espécie <i>V. condensata</i> .....	17
Figura 2: Fotografia da espécie <i>P. barbatus</i> .....	19
Figura 3: Estrutura química do ácido rosmarínico. ....	21
Figura 4: Fotografia da espécie <i>P. boldus</i> <sup>1</sup> . ....	23
Figura 5: Estrutura química da boldina. ....	26
Figura 6: Mecanismo da reação de sililação.....	32
Figura 7: Fotografia do processo de secagem dos extratos. ....	34
Figura 8: Fotografias dos produtos comerciais do boldo. ....	34
Figura 9: Fotografia do produto comercial do chá de boldo. ....	35
Figura 10: Cromatogramas de íons totais dos extratos (a) hexânico, (b) etanólico, (c) aquoso 25 °C e (d) aquoso 100 °C para a espécie <i>V. condensata</i> com PI (padrão interno). ....	37
Figura 11: Classes químicas (em %) presentes nos extratos da espécie <i>V. condensata</i> .....	39
Figura 12: Cromatogramas de íons totais dos extratos (a) hexânico, (b) etanolico, (c) aquoso 25 °C e (d) aquoso 100 °C para a espécie <i>P. barbatus</i> com PI (padrão interno). ....	42
Figura 13: Classes químicas (em %) presentes nos extratos da espécie <i>P. barbatus</i> .....	44
Figura 14: Cromatogramas de íons totais dos produtos comerciais à base da espécie <i>P. boldus</i> (a) boldo, (b) hepatilon, (C), eparema e (d) chá de boldo. ....	46
Figura 15: Classes químicas (em %) presentes nos produtos comerciais.....	50
Figura 16: Comparação entre as quantidades das substâncias detectadas nos extratos aquosos a 25 °C (a) e a 100 °C (b) com os produtos comerciais (EAV25 e EAV100- extrato aquoso a 25 e 100 °C da espécie <i>V. condensata</i> , EAPB25 e EAPB100- extrato aquoso a 25 e 100 °C..	51
Figura 17: Comparação (em %) de carboidratos encontrados nos extratos aquosos das espécies <i>V. condensata</i> (EAV), <i>P. barbatus</i> (EAPB) a 25 e 100 °C, e nos produtos comerciais (PC).....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Área relativa dos compostos detectados nos extratos da espécie <i>V. condensata</i> . ....	38
Tabela 2: Área relativa dos compostos detectados nos extratos da espécie <i>P. barbatus</i> . ....	43
Tabela 3: Área relativa dos compostos detectados nos produtos comerciais à base da espécie <i>P. boldus</i> . ....	47

## SUMÁRIO

---

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1 Objetivos gerais .....	14
2.2 Objetivos específicos .....	14
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>15</b>
3.1 Plantas medicinais .....	15
3.1.1 <i>Vernonia condensata</i> .....	17
3.1.2 <i>Plectranthus barbatus</i> .....	18
3.1.3 <i>Peumus boldus</i> .....	23
3.2 O preparo dos extratos .....	29
3.3 Identificação de compostos em plantas .....	30
3.4 Método da derivatização .....	31
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>33</b>
4.1 Materiais e reagentes .....	33
4.2 Preparo dos extratos do boldo <i>in natura</i> .....	33
4.3 Preparo dos produtos comerciais .....	34
4.4 Derivatização .....	35
4.5 Condições Cromatográficas .....	35
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
5.1 Caracterização dos extratos da espécie <i>V. condensata</i> .....	36
5.2 Caracterização da espécie <i>P. barbatus</i> .....	40
5.3 Caracterização dos produtos comerciais .....	44
5.4 Comparação entre os extratos aquosos das duas espécies do boldo: <i>V. condensata</i> e <i>P. barbatus</i> com os produtos comerciais .....	51
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>54</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

---

Desde os tempos mais antigos, os usuários de plantas medicinais, mantêm em propagação a prática da oralidade, fornecendo informações terapêuticas que foram acumuladas durante séculos (AMARAL, 2011)

Toda planta medicinal é um recurso terapêutico utilizado para aliviar sintomas ou curar doenças. Já o medicamento é um agente, obtido ou elaborado tecnicamente com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, sendo caracterizado pelo conhecimento científico de sua eficácia e segurança assim como pela sua qualidade. Desta forma, quando se consome um chá, o organismo é exposto aos efeitos de substâncias ativas presentes na planta, entretanto, quando se consome medicamentos alopáticos está-se consumindo algo que já foi previamente estudado com vistas a identificar sua eficiência no tratamento de doenças e a segurança do seu uso, podendo mesmo assim apresentar efeitos colaterais (COAN; MATIAS, 2013).

Neste sentido, a utilização de plantas para tratamento de enfermidades, desde seu uso por meio de infusão até a produção de fitoterápicos ou chás, provoca o interesse de investigações científicas, que buscam identificá-las e documentá-las a fim de que possam ser utilizadas no setor de saúde pública, assegurando a melhor qualidade dos serviços prestados (PIRES *et al.*, 2014).

Os produtos terapêuticos naturais e seus metabólitos secundários têm sido a fonte mais bem sucedida para a origem de novos fármacos. Tendo em vista que menos de 10% da biodiversidade mundial foi testada para uma potencial atividade biológica, muitos compostos de origem natural ainda esperam para serem descobertos e isto se torna um desafio tendo como base a diversidade química que ainda precisa ser acessada (DIAS *et al.*, 2012).

No Brasil, o elevado consumo de plantas se deve, principalmente, à riqueza e à variedade de espécies, distribuídas em diferentes ecossistemas, refletindo em diferentes formas de utilização terapêutica desses recursos naturais (CARVALHO, 2014).

Três espécies que merecem destaque por serem muito utilizadas principalmente no tratamento de problemas relacionados ao sistema digestivo são *Peumus boldus* (verdadeiro boldo) pertencente à família Lamiaceae, o *Plectranthus barbatus* (falso boldo) pertencente à família Monimiaceae e a *Vernonia condensata* (boldo baiano), da família Asteraceae, todas pertencentes à planta boldo. O *P. barbatus* e a *V. condensata* são espécies muito cultivadas no Brasil; por sua vez, a *P. boldus* é encontrada no Chile (AMARAL, 2011).



As folhas de boldo destinam-se a vários usos medicinais tradicionais, como por exemplo, tratar a vesícula biliar, problemas hepáticos, distúrbios digestivos, reumatismo, dentre outros. Na literatura, a ação gástrica do boldo foi confirmada pelo aumento da excreção de suco gástrico, diuréticos e excreção de ácido úrico, mas muitos outros estudos confirmam suas propriedades citoprotetoras, anti-inflamatórias, antipiréticas, antiateroscleróticas, antimicrobianas, hipoglicêmicas e antioxidantes (TEIXEIRA *et. al.*, 2016).

O consumo popular do boldo seja através de infusão, ou de preparações comerciais é feito com fins medicamentosos para remediar problemas relacionados ao fígado. É necessário que haja a correta identificação de qual espécie está sendo utilizada, bem como se conheçam os compostos presentes nos extratos para que seu uso seja feito de forma não prejudicial à saúde humana (MACIEL, 2002).

Nesse contexto, uma das técnicas utilizadas para a identificação de substâncias presentes em plantas é a cromatografia acoplada à espectrometria de massas. Entretanto, neste estudo, será feita a derivatização como forma de modificar a estrutura dos compostos a fim de ampliar o leque de substâncias já encontradas no boldo (PRATA; AUGUSTO, 2016).

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 Objetivos gerais

- Estudar a composição química dos extratos de duas espécies de boldos e quatro produtos comerciais provenientes desta planta.

### 2.2 Objetivos específicos

- Estudar a composição química dos extratos do boldo baiano (*V. condensata*) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- Estudar a composição química dos extratos do boldo-da-terra (*P. barbatus*) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- Estudar a composição química de quatro produtos comerciais (hepatilon, eparema, boldo e chá de boldo) oriundos do boldo-do-chile (*P. boldus*) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- Comparar a composição química dos extratos das duas espécies de boldo com os produtos comerciais.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

#### 3.1 Plantas medicinais

Segundo Veiga Jr. *et al.* (2005), planta medicinal é todo e qualquer vegetal que possui substâncias que podem ser empregadas com finalidades terapêuticas ou que servem de precursores de fármacos semi-sintéticos.

Desde os primórdios da humanidade, as plantas medicinais são utilizadas para o tratamento e cura de doenças (CÉSAR *et al.*, 2014).

Muitas das descobertas de suas propriedades terapêuticas ocorreram ao acaso e o conhecimento popular foi repassado de geração em geração através da oralidade. Ainda hoje, por vezes, as plantas medicinais são o único recurso terapêutico de muitas comunidades. Isso acontece principalmente com pessoas de baixa renda, que encontram nelas uma alternativa diante das dificuldades de acesso à saúde pública e de obtenção de medicamentos gratuitos (AMARAL, 2011).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), no início do século XXI, cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam do uso das plantas para os cuidados básicos da saúde. Essa realidade se deve, além das dificuldades de acesso à medicina farmacológica, à forte tradição do uso de plantas e à facilidade em que estas podem ser obtidas (PINTO, 2002; MOREIRA, 2010).

Segundo Maciel (2002), já foi realizado diversos estudos que comprovam a eficácia das plantas para o tratamento de doenças. Exemplos desta utilização podem ser encontrados na literatura como é o caso de Freitas *et al.* (2014) que testaram um creme contendo *Aloe vera* a 5% em pacientes que apresentaram queimaduras de segundo grau. Os resultados foram satisfatórios em relação ao mesmo creme contendo sulfadiazina, pois mostraram uma cicatrização e reepitalização da pele em um menor tempo.

Lorenzi e Matos (2008) explicaram que o guaco (*Mikania glomerata*) possui propriedades antipiréticas e antigripais. Além disso, estudos feitos por Teske e Trentini (1997) mostraram seu emprego no tratamento de bronquite e combate à tosse. Conforme Souza (2008), a espécie *Matricaria chamomilla*, conhecida popularmente como camomila, além de ser usada como calmante, apresenta atividade anti-inflamatória. E, por fim, Brant (2008) explica que o citral, componente principal da erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) é

responsável pela ação relaxante, além de ser uma planta muito útil para tratar problemas estomacais e fortalecer o sistema imunológico.

Estas e muitas outras espécies são utilizadas para o tratamento de diversas doenças. Isso ocorre devido às substâncias presentes na planta que exercem determinadas ações farmacológicas. Estas são chamadas de princípios ativos e são sintetizados via metabolismo secundário das plantas (FIRMO 2012; SADAT-HOSSEINI, 2017).

De uma forma geral, o metabolismo é um conjunto de reações que ocorrem nas células (SIMÕES *et al.*, 2010). Nas espécies vegetais, sabe-se que há o metabolismo primário e o secundário. A diferença entre eles se deve ao destino em que as substâncias são sintetizadas. Aquilo que é essencial para o crescimento e a manutenção de um organismo é sintetizado via metabolismo primário. São carboidratos, lipídios, ácidos nucleicos e proteínas (SILVA, 2008).

O metabolismo secundário é um conjunto de reações que proporcionam a síntese de substâncias que não estão envolvidas diretamente nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos. Estes compostos sintetizados, que incluem fenólicos, terpenos e alcaloides, são chamados de metabólitos secundários (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os metabólitos secundários aumentam as chances de sobrevivência e perpetuação das espécies em um determinado local. São responsáveis por várias atividades biológicas e podem atuar, como antibióticos, antifúngicos e antivirais, com o propósito de proteção contra patógenos. Por esses motivos, têm sido muito utilizados na medicina popular, principalmente em medicamentos e cosméticos (FUMAGALI *et al.*, 2008).

Além disso, fatores como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos e ataque de patógenos são responsáveis por alterar a síntese desses compostos (GLOBBONETO, 2007).

A grande busca por plantas, principalmente pelas populações de baixa renda, incentivou a indústria farmacêutica a investir na produção de novos fármacos. Estes costumam ser indicados com frequência, pois a definição das doses terapêuticas e tóxicas é feita com segurança (JÚNIOR *et al.*, 2005).

Assim como ocorre com os medicamentos fitoterápicos, a administração inadequada de plantas medicinais pode ocasionar reações negativas no organismo, já que as mesmas contêm substâncias que, em doses inadequadas, podem causar efeitos nocivos à população (ANVISA, 2006).

### 3.1.1 *Vernonia condensata*

Trata-se de uma planta medicinal de arbusto grande ou arvoreta, pouco ramificada, de ramos quebradiços de 2-4 metros de altura. As folhas são simples, membranáceas, glabras, de 5-12 centímetros de comprimento com flores discretas, de coloração esbranquiçada, reunidas em pequenas panículas terminais e axilares de capítulos alongados (Figura 1). As folhas têm sabor amargo seguido de sabor adocicado quando mastigadas (MONTEIRO *et al.*, 2001).

**Figura 1: Fotografia da espécie *V. condensata*.**



Fonte: Do autor.

A *Vernonia condensata* (boldo baiano) pertence à família Asteracea que contempla aproximadamente 1.535 gêneros, incluindo 23.000 espécies, representadas na sua maioria por ervas, arbustos e subarbustos (BARREDA *et al* 2015).

Em relação às composições químicas desta espécie são documentadas as presenças de ácidos graxos, taninos, saponinas, glicosídeos cardiotônicos (vernonina), flavonoides, alcaloides e lactonas sesquiterpênicas (IGANCI *et al.*, 2006).

Várias espécies do gênero *Vernonia* são usadas na medicina tradicional, principalmente na América do Sul, Central, bem como na África. *V. amygdalina*, *V. condensata*, *V. cineria*, *V. guineensis* e *V. conferta* são as mais utilizadas. Além disso, algumas espécies podem ser empregadas como alimentos, destacando-se *V. amygdalina* e *V. colorata*, sendo consumidas como vegetais (BURKILL, 1985; IWU, 1993).

No Brasil, *Vernonia condensata* é uma das espécies de *Vernonia* mais frequentemente usadas na medicina popular para várias indicações, tais como distúrbios gastrintestinais, dor de cabeça e estimulante do apetite. A espécie *Vernonia condensata* é nativa possivelmente da África e trazida ao Brasil ainda nos tempos coloniais pelos escravos. Os nomes populares mais comuns são boldo, boldo grande, assa-peixe, figatil, macelão, alumã, etc. (LORENZI; MATOS, 2002).

Alguns usos tradicionais das folhas de *Vernonia condensata* podem ser justificados por dados fornecidos por estudos farmacológicos. Em alguns estudos, demonstrou-se que extratos aquosos de suas folhas possuem propriedades analgésicas e inibem as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos (FRUTUOSO *et al.*, 1994).

O extrato aquoso mostrou também ação protetora da mucosa gástrica dos efeitos ulcerogênicos provocados pelos anti-inflamatórios não-esteroidais indometacina e ácido acetilsalicílico. O pré-tratamento com extrato aquoso também é capaz de inibir o edema da pata e a hiperalgesia, induzidos por carragenina em ratos, assim como a peritonite induzida por caulim em camundongos (FRUTUOSO *et al.*, 1994).

Tal como as demais espécies mencionadas anteriormente, o uso de *V. condensata* deve ser feito com cuidado. Estudos sugerem, com base no uso popular da espécie como vegetal folhoso, que esta é considerada segura (TOYANG; VERPOORTE, 2013). Porém, a literatura aponta alguns efeitos adversos. Kamatenesi-Mugisha e Oryem-Origa (2007) relataram que as folhas ou raízes da planta, quando mastigadas, podem provocar abortos nos três primeiros meses. Fred-Jaiyesimi e Ajibesin (2012), em trabalho etnofarmacológico relatam que o uso oral da planta pode provocar coceira na língua. Além disso, Giday *et al.* (2003) relacionaram o uso popular da espécie no tratamento de feridas cutâneas a vômitos e diarreia.

### **3.1.2 *Plectranthus barbatus***

É uma planta medicinal de porte arbustivo, dotada de folhas largas, aveludadas ao toque, com bordas denteadas nas folhas maiores (Figura 2), conhecida no Brasil como “falso boldo” ou boldo brasileiro (LORENZI; MATOS, 2002; LUKHOBBA *et al.*, 2006). Atinge 1-1,5 metros de altura (COSTA; NASCIMENTO, 2003), e é originária do nordeste da África (RICE *et al.*, 2011). Pertence à família Monimiaceae, compreendendo de 25 a 30 gêneros e aproximadamente 300 espécies (COSTA, 2010).

**Figura 2: Fotografia da espécie *P. barbatus*.**



Fonte: Do autor.

No que diz respeito à família Lamiaceae há uma série de discussões quanto a sua taxonomia, em virtude da dificuldade de classificação apenas por aspectos botânicos de muitos de seus gêneros e espécies. São conhecidos diversos gêneros que são sinônimos entre si, com espécies nitidamente relacionadas como é o caso do próprio Boldo Brasileiro (*Plectranthus barbatus*), que também é reportado como sendo *Plectranthus forskolii* Briq., *Coleus barbatus* Benth ou ainda *Coleus forskolii* Wild (LORENZI; MATOS, 2002; LUKHOBA *et al.*, 2006).

Em uma revisão dos usos etnomedicinais do gênero, Lukhoba *et al.* (2006) são unânimes de que *Plectranthus* sp. e *Coleus* sp. constituem o mesmo gênero, elucidando ainda que a espécie *P. barbatus* e a *C. forskolii* são a mesma espécie, opinião reforçada por outros autores que vêm realizando estudos fitoquímicos no gênero (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Cunha *et al.* (2003) citam que as espécies são diferentes pelo fato de uma produzir o diterpeno forskolina (*C. forskolii*) enquanto que a outra não o faz (*C. barbatus*). Este detalhe é comentado por Schultz *et al.* (2007), que reconhecem ambas como sendo a mesma planta, embora descrevam a presença de diterpenos abietanos nos cultivares brasileiros (neste caso a

forskolina está presente em quantidades muito pequenas) ao passo que os cultivares indianos detêm diterpenos labdanos, onde a forskolina é majoritária.

Alasbahi e Melzig (2010) em uma revisão do uso etnobotânico, da fitoquímica e farmacologia do *Plectranthus barbatus* enfatizam que o gênero *Plectranthus* sp atualmente engloba o gênero *Coleus* sp. (consequentemente reconhecendo *C. forskohlii* como sinônimo de *P. barbatus*) e que as variações fitoquímicas estão ligadas aos diferentes locais de cultivo desta espécie no mundo.

A possibilidade de haver diferenças fitoquímicas com base em fatores climáticos, edáficos, na sazonalidade e mesmo de quimiotipos é um fato bem documentado não apenas nesta planta como em diversas outras plantas medicinais conhecidas e tem demandado uma atenção cada vez maior para se restringir as espécies e delimitar seus marcadores (GLOBONETO; LOPES, 2007).

O fato de *Plectranthus barbatus*, Andrew, ser uma planta de fácil crescimento e aclimação favoreceu sua disseminação em outras localidades da sua origem, incluindo o Brasil. Acredita-se que esta planta tenha sido importada por escravos africanos, que já a utilizavam em cultos religiosos e também conheciam seus efeitos medicinais digestivos, cicatrizantes, béquicos, urinários e contra dores de cabeça. A similaridade de aroma, sabor e efeitos digestivos para com o Boldo-do-Chile, o fato de ser mais facilmente cultivável que a espécie chilena e de ambos serem comumente preparados como infusos pode ter contribuído para que o boldo brasileiro se tornasse uma das plantas mais populares e citadas em pesquisas etnobotânicas recentes (PILLA *et al.*, 2006; SCHULTZ, 2007; FALÉ *et al.*, 2009).

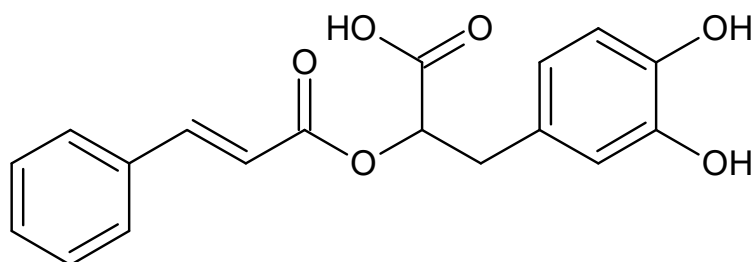
Embora se trate de uma planta muito popular no Brasil, ainda não se encontra catalogada em nenhuma farmacopéia de referência como a Farmacopéia Brasileira (FB), Farmacopéia dos Estados Unidos (*United States Pharmacopoea* ± USP), Farmacopéia Britânica (*British Pharmacopoea* ± BP) e a ESCOP (*European Scientific Cooperative on Phytoterapy*), exceto a Farmacopéia Ayurvédica Indiana, e por isso os diversos estudos fitoquímicos do boldo brasileiro tem se concentrado em elucidar seus componentes nas folhas, caules e raízes desta planta, sendo as folhas e raízes apontadas como as drogas usuais. Não há ainda, contudo, uma padronização quanto a seus constituintes para fins medicinais ou funcionais, embora esta planta já esteja inclusa na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS), o que representa um primeiro passo no delineamento de sua padronização no país (CFF, 2009). Somado a isto, os parâmetros de segurança, eficácia e qualidade para com o boldo brasileiro demandam reforço com a publicação da Portaria nº 2.960/2008 que estabelece o Programa Nacional de Plantas e Fitoterápicos e, uma vez que



diferenças fitoquímicas são constatadas nos diferentes cultivares, a necessidade de padronização de sua procedência é enfática (BRASIL, 2008; ALASBAHI; MELZIG, 2010).

A *P. barbatus* é constituída por diterpenoides, compostos fenólicos e óleos essenciais, sendo seu principal constituinte o ácido rosmarínico (Figura 3), responsável pela atividade oxidante e pela inibição da enzima acetilcolinesterase, uma enzima que quebra a acetilcolina, neurotransmissor encontrado no cérebro que é responsável, entre outros, pelos impulsos nervosos (AMARAL, 2011).

**Figura 3: Estrutura química do ácido rosmarínico.**



Fonte: Do autor.

As folhas albergam um baixo rendimento (cerca de 0,05%) de óleos essenciais a despeito do aroma intenso e característico do boldo brasileiro. Dentre os componentes já isolados e identificados, 95% da composição, estão os monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides: acetato de fenila, capaeno, aromadendieno, borneol, ledol,  $\gamma$ -cadineno, trans-cariofileno, hidrato decalameneno, hidróxi-calameneno, mirceno,  $\beta$ -ocimeno, eremofileno e humulenona (COSTA; NASCIMENTO, 2003). Além destes, também é relatada a presença majoritária de  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -felandreno, manol e do diterpeno abietatrieno, presentes não só nas folhas como também nas raízes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Entretanto, estes compostos não são reputados como os principais responsáveis pelas ações farmacológicas desta planta, uma vez que a maioria das preparações se baseia em infusos e os compostos voláteis são facilmente perdidos. Desta forma compostos mais estáveis seriam os promotores das ações reputadas desta planta (FALÉ *et al.*, 2009).

Grayer *et al.* (2010) reportam que o gênero *Plectranthus* sp. compreende numerosos flavonoides em suas folhas, em sua maioria flavonóis, flavanonas e flavonas. Dentre estes fenólicos reportados, estão flavonóis com grupamentos metil-éter, além da presença de hidroxilas e metoxilas. Alguns destes flavonoides já identificados são: quercetina e seus derivados (ayanina, chrisosplenol D e casticina), apigenina e seus derivados (genkwanina, acacetina), scutellareína e seus derivados (salvigenina, ladaneína e cirsimaritina).

Dentre os constituintes já identificados, a maioria apresenta ação farmacológica comprovada *in vitro* e *in vivo*, algumas bem distintas entre os diterpenos labdanos: ação hipotensora, digestiva (estimulante, antiulcerosa), antimicrobiana, anti-helmíntica, anticâncer, antiprotozoária, hipoglicêmica e até mesmo antiviral (COSTA, 2006; SCHULTZ *et al.*, 2007; BODIWALA *et al.*, 2009).

Na medicina, suas folhas são muito utilizadas para tratar distúrbios gastrointestinais e problemas respiratórios. Pode ser empregada como anti-hipertensivo e analgésico em substituição ao boldo-do-chile, o que estimulou o interesse por um estudo fitoquímico. É importante ressaltar que em países africanos, a *P. barbatus* é usada como remédio para HIV/AIDS (KAPEWANGOLO *et al.*, 2013).

Nos preparados na forma de infusos, as atividades digestivas do boldo brasileiro que são reputadas pela população, envolvem desde a proteção gástrica (via inibição da bomba de prótons), o estímulo de salivação (devido ao amargor) e das secreções hepáticas biliares, bem como a hepatoproteção. Battochio *et al.* (2008) avaliaram a capacidade hepatoprotetora de extratos aquosos de *Coleus barbatus* em ratos *Wistar* constatando efeito positivo em modelos de cirrose biliar secundária e obstrução biliar extra-hepática. Já a atividade protetora estomacal foi investigada por Schultz *et al.* (2007), que constataram a capacidade dos extratos aquosos (infusos) inibirem o sistema  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase em camundongos, sendo o diterpeno abietanoplectrinona A considerado o seu principal responsável.

Dentre outros constituintes presentes em extratos aquosos e que também determinam as ações marcantes do *Plectranthus barbatus*, há o cóleon E, o ácido rosmarínico e o flavonoide glicosilado escutellareína 4'-metil éter 7-O-glicuronídeo, considerados os responsáveis pela ação antioxidante e, conseqüentemente hepatoprotetora, além de inibição enzimática (FALÉ *et al.*, 2009).

Segundo Mota *et al.* (2014, p. 720), “apesar dos consideráveis dados já disponíveis, a química do gênero não é suficiente para validar os usos tradicionais de sua espécie”. Desta forma, estes autores isolaram e caracterizaram os óleos voláteis de três espécies do gênero *Plectranthus*: *P. barbatus*, *P. ornatus* e *P. neochilus* demonstrando uma baixa atividade antioxidante e antimicrobiana não justificando seu uso tradicional. Sugerem-se então estudar outros extratos desta planta com o objetivo de avaliar os componentes que podem contribuir para seu uso popular.

Em relação à toxicologia, o fato de ser uma planta profundamente enraizada na cultura popular, onde seu consumo é bem descrito, tem levantado muitas questões acerca da segurança de seu uso. Os primeiros estudos *in vivo* dos efeitos adversos de extratos etanólicos,

metanólicos e aquosos de *Plectranthus barbatus*, constataram indícios de ação abortiva, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e carcinogenicidade. Tais levantamentos corroboram o uso popular desta planta para interromper a gravidez e salientam o problema do consumo inadvertido de uma planta ainda não padronizada em nenhuma farmacopéia de referência, a despeito de seu potencial farmacológico (MENGUE *et al.*, 2001; COSTA, 2002).

Alasbahi e Melzig (2010) em recente revisão do *Plectranthus barbatus* enfatizam que a maioria dos estudos toxicológicos desta planta se baseia em doses excedentes de forskolina. Entre as reações adversas importantes são descritas os seguintes resultados de ensaios *in vivo*: depressão do sistema nervoso central e ação no citocromo CYP3A com interferência no metabolismo de diversos fármacos. O uso concomitante de outras fitoterapias é desaconselhado, bem como o uso de forskolina em pacientes com doença renal policística.

### 3.1.3 *Peumus boldus*

É uma planta endêmica e dioica, conhecida popularmente como boldo-do-chile (Figura 4) que pode ter entre 3-8 metros de altura (SIMIRGIOTIS; HIRSCHMANN, 2010). Pertence à família Monimiaceae e é encontrada em regiões típicas de florestas esclerófilas (VERDEGUER *et al.*, 2011).

**Figura 4: Fotografia da espécie *P. boldus*<sup>1</sup>.**



Fonte: Do autor.

Os aspectos geoclimáticos das diferentes regiões andinas onde o Boldo-do-Chile cresce são reportados como elementos influentes no crescimento da planta, pois as condições

---

<sup>1</sup> Disponível em: <[http://tcf.bh.cornell.edu/imgs/jdelaet/r/Monimiaceae\\_Peumus\\_boldus\\_33808.html](http://tcf.bh.cornell.edu/imgs/jdelaet/r/Monimiaceae_Peumus_boldus_33808.html)>. Acesso em: 10 abr. 2017.

de um clima semi-árido a 1500 m de altitude, de solo pedregoso, baixa umidade a zonas úmidas e chuvosas, influenciam diretamente em seu crescimento, delimitando ainda diferenças nos exemplares que crescem nas regiões centrais e meridionais do Chile. Sua resistência às condições climáticas adversas tornou possível seu plantio em outras localidades do globo como Marrocos e Itália, embora ainda hoje seja preconizado o uso apenas de plantas procedentes do Chile, cuja exportação ao ano pode chegar a um milhão de toneladas (VOGEL *et al.*, 1999; ALONSO, 2004).

A planta em si há muito é conhecida pelos habitantes andinos do Chile, em particular os índios Mapuche que a tem em sua cultura por mais de 13.000 anos, onde é chamada de *Weltún* ou *Volitún*, que significa “que renova” ou “desenvolve novas raízes”. O Boldo-do-Chile já era uma planta utilizada na forma de chás para tratar diversas moléstias como: dores de cabeça, cólicas menstruais, gases, congestão nasal e também o reumatismo. Uma das teorias mais aceitas para explicar a descoberta de seu uso pelos Mapuche relaciona a observação dos índios com os animais, que consumiam suas folhas quando apresentavam desordens digestivas. Curiosamente não é a única planta utilizada para este fim e este fato confundiu o botânico Abbé Molina, que designou o Boldo-do-Chile no gênero *Peumus* sp. tomando por base a palavra Mapuche *Peumo*, que por sua vez era utilizada pelos índios para se referirem a uma outra planta andina, e que é conhecida cientificamente como *Crypto carya peumus*, Nees. Este outro arbusto é também usado com fins medicinais pelos Mapuche e seu aroma é muito similar ao do boldo chileno (ALONSO, 2004).

No Brasil, embora o Boldo-do-Chile seja importado, constitui uma das plantas mais conhecidas e populares na cultura de norte a sul do país, excetuando-se espécies diferentes (*Plectranthus barbatus* e *Vernonia condensata*) que também são chamadas vulgarmente de Boldo (MENGUE *et al.*, 2001). Suas propriedades digestivas associadas ao estômago e ao fígado têm sido um grande motivador do consumo desta planta na população brasileira, que a procura grandemente entre os chamados Erveiros, Ervateiros e Doutores de Raízes, ou simplesmente nos supermercados e lojas de produtos naturais. O baixo preço e a simples acessibilidade são reportados como elementos que favorecem a busca do Boldo-do-Chile pela população, na crença de que os assim chamados “produtos naturais” não representam riscos à saúde e seus chás podem ser consumidos sem maiores preocupações (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007).

De uma forma geral, tanto as farmacopéias fitoterápicas como homeopáticas reconhecem apenas as folhas secas do Boldo-do-Chile como droga usual, embora as cascas também sejam reconhecidas com ações farmacológicas. Mesmo no Brasil, as legislações que

tratam de chás preconizam apenas o uso das folhas do Boldo-do-Chile, seja em preparações de infusos e decoctos (BRASIL, 1998). Uma vez que são constatadas variações químicas em virtude do cultivo em localidades geográficas diferentes das de sua origem, foi delimitado que fossem utilizadas apenas folhas provindas das regiões andinas do Chile. Contudo, mesmo nas diversas regiões do Chile, também são denotadas diferenças químicas nas plantas, já sendo constatadas variações qualitativas e quantitativas no que diz respeito ao óleo essencial (VOGEL *et al.*, 1999).

Na composição química das folhas são mencionados diversos compostos presentes como os óleos essenciais, taninos, fenólicos glicosilados, saponinas, flavonoides e alcaloides. Embora as legislações de alimentos sejam limitadas a análises macro e microscópicas da organografia foliar, de uma forma geral as farmacopéias delimitam apenas os óleos essenciais e os alcaloides como compostos principais para a identidade e a qualidade das folhas do Boldo-do-Chile. As faixas de concentração variam entre as diferentes farmacopéias, mas todas são unânimes de que as ações medicinais desta planta estão ligadas aos alcaloides (BRASIL, 1998; ESCOP, 2003).

O aroma marcante do Boldo-do-Chile é devido aos seus constituintes voláteis, cuja concentração não pode ser menor que 1,5%, segundo as edições IV e V da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1996; BRASIL, 2008). Cerca de 90% do óleo essencial é composto por numerosos monoterpenos, sendo que o ascaridol e o cineol são majoritários, com 45% e 30% respectivamente e considerados os responsáveis pelo aroma “canforáceo” das folhas desta planta e também reputados pelo uso anti-helmíntico. O termo ascaridol deriva de *Ascaris* sp., designação científica do gênero da lombriga em que o Boldo-do-Chile há muito foi utilizado (ALONSO, 2004).

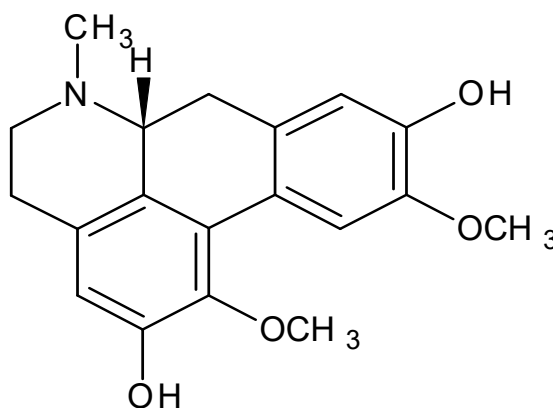
Vila *et al.* (1999) já haviam identificado, além do ascaridol, outros 46 componentes que integram quase 90% do óleo essencial, sendo que os seguintes monoterpenos apresentaram teores apreciáveis: limoneno (17%), *p*-cimeno (13,6%), 1,8-cineol (11,8%),  $\beta$ -felandreno (8,4%), sabineno (6,3%),  $\alpha$ -pineno (5,3%), terpine-4-ol (5,3%) e  $\alpha$ -terpineol (5,2%). Alguns sesquiterpenos como  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno além de sesquiterpenos oxigenados como o farnesol também foram constatados no óleo essencial do Boldo-do-Chile, mas tanto os monoterpenos como os sesquiterpenos apresentam variações de seu teor em virtude da diversidade genética das plantas bem como do cultivo nas regiões norte, central e sul dos Andes chilenos (VOGEL *et al.*, 1999; ALONSO, 2004).

As plantas da família Lamiaceae pertencem à ordem Tubiflora e Lamiales, abrangendo cerca de 200 gêneros e, aproximadamente, 3.200 espécies, distribuídas em todo o

mundo. Na medicina popular, *P. boldus* é utilizado como anti-inflamatório, antipirético, hepatoprotetor, anticarcinogênico, antioxidante (SRIVASTAVA *et al.*, 2011) e para tratar infecções oriundas do sistema digestivo (FERNÁNDEZ, 2009). Suas folhas são dotadas de flavonoides, óleos essenciais e alcaloides (SCHMEDA-HIRSCHMANN *et al.*, 2003).

Segundo O'Brien (2006), diversos estudos mostraram que os princípios ativos do *P. boldus* são os alcaloides. Dentre eles, a boldina (Figura 5) é o mais abundante, representando cerca de 12-19% do total de alcaloides presentes na planta, respondendo inclusive pelo teor total de alcaloides e considerada responsável por suas ações digestivas, tanto a das secreções gástricas e biliares, como namotilidade intestinal. Está diretamente associada com a atividade antioxidante (SOTO *et al.*, 2014) e aos efeitos de proteção digestiva e hepática (PETIGNY *et al.*, 2014). O mecanismo de ação colerética e colagoga está relacionado com a capacidade deste alcaloide de interagir, de forma antagonista, com os receptores colinérgicos da musculatura lisa, promovendo seu relaxamento. Um estudo conduzido por Schwanz *et al.* (2008) indicou a ação anticolinesterásica e antioxidante da Boldina como um protótipo de futuros fármacos contra o Mal de Alzheimer.

Figura 5: Estrutura química da boldina.



Fonte: Do autor.

Dentre outros alcaloides reportados no Boldo-do-Chile, é constatada ainda a presença de: isoboldina, di-hidrobaldina, isocoridina, norisocoridina, *N*-metil-laurotetanina, laurotetanina, laulolitsina, glaucina, sinoacutina (salutaridina) e esparteína (lupinidina). Variações dos teores dos alcaloides são descritas em virtude da diversidade genética das plantas bem como da região andina onde crescem. Embora os alcaloides do Boldo-do-Chile sejam descritos como bons antioxidantes devido ao fato de possuírem núcleo aromático bifênico, sua estabilidade frente à luz em preparações solares (filtros e bloqueadores) já foi proposta, mas não é considerada alta em longo prazo e por isso qualquer

material foliar exposto à iluminação solar tem proporcionado valores menores de boldina e dos demais alcalóides (HIDALGO *et al.*, 2005; SCHWANZ *et al.*, 2008).

Outros componentes já isolados e identificados nas folhas são os flavonoides glicosilados, considerados inclusive como os responsáveis pela ação diurética discreta desta planta. São, inclusive, considerados os verdadeiros responsáveis pelo efeito antioxidante nos preparados de infusões uma vez que a capacidade estabilizante dos flavonoides se mostra superior frente aos alcaloides aporfinicos como a Boldina. Um estudo conduzido por Lima *et al.* (2004) investigou o teor de fenólicos em plantas de grande consumo no Brasil e constatou que o chá de Boldo-do-Chile ficou em terceiro lugar, com um apreciável teor de fenólicos mesmo em infusão de apenas três minutos. Contudo, Morais *et al.* (2009) compararam a ação antioxidante de chás e condimentos muito consumidos no Brasil através do método de DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila), que mensura a capacidade sequestrante de íons, e o chá de Boldo-do-Chile não se revelou o melhor frente a outros chás como o chá verde. A possibilidade de haver diferenças no teor de fenólicos, e conseqüentemente a capacidade antioxidante, entre chás preparados a quente e a frio foi investigada por Venditti *et al.* (2010), que constataram não haver diferenças significativas entre as duas formas de preparo em 90 °C por 7 minutos.

A despeito de seu amplo uso etnomedicinal e farmacêutico, suas notabilizadas propriedades digestivas com ação hepática e intestinal quanto à presença de óleos voláteis e de alcaloides nas folhas do Boldo-do-Chile fomentou estudos sobre sua segurança. O óleo essencial contém majoritariamente ascaridol (representa cerca de 45%), um monoterpene conhecido por suas ações vermífugas, mas também dotado de toxicidade para o sistema renal, razão pela qual os preparados desta planta (mesmo os infusos e decoctos) não são recomendados aos portadores de enfermidades renais (ALONSO, 2004; BRASIL, 2006).

Os numerosos alcaloides aporfinicos presentes nas folhas, embora considerados os compostos ativos principais da planta, em especial a boldina, também foram alvo de estudos toxicológicos, especialmente na gravidez. Devido às ações colinérgicas da boldina sobre a musculatura lisa, constatou-se que os extratos hidroalcóolicos de Boldo-do-Chile exibem ação abortiva, além disso, são constatados efeitos teratogênicos nos primeiros três meses de gestação, por isso seu consumo na gravidez é desaconselhado (ALMEIDA *et al.*, 2000; MENGUE *et al.*, 2001). Os efeitos genotóxicos da boldina são limitados nas primeiras fases da embriogênese, pois não foram constatadas alterações genéticas em modelos eucarióticos de leveduras e de linfócitos humanos de adultos (TAVARES; TAKAHASHI, 1994). Alterações promovidas em células adultas por este alcaloide foram constatadas apenas ao nível

metabólico dos hepatócitos, com mudanças nos níveis séricos de colesterol, bilirrubina, glicose e enzimas (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase) durante a administração em um período de noventa dias contínuos. Este período é considerado ainda o limite seguro para o consumo contínuo de infusos e decoctos por indivíduos que não apresentem enfermidades hepáticas pela legislação brasileira: a RDC nº219/2006 (ALMEIDA *et al.*, 2000; BRASIL, 2006).

Em virtude da similaridade estrutural para com a papaverina, alcaloide encontrado no látex dessecado da Papoula (*Papaversom niferum*, Linné), possíveis efeitos neurológicos da Boldina foram investigados por Chuliá *et al.* (1996), que constataram a sua ação antagônica nos receptores adrenérgicos  $\alpha$  e  $\beta$  do sistema cardiovascular, promovendo hipotensão.

A despeito das ações reportadas dos extratos, o Boldo-do-Chile continua sendo considerado seguro para consumo, excetuando-se portadores de patologias hepáticas e renais, além do consumo concomitante de fármacos que atuem no metabolismo, na pressão arterial e na coagulação (RUIZ *et al.*, 2008). A DL50 estipulada compreende de 500 a 100 mg/kg por dia, onde são constatados sintomas de náuseas, vômitos, convulsões e irritação renal, não sendo recomendada ainda a ingestão por crianças com menos de seis anos de idade (ALONSO,2004).

Em relação aos trabalhos publicados na literatura, Petigny *et al.* (2014) descreveram um método de extração e separação de compostos voláteis e não-voláteis. Em seu método, a extração e separação ocorrem via micro-ondas, o que permite menos tempo para análise, ganho de energia e melhor integração na formulação cosmética possivelmente perfumada se comparado à hidrodestilação, outra técnica muito utilizada para a extração de óleos voláteis.

Simirgiotis e Hirschmann (2010) desenvolveram um método simples para análise qualitativa de polifenóis encontrados em folhas do *P. boldus*. Neste método, utilizou-se a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) e espectrometria de massas com ionização por eletro pulverização (HPLC-MSN). Os resultados mostraram que a atividade antioxidante desta planta não se deve apenas à boldina, mas a vários compostos fenólicos que também foram identificados.

Falé *et al.* (2012) estudaram a inibição da enzima acetilcolinesterase e atividade antioxidante em extratos aquosos de boldo. Neste trabalho, foi observada que a atividade dos extratos aquosos do boldo no processo digestivo pode ser justificada pela inibição da enzima



acetilcolinesterase. Os extratos apresentaram atividade antioxidante com valores próximos aos valores considerados como padrão na indústria farmacêutica.

### 3.2 O preparo dos extratos

Uma das preocupações no processo de extração é a manutenção das substâncias da planta, portanto deve ser realizada de maneira cuidadosa. Após a coleta, procede-se à secagem, essencial para permitir a estocagem sem risco de proliferação microbiana, tornando mais simples também o processo de trituração (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007).

Dentre os solventes utilizados, citam-se como principais a água e o etanol, sendo que outros, como é o caso da acetona, também podem ser utilizados de uma forma mais seletiva (FONSECA, 2005).

Com relação às proporções utilizadas de 1 de amostra para 10 de solvente encontrou-se na literatura outros estudos que assim também procederam (VALLE, 2005; PORFÍRIO, 2010; KLIMACZEWSKI *et al.*, 2014). Outras proporções também já foram empregadas, a saber: 1:5 (BANDEIRA *et al.*, 2011); 0,5/10 (SOTO *et al.*, 2014), 1:20, (SANCHEZ *et al.*, 2016); 1:50 (SIMIRGIOTIS; SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2010), 1:100 (MAIOLI *et al.*, 2010), dentre outros.

Quanto à temperatura, esta interfere na solubilização das substâncias, redução da viscosidade do solvente e maior velocidade de difusão, podendo, em determinados casos, ser utilizada para simplificar a extração, originando os processos especiais: digestão (35 a 40 °C), infusão e decocção. A temperatura não deve ser elevada quando as substâncias que serão extraídas forem termo-lábeis ou se volatilizarem com relativa facilidade como é o caso de óleos essenciais. Também a temperatura constitui-se em um fator que colabora para uma maior velocidade de algumas reações orgânicas, podendo contribuir também para que ocorram decomposições, hidrólises e oxidações (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007).

Por fim, os métodos de obtenção de soluções extrativas são: a) caseiros: digestão, infusão e decocção; e b) laboratoriais: maceração, percolação, turbólise, contracorrente, fluido super crítico e sohxlet (FONSECA, 2005).

No presente estudo empregou-se a maceração (conhecida por infusão a frio), método em que a planta é colocada em contato com o veículo líquido (água, álcool ou óleo) empregado para diluir o princípio bioativo, em temperatura ambiente em um tempo de 12 a 24

h. Trata-se de um processo lento, mas tem como vantagem ser um excelente método utilizado na obtenção do princípio bioativo da planta em sua totalidade (KUKLINSKI, 2000).

Com relação a este método, existem diversas variações desta operação que objetivam, fundamentalmente, aumentar a eficiência de extração. São elas: a) (digestão – maceração em sistema aquecido de 40 a 60 °C; b) maceração dinâmica – maceração realizada sob constante agito mecânico, e remaceração: quando repete-se a operação usando o mesmo material vegetal e trocando somente o líquido extrator (FONSECA, 2005).

### 3.3 Identificação de compostos em plantas

Uma das justificativas para um maior interesse no estudo das plantas medicinais pode estar associado ao fato de que o seu uso já foi comprovado como útil para o tratamento de doenças (KLEIN, 2014).

Segundo Bessa *et al.* (2013), a intenção da pesquisa fitoquímica é descobrir as classes químicas presentes nas plantas. Conforme Prata e Augusto (2016), a espectrometria de massas (EM) é a técnica mais utilizada para análise de metabólitos secundários. Isso ocorre devido a sua maior sensibilidade e seletividade em relação a outras técnicas. Porém, pelo fato das plantas possuírem uma mistura extremamente complexa de substâncias, não é possível realizar uma análise eficiente, quando feita exclusivamente com EM. Por esta razão, é necessário que os métodos cromatográficos sejam acoplados a ela.

De uma forma geral, a cromatografia é um método de separação baseado na migração dos componentes de uma mistura através de duas fases imiscíveis. Para análise dos compostos secundários das plantas, as técnicas hífenadas mais utilizadas são a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-EM) (PRATA; AUGUSTO, 2016).

O acoplamento do cromatógrafo ao espectrômetro de massas alia as vantagens da cromatografia (elevada seletividade e eficiência de separação) com os benefícios da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e maior da seletividade) (CHIARADIA, 2008; PRATA; AUGUSTO, 2016).

Neste trabalho utilizou-se a técnica CG-EM, que foi aplicada a metabólitos voláteis ou passíveis de volatilização via derivatização (PRATA; AUGUSTO, 2016).

### 3.4 Método da derivatização

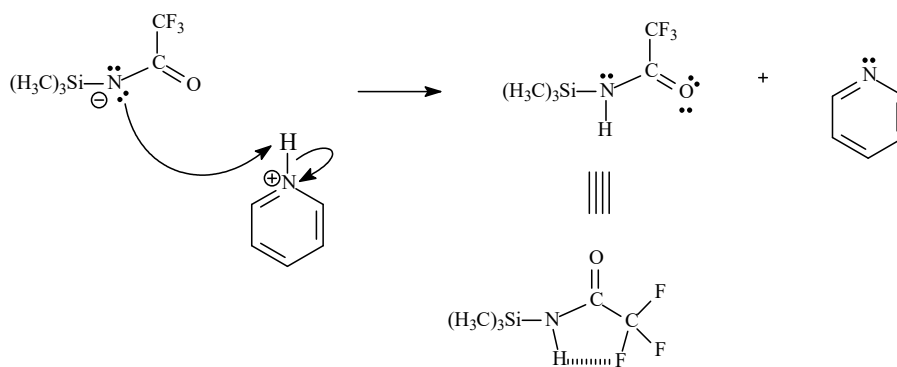
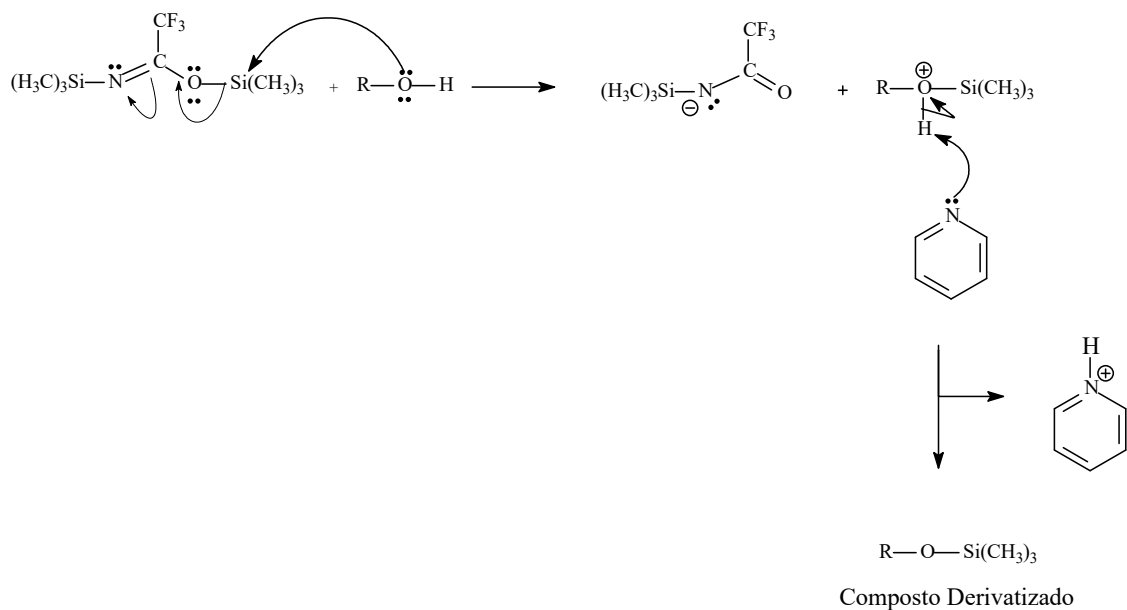
Ao se realizar uma análise direta via CG, substâncias que contém grupos –COOH, –OH, –NH, –SH, são de grande preocupação devido à capacidade de formar ligações de hidrogênio entre as moléculas, ocasionando em uma alta polaridade e baixa volatilidade (FRIAS; GRAMACHO; PINEIRO, 2014). Para contornar esse problema, é necessário o uso do método da derivatização, que é a modificação de grupos funcionais da molécula que permite a obtenção de características adequadas, como volatilidade e estabilidade térmica, para que a análise em CG aconteça de forma satisfatória (PINTO, 2015). Este método precisa ser executado antes do emprego efetivo da técnica CG-EM.

No contexto cromatográfico, os processos chamados de derivatização são reações que modificam a estrutura da substância, com o intuito de reduzir a polaridade, aumentar a volatilidade e a estabilidade térmica dos analitos (SEGURA *et al.*, 1998). A aplicação de estratégias de derivatização possibilita a obtenção de picos mais estreitos e simétricos, resultando em sinais com uma maior intensidade e eficiência de separação. A simetria é resultado da eliminação de interações indesejáveis dos analitos alvos com sítios de adsorção inespecíficos presentes no sistema cromatográfico (atividade). Frequentemente, o uso de estratégias de derivatização permite a obtenção de espectros de massas mais característicos do que o próprio analito quando não alterado, o que pode ser relevante para fins de identificação (WANG *et al.*, 2006).

As reações que poderiam ser empregadas para essa análise são alquilação, acilação e sililação (SHUMMER *et al.*, 2009). Porém, a reação utilizada neste trabalho foi a de sililação, sendo o reagente sinalizante BSTFA, N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida com 1% de trimetilclorosilano (TMCS), e a espécie básica, piridina.

O mecanismo da derivatização (Figura 6) ocorre via substituição nucleofílica bimolecular, onde o hidrogênio presente no grupamento hidroxila é substituído por um grupo trimetilsilil (-Si (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) do reagente BSTFA. A reação acontece quando o nucleófilo utiliza seus pares de elétrons para atacar o silício (centro eletrofílico), promovendo o rompimento da ligação Si-X permitindo que a substituição ocorra (OLIVEIRA, 2012).

Figura 6: Mecanismo da reação de sililação.



Fonte: Do autor.

## 4 METODOLOGIA

---

### 4.1 Materiais e reagentes

Duas espécies do boldo, *V. condensata* e *P. barbatus* foram utilizadas neste estudo. As plantas são provenientes da cidade de Montes Claros. Também foram utilizados quatro produtos comerciais da espécie *P. boldus*, identificados como: boldo (BD), eparema (EP), hepatilon (HP), e chá de boldo (CHB), adquiridos no comércio e farmácias da cidade de Montes Claros. Diclorometano, acetonitrila, hexano e álcool etílico grau HPLC foram obtidos pela Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). A piridina e o BSTFA (N,O-bis (trimetilsilil)-trifluoroacetamida com 1% TMCS) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). O timol da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) foi utilizado como padrão interno.

### 4.2 Preparo dos extratos do boldo *in natura*

Inicialmente foram coletadas folhas das espécies do boldo, *V. condensata* e *P. barbatus*. Estas foram lavadas com água destilada e secas à temperatura ambiente. Em seguida, as folhas foram cortadas em pequenos pedaços e pesadas (1 g) em duplicata. Com o auxílio de um almofariz e pistilo, as folhas cortadas foram submetidas à maceração para o preparo dos extratos aquoso (EA) em duas temperaturas (25 e 100 °C), etanólico (EE) e hexânico (EH) na proporção de 1:10 (amostra/solvente) (KLIMACZEWSKI *et al.*, 2014; PORFÍRIO *et al.*, 2010; VALLE *et al.*, 2004). Os extratos foram armazenados em frascos âmbar com tampa e mantidos por 24 horas no escuro.

Em seguida, cada extrato foi filtrado e armazenado em frasco âmbar até o momento da análise. 20  $\mu$ L de cada extrato foram adicionados em vials para a secagem utilizando fluxo de ar e aquecimento de 50 °C (figura 7). O resíduo foi derivatizado antes da análise por CG-EM.

**Figura 7: Fotografia do processo de secagem dos extratos.**



Fonte: Do autor.

### 4.3 Preparo dos produtos comerciais

Cinco amostras (10 mL) de cada produto comercial (figura 8), de mesmo lote, foram misturadas e armazenadas em frasco âmbar. Em seguida, 20  $\mu$ L do produto comercial reunido foram secos sob fluxo de ar e aquecimento a 50 °C. O resíduo obtido foi derivatizado antes da análise por CG-EM.

**Figura 8: Fotografias dos produtos comerciais do boldo.**



Fonte: Do autor.

Para o preparo do chá de boldo (figura 9), cinco amostras, de mesmo lote, foram misturadas e armazenadas em um béquer (250 mL). Em seguida, foi pesada 1 g e a esta quantidade foi adicionada 10 mL de água em ebulição, deixando sob infusão por três minutos. Após este período, a amostra foi filtrada e 20  $\mu$ L desta foram secas sob fluxo de ar e aquecimento de 50 °C. O resíduo obtido foi derivatizado antes da análise por CG-EM.

Figura 9: Fotografia do produto comercial do chá de boldo.



Fonte: Do autor.

#### 4.4 Derivatização

Alíquotas (1,0 mg) dos extratos vegetais e dos produtos comerciais foram medidas em um vidro internamente cônico (próprio para este processo) e, em seguida, foi adicionado 20  $\mu\text{L}$  da solução de timol a 28 mg  $\text{L}^{-1}$  (padrão interno). Ao sistema obtido foram adicionados 50  $\mu\text{L}$  de piridina e 90  $\mu\text{L}$  de BSTFA ((N, O-bis (trimetilsilil)-trifluoroacetamida) contendo 1% de clorotrimetilsilano. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C por 30 min. Da solução obtida, apenas 1  $\mu\text{L}$  foi injetado no CG-EM, sendo o procedimento realizado em duplicata.

#### 4.5 Condições Cromatográficas

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A) equipado com detector de ionização por impacto de elétrons (CG-EM) e coluna capilar DB-5MS (Agilent Technologies, 30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25  $\mu\text{m}$  espessura do filme). Hélio (99,9999% de pureza) foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de 1  $\text{mL min}^{-1}$ . Utilizando um auto-injetor (CTC combiPaL), 1  $\mu\text{L}$  da amostra foi injetado no cromatógrafo a uma razão de *split* 1:10. O injetor *split/splitless* foi mantido a 290 °C. O forno, contendo a coluna cromatográfica, foi inicialmente programado para aquecer a 80 °C, com isoterma por 5 min., em seguida, aquecido a uma taxa de 4 °C  $\text{min}^{-1}$  até 260 °C, permanecendo nesta temperatura por 10 min. Após a separação dos compostos a temperatura foi elevada até 300 °C e, permanecendo, por 2 min (*post run*). A temperatura da interface foi mantida a 280 °C e, a ionização realizada por impacto de 70 eV. A amplitude de varredura de  $m/z$  foi de 30 a 600 Da. O tempo total de cada análise foi de 1h. A identificação dos compostos foi realizada utilizando os dados espectrais da biblioteca (NIST 2.0).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

### 5.1 Caracterização dos extratos da espécie *V. condensata*

Os extratos da espécie *V. condensata* foram caracterizados utilizando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. A figura 10 mostra os cromatogramas obtidos para cada extrato desta espécie.

Após análise do CG-EM, os cromatogramas foram interpretados e os respectivos resultados das áreas relativas corrigidas pelo padrão interno são apresentados na tabela 1.

Como resultados, para o EA25 (extrato aquoso a 25 °C), 26 compostos foram detectados, valor este superior aos demais extratos (6, 24 e 22 para EH, EE e EA100, respectivamente) (Tabela 1).

Em relação à temperatura, o aumento desta diminuiu a quantidade de compostos identificados para o EA100, mas favoreceu a extração da sacarose (Figura 10, cromatograma d, pico 43) e de três carboidratos não identificados (Figura 10, cromatograma d, picos 21, 22 e 23). Além disso, o inositol foi a substância identificada em maior abundância com uma área relativa de 29,31%, ou seja, valor 13% maior do que aquele encontrado para o EA25. Vale ressaltar que este composto também foi o que apresentou a maior área no EE (34,45%). Neste extrato, foram extraídas duas substâncias que não foram detectadas nos EA25 e EE100, respectivamente: ácido propanodioico e ácido 2-hidroxiutanodioico. Além disso, a sacarose, que foi encontrada no EA100, foi extraída com uma área 81,70% maior.

Complementarmente, os compostos identificados no EE, fosfato, glicerol, ácido butanodioico, frutose, ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico e mio-inositol, também foram identificados nos EA (25 °C e 100 °C), porém com uma área relativa maior.

No extrato apolar (EH), foi extraído um menor número de compostos comparado aos outros extratos polares. Isso pode ser comprovado no cromatograma (a) da figura 10. Os compostos que apresentaram maior abundância foram o ácido 2-hidroxi-propanoico (42,84%) e o ácido octadeca-9,12,15-trienoico (24,58%), sendo este último extraído apenas neste extrato (Tabela 1). No que diz respeito aos compostos identificados para a espécie *V. condensata*, estes podem ser agrupados em classes de acordo com suas estruturas químicas (figura 11).



Figura 10: Cromatogramas de íons totais dos extratos (a) hexânico, (b) etanólico, (c) aquoso 25 °C e (d) aquoso 100 °C para a espécie *V. condensata* com PI (padrão interno).

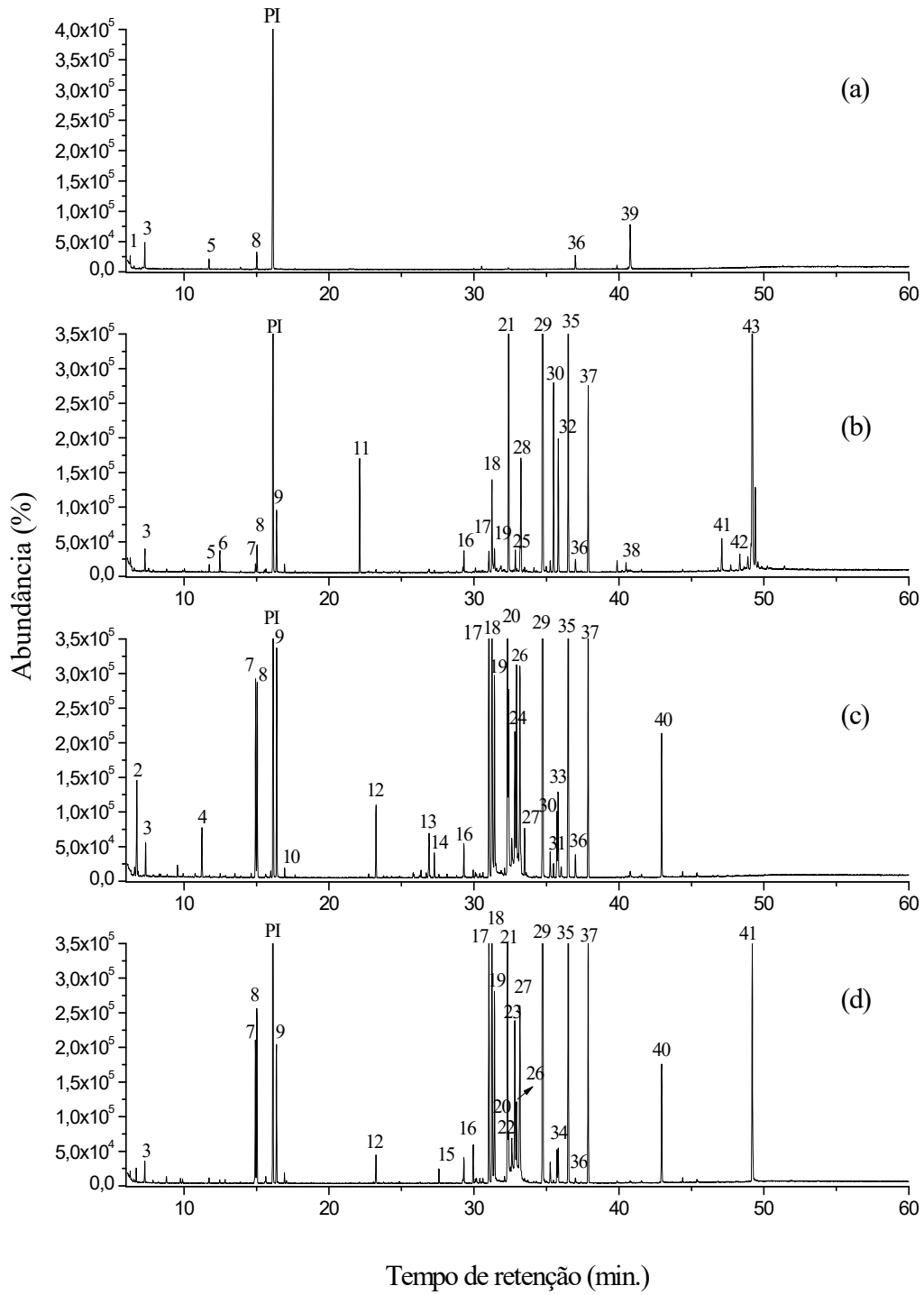


Tabela 1: Área relativa dos compostos detectados nos extratos da espécie *V. condensata*.

Pico	Tr <sup>2</sup> (min.)	Compostos	Extratos			
			Hexânico	Etanólico	Aquoso 25 °C	Aquoso 100 °C
1	6.30	Carboidrato não identificado	4,78	nd <sup>3</sup>	nd	nd
2	6.74	Butano-2,3-diol	nd	nd	1,12	nd
3	7.31	Ácido 2-hidroxiopropanoico	42,84	0,44	0,41	0,45
4	11.22	ni <sup>4</sup>	nd	nd	0,62	nd
5	11.74	ni	6,39	0,14	nd	nd
6	12.48	Ácido propanodioico	nd	0,39	nd	nd
7	14.93	Fosfato	nd	0,17	2,68	2,08
8	15.03	Glicerol	13,21	0,49	2,79	2,96
9	16.39	Ácido butanodioico	nd	1,14	3,25	2,25
10	16.94	Ácido 2,3-diidroxiopropanoico	nd	nd	0,14	nd
11	22.12	Ácido 2-hidroxiutanodioico	nd	1,86	nd	nd
12	23.24	Ácido 4-aminobutanoico	nd	nd	0,82	0,48
13	26.90	Arabinose	nd	nd	0,53	nd
14	27.27	Arabinopirranose	nd	nd	0,29	nd
15	27.59	Ácido ribonico	nd	nd	nd	0,29
16	29.31	Carboidrato não identificado	nd	0,38	0,50	0,31
17	31.03	Carboidrato não identificado	nd	0,46	6,10	6,51
18	31.25	Frutose	nd	2,06	9,74	8,13
19	31.42	Ácido 1,2,3-propanotricarboxílico	nd	0,40	2,82	2,55
20	32.31	Carboidrato não identificado	nd	nd	6,28	2,87
21	32.39	Carboidrato não identificado	nd	10,46	nd	5,46
22	32.62	Carboidrato não identificado	nd	nd	nd	0,47
23	32.82	Carboidrato não identificado	nd	nd	nd	3,03
24	32.82	Carboidrato não identificado	nd	nd	1,71	nd
25	32.86	Carboidrato não identificado	nd	0,40	nd	nd
26	32.94	Carboidrato não identificado	nd	nd	1,66	1,07
27	33.17	Carboidrato não identificado	nd	nd	5,17	5,46
28	33.24	Galactopirranose	nd	2,67	nd	nd
29	34.74	Inositol	nd	34,45	25,63	29,31
30	35.26	Carboidrato não identificado	nd	4,02	0,47	nd
31	35.49	Glicose	nd	nd	1,80	nd
32	35.49	Carboidrato não identificado	nd	0,23	nd	nd
33	35.81	Ácido glucônico	nd	nd	4,40	nd
34	35.81	Galactofuranose	nd	nd	nd	0,61
35	36.50	Inositol	nd	8,78	13,95	14,00
36	37.00	Ácido hexadecanoico	8,20	0,27	0,29	0,25
37	37.88	Mio-inositol	nd	3,87	4,89	4,54

<sup>2</sup>Tr = Tempo de retenção.

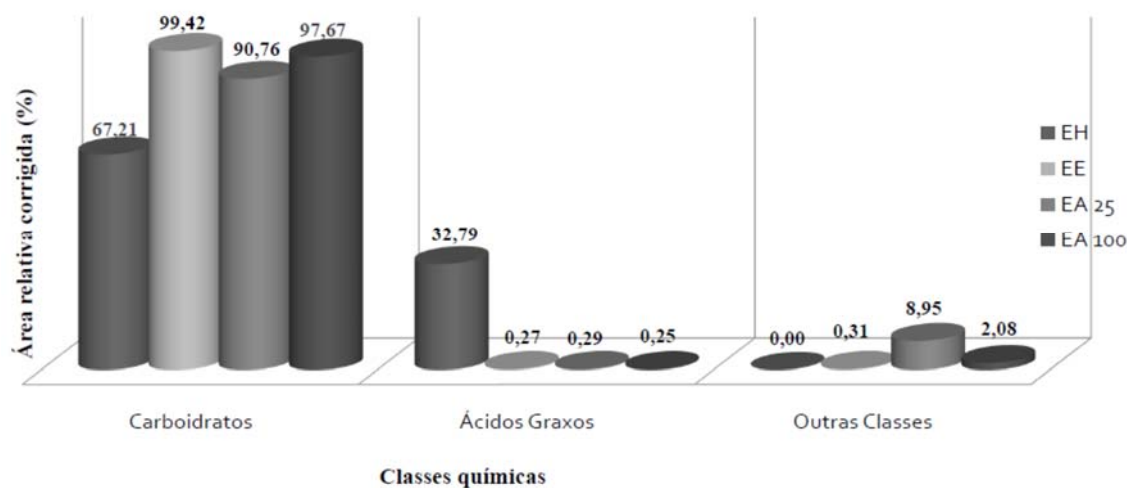
<sup>3</sup>Nd = Não detectado.

<sup>4</sup>Ni = Não identificado.

Pico	Tr <sup>2</sup> (min.)	Compostos	Extratos			
			Hexânico	Etanólico	Aquoso 25 °C	Aquoso 100 °C
38	40.49	Carboidrato não identificado	nd	0,19	nd	nd
39	40.78	Ácido octadeca-9, 12,15-trienoico	24,58	nd	nd	nd
40	42.95	Galactopirranose	nd	nd	1,94	2,17
41	47.21	Carboidrato não identificado	nd	0,51	nd	nd
42	48.42	Carboidrato não identificado	nd	0,29	nd	nd
43	49.20	Sacarose	nd	25,93	nd	4,75
			100,00	100,00	100,00	100,00

Fonte: Do autor.

Figura 11: Classes químicas (em %) presentes nos extratos da espécie *V. condensata*.



Pela análise da figura 11, percebe-se que os carboidratos representam as principais classes encontradas em todos os extratos. Porém, o teor de carboidratos para o extrato apolar é o menor (67,21%). Em relação aos extratos polares, os valores são bem próximos (99,42, 90,76 e 97,67%) para o EE, EA<sub>25</sub> e EA<sub>100</sub>, respectivamente.

Também foram identificados ácidos graxos. No EH, o teor encontrado foi o mais elevado (32,79%) comparado aos demais extratos (0,27, 0,29 e 0,25%) para EE, EA<sub>25</sub> e EA<sub>100</sub>, respectivamente. O destaque para o EH foi o ácido octadeca-9, 12,15-trienoico (24,58%, tabela 1), presente em quantidade mais expressiva. Ademais, outro ácido graxo extraído foi o ácido hexadecanoico (8,20%, tabela 1), que foi encontrado também nos outros extratos, porém em áreas menores (0,27, 0,29 e 0,25%) para os EE, EA<sub>25</sub> e EA<sub>100</sub>, respectivamente, representando o único ácido graxo encontrado para estes extratos.

Por fim, outras classes químicas foram identificadas exclusivamente para os extratos polares. O maior teor encontrado foi para o EA25 (8,95%) em comparação aos outros extratos (0,31 e 2,08% para o EE e EA100).

De forma geral, na literatura não foram encontrados trabalhos que quantifiquem os compostos presentes nesta espécie do boldo. Entretanto, em outras espécies do gênero *Vernonia*, há alguns trabalhos que avaliam o teor de diferentes substâncias presentes nas folhas. Atangwho e seus colaboradores (2013) ao estudar as propriedades antioxidantes e antidiabéticas dos extratos da espécie *Vernonia amygdalina* identificaram 15 compostos, dentre estes os ácidos graxos hexadecanoico com uma área relativa de 8,56%, valor próximo ao encontrado para a espécie *V. condensata* e o octadeca-9, 12,15-trienoico com 10,80%, com uma área 43,94% menor do que a encontrada neste trabalho. Além disso, esses mesmos ácidos graxos também foram identificados por Erasto *et al.* (2007), porém com áreas de 22,19% e 21,5%, respectivamente. Vale destacar que o valor de área encontrada na *V. condensata*, foi próximo ao encontrado por Erasto.

## 5.2 Caracterização da espécie *P. barbatus*

A caracterização química da espécie *P. barbatus* também foi realizada através da interpretação dos cromatogramas obtidos por CG-EM (Fig. 12).

A tabela 2 apresenta todas as substâncias detectadas nos extratos nesta espécie do boldo. Quantitativamente, com o EE foi possível extrair o maior número de compostos (24), se comparado com os demais (5, 20 e 15 para EH, EA25 e EA100, respectivamente). Destacam-se o ácido 2-hidroxiбутanodioico (19,65%), glicose (15,09%), mio-inositol (10,85%) e manose (8,07%) com as maiores áreas relativas. É importante ressaltar que o composto que apresentou a maior área relativa não foi encontrado nos outros extratos. Além disso, a glicose foi identificada em dois tempos de retenção, 33.50 e 35.49 min., com uma área menor nos extratos aquosos em ambos os tempos. No primeiro, 15,09 e 4,60% para os EE e EA25, e no segundo 3,73, 7,90 e 3,72% para os EE, EA25 e EA100, respectivamente. Além disso, o mio-inositol também foi encontrado nos extratos aquosos, porém com uma área 4,80 e 19,63% menor para os EA25 e EA100, respectivamente. Por fim, a manose também se mostrou presente nos extratos aquosos, porém com áreas de valores 55,14 e 99,42% menores do que aquelas encontradas nos EA25 e EA100.

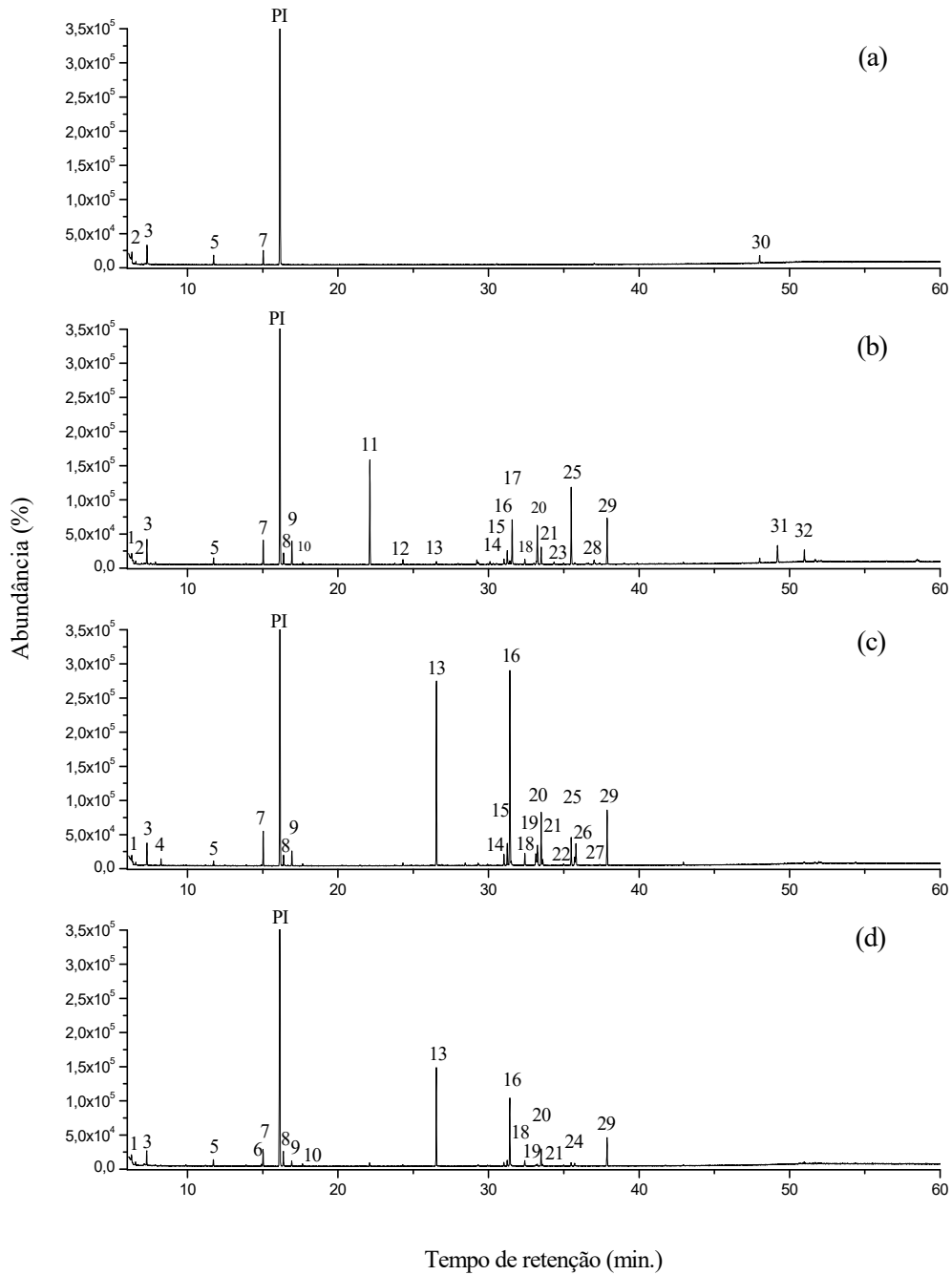
Com relação ao EA25, houve a extração das substâncias d-frutose (2,92%) e ácido glucônico (2,76%) que não se mostraram presentes nos demais extratos. Como compostos

majoritários pode-se destacar os ácidos 2,3-diidroxibutanodioico (26,32%), ácido 1,2,3-propanotricarboxílico (glicerol) (21,64%), o mio-inositol (10,33%) e o glicerol (7,90%). O aumento da temperatura ocasionou a diminuição em 25% da quantidade de compostos identificados, embora tenha favorecido a extração do fosfato (1,47%). Destacam-se como compostos que apresentaram maiores áreas, os ácidos ácido 1,2,3-propanotricarboxílico (glicerol) (26,98%), 2,3-diidroxibutanodioico (20,71%), butanodioico (10,64%), 2-hidroxiopropanoico (7,32%), o mio-inositol (8,72%) e o glicerol (12,85%).

O aumento da temperatura ocasionou o crescimento da área relativa dos seguintes compostos: ácidos butanodioico (87,03%), 2-hidroxiopropanoico (68,99%), ácido 1,2,3-propanotricarboxílico (19,79%), e glicerol (64,90%). Por sua vez, provocou a redução da área do ácido 2,3-diidroxibutanodioico (21,35%), manose (87,57%) e da glicose (52,91%). No entanto, o ácido 2,3-diidroxipropanoico manteve-se constante em relação à sua área relativa.

Todas as substâncias identificadas na tabela 2 podem ser agrupadas em classes químicas, consoante a figura 13.

**Figura 12: Cromatogramas de íons totais dos extratos (a) hexânico, (b) etanólico, (c) aquoso 25 °C e (d) aquoso 100 °C para a espécie *P. barbatus* com PI (padrão interno).**



**Fonte: Do autor.**

Tabela 2: Área relativa dos compostos detectados nos extratos da espécie *P. barbatus*.

Pico	Tr <sup>5</sup> (min.)	Compostos	Extratos			
			Hexânico	Etanólico	Aquoso 25 °C	Aquoso 100 °C
1	6.30	Carboidrato não identificado	nd <sup>6</sup>	1,12	0,84	1,08
2	6.56	ni <sup>7</sup>	5,68	0,46	nd	nd
3	7.31	Ácido 2-hidroxiopropanoico	33,22	4,59	2,27	7,32
4	8.25	Carboidrato não identificado	nd	nd	1,03	nd
5	11.74	ni	13,80	1,34	0,82	1,72
6	14.91	Fosfato	nd	nd	nd	1,47
7	15.04	Glicerol	28,32	6,26	4,51	12,85
8	16.39	Ácido butanodioico	nd	1,81	1,38	10,64
9	16.94	Ácido 2,3-diidroxiopropanoico	nd	4,10	2,20	2,20
10	17.66	ni	nd	0,42	nd	nd
11	22.12	Ácido 2-hidroxiбутanodioico	nd	19,65	nd	nd
12	24.32	Carboidrato não identificado	nd	0,89	nd	nd
13	26.54	Ácido 2,3-diidroxiбутanodioico	nd	1,99	26,32	20,70
14	31.03	Carboidrato não identificado	nd	1,20	1,56	nd
15	31.25	Frutose	nd	2,92	2,92	nd
16	31.42	Ácido 1,2,3-propanotricarboxílico	nd	1,77	21,64	26,98
17	31.57	Carboidrato não identificado	nd	9,15	nd	nd
18	32.41	Carboidrato não identificado	nd	1,20	1,88	1,10
19	33.16	Carboidrato não identificado	nd	nd	1,76	0,46
20	33.24	Manose	nd	8,07	3,62	0,45
21	33.50	Glicose	nd	3,73	7,90	3,72
22	33.60	Carboidrato não identificado	nd	nd	0,69	nd
23	34.35	Carboidrato não identificado	nd	0,45	nd	nd
24	35.48	Manose	nd	nd	nd	0,59
25	35.49	Glicose	nd	15,09	4,60	nd
26	35.73	Carboidrato não identificado	nd	nd	0,97	nd
27	35.81	Ácido gluconico	nd	nd	2,76	nd
28	37.01	Ácido hexadecanoico	nd	0,96	nd	nd
29	37.88	Mio-inositol	nd	10,85	10,33	8,72
30	48.02	ni	18,98	nd	nd	nd
31	48.46	Carboidrato não identificado	nd	1,20	nd	nd
32	49.13	Carboidrato não identificado	nd	0,78	nd	nd
			100,00	100,00	100,00	100,00

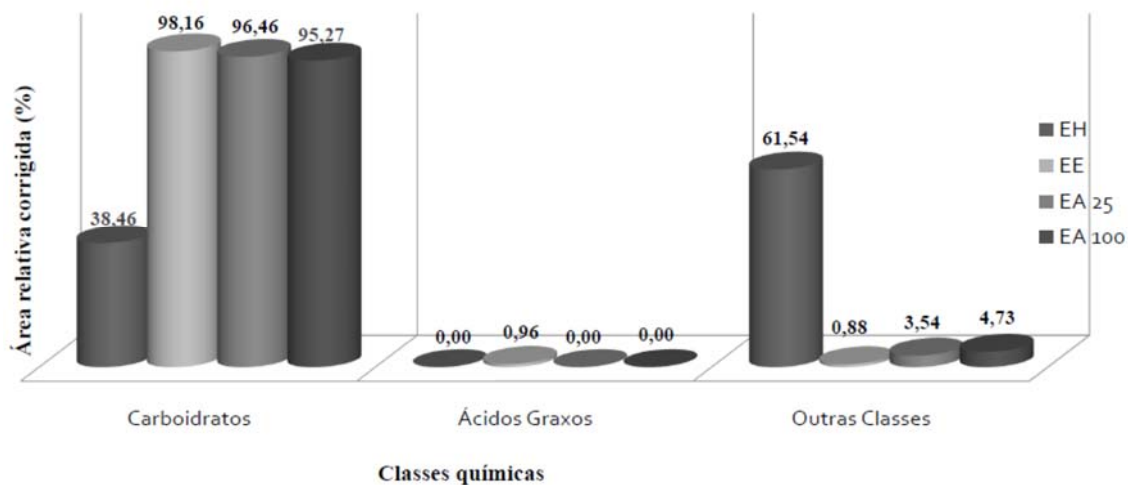
Fonte: Do autor.

<sup>5</sup>Tr = Tempo de retenção.

<sup>6</sup>ND = Não detectado.

<sup>7</sup>Ni = Não identificado.

Figura 13: Classes químicas (em %) presentes nos extratos da espécie *P. barbatus*.



Fonte: Do autor.

De acordo com a figura 13, as principais classes encontradas para a espécie *P. barbatus* foram os carboidratos. Os valores obtidos para os extratos polares foram próximos uns dos outros com 98,16, 96,46 e 95,27% de área relativa para os EE, EA<sub>25</sub> e EA<sub>100</sub>, respectivamente. Já no EH, o teor foi o menor com 38,46% de área.

A classe de ácidos graxos foi detectada apenas no EE, tendo o ácido hexadecanoico com 0,96% de área relativa. Outras classes foram detectadas apenas nos extratos polares com 0,88, 3,54 e 4,73% para os EE, EA<sub>25</sub> e EA<sub>100</sub>, respectivamente.

### 5.3 Caracterização dos produtos comerciais

Foi feita a caracterização da composição química dos produtos comerciais à base de *P. boldus*, boldo (BD), hepatilon (HP), eparema (EP) e chá de boldo (CHB). Os cromatogramas obtidos por CG-EM encontram-se demonstrados na figura 14 e as áreas relativas de seus respectivos compostos estão identificadas na tabela 3.

A quantidade total de compostos detectados para os produtos comerciais foi de 37, 24, 17 e 44 para BD, HP, EP e CHB, respectivamente. Percebe-se que a maior quantidade foi obtida no chá de boldo, cerca de 54,05% a mais do que o EP, que foi o produto que obteve compostos em menores números.

O produto comercial BD teve como compostos majoritários identificados os ácidos ácido 1,2,3-propanotricarboxílico (24,60) e sórbico (20,04%), sendo este último



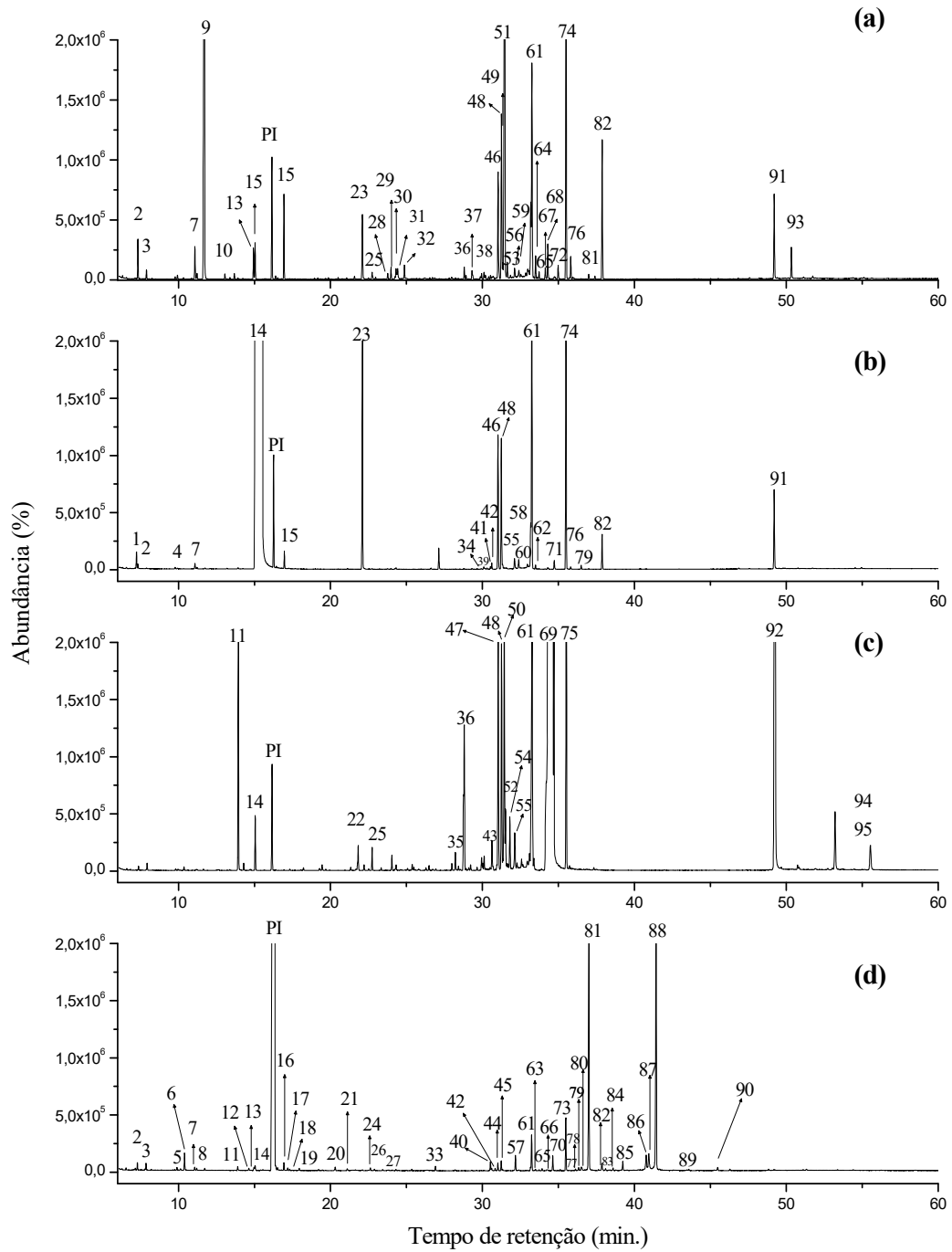
encontrado apenas nesta amostra comercial. Além desses, glicopirranose (11,48%), galactopirranose (8,49%) e glicerol (8,26%) se mostraram em abundância. Vale ressaltar que o composto glicopirranose também se fez presente no HP com uma área de 2,20%.

Adicionalmente, verificou-se que o composto mais abundante para o HP foi o glicerol com 90,40% da área total. O composto galactopirranose apresentou uma área relativamente baixa (2,20%), mas foi encontrado em todos os outros produtos comerciais com áreas de 8,49, 3,26 e 6,11% para os produtos BD, EP e CB, respectivamente. Outro composto encontrado apenas neste produto comercial é o propan-1,3-diol com uma área de 0,13%.

Em relação ao EP, destaca-se o glucitol (68,20%) que foi o produto que apresentou a maior profusão, sendo encontrado apenas no BD em dois Tr (34.14 e 34.30 min.) com áreas de (0,27 e 0,93%). Além disso, foi identificada a gulose (0,13%), área reduzida, mas que foi encontrada apenas no HP com (0,02%), ou seja, 84,62% superior em área comparando-se ao HP.

Para o CHB, destacam-se como compostos mais presentes os ácidos octanodecanoico (34,10%) e hexadecanoico (29,91%), a glicose (9,32%) e a galactopirranose (6,11%) que também foi encontrada nos outros produtos comerciais, conforme apresentado anteriormente. Outros compostos foram verificados, embora em baixa quantidade, porém, mesmo assim são relevantes porque se fizeram presentes somente neste produto comercial. São eles: os ácidos 2-furanocarboxílico (0,27%) e 2-oxopentanoico (1,91%). Os compostos identificados podem ser reagrupados em classes químicas conforme mostrado na figura 15.

**Figura 14: Cromatogramas de íons totais dos produtos comerciais à base da espécie *P. boldus* (a) boldo, (b) heptilón, (C), eparema e (d) chá de boldo.**



Fonte: Do autor.

**Tabela 3: Área relativa dos compostos detectados nos produtos comerciais à base da espécie *P. boldus*.**

Pico	Tr <sup>8</sup> (min)	Compostos	Produtos Comerciais			
			Boldo	Hepatilon	Eparema	Chá de boldo
1	7.24	Propan-1,3-diol	nd <sup>9</sup>	0,13	nd	nd
2	7.33	Ácido 2-hidroxiopropanoico	0,87	0,01	nd	0,43
3	7.90	Ácido acético	0,20	nd	nd	0,31
4	9.78	Ácido gluconico	nd	0,01	nd	nd
5	9.92	Ácido 2-furanocarboxílico	nd	nd	nd	0,27
6	10.41	Ácido 2-oxopentanoico	nd	nd	nd	1,91
7	11.08	ni <sup>10</sup>	0,76	0,04	nd	0,43
8	11.21	ni	nd	nd	nd	0,20
9	11.71	Ácido sórbico	20,04	nd	nd	nd
10	13.06	Carboidrato não identificado	0,12	nd	nd	nd
11	13.94	Ácido benzoico	nd	nd	1,92	0,50
12	14.64	Ácido octanoico	nd	nd	nd	0,24
13	14.94	Fosfato	0,59	nd	nd	0,17
14	15.04	Glicerol	8,26	90,40	3,26	0,63
15	16.94	Ácido propanoico	2,06	0,10	nd	nd
16	16.95	Ácido 2,3-diidroxiopropanoico	nd	nd	nd	1,18
17	17.19	Fenilpropan-1-ona	nd	nd	nd	0,36
18	17.33	Ni	nd	nd	nd	0,15
19	17.95	Ácido nonanoico	nd	nd	nd	0,19
20	20.32	Ni	nd	nd	nd	0,23
21	21.11	Ácido decanoico	nd	nd	nd	0,16
22	21.83	Ácido gluconico	nd	nd	0,20	nd
23	22.10	Ácido benzoico	2,10	1,77	nd	nd
24	22.63	Ácido 1,6-hexadecanodioico	nd	nd	nd	0,25
25	22.74	Butanol	0,22	nd	0,15	nd
26	22.90	5-oxoprolina	nd	nd	nd	0,14
27	23.44	1,2,3-trihidroxibenzeno	nd	nd	nd	0,15
28	23.77	Ácido 2,3,4-hidroxiopropanoico	0,15	nd	nd	nd
29	23.99	Ni	0,27	nd	nd	nd
30	24.32	Ácido treonico	0,14	nd	nd	nd
31	24.43	Ácido 2-hidroxipentenodioico	0,14	nd	nd	nd
32	24.87	Xilulose	0,33	nd	nd	nd
33	26.91	Ácido dodecanoico	nd	nd	nd	0,36
34	27.13	Ácido benzoico	nd	0,16	nd	nd
35	28.22	Carboidrato não identificado	nd	nd	0,12	nd
36	28.81	Arabitol	0,31	nd	1,55	nd
37	29.31	Carboidrato não identificado	0,22	nd	nd	nd

<sup>8</sup>Tr = Tempo de retenção.

<sup>9</sup>Nd= Não detectado.

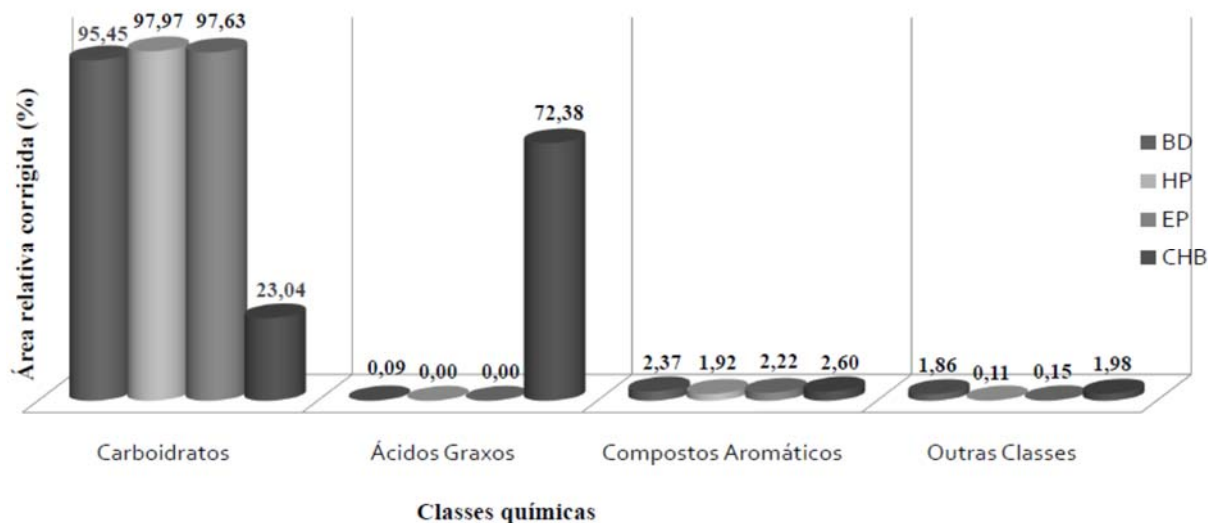
<sup>10</sup>Ni= Não identificado.

Produtos Comerciais						
Pico	Tr <sup>8</sup> (min)	Compostos	Boldo	Hepatilon	Eparema	Chá de boldo
38	29.95	Ácido ribonico	0,12	nd	nd	nd
39	30.10	Carboidrato não identificado	nd	0,01	nd	nd
40	30.52	Ácido 1,4-benzenodicarboxílico	nd	nd	nd	1,60
41	30.53	Carboidrato não identificado	nd	0,01	nd	nd
42	30.62	Gulose	nd	0,02	nd	0,22
43	30.63	Ácido benzoico	nd	nd	0,18	nd
44	30.84	Ni	nd	nd	nd	0,28
45	31.02	Frutose	nd	nd	nd	1,41
46	31.04	Carboidrato não identificado	2,95	1,03	nd	nd
47	31.05	Ácido benzoico	nd	nd	2,04	nd
48	31.25	Frutose	4,57	0,81	1,51	nd
49	31.34	Ni	0,10	nd	nd	nd
50	31.44	Carboidrato não identificado	nd	nd	1,64	nd
51	31.48	Ácido 1,2,3-propanotricarboxílico	24,60	nd	nd	nd
52	31.52	Gulose	nd	nd	0,13	nd
53	31.64	Carboidrato não identificado	0,38	nd	nd	nd
54	31.81	Carboidrato não identificado	nd	nd	0,36	nd
55	32.10	Galactofuranose	nd	0,12	0,28	nd
56	32.12	Carboidrato não identificado	0,30	nd	nd	nd
57	32.18	Ácido tetradecanoico	nd	nd	nd	1,26
58	32.39	Ni	nd	0,07	nd	nd
59	32.41	Carboidrato não identificado	0,19	nd	nd	nd
60	32.96	Carboidrato não identificado	nd	0,02	nd	nd
61	33.26	Galactopirranose	8,49	2,10	3,06	6,11
62	33.47	Manose	nd	0,02	nd	nd
63	33.49	Carboidrato não identificado	nd	nd	nd	0,22
64	33.50	Talose	0,59	nd	nd	nd
65	33.73	Ni	0,14	nd	nd	0,07
66	33.94	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	0,15
67	34.14	Glucitol	0,27	nd	nd	nd
68	34.30	Glucitol	0,93	nd	nd	nd
69	34.45	Glucitol	nd	nd	68,20	nd
70	34.64	Ácido n-pentadecanoico	nd	nd	nd	1,21
71	34.73	Inositol	nd	0,06	nd	nd
72	34.99	Carboidrato não identificado	0,41	nd	nd	nd
73	35.49	Glicose	nd	nd	nd	9,32
74	35.51	Glicopirranose	11,48	2,20	nd	nd
75	35.52	Carboidrato não identificado	nd	nd	2,78	nd
76	35.81	Ácido gluconico	0,60	0,02	nd	nd
77	36.12	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	0,12
78	36.34	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	0,15
79	36.50	Inositol	nd	0,03	nd	nd
80	36.52	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	0,34

Produtos Comerciais						
Pico	Tr <sup>8</sup> (min)	Compostos	Boldo	Hepatilon	Eparema	Chá de boldo
81	37.00	Ácido hexadecanoico	0,09	nd	nd	29,91
82	37.88	Inositol	3,76	0,23	nd	1,25
83	38.11	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	0,12
84	38.60	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	0,15
85	39.24	Ácido heptadecanoico	nd	nd	nd	0,70
86	40.78	Ácido oleico	nd	nd	nd	1,21
87	40.96	Ácido graxo não identificado	nd	nd	nd	1,47
88	41.42	Ácido octanodecanoico	nd	nd	nd	34,10
89	43.58	ni	nd	nd	nd	0,09
90	45.48	Ácido n-eicosanoico	nd	nd	nd	0,28
91	49.20	Glicopiranosideo	2,38	0,63	nd	nd
92	49.26	Galactopiranosose	nd	nd	11,86	nd
93	50.34	Carboidrato não identificado	0,87	nd	nd	nd
94	53.21	Manose	nd	nd	0,50	nd
95	55.54	Inositol	nd	nd	0,26	nd
			100,00	100,00	100,00	100,00

**Fonte: Do autor.**

**Figura 15: Classes químicas (em %) presentes nos produtos comerciais.**



**Fonte: Do autor.**

Conforme demonstrado na figura 15, percebe-se que a principal classe encontrada para os produtos comerciais foi a de carboidratos, representando 95,45, 97,97, 97,63 e 23,04% de área relativa para o BD, HP, EP e CHB, respectivamente.

Em relação aos ácidos graxos, estes foram identificados apenas nos produtos BD e CHB com 0,09 e 72,38% de área, respectivamente. Para o CHB, destacam-se os ácidos octanodecanoico (34,10%), tetradecanoico (1,26%), n-pentadecanoico (1,21%), oleico (1,21%), heptadecanoico (0,70%), n-eicosanoico (0,28%), 1,6-hexadecanoico (0,25), octanoico (0,24%), nonanoico (0,19%) e decanoico (0,16%). Para o BD, apenas o ácido 1,6-hexadecanoico se mostrou presente com uma área 64% menor do que a encontrada para este mesmo ácido no produto CB.

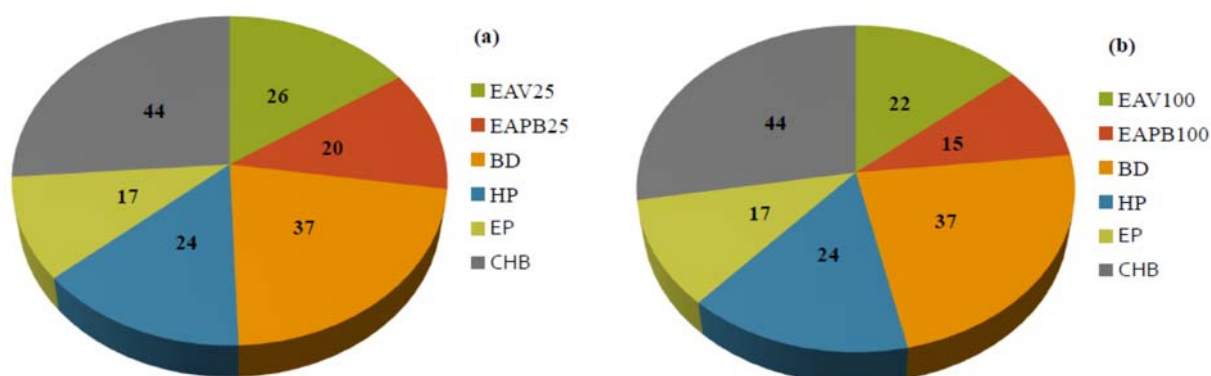
Vale ressaltar que os compostos aromáticos foram identificados em todos os produtos comerciais com valores de área de 2,10, 1,92, 2,22 e 2,60% para BD, HP, EP e CHB, respectivamente, ou seja, foram detectados mais desses compostos para o produto CHB. Destaca-se o ácido benzoico (2,10, 1,77, 1,92 e 0,50% para BD, HP, EP e CB). Este mesmo composto também foi encontrado em outros tempos de retenção para o HP com 0,16% e para o EP com 2,04 e 0,18% de área.

Por fim, é importante ressaltar que os compostos foram detectados, mas não foram passíveis de classificação. Desta forma, se enquadraram em outras classes. O BD e o CHB representam 1,86 e 1,98% de área para estes compostos, valores estes superiores para os demais produtos HP (0,11%) e EP (0,15%).

#### 5.4 Comparação entre os extratos aquosos das duas espécies do boldo: *V. condensata* e *P. barbatus* com os produtos comerciais

De uma forma geral, a infusão é um dos métodos mais utilizados para o preparo de chás e extratos de plantas medicinais pela população. Desta forma, fez-se a comparação apenas entre os extratos aquosos com os produtos comerciais. Na figura 16, têm-se um gráfico que representa a quantidade de substâncias detectadas nas espécies e nos produtos comerciais estudados.

Figura 16: Comparação entre as quantidades das substâncias detectadas nos extratos aquosos a 25 °C (a) e a 100 °C (b) com os produtos comerciais (EAV25 e EAV100- extrato aquoso a 25 e 100 °C da espécie *V. condensata*, EAPB25 e EAPB100- extrato aquoso a 25 e 100 °C).



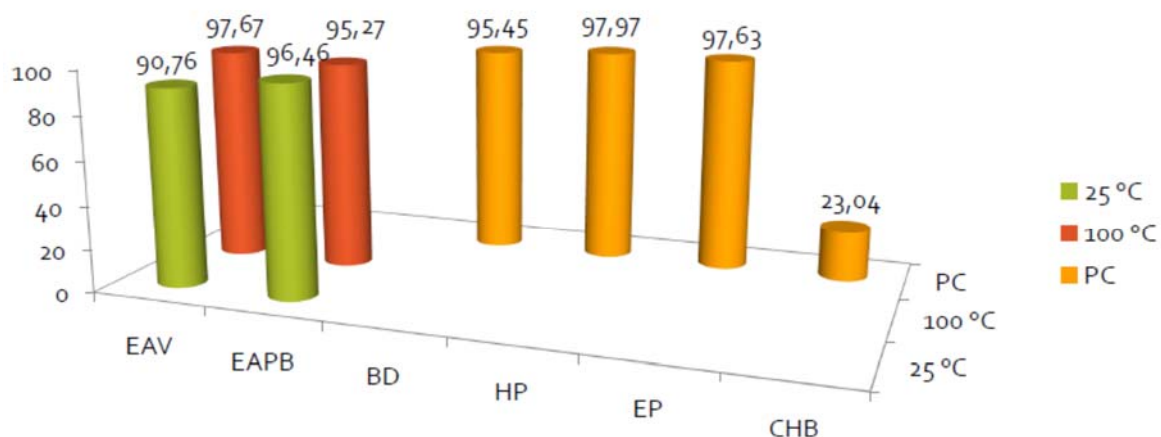
Fonte: Do autor.

De acordo com a figura acima, percebe-se que a quantidade de substâncias detectadas nos extratos aquosos a 25 °C de ambas as espécies foi maior do que as encontradas a 100 °C. Por sua vez, o chá de boldo que representa a planta minimamente processada, apresentou a maior quantidade de substâncias identificadas (aproximadamente o dobro).

Os carboidratos representam a principal classe encontrada tanto nas duas espécies quanto nos produtos comerciais (Figura 17), exceto para o chá de boldo, o qual os ácidos graxos foram detectados com maior abundância (Figura 15).

O glicerol foi o único composto encontrado em todos os extratos das duas espécies e nos produtos comerciais. No EA25 o valor encontrado foi de 4,51%, valor próximo do produto comercial EP com 3,26% de área. Os valores encontrados para as áreas relativas da *V. condensata* foram baixos para o ácido 2-hidroxiopropanoico (0,41 e 0,45% para os EA25 e EA100, respectivamente), mas são próximos dos valores encontrados para os produtos comerciais (0,87, 0,01 e 0,43% para o BD, HP e CHB).

**Figura 17: Comparação (em %) de carboidratos encontrados nos extratos aquosos das espécies *V. condensata* (EAV), *P. barbatus* (EAPB) a 25 e 100 °C, e nos produtos comerciais (PC).**



**Fonte: Do autor.**

O fosfato foi extraído apenas no EA100 da espécie *P. barbatus* (1,47%), nos EA25 (2,68%) e EA100 (2,08%) da *V. condensata*, e nos produtos comerciais BD (0,59%) e CHB (0,17%). As áreas foram diferentes entre si, mas os valores que mais se aproximam um do outro foram os EA100 de ambas as espécies.

Ainda referente à *V. condensata*, a substância que apresentou maior abundância foi o inositol. Este composto tem diversas aplicações clínicas, mas destaca-se o seu uso no tratamento de distúrbios neurológicos e psiquiátricos (YOREK *et al.* 1993; AGRANOFF; FISHER, 2001). Foi encontrado em todos os produtos comerciais, exceto na espécie *P. barbatus*, a qual foi encontrada apenas seu isômero, o mio-inositol. Este foi observado nas duas espécies com 4,89 e 10,33% de área para *V. condensata* e *P. barbatus*, respectivamente.

Na *P. barbatus*, os compostos majoritários foram os ácidos 1,2,3-propanotricarboxílico (26,98%) e 2,3-diidroxibutanodioico (26,70%). O primeiro foi encontrado nos EA25 (2,82%) e EA100 (2,55%) da *V. condensata* e apenas no produto comercial BD (24,60%).

O ácido ribônico foi detectado apenas no EA100 (0,29%) da *V. condensata* e no produto BD (0,12%). Já o ácido glucônico foi observado em três tempos de retenção (9,78, 21,83 e 35,81 min). No primeiro, apenas no produto comercial HP (0,01%). Em relação ao



segundo, no EP (0,20%), no EA25 da *V. condensata* com 2,76% de área, na espécie *P. barbatus* no EA25 (4,40%) e nos produtos BD (0,60%) e HP (0,02%).

Em relação aos carboidratos, a glicose foi encontrada em dois tempos de retenção (33.50 e 35.49 min.). No primeiro, foi identificada na *V. condensata* nos EA25 (7,90%) e EA100 (3,72%), e na *P. barbatus* apenas no EA25 (1,80%). No segundo, no EA25 (4,60%) na *V. condensata* e no produto CHB (9,32%). Para a manose, também observada em dois tempos de retenção, foi encontrada apenas na *V. condensata* e nos produtos comerciais. Os valores de área mais próximos foram no EA100 (0,59%) com o produto EP (0,50%), ambos no tempo de retenção 35.48 min. Para a galactopirranose, foi evidenciada apenas nos produtos comerciais BD (11,48%), e HP (2,20%) no tempo de retenção 33.24 min. Foi observada também na *P. barbatus* nos extratos aquosos a 25 e 100 °C com 1,94 e 2,17% e no produto EP (1,86%). É possível observar que os valores são semelhantes entre si, sendo o mais próximo o do produto HP com 2,20% e no EA25 com 1,94% da *P. barbatus*.

Quanto ao ácido graxo hexadecanoico, este foi identificado na *P. barbatus* em todos os extratos com 0,29 e 0,25%, respectivamente para os EA25 e EA100 e nos produtos BD (0,09%) e CHB (29,91%).

Um ponto que merece destaque é a não identificação dos compostos boldina (Figura 2) e ácido rosmarínico (Figura 4) que são os princípios ativos do boldo. Isso aconteceu, talvez pela alta massa molecular e polaridade destas espécies, que mesmo sendo derivatizadas, não foram detectadas.

## 6 CONCLUSÃO

---

Este estudo permitiu a identificação de substâncias presentes em extratos de três espécies do boldo por meio da CG/EM. As espécies estudadas apresentaram composição química distintas, destacando a presença constante de carboidratos. Os produtos comerciais também apresentaram composição química diferentes, pois são oriundos de boldos de outras espécies.

Novos estudos com estes extratos serão realizados visando identificar completamente os compostos não identificados.

## 7 REFERÊNCIAS

---

AGRANOFF, B. W.; FISHER, S. K. Inositol, lithium and the brain. **Psychopharmacol. Bull**; vol. 35, p. 5-18, 2001.

ALASBAHI, R. H.; MELZIG, M. F. *Plectranthus barbatus*: A Review of Phytochemistry, Ethnobotanical Uses and Pharmacology ± Part 1, **Planta Medica**, v. 76, p. 653-661; 2010.

ALBUQUERQUE, R. L. *et al.* Diterpenos do Tipo Abietano Isolados de *Plectranthus barbatus* Andrews, **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1882-1887, 2007.

ALMEIDA, E. R.; MELO, A. M.; XAVIER, H. Toxicological evaluation of hydro-alcohol extract of dry leaves of *Peumus boldus* and Boldine in rats, **Phytotherapy Research**, 14, p. 99-102, 2000.

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

AMARAL, F. G. **Efeito de extratos aquosos de *Plectranthus barbatus* e de *Peumus boldus* na ação do etanol e na absorção conjunta de colesterol em linhas celulares**. 2011. 65 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

ATANGWHO, I.J. *et al.* Antioxidant versus anti-diabetic properties of leaves from *Vernonia amygdalina* Del. growing in Malaysia. **Food Chemistry**, 141, p. 3428–3434, 2013.

BARREDA, V. D. *et al.* Early evolution of the angiosperm clade Asteraceae in the Cretaceous of Antarctica. **Evolution**, v. 117, n. 35, sept. 2015.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 3. ed. Campinas: Editora UNICAMP, 2007.

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

BESSA, N. G. F. *et al.* Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde–Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

BODIWALA, H. S. *et al.* Anti-HIV diterpenes from *Coleus forskohlii*, **Natural Product Communications**, v. 4, n. 9, p. 1173-1175, 2009.

BRANT, R. S. **Características anatômicas, fisiológicas e de óleos essenciais de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae), em função da adubação orgânica, intensidade e qualidade de luz**. 2008. 138 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

BRASIL. **Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998.** Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de “Chás - Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções”, constante do Anexo desta Portaria. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA\\_519\\_1998.pdf/0f05b918-ef72-41b3-8dec-02d1944813be](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA_519_1998.pdf/0f05b918-ef72-41b3-8dec-02d1944813be)>. Acesso em: 16 abr. 2017.

BRASIL, **Farmacopéia Brasileira.** 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. v. 1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ministério da Saúde. **Apresentações sobre “Traditional Medicine”.** Brasília, 20 de abril de 2006. Disponível em: <[www.anvisa.gov.com.br](http://www.anvisa.gov.com.br)>. Acesso em: 13 mar. 2017.

BRASIL. **Resolução RDC nº 219, de 22 de dezembro de 2006.** Aprova a inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás constante da Tabela 1 do Anexo desta Resolução em complementação as espécies aprovadas pela Resolução ANVISA RDC nº. 267, de 22 de setembro de 2005. Disponível em: <<http://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjIxNg%2C%2C>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

BRASIL, **Portaria Interministerial nº 2960, de 9 de dezembro de 2008.** Aprova o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Disponível em: <[http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri2960\\_09\\_12\\_2008.html](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri2960_09_12_2008.html)>. Acesso em: 17 abr. 2017.

CÉSAR, M. G. A. *et al.* O estudo das plantas no ensino fundamental. In: Encontro Nacional de Ensino de Química, 2014, Ouro Preto. **Resumo.**

CHIARADIA, M. C. *et al.* O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CHULIÁ, S. *et al.* The effect of S-(+)-boldine on the alpha 1-adrenoceptor of the guinea-pig aorta, Spain. **British Journal of Pharmacology**, v. 119, p. 1305-1312, 1996.

COAN, C.; M.; MATIAS, T.; A utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena. **Rev. Saúde e Biologia**, v. 9, n. 1, p. 11-19, Ed. Ventarra Alta- RS, 2013.

CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA - CFF, Saúde elabora Relação de Plantas Mediciniais de Interesse do SUS, **Pharmacia Brasileira**, ano XII, n.70, p.77-78, 2009.

COSTA, M. C. C. D. Uso popular e ações farmacológicas de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae): revisão de trabalhos publicados de 1970 a 2003. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 81-88, 2006.

COSTA, A. F. **Farmacognosia.** 5 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, v. 2, 2002.

COSTA, M. C. C. D; NASCIMENTO, S. C. Atividade Citotóxica de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae), **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 22, n. 2, p. 155-158, 2003.

CUNHA, A. P; SILVA, A. P; ROQUE, O. R., **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 2003.

DIAS, D. A; URBAN, S; ROESSNER, U. A historical overview of natural Products in drug discovery. **Metabolites**. Australia n. 2, p. 303-336, 2012.

EPAREMA: **Solução oral**. Responsável Técnico Rafael de Santis. Jaguariúna: Takeda Pharma, 2009. Bula de remédio.

ERASTO, P; GRIERSON, D. S; AFOLAYAN, A. J. Evaluation of antioxidant activity and the fatty acid profile of the leaves of *Vernonia amygdalina* growing in South Africa. **Food Chemistry**, 104, p. 636–642, 2007.

ESCOPE - European Scientific Cooperative on Phytotherapy, **Monographs - The Scientific Foundation of Herbal Medicinal Products**. Second edition Completely revised and expanded. Published by ESCOP, United Kingdom, p. 53-57, 2003.

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

FALE, P. L. *et al*. Acetylcholinesterase inhibition, antioxidant activity and toxicity of *Peumus boldus* water extracts on HeLa and Caco-2 cell lines. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2656-2662, 2012.

FERNÁNDEZ, J. *et al*. Effect of boldo (*Peumus boldus* Molina) infusion on lipoperoxidation induced by cisplatin in mice liver. **Phytotherapy research**, v. 23, n. 7, p. 1024-1027, 2009.

FERREIRA, C. **Caracterização por GC-MS de glicídios derivatização assistida por microondas**. 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado em Química forense). Universidade de Coimbra. Coimbra, 2011.

FIRMO, W. C. A. *et al*. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, 2012.

FONSECA, F. G. C. **Farmacotécnica de Fitoterápicos**. Fortaleza: UFC, 2005. Disponível em: <[http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot\\_Fitoterapicos.PDF](http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF)>. Acesso em: 24 abr. 2017.

FRED-JAIYESIMI, A. A; AJIBESIN, K. K. Ethnobotanical survey of toxic plants and plant parts in Ogun State, Nigeria. **International Journal of Green Pharmacy**, 6(3):174-9, 2012.

FREITAS, V. S; RODRIGUES, R. A. F; GASPI, F. O. G. Pharmacological activities of *Aloe vera* (L.) Burm. f. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, n. 2, p. 299-307, 2014.

FRIAS, C. F; GRAMACHO, S. A; PINEIRO, M. Cromatografia gasosa-espectrometria de massas e derivatização assistida por micro-ondas na identificação de isômeros de glicose: uma

prática para o ensino avançado em análise e caracterização de compostos orgânicos. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. S1, 2014.

FRUTUOSO, V. S. *et al.* Analgesic and anti-ulcerogenic effects of a polar extract from leaves of *Vernonia condensata*. **Planta Medica**, v. 60, 1994.

FUMAGALI, E. *et al.* Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GIDAY, M. *et al.* An ethnobotanical study of medicinal plants used by the Zay people in Ethiopia. **Journal of Ethnopharmacology**, Ethiopia. 85:43-52, 2003.

GLOBBONETO, L; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários, **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRAYER, R. J. *et al.* Distribution of exudates flavonoids in the genus *Plectranthus*, **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 335-341, 2010.

HIDALGO, M. E. *et al.* Photostability and photoprotection factor of boldine and glaucine, **Journal of Phytochemistry and Photobiology**, v. 80, p. 65-69, 2005.

IGANCI, J. R. V. *et al.* Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 79-82, 2006.

JUNIOR, V. F. V; PINTO, A. C; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

KAMATENESI-MUGISHA, M, Oryem-Origa H. Medicinal plants used to induce labour during childbirth in western Uganda. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 109, p. 1-9, 2007.

KAPEWANGOLO, P; HUSSEIN, A; MEYER, D. Inhibition of HIV-1 enzymes, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Plectranthus barbatus*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 149, n. 1, p. 184-190, 2013.

KLEIN, T. **Análise Fitoquímica**. Disponível em: <<https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/farmacia/analise-fitoquimica/56896>>. Acesso em: 20 mar. 2017.

KLIMACZEWSKI, C. V. *et al.* Antioxidant activity of *Peumus boldus* extract and alkaloid boldine against damage induced by Fe (II)-citrate in rat liver mitochondria in vitro. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 240-247, 2014.

KUKLINSKI, C. **Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural**. Barcelona: Editora Omega, 2000.

LIMA, V. L. A. G; MELO, E. A; LIMA, D. E. S. Teor de Compostos Fenólicos Totais em Chás Brasileiros, **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p.1 87-190, 2004.

LOPES, E. L. **Estudo e determinação das condições experimentais da reação de silição utilizada na análise multirresíduo de anti-inflamatórios não-esteroides em matrizes aquosa ambientais por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas.** 75f. 2011. Monografia (Bacharel em Química). Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

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

LORENZI, H; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008, p. 544.

LUKHOB, C. W; SIMMONDS, M. S. J; PATON, A. J. *Plectranthus*: a review of ethnobotanicals uses, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 1-24; 2006.

MACIEL, M. A. M. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAIOLI, M. A. *et al.* Iron chelating-mediated antioxidant activity of *Plectranthus barbatus* extract on mitochondria. **Food Chemistry**, 122 p. 203–208, 2010.

MENGUE, S. S; MENTZ, L. A; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez; **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 1, p. 21-35, 2001.

MONTEIRO, M. H. D. *et al.* Toxicological evaluation of a tea from leaves of *Vernonia condensata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 149-157, 2001.

MORAIS, S. M. *et al.* Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, 1B, p. 315-320, 2009.

MOREIRA, T. M. S; SALGADO, H. R. N; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 435-440, 2010.

MOTA, L. *et al.* Volatile-Oils Composition, and Bioactivity of the Essential Oils of *Plectranthus barbatus*, *P. neochilus*, and *P. ornatus* Grown in Portugal. **Chemistry & biodiversity**, v. 11, n. 5, p. 719-732, 2014.

O'BRIEN, P; CARRASCO-POZO, C; SPEISKY, H. Boldine and its antioxidant or healthpromoting properties, **Chemico-Biological Interactions**, v. 159, p. 1-17, 2006.

OLIVEIRA, C. L. **Estudo de esteróis como marcadores químicos em águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul, SP:** desenvolvimento e validação de metodologia analítica. 167 f. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PETIGNY, L. *et al.* Simultaneous microwave extraction and separation of volatile and non-volatile organic compounds of boldo leaves. From lab to industrial scale. **International journal of molecular sciences**, v. 15, n. 5, p. 7183-7198, 2014.

PILLA, M. A. C; AMOROZO, M. C. M; FURLAN, A. Obtenção e uso das plantas medicinais do distrito de Martin Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP, Brasil, **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 789-802, 2006.

PINTO, M. S. **Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de derivados fenólicos de lignina em sedimentos por SPME-GC/FID**. 66f. 2015. Dissertação (Mestrado em Química). Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

PINTO, A. C. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

PIRES, I. F. B. *et al.* Plantas medicinais como opção terapêutica em comunidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Rev. bras. plantas med**, v. 16, n. 2, supl. 1, p. 426-433, 2014.

PORFÍRIO, S. *et al.* Antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of *Plectranthus barbatus* tea, after in vitro gastrointestinal metabolism. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 179-187, 2010.

PRATA, P. S; AUGUSTO, F. Técnicas Cromatográficas Multidimensionais na Investigação de Metabólitos Secundários. **Scientia Chromatographica**, v. 8, n. 4, p. 209-229, 2016.

RICE, L. J. *et al.* *Plectranthus*: A plant for the future? **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 4, p. 947-959, 2011.

RUIZ, A. L. T. G. *et al.* Farmacologia e Toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 2, n. 18, p. 295-300, 2008.

SADAT-HOSSEINI, M. *et al.* Ethnopharmacological studies of indigenous medicinal plants in the south of Kerman. **Journal of Ethnopharmacology**, Iran v. 199, p. 194-204, 6 mar. 2017.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. *et al.* Free-radical scavengers and antioxidants from *Peumus boldus*. **Free Radical Res**, 37: 447-452, 2003.

SCHULTZ, C. *et al.* Inhibition of gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-T Pase by plectronine A, a diterpenoid isolated from *Plectranthus barbatus* Andrews, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 1-7, 2007.

SCHUMMER, C. *et al.* Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. **Talanta**, v. 77, n. 4, p. 1473-1482, 2009.

SCHWANZ, M. *et al.* Caracterização Farmacobotânica de *Peumus boldus* (Monimiaceae) e Avaliação de Atividades Biológicas do Alcalóide Boldina, **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 6, p. 871-879, 2008.

SEGURA, J; VENTURA, R; JURADO, C. Derivatization procedures for gas chromatographic–mass spectrometric Determination of xenobiotics in biological samples, with special attention to drugs of abuse and doping agents. **Biomedical Sciences and Applications**, v. 713, n. 1, p. 61-90, 1998.



SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco: uma inovação no controle de fitopatógenos**. 2013. 109 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2013.

SIMIRGIOTIS, M. J; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Direct identification of phenolic constituents in Boldo Folium (*Peumus boldus Mol.*) infusions by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 4, p. 443-449, 2010.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre, Editora UFRS/ UFSC, 2010.

SOTO, C. *et al.* Effect of extraction conditions on total phenolic content and antioxidant capacity of pretreated wild *Peumus boldus* leaves from Chile. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, n. 3, p. 328-333, 2014.

SOUSA, M. P.*et al.* **Constituintes químicos ative propriedades biológicas de Plantas Medicinais Brasileiras**.Fortaleza: Ed. UFC, 2004.

SOUSA, F. *et al.* Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 642-54, 2008.

SRIVASTAVA, A. *et al.* Solid state characterization of an antioxidant alkaloid boldine using vibrational spectroscopy and quantum chemical calculations, India. **Vibrat. Spectrosc**, vol. 56, p. 82-88, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 848 p. 2009.

TAVARES, D. C; TAKAHASHI, C. S. Evaluation of the genotoxic potential of the alkaloid boldine in mammalian cell systems in vitro and in vivo, **Mutation Research**, v. 321, p. 139-145, 1994.

TEIXEIRA, C. C. C. *et al.* Study Of Quality Assurance For *Peumus Boldus* M. Products By Botanic Profiling, Extraction Optimization, HPLC Quantification and Antioxidant Assay. **Pharmacognosy Journal**, Ribeirão Preto, May-Jun, 2016, v. 8, n. 3, p. 264 – 272.

TESKE, M; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 3. ed. Curitiba: Herbarium, 1997.

TOYANG, N. J; VERPOORTE, R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus Vernonia (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, p. 681-723, 2013.

VALLE, J. M. D. *et al.* Extraction of boldo (*Peumus boldus* M.) leaves with supercritical CO<sub>2</sub> and hot pressurized water. **Food research international**, v. 38, n. 2, p. 203-213, 2005.

VEIGA JUNIOR, V.F; PINTO, A.C; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VENDITTI, E. *et al.* Hot vs. Cold water steeping of different teas: Do they affect antioxidant activity? **Food Chemistry**, v. 119, p. 1597-1604, 2010.

VERDEGUER, M. *et al.* Herbicidal activity of *Peumus boldus* and *Drimys winterii* essential oils from Chile. **Molecules**, v. 16, n. 1, p. 403-411, 2011.

VILA, R. *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves, **Planta Medica**, v. 65, p. 178-179, 1999.

VOGEL, H. *et al.* Studies of genetic variation of essential oil and alkaloids content in boldo (*Peumus boldus*), **Planta Medica**, v. 65, p. 90-91, 1999.

VOGEL, H; GONZÁLEZ, B; RAZMILIC, I. Boldo (*Peumus boldus*) cultivated under different light conditions, soil humidity and plantation density. **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1310-1312, 2011.

WANG, S. M. *et al.* Mass spectrometry of commonly abused amphetamine with sequential derivatization at two active sites. **Forensic Science International**, v.161, p. 97-118, 2006.

YOREK M. A.; WIESE T. J.; DAVIDSON E. P. et col. Reduced motor nerve conduction velocity and Na(+)-K(+)-ATPase activity in rats maintained on l-fucose diet. Reversal by myo-inositol supplementation. **Diabetes**, n. 42 , p. 1401-1406, 1993.