

Caracterização química de tinturas e extratos secos de plantas medicinais do Cerrado por cromatografia em camada delgada

M. M. Alves; A. M. S. Pereira; P. S. Pereira; S. C. França; B. W. Bertoni

Unidade de Biotecnologia, Universidade de Ribeirão Preto, 14096-380, Ribeirão Preto-SP, Brasil

bbertoni@unaerp.br

(Recebido em 22 de julho de 2010; aceito em 21 de dezembro de 2011)

As plantas medicinais endêmicas do bioma Cerrado são vastamente utilizadas na forma de tinturas e extratos, porém métodos analíticos para validação dessas formas farmacêuticas são ainda escassos. O objetivo do presente trabalho foi identificar marcadores químicos que permitissem avaliar a influência sazonal na composição química de 20 espécies endêmicas do Cerrado. Tinturas e extratos hidroalcoólicos secos foram analisados por cromatografia de Camada Delgada Comparativa (CCDC) em placas de sílica gel F254 utilizando 11 marcadores químicos específicos. O fator de retenção (Rf) dos marcadores químicos foi utilizado como referência para identificar as substâncias presentes nas amostras avaliadas. Para a maioria das espécies estudadas os extratos de plantas coletadas na estação da seca apresentaram maior rendimento e os compostos mais freqüentes nas tinturas e extratos analisados foram os flavonóides. Apenas as espécies *Achyrocline satureoides*, *Lychnophora ericoides* e *Zeyheria montana* apresentaram perfil químico distinto de acordo com a época de coleta da planta. A metodologia utilizada se mostrou eficiente, e adequada para o estabelecimento do controle de qualidade químico das espécies medicinais do Cerrado.

Palavras-chaves: Controle de Qualidade; Cerrado; Fitoquímica de Produtos Naturais; Sazonalidade

Medicinal plants endemic to the Cerrado biome are widely used in the form of tinctures and extracts, but analytical methods to validate those pharmaceutical formulations are still scarce. The aim of this study was to identify chemical markers to investigate the seasonal influence on the chemical composition of dyes and extracts of 20 species endemic to the Cerrado biome. Dried hydroalcoholic extracts and dyes were analyzed by comparative thin-layer chromatography (CCDC) on silica gel F254 plates using 11 specific chemical markers. The retention factor (Rf) of chemical markers was used as reference for identifying the substances present in the investigated samples. For most of the studied species, extracts of plants collected during the dry season showed higher yields and flavonoids were the most frequent compounds found in the tinctures and extracts. Only the extracts and tinctures of *Achyrocline satureoides*, *Lychnophora ericoides* and *Zeyheria montana* showed distinct chemical profile considering the harvest season. The methodology used was efficient and proper to establish the chemical quality control of medicinal plant species from the Cerrado.

Keywords: Quality Control; Cerrado; Phytochemistry Natural Products; Seasonality

1. INTRODUÇÃO

O Bioma Cerrado que abrange 22 % do território brasileiro abriga uma vasta flora endêmica, com mais de 500 espécies medicinais as quais são largamente utilizadas pela população brasileira [1]. Embora a utilização de plantas medicinais no Brasil seja bem difundida, o controle de qualidade da grande maioria das preparações fitoterápicas produzida em farmácia de manipulação, farmácia viva, farmácia comunitária e oficina farmacêutica é deficitário e restrito a poucas espécies.

O desenvolvimento da indústria de fitoterápicos no Brasil e uma ampla distribuição de fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS), como preconiza a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto Presidencial Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, dependem do desenvolvimento de metodologias adequadas, que estabeleçam o controle de qualidade destes medicamentos. A segurança dos produtos de origem vegetal, estão diretamente relacionados à qualidade química dos mesmos [2, 3, 4, 5].

Alguns trabalhos têm mostrado que métodos de controle de qualidade utilizando cromatografia líquida de alta eficiência [6, 7], cromatografia gasosa [8, 9] e cromatografia em camada delgada [10, 11, 12, 13] são eficientes para confirmar a presença de princípios ativos ou marcadores químicos e garantir a qualidade química de produtos farmacêuticos acabados.

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver metodologia analítica qualitativa por meio de cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) visando confirmar a presença de marcadores químicos em extratos e tinturas de plantas medicinais do Cerrado, bem como avaliar a influência sazonal na composição do extrato destes fitoterápicos.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1. Coleta das espécies

A coleta das espécies foi georeferenciada com Sistema de Posicionamento Global (GPS-Etrex garmin), realizada em áreas de ocorrência natural do Cerrado mineiro, nos municípios de Araxá (19°36'S e 47°08'W), Furnas (20°41'S e 46°20'W), Perdizes (19°43'S e 46°53'W) e São João Batista do Glória (20°35'S e 46°26'W). Todas as espécies foram herborizadas, identificadas no Instituto de Botânica de São Paulo, e depositadas no Herbário de Plantas Medicinais da UNAERP com os respectivos vouchers (Tabela 1).

As partes aéreas e/ou sistemas radiculares das 20 espécies foram coletados em duas épocas distintas: estação chuvosa e seca. Todo material fresco devidamente identificado, foi seco em estufa a 50°C e posteriormente moído a granulométrica de 40 mesh.

Tabela 1. Rendimento de extrato seco produzido plantas medicinais do Cerrado

Familia	Espécie/ vouchers	Nome popular	Parte utilizada	Estação/Rendimento do extrato seco (%)	
				Chuvosa	Seca
Anacardiaceae	<i>Myracrodruon urundeuva</i> (Engler) Fr. Allem. /vouchers HPMU-1392	Aroeira do sertão	Entrecasca.	7,7	7,9
	<i>Anacardium humile</i> Mart; A.St. Hil. . /vouchers HPMU-1393	Cajuzinho do Cerrado	casca da raiz.	9,3	11,8
Annonaceae	<i>Xylopia aromatica</i> (Lam.) Mart. . /vouchers HPMU-1394	Pimenta de Macaco	folhas	10,9	12,7
Alismataceae	<i>Echinodorus grandiflorus</i> Mitch. . /vouchers HPMU-1395	Chapéu de couro	Folhas	7,9	6,15
Aristolochiaceae	<i>Aristolochia galeata</i> Mart. Ex Zucc. /vouchers HPMU-1396	Jarrinha - Cipó mil homens	caule e folhas.	6,4	9,3
Asteraceae	<i>Achyrocline satyroides</i> (Lam.) D.C. . /vouchers HPMU-1397	Macela	Parte aérea.	6,0	6,8
	<i>Baccharis trimera</i> (Less) DC. . /vouchers HPMU-1398	Carqueja	folha	8,2	11,1
	<i>Lychnophora ericoides</i> Mart. . /vouchers HPMU-1399	Arnica-da-Serra	Folhas e flores	11,4	12,6
	<i>Mikania hirsutissima</i> DC. . /vouchers HPMU-1400	Cipó cabeludo	caule e folhas	11,2	14,4
	<i>Vernonia ferruginea</i> Less. /vouchers HPMU-1401	Assa peixe	folhas	11,4	15,0
Bignoniaceae	<i>Jacaranda decurrens</i> Cham/vouchers HPMU-1402	Carobinha	folhas	8,6	8,1
	<i>Zeyheria montana</i> (Mart.) Hoehne & Kuhh/vouchers HPMU-1403	Bolsa de Pastor	casca da raiz	15,7	8,0
Euforbiaceae	<i>Croton urucurana</i> Baill/vouchers HPMU-1404	Sangra d'água.	casca do tronco.	10,8	16,2
Fabaceae	<i>Bauhinia forficata</i> Link/vouchers HPMU-1405	Pata-de-vaca	folhas	3,35	9,35
Leguminosae	<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. Ex. Heyne/vouchers HPMU-1406	Jatobá	casca do tronco.	11,0	10,3
Malpighiaceae	<i>Byrsonima pachyphylla</i> (A. Juss) B. Gates/vouchers HPMU-1407	Murici	folhas	13,7	8,2
Myrtaceae	<i>Eugenia dysenterica</i> Dc. /vouchers HPMU-1408	Cagaita	folhas	15,1	15,8
Rubiaceae	<i>Palicourea rigida</i> Kunth/vouchers HPMU-1409	Douradinha	folhas	5,4	9,2
	<i>Rudgea viburnoides</i> - (Cham) Benth/vouchers HPMU-1410	Congonha de Bugre	folhas.	7,1	7,8
Simaroubaceae	<i>Simaba suffruticosa</i> L. /vouchers HPMU-1411	Calunga	raiz	8,5	11,5

2.2. Preparação das tinturas e extratos secos

Todos os extratos hidroalcoólicos foram produzidos com maceração estática, por 20 dias, utilizando 1/5 de planta/solvente (solução álcool/ água 80% (v/v)). Após este período foi realizada a filtração a vácuo. Cinquenta por cento da tintura produzida foi armazenada em frasco âmbar e a outra parte foi rotaevaporada e liofilizada, obtendo-se assim o extrato seco. O rendimento do extrato seco foi calculado a partir da relação do peso deste com o peso da droga vegetal expresso em porcentagem $[(g \text{ extrato seco} \times 100) / g \text{ droga vegetal} = \% \text{ rendimento}]$.

2.3. Cromatografia em camada delgada (CCDC)

A caracterização das amostras foi realizada por cromatografia em camada delgada, utilizando para fins comparativos macadores químicos. As amostras e os marcadores químicos foram aplicados em igual volume (10 μL), em placas cromatográficas de sílica gel F254 (MACHEREY-NAGEL ®), utilizando as fases móveis descritas na tabela 2 e os seguintes reveladores: NP/PEG (solução metanólica com 1% de 2-aminoethyl diphenylborinate (p/v) + solução etanólica com 5% de polietilenoglicol (p/v)), Vanilina sulfúrica e Luz ultra violeta (365nm).

2.4. Marcadores químicos

Todos os marcadores utilizados foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich. A seleção destes compostos foi realizada a partir de levantamento bibliográfico de substâncias químicas isoladas das espécies em estudo e a partir de ensaios com diversos marcadores para as plantas sem informação sobre isolamento e identificação de compostos químicos. Foram utilizados os seguintes marcadores: limoneno, trans-cariofileno, cariofileno, quercetina, luteolina, rutina, cafeína, lapachol e os ácidos caféico, ursólico e oleanólico.

Utilizou-se como parâmetros de avaliação das tinturas e extratos, a comparação do fator de retenção (Rf) e da cor desenvolvida na seqüência de reveladores empregados com os marcadores selecionados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a maioria das plantas estudadas, o maior rendimento dos extratos foi obtido na estação seca, apenas as espécies *Echinodorus grandiflorus* e *Zeyheria montana*, *Hymenaea stignocarpa* e *Byrsonima pachyphylla* tiveram maior rendimento na estação chuvosa e os extratos de *Myracrodruon urundeuva*, *Jacaranda decurrens*, *Eugenia dysenterica*, *Rudgea viburnoides*, mantiveram o mesmo rendimento independente da estação do ano em que foram coletadas (Tabela 1).

Com exceção das espécies *Achyrocline satureoides*, *Lychnophora ericoides* e *Zeyheria montana*, que apresentaram flores na estação chuvosa e ausência das mesmas na estação seca, não foi observada diferença no perfil cromatográfico das tinturas e extratos das plantas coletadas nas estações chuvosa e seca (Figura 1). Os marcadores específicos selecionados para cada espécie foram detectados nos extratos e tinturas de plantas coletadas nas duas estações do ano.

Os cromatogramas dos fitoterápicos produzidos a partir das tinturas ou dos extratos apresentaram o mesmo perfil químico e os onze marcadores utilizados foram suficientes para estabelecer o controle de qualidade qualitativo das vinte espécies medicinais do Cerrado pertencentes a treze famílias distintas (Tabela 2). Os marcadores mais frequentes nas tinturas e extratos analisados foram os flavonóides rutina (27%), luteolina (20%) e quercetina (17%) (Figura 2).

Tabela 2. Dados da cromatografia de extratos e tinturas de plantas medicinais do Cerrado.

Família	Espécie	Marcadores/Rf	Faze móvel	Revelador
Anacardiaceae	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Limoneno/ 0,86	Clorofórmio/Metanol (7/3)	Vanilina sulfúrica
		Trans-cariofileno/0,29	Hexano / Acetato de etila (7/3)	
	<i>Anacardium humile</i>	Luteolina / 0,43	Diclorometano/Metanol (9/1)	Np/Peg
		Rutina / 0,58	BAW	
Anonaceae	<i>Xylopia aromatica</i>	Quercetina /0,47	Diclorometano/Metanol (9/1)	
		Rutina / 0,54	BAW	
Alismataceae	<i>Echinodorus grandiflorus</i>	Luteolina / 0,55	Diclorometano/Metanol (9/1)	
		Rutina / 0,59	BAW	
Aristolochiaceae	<i>Aristolochia galeata</i>	Luteolina / 0,42	Diclorometano/Metanol (9/1)	
		Rutina / 0,45	BAW	
Asteraceae	<i>Achyrocline satureoides</i>	Quercetina / 0,23	Diclorometano/Metanol (9/1)	
		Luteolina / 0,53	Diclorometano/Metanol (9/1)	
	<i>Baccharis trimera</i>	Quercetina / 0,23	Diclorometano/Metanol (9/1)	
		Luteolina / 0,43	Diclorometano/Metanol (9/1)	
	<i>Lychinophora ericoides</i>	Quercetina / 0,28	Diclorometano/Metanol (9/1)	
		Rutina / 0,46	BAW	
	<i>Mikania hirsutissima</i>	Ac. oleanólico / 0,88	Clorofórmio/Metanol (7/3)	Vanilina sulfúrica
		Ac. ursólico / 0,91	Clorofórmio/Metanol (7/3)	Vanilina sulfúrica
	<i>Vernonia ferruginea</i>	Luteolina / 0,41	Diclorometano/Metanol (9/1)	Np/Peg
		Rutina / 0,44	BAW	
Bignoneaceae	<i>Jacaranda decurrens</i>	Ac. ursólico / 0,22	Hexano/Acetato de etila (7/3)	Vanilina sulfúrica
		Cafeína / 0,82	Clorofórmio/Metanol (7/3)	Luz UV
	<i>Zeyheria montana</i>	Lapachol / 0,24	Diclorometano/Metanol (9/1)	Vanilina sulfúrica
		Trans-cariofileno / 0,24	Diclorometano/Metanol (9/1)	
Euphorbiaceae	<i>Cróton urucurana</i>	Cafeína / 0,93	Clorofórmio/Metanol (7/3)	Luz UV
Fabaceae	<i>Bauhinia forficata</i>	Quercetina / 0,39	Diclorometano/Metanol (9/1)	Np/Peg
		Rutina / 0,27	Diclorometano/Metanol (9/1)	
Leguminoseae	<i>Hymenaea stigonocarpa</i>	Rutina / 0,54	BAW	
		Luteolina /0,46	Diclorometano/Metanol (9/1)	
Malpighiaceae	<i>Byrsonima pachyphylla</i>	Rutina / 0,44	BAW	
		Ac. Cafeico / 0,94	Clorofórmio/Metanol (7/3)	
Myrtaceae	<i>Eugenia dysenterica</i>	Rutina / 0,48	BAW	Luz UV
		Cariofileno / 0,29	Hexano/Acetato de etila (7/3)	
Rubiaceae	<i>Palicourea rigida</i>	Trans-cariofileno / 0,27	Hexano/Acetato de etila (7/3)	Vanilina sulfúrica
		Quercetina / 0,49	Diclorometano/Metanol (9/1)	
Rubiaceae	<i>Rudgea viburnoides</i>	Rutina / 0,66	BAW	Np/Peg
		Cafeína / 0,74	Clorofórmio/Metanol (7/3)	
Simaroubaceae	<i>Simaba suffruticosa</i>	Rutina / 0,58	BAW	Luz UV
		Ac. Ursólico / 0,18	Hexano/Acetato de etila (7/3)	
		Luteolina / 0,64	Diclorometano/Metanol (9/1)	Np/Peg

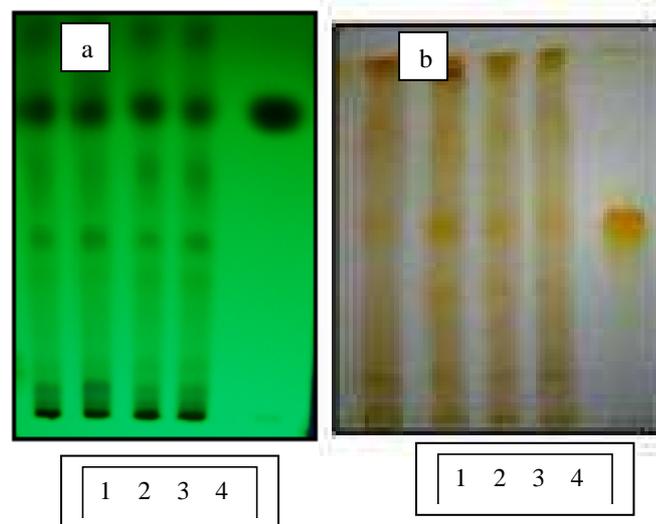


Figura 1. Cromatograma de tinturas e extratos. a= *Jacaranda decurrens*. (fase móvel; Clorofórmio/Metanol (7/3); marcador: cafeína e revelador Luz UV (365nm) e b= *Bauhinia forficata* (fase móvel: BAW, rutina e revelador Np/Peg). 1=tintura estação chuvosa, 2=extrato estação chuvosa, 3=tintura estação seca e 4=extrato estação seca.

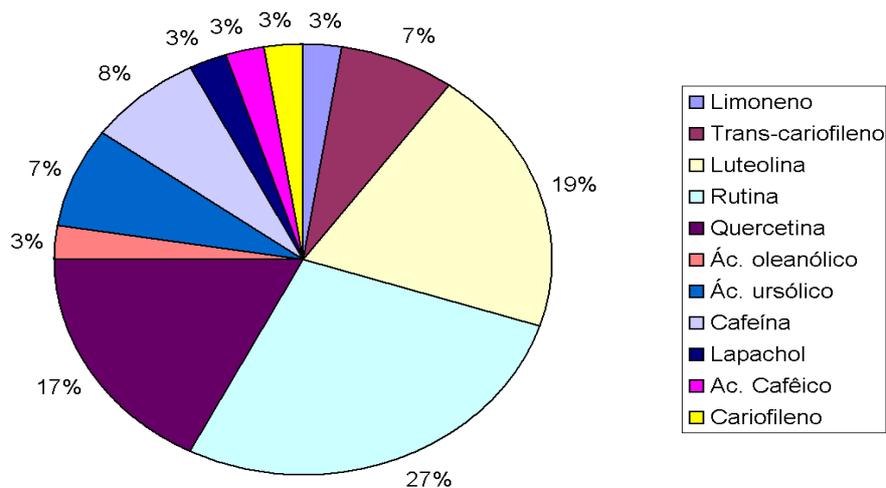


Figura 2. Porcentagem de marcadores identificados detectados em vinte espécies do Cerrado.

A confirmação da presença de limoneno e *trans*-cariofileno em tintura e extrato produzido a partir de entre-casca de *Myracrodruon urundeuva*, corrobora com trabalhos realizados por Kato et al. e Viana et al. [14 e 15], que demonstraram a presença destes compostos na espécie. A identificação cromatográfica de quercetina e luteolina em *Achyrocline satureoides* e *Baccharis trimera* confirmam os resultados de estudos fitoquímicos obtidos em estudos anteriores com estas espécies [16, 17, 18, 19, 20, 21], assim como a presença de quercetina em *Bauhinia forficata* [22], ácido ursólico em *Jacaranda decurrens* [23], lapachol em *Zeyheria montana* [24], cariofileno em *Eugenia dysenterica* [25].

Resultados semelhantes aos apresentados neste trabalho tem sido obtido com sucesso utilizando a técnica de CCDC para o controle de qualidade de formulações farmacêuticas de

outras espécies como *Paullinia cupana* [10], *Casearia sylvestris*, *Cordia ecalyculata* [11], *Peumus boldus*, *Bauhinia* spp [12] e *Maytenus ilicifolia* [13].

Estudos fitoquímicos realizados por outros autores com *Lychnophora ericoides* não mostraram, até o momento, a presença dos flavonóides rutina e quercetina como foi demonstrado no presente trabalho, embora estes compostos já tenham sido identificados na espécie *Lychnophora pinaster* [26]. As substâncias de referência rutina e cafeína, detectadas nas tinturas e extratos de *Rudgea viburnoides*, também não foram relatadas no único estudo fitoquímico existente sobre a espécie [27].

A detecção dos compostos químicos mostrados na tabela 2 e o número reduzidos de trabalhos fitoquímicos com as espécies *Anacardium humile*, *Xilopia aromática*, *Echinodorus grandiflorus*, *Aristolochia galeata*, *Mikania hirsutissima*, *Vernonia ferruginea*, *Palicourea rígida*, *Cróton urucurana*, *Hymenaea stignocarpa*, *Byrsonima pachyphylla*, *Simaba suffruticosa* e *Rudgea viburnoides* nos permite afirmar que os dados apresentados no presente trabalho serão úteis para o estabelecimento do controle de qualidade de fitoterápicos produzidos a partir destas espécies.

4. CONCLUSÃO

A técnica de CCDC mostrou-se de fácil execução para estabelecer o controle de qualidade químico de tinturas e extratos das plantas medicinais do Cerrado estudadas, podendo ser utilizada em farmácia de manipulação para assegurar a autenticidade de fitoterápicos produzidos a partir destas espécies.

-
1. GUARIM NETO, G.; MORAIS, R.G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. *Acta Botânica Brasileira*. [online] .17:561-584 (2003).
 2. BAUER, R.; TITTEL, G. Quality assessment of herbal preparations as a precondition of pharmacological and clinical studies. *Phytomedicine*. 2:193-198 (1996)
 3. BRANDÃO, M.G.L.; ALVES, R.M.S.; MOREIRA, R.A.; OLIVEIRA, P.; VIEIRA, M.T.; MOREIRA-CAMPOS, L.M. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 5:56-59 (2002)
 4. CHOI, D.W.; KIM, J.H.; CHO, S.Y.; HIM, D.H.; CHANG, S.Y. Regulation and quality control of herbal drugs in Korea. *Toxicology* . 181-182:581-586 (2002)
 5. BAST, A.; CHANDLER, R.F.; CHOY, P.C.; DELMULLE, L.M.; GRUENWALD, J.; HALKES, S.B.A.; KELLER, K.; KOEMAN, J.H.; PETER, P.; PRZYREMBEL, H.; REE, E.M.; RENWICK, A.G.; VERMEER, I.T.M. Botanical health products, positioning and requirements for effective and safe use. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 12:195-211 (2002)
 6. BARA, M.T.F.; CIRILO, H.N.; DE OLIVEIRA, V. Determinação de ginkgoflavonóides por cromatografia líquida de alta eficiência em matérias primas e produtos acabados. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 1:1-7 (2004)
 7. CARDOSO, C.A.L.; HONDA, N.K.; DIAS, E.S. Avaliação do perfil cromatográfico em espécies de *Polygonum* e amostras comercializadas como "erva-de-bicho". *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16:236-245 (2006)
 8. VEIGA, J.R.; VALDIR, F.; PATIRUCCI, M.L.; PINTO, A.C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. *Química Nova* [online] . 20:612-615 (1997)
 9. CASTRO, H.G. DE et al. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. *Química Nova* [online]. 27:55-57 (2004)
 10. ANTONELLI-USHIROBIRA, T.M.; YAMAGUTI, E.; MARIKO, L.U.; PALAZZO DE MELLO, J.C. Controle de Qualidade de Amostras de *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 23:383-6 (2004)
 11. TOBIAS, M.L.; OLIVEIRA, F.; PIRES DE OLIVEIRA, K.; MARQUES, L.C. Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá (Paraná-Brasil). *Revista eletrônica de farmácia*. IV:95-103 (2007)

12. MELO, J.G.; NASCIMENTO, V.T.; AMORIN, E.L.C.; ANDRADE LIMA, C.S.; ALBUQUERQUE, U.P. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata de vaca (*Bauhinia* spp) e ginkgo (*Ginkgo biloba* L). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 14:111-120 (2004)
13. ALBERTON, M.D.; FALKENBERG, D.B.; FALKENBERG, M.B. Análise cromatográfica de fitoterápicos a base de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. 12:11-13 (2002)
14. KATO, E.T.M.; AKISUE, G. Estudo farmacognóstico de cascas *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. *Revista Lecta, Bragança Paulista*. 20:69-76 (2002)
15. VIANA, G.S.B.; MATOS, F.J.B.; BANDEIRA, M.A.M.; RAO, V.S.N. Aroeira do Sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr.All.) Estudo Botânico- Farmacognóstico- Químico- Farmacológico. Fortaleza. 1994. 75p.
16. HNATYSZYN, O.; MOSCATELLI, V.; RONDINA, R.; COSTA, M.; ARRANZ, C.; BALASZCZUK, A.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Flavonoids from *Achyrocline satureoides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig corpus cavernosum. *Phytomedicine*. 11:366–369 (2004)
17. ARREDONDO, M. F. et al. Cytoprotection by *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. and some of its main flavonoids against oxidative stress. *Journal of Ethnopharmacology*. 91:13-20 (2004).
18. DE SOUZA, K.C.B.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L. LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline satureoides* preparations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 28:771–777 (2002)
19. SOICKE, H.; PESCHLOW, E.L. Characterisation of flavonoids from *Baccharis trimera* and antihepatotoxic properties. *Planta Medica*. 53:37-9 (1987)
20. SANTOS FILHO, D. et al. Atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata*, de uma lactona diterpênica e de uma flavona isoladas de *Baccharis trimera* (Less.) A.P. de Candolle. *Revista da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto*. 17:43-7 (1980)
21. MELLO, J.C.P.; PETROVICK, P.R. Quality control of *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae) hydroalcoholic extracts. *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 19:211-215 (2000)
22. PIZZOLATTI, M.G.; CUNHA JR, A.; SZPOGANICZ, B.; DE SOUSA, E.; BRAZ-FILHO, R.; SCHRIPSEMA, J. Flavonóides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* (Leguminosae) *Química Nova* 2003; 26:466-469.
23. Varanda, E.M.; Zuniga, G.E.; Salatino, A.; Roque, N.F.; Corcuera, L.J. Effect of ursolic acid from epicular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. *Journal of Natural Products*. 55:800-803 (1992)
24. JACOME, R.L.R.; OLIVEIRA, A.B.; RASLAN, D.S.; MULLER, A.; WAGNER, H. Análise de Naftoquinonas em extratos brutos de raízes de *Zeyheria montana* M. (bolsa de pastor). *Química Nova*. 22:175-177 (1999)
25. DUARTE, A.R.; RONALDO, R.; NAVES, S.C.; SANTOS, J.C.S.; FERRI, P.H. Seasonal Influence on the Essential Oil Variability of *Eugenia dysenterica*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 20:967-974 (2009)
26. MACIEL, R.L.; MOREIRA-CAMPOS, L.M.; SILVA, B.C.; BRANDÃO, M.G.L. Características físico-químicas e químicas e estudo preliminar de estabilidade de tinturas preparadas com espécies de arnica *Lychnophora* em comparação com *Arnica montana*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16:99-104 (2006)
27. ALVES, R.M.S.; STEHMANN, J.R.; ISAIAS, R.M.S.; BRANDÃO, M.G.L. Caracterização botânica e química de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth., (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 14:49-56 (2004)