Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Anatomia e perfil químico da salsaparrilha comercializada no Estado de São Paulo

Marli Kasue Misaki Soares

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2012

Marli Kasue Misaki Soares
Farmacêutica

Anatomia e perfil químico da salsaparrilha comercializada no Estado de São Paulo

Orientadora:
Profa. Dra. **BEATRIZ APPEZZATO DA GLÓRIA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Soares, Marli Kasue Misaki
Anatomia e perfil químico da salsaparrilha comercializada no Estado de São Paulo / Marli Kasue Misaki Soares.- - Piracicaba, 2012.
69 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Anatomia vegetal 2. Cromatografia em camada delgada 3. Histologia vegetal 4. Plantas medicinais 5. Salsaparrilha I. Título

CDD 633.88
S676a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedicatória

À Bia, que me ensinou a ver no trabalho e no estudo uma fonte de enriquecimento espiritual e fortalecimento pessoal.

Aos meus filhos Guilherme e Isadora, que através de beijos e abraços renovavam meu ânimo para continuar esta caminhada.
A eles também minhas sinceras desculpas pela correria do dia a dia.

E ao Osvaldo, meu esposo pelo carinho, companheirismo e paciência.
Qualquer palavra seria insuficiente para expressar minha imensa gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora. Beatriz Appezzato da Glória, primeiramente por ter me acolhido como técnica no laboratório de Anatomia Vegetal e depois por ter me orientado nesses últimos dois anos. Por esses anos de convivência tão harmoniosa e agradável, por ser sempre tão carinhosa e compreensiva, pelo seu exemplo de profissionalismo, pelos ensinamentos de tudo que sei hoje e por ter sempre acreditado em mim, dando-me liberdade para seguir com meus próprios passos. Obrigada por todos os bons momentos vividos, pelas conversas e conselhos que me fizeram crescer como profissional e como pessoa. Pelo seu exemplo de amor e dedicação a profissão.

À Professora Doutora Aline Redondo Martins, a iniciadora dos trabalhos com a salsaparrilha neste laboratório, pela parceria na execução, pela co-orientação desta pesquisa, pela amizade e companheirismo nas viagens de campo.

À Professora Doutora Vera Lúcia Garcia Rehder da Divisão de química orgânica e farmacêutica do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP por abrir as portas do seu laboratório e pela supervisão nas análises químicas e também pela paciência e carinho fundamentais num ambiente que eu não estava familiarizada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro deste estudo (Processo nº 473342/2010-3).

Ao programa de pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Departamento de Ciências Biológicas – ESALQ/USP, em especial, ao coordenador Professor Doutor Lázaro E. Peres e a Senhora Maria Solizete Granziol Silva, secretária do Programa, por sua constante eficiência profissional e pela amizade.

Ao Conselho do Departamento de Ciências Biológicas (ESALQ/USP), pela autorização para a realização do Mestrado e por toda a infraestrutura oferecida para o desenvolvimento da pesquisa.À Comissão de Treinamento e Desenvolvimento (T&D) da ESALQ/USP pela concessão de auxílio financeiro na participação em Congresso e Simpósio.

À toda equipe do laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Ciências Biológicas (ESALQ/USP), aqui representados pela Bia, Aline M., João Paulo, Aline B., Makeli,

Michelly, Magda, Arinawa, Maria das Graças, Elaine e Marta, que me auxiliaram direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho e também pelo incentivo, companheirismo e amizade.

A equipe da Divisão de química orgânica e farmacêutica do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CQPBA) da UNICAMP, pela valiosa amizade que fiz e em especial à estagiária Fabiana Bento Ribeiro da Silva pelo auxílio durante as atividades práticas.

À equipe do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Agricultura (NAP/MEPA – ESALQ/USP), aos Professores Elliot Watanabe Kitajima e Francisco André Ossamu Tanaka e ao Especialista em laboratório Renato Barbosa Salaroli, pelo acesso facilitado e ajuda no uso dos equipamentos de Microscopia Eletrônica.

Aos Professores Doutores do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas (ESALQ/USP), Beatriz Appezzato da Glória, Lázaro Eustáquio Pereira Peres, Paulo Roberto de Camargo e Castro, Daniel Scherer de Moura, Francisco André Ossamu Tanaka (Departamento de Fitopatologia e Nematologia – ESALQ/USP), Mario Tomazello Filho (Departamento de Ciências Florestais – ESALQ/USP) e Sandra Maria Carmello Guerreiro (Instituto de Biologia/UNICAMP), pelos ensinamentos transmitidos.

À Professora Doutora Fernanda Bacelar e equipe do Centro de Línguas – ESALQ/USP, pela amizade e incentivo no aprendizado da língua inglesa.

Ao Professor Doutor Luis Vitor Silva do Sacramento pela revisão do Projeto de Pesquisa.

À toda a equipe da secretaria do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, Lígia, Márcia, Fábio, Camila e Romeu, pela ajuda nos assuntos burocráticos e pela amizade.

Aos membros da biblioteca central da ESALQ/USP, responsável pela normatização do documento e elaboração da ficha catalográfica.

À minha família, Osvaldo, Guilherme e Isadora pela paciência, apoio e compreensão quanto a minha ausência constante durante o período deste estudo.

Aos meus pais, Naoyoshi e Yotuko pelo amor pleno e incondicional.

Ao meu sogro José e minha sogra Sebastiana pelo carinho com meus filhos na minha ausência.

Aos estimados amigos Adriana Hayashi, Ju Fernando, Cássia Figueiredo, Monica, Suzi, Tuane, Anielca, Harumi, Alba, Denise, Tie, Fátima, Enio, Reginaldo (fininho), Rose, Graziela e João Marcelo pelo carinho e amizade.

Enfim, a todos que tornaram possível a conclusão dessa dissertação.

MEU MUITO OBRIGADO!

“Obstáculos e dificuldades fazem parte da vida.

E a vida é a arte de superá-los.”

Mestre DeRose

SUMÁRIO

RESUMO 13
ABSTRACT 15
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS 17
1 INTRODUÇÃO 19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 21
2.2 A família Smilacaceae 21
2.3 O gênero *Smilax* 22
2.4 Anatomia da raiz de espécies de *Smilax* 23
2.5.1 Saponinas 26
3 MATERIAL E MÉTODOS 27
3.2 Análises ao microscópio eletrônico de varredura (MEV) 29
3.3 Análises ao microscópio de luz (ML) 29
3.4 Etapa química 30
3.4.1 Pulverização das amostras 31
3.4.2 Preparo dos extratos de *Smilax* e da salsaparrilha comercializada 31
3.4.3 Análise cromatográfica e perfil químico (fingerprint) 33
3.4.4 Teste para saponinas 34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 35
4.1 Microscopia eletrônica de varredura e Microscopia de luz 41
4.2 Perfil químico 49
4.2.1 Rendimento dos extratos 49
4.2.2 CCD's dos extratos de salsaparrilha 50
4.2.3 Teste de saponinas 54
REFERÊNCIAS 59
ANEXO 67

RESUMO

Anatomia e perfil químico da salsaparrilha comercializada no Estado de São Paulo

A atual Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos prevê investimentos em pesquisa e desenvolvimento para suprir a necessidade da indústria nacional em adquirir a matéria prima para a produção de novos fitoterápicos de maneira segura e controlada. As espécies do gênero *Smilax*, conhecidas popularmente como salsaparrilha, são empregadas na medicina popular como fortificante, antirreumático e antissifilítico e são vendidas em farmácias, casa de ervas e mercados públicos sem que exista um controle de qualidade de sua origem e eficácia. Além disso, a procedência do material é baseada principalmente no extrativismo. O controle de qualidade das drogas vegetais deveria ter uma base mais segura de identificação das drogas através da caracterização e definição de particularidades anatômicas e químicas. Este estudo teve como objetivo apresentar a quantidade, o valor, o modo de preparo, utilização e a procedência da salsaparrilha comercializada no Estado de São Paulo, bem como analisar a anatomia e o perfil químico de 44 amostras de salsaparrilha comercializada. Amostras de raiz foram submetidas às técnicas convencionais de microscopia de luz e eletrônica de varredura. Também foram realizados testes histoquímicos. Para determinar o perfil químico por Cromatografia em Camada delgada (CCD), foram realizados extratos etanólicos de amostras de raízes. O perfil químico do material comercializado foi comparado com o perfil das espécies de *Smilax* previamente identificadas (*S. goyazana* A. De Candolle, *S. rufescens* Grisebach, *S. brasiliensis* Sprengel, *S. campestris* Grisebach, *S. cissoides* Martius ex Grisebach, *S. fluminensis* Steudel, *S. oblongifolia* Pohl ex Grisebach e *S. polyantha* Grisebach). A quantidade média de salsaparrilha comercializada nas farmácias (400g) e nas casas de ervas (20Kg) é elevada se for considerado o fato de que as raízes não são procedentes de cultivo. Embora tenha sido observada grande semelhança entre a estrutura anatômica das amostras de salsaparrilha comercializadas e a estrutura já descrita na literatura para as espécies de *Smilax*, houve diferenças em relação à organização do floema, à presença de séries de idioblastos contendo ráfides na medula, à ausência de idioblastos fenólicos na medula e presença de metaxilema no centro da estrutura. O teste histoquímico confirmou a presença de amido em todas as amostras comerciais. As análises em CCD dos extratos etanólicos das amostras comerciais evidenciaram diversas manchas com tonalidades variando de amarelo a verde. Além disso, as manchas apresentaram componentes de mesmo Fator de retenção (Rf), indicando semelhança química entre as diversas amostras. No entanto, o padrão de distribuição de manchas, bem como o Rf das amostras comerciais diferiu daqueles obtidos para as oito espécies de *Smilax*, os quais foram muito similares entre si.

Palavras-chave: Cromatografia em Camada delgada; Histologia, *Smilax*

ABSTRACT

Anatomy and chemical profile of sarsaparilla commercialized in pharmaceutical stores and natural products stores of state of São Paulo

The current National Policy on Herbal Medicine provides investments in drug research and development to supply the need of national industry to acquire the raw material for production new herbal medicines in a safe and controlled way. The species of *Smilax*, popularly known as sarsaparilla, are used in folk medicine to be effective as tonic, antirheumatic and antisyphilitic properties and they are commercialized in pharmaceutical stores, natural products stores and public markets in Brazil with no quality control of its origin and efficacy. In addition, these plants are still harvested in extractive way. The quality control of herbal drugs should have more secure identification of drugs through the characterization and definition of anatomical and chemical peculiarities. This study aims to present the quantity, value, method of preparation, use and origin of the commercialized sarsaparilla in cities from the São Paulo state and to investigate the anatomy and chemical profile of 44 samples of the commercialized sarsaparilla. Root samples were processed and analyzed using conventional light and scanning electron microscopy techniques. Usual histochemical tests were also performed. Chemical profiles of samples were analyzed by thin layer chromatography (TLC) using ethanolic extracts of the roots. The chemical profile of the commercialized material was compared with profiles of previously identified species of *Smilax* (*S. goyazana* A. De Candolle, *S. rufescens* Grisebach, *S. brasiliensis* Sprengel, *S. campestris* Grisebach, *S. cissoides* Martius ex Grisebach, *S. fluminensis* Steudel, *S. oblongifolia* Pohl ex Grisebach and *S. polyantha* Grisebach). The average amount of sarsaparilla sold in pharmaceutical stores (400g) and natural products stores (20kg) is high if one considers the fact that the roots are not found under cultivation. Although there was a great similarity between the anatomical structure of commercialized sarsaparilla and the structure already described in literature for the *Smilax* species, there were found some differences in the organization of the phloem, the occurrence of series of idioblasts containing raphides in the pith, the absence of phenolic idioblasts in the pith and the presence of metaxylem in the center of the organ. The histochemical tests confirmed the presence of starch in all commercialized samples. Chemical profile showed several spots with colors ranging from yellow to green. Moreover, the spots showed the same components retention factor (Rf), indicating chemical similarity between the different samples. However, the distribution pattern of spots, Rf value of commercial samples differed from the eight species of *Smilax*, which were very similar to each other.

Keywords: Histology; Thin layer chromatography; *Smilax*

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BAW	Butanol:acetic acid:water
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
ºC	Graus Celsius
ESALQ	Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
UV	Ultravioleta
mg	Miligrama
mL	Mililitro
NP/PEG	Natural products-polyethylene glycol reagent
NPS	Número da procedência da salsaparrilha
pH	Potencial hidrogeniônico
Rf	Relação de Frente ou fator de retenção
RPM	Rotações por minuto
USP	Universidade de São Paulo
µm	Micrometro

1 INTRODUÇÃO

Segundo a atual Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, investimentos devem ser feitos em pesquisa e desenvolvimento para suprir a necessidade da indústria nacional em adquirir a matéria-prima para produção de fitoterápicos de maneira segura e controlada. Outro problema que a indústria nacional enfrenta é conseguir profissionais qualificados que atendam a essa área, sendo assim é de fundamental importância a associação entre as indústrias farmacêuticas e as universidades (SIMÕES et al., 2010; CALIXTO, 2003).

Atualmente, cerca de 25% dos fármacos utilizados na terapêutica são de origem vegetal, enquanto que 50% são de origem sintética, mas relacionados aos princípios isolados de plantas medicinais (OLIVEIRA; BRAGA, 2003). O aumento do uso das plantas medicinais nas últimas décadas pode ser explicado tanto pela procura cada vez maior pelas terapias alternativas quanto pela ampliação gradativa das pesquisas em relação ao potencial das plantas permitindo o desenvolvimento de fitoterápicos confiáveis e eficazes (KOROLKOVAS, 1996).

As espécies do gênero *Smilax* L., conhecidas popularmente como salsaparrilha, são empregadas na medicina popular desde o século XVI (MEDEIROS; SENNA-VALLE; ANDREATA, 2007) como fortificante, antirreumático e antissifilítico (LORENZI, 2002) e diurético (SIMÕES et al., 2010). Frequentemente ocorre a falsificação da salsaparrilha empregando-se espécies do gênero *Herreria* devido às semelhanças morfológicas nas estruturas comercializadas para fins medicinais, ou seja, sistemas subterrâneos espessados e raízes (CUNHA, 1937a).

Durante muito tempo a salsaparrilha foi identificada pelo modo como as raízes eram amarradas em feixes e também pelo aspecto externo das mesmas (Farmacopeia, 1929). No entanto, estudos com espécies brasileiras de *Smilax* têm mostrado que as raízes de *Smilax* alteram de espessura e de coloração de acordo com a fase de desenvolvimento (MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; MARTINS et al., 2010; GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA, 2010). Portanto, tais características que eram utilizadas para a identificação de salsaparrilha não eram confiáveis. No entanto, as características anatômicas da raiz, em secção transversal, podem variar muito e reunindo detalhes como as espessuras relativas das regiões cortical, vascular e medular, além da presença de amido e cristais de oxalato de cálcio poderiam proporcionar um número maior de elementos para uma determinação mais precisa da droga (CUNHA, 1937a; STELLFELD, 1938).

De fato, a caracterização anatômica tem sido apontada como uma ferramenta de grande importância para evitar falsificações e garantir o controle de qualidade da matéria prima utilizada na elaboração dos fitoterápicos (MING, 1994).

O perfil químico dos extratos metanólicos de *Smilax brasiliensis*, *S. campestris*, *S. cissoides* e *S. polyantha* é muito semelhante (MARTINS, 2009) e talvez seja possível associar esta característica com os dados anatômicos visando comparar as espécies de *Smilax* e o material de salsaparrilha comercializado.

Portanto, o objetivo geral deste estudo foi analisar a anatomia e o perfil químico das amostras de salsaparrilha comercializadas em nove cidades de médio a grande porte do Estado de São Paulo, bem como o perfil químico das folhas e raízes das espécies de *Smilax* (*S. goyazana, S. rufescens, S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. fluminensis, S. oblongifolia e S. polyantha*). Os objetivos específicos foram: a) levantar dados sobre a salsaparrilha referente à indicação medicinal, a quantidade e forma de consumo e à procedência da droga vegetal; b) identificar a quantidade de empresas atacadistas que comercializam salsaparrilha com grande abrangência no Estado; c) realizar os estudos anatômicos e ultraestruturais no material comercializado e comparar os dados com aqueles já descritos na literatura para as espécies do gênero *Smilax*; d) comparar o perfil químico das amostras de salsaparrilha comercializada e de folhas e raízes de *Smilax goyazana, S. rufescens, S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. fluminensis, S. oblongifolia* e *S. polyantha*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas medicinais

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que, apesar de todo desenvolvimento da medicina moderna, grande parte da população dos países em desenvolvimento ainda depende da medicina tradicional para a sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde (MELO et al., 2007).

Além dos benefícios sociais, o valor econômico é outro fator a ser considerado, pois em países desenvolvidos como os Estados Unidos, 25% dos medicamentos comercializados contém princípios ativos de origem vegetal, somando cerca de oito bilhões de dólares por ano (FARNSWORTH; SOEJARTO, 1985). No Brasil estima-se que o mercado de fitoterápicos movimente em torno de US$ 700 mil a US$ 1 milhão anuais (SANT'ANA; ASSAD, 2002).

Quanto à produção de plantas medicinais, observa-se a falta de colheitas agrícolas sistematizadas, ausência de informações quantitativas sobre os reais recursos existentes e, ainda, a predominância da atividade extrativista que representa 75% do total de plantas medicinais comercializadas no Brasil (BARATA, 2005). Essa situação faz com que a maioria dos medicamentos produzidos a partir de drogas vegetais, com espécies nativas, seja fundamentada, apenas no uso popular dessas plantas, sem comprovação científica de eficácia e segurança no uso (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

No Brasil, a importância se dá pelo uso popular e pela utilização como matéria prima na produção de fitoterápicos (CALIXTO, 2000; BRANDÃO et al., 2002; BRANDÃO et al., 2009). Até hoje tanto nas grandes metrópoles quanto nas regiões mais pobres, a comercialização de plantas medicinais é realizada em feiras livres, mercados populares, farmácias de manipulação e casa de ervas (MACIEL et al., 2002). Entre as inúmeras plantas comercializadas nesses estabelecimentos está a salsaparrilha, pertencente ao gênero *Smilax* (Smilacaceae).

2.2 A família Smilacaceae

Smilacaceae é uma pequena família agrupada na Ordem Liliales no grupo das monocotiledôneas e está representada por dois gêneros distribuídos por todos os continentes, predominantemente em regiões tropical (APG III, 2011). Esta família é composta por lianas

ou trepadeiras herbáceas, raramente subarbustos ou arbustos, com rizóforos, ramos e caules aculeados. Apresentam folhas simples, coriáceas a membranáceas e lâminas com nervuras principais. As flores são unissexuais raramente bissexuais e frutos em baga (ANDREATA, 2000).

2.3 O gênero *Smilax*

Smilax é o maior gênero com cerca de 300 espécies, sendo considerado o mais importante economicamente pelo seu amplo uso na medicina popular (ANDREATA, 1997; 2000; 2009).

No Brasil está representada por trinta e duas espécies, sendo considerada a região sudeste como o centro de diversidade no país (DIAS NETO et al., 2010). No Estado de São Paulo é representada por dezoito espécies. Onze das 32 espécies brasileiras são denominadas popularmente salsaparrilha e oito delas são consideradas medicinais (ANDREATA, 1997; MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; MARTINS et al., 2010).

As espécies do gênero *Smilax* L. ocorrentes no Brasil são predominantemente lianas ou trepadeiras herbáceas ou lenhosas, algumas espécies podem ainda ser subarbustivas ou arbustivas. Os caules e ramos geralmente são cilíndricos ou angulares, as folhas alternas, pecíolo articulado, com par de gavinhas (ANDREATA, 2000).

Segundo Cunha (1937a) são as raízes da salsaparrilha que apresentam maior atividade e são elas as utilizadas pela sua propriedade depurativa, diurética e sudorífera. Stellfeld (1938) e Vandercolme (1947) constataram a atividade anti-hemolítica, antissifilítica e antirreumática.

Medeiros, Senna-Valle e Andreata (2007) relatam sobre o uso da salsaparrilha no Mosteiro de São Bento durante o século XIV, sendo essa planta uma “grande revelação das florestas” para os portugueses no início da colonização do Brasil, pois além de ser utilizada na alimentação dos nativos, era empregada frequentemente na medicina popular pelos seus efeitos terapêuticos: atividade antissifilítica, antibiótica, diurética e depurativa.

Cunha (1937a, b, 1940) e Stellfeld (1940) comentam a falsificação da salsaparrilha, ou seja, a utilização de *Herreria salsaparrilha* com propósitos medicinais, atribuindo a essa espécie a mesma denominação e propriedades medicinais de *Smilax aspera*. Cunha (1937a) aponta *Philodendron crassinervium* (Araceae) e *Rajania cordata* (Dioscoreaceae) também como falsas salsaparrilhas. Portanto, uma questão fundamental é a identificação correta das plantas, pois diversas plantas podem possuir o mesmo nome popular e com isso levar a utilização de uma planta que não possui princípio ativo ou ainda pode ocorrer à ação enganosa

de pessoas que oferecem uma planta por outra (MING, 1994). Visto que as raízes de *Smilax* são utilizadas na medicina popular, o conhecimento da sua anatomia é fundamental para a distinção das demais plantas comercializadas como salsaparrilha.

2.4 Anatomia da raiz de espécies de *Smilax*

Vandercolme (1947) fez todo um histórico sobre as salsaparrilhas, dividindo em salsaparrilhas verdadeiras e falsas na qual são empregadas para substituir as raízes de *Smilax*, seja com fim fraudulento, seja por se reconhecer propriedades análogas às da verdadeira salsaparrilha. Estas salsaparrilhas podem possuir características morfológicas muito diferentes, outras muito próximas de *Smilax* como, por exemplo, a *Herreria sarsaparilla*, também conhecidas como japicanga, são empregadas como antissifilítica e possuem caracteres exteriores das raízes muito próximas de *Smilax*, como cor, dimensão e forma. No entanto, a superfície é mais enrugada que a da salsaparrilha.

Na Farmacopéia (1929) estão incluídas quatro espécies de *Smilax*: salsaparrilha do Pará (*Smilax papiracea* e *S. syphilitica*), salsaparrilha de Minas Gerais (*S. officinalis*) e salsaparrilha do México (*S. medica*). As espécies eram distinguidas na época, pelo nome do país ou principal centro comercial de origem. A parte utilizada como droga vegetal era a raiz que chegava ao mercado amarrada em feixes cilíndricos medindo geralmente entre 0,6 à 1,5 m de comprimento, 2 a 6 mm de diâmetro, e a coloração ia de pardo avermelhada a pardo negra. Em seção transversal, no parênquima cortical havia em algumas células resina ou idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo ráfides e a grande maioria apresentava grãos de amido. A endoderme era constituída por uma fileira de células fortemente lignificadas, de paredes uniformemente espessadas, exceto em *S. medica*, cujas paredes externas eram levemente espessadas. A medula era composta de células parenquimáticas amilíferas.

Cunha (1937b) baseou-se nas diferenças estruturais da endoderme para diferenciar as raízes das diversas espécies de salsaparrilha. O autor descreveu a endoderme da salsaparrilha do México (*Smilax medica*) como uma camada de células retangulares de lume triangular com o vértice voltado para a parte interna. A salsaparrilha de Honduras (*S. salsaparrilha*) a endoderme foi descrita com células quase quadradas e lume oval ou arredondado, enquanto na salsaparrilha do Pará (*S. syphilitica*) a endoderme foi descrita como tendo dimensões irregulares, alongadas no sentido radial, sendo o lume quadrangular arredondado nos ângulos.

Stellfeld (1938) descreveu a eliminação do córtex externo em *Smilax aspera* e a formação de uma bainha de revestimento pelo espessamento das células das últimas camadas do córtex.

Caponetti e Quimby (1956), estudando cinco espécies de *Smilax* (*S. auriculata*, *S.hispida*, *S. glauca*, *S. bona-nox* e *S. herbacea*) observaram, em seção transversal de raiz, que todas apresentavam estrutura típica de monocotiledônea, geralmente com grãos de amido no parênquima cortical e medular. Os autores observaram em *S. herbacea* células endodérmicas com formato isodiamétrico, sendo que nas demais era alongado radialmente.

No sistema radicular adventício de *Smilax polyantha* (MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006), de *S. brasiliensis*, *S. campestris*, *S. cissoides*, *S. goyazana*, *S. oblongifolia* e *S. rufescens* (MARTINS et al., 2010), *S. fluminensis* (SOARES, 2010), *S. syphilitica* (SILVA, 2010) e *S. subsessiliflora* (GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA, 2010) foi observada a presença de raízes em dois estágios distintos de desenvolvimento: raízes jovens brancas, tenras e de diâmetro maior e raízes mais velhas marrons, rígidas e de diâmetro menor. Nas raízes brancas, em secção transversal, o revestimento era feito pela epiderme. O córtex apresentava exoderme com células altas e paredes com estrias de Caspary. Ainda no córtex observou-se a presença de idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo ráfides e idioblastos contendo compostos fenólicos em *S. syphilitica*. Em *S. subsessiliflora* os compostos fenólicos estavam presentes no parênquima cortical e medular. Ainda nessa fase, observou-se que o espessamento da parede da endoderme em *S. fluminensis* e *S. syphilitica* era em "U" e nas outras espécies foram verificadas o espessamento em "O". O cilindro vascular era poliarco e sifonostélico e a medula, ampla e parenquimática. À medida que as raízes das espécies descritas acima envelheceram, houve a eliminação progressiva da epiderme e do córtex externo, de tal forma que o revestimento passou a ser exercido pelo córtex interno, e consequentemente houve a diminuição do diâmetro da raiz. Em *S. aff. syphilitica* estudado por Silva (2010) foi possível identificar acúmulo de compostos fenólicos nas células endodérmicas. Em *Smilax polyantha*, *S. fluminensis*, *S. brasiliensis*, *S. campestris*, *S. cissoides*, *S. goyazana*, *S. oblongifolia* e *S. rufescens* houve acúmulo de grãos de amido no parênquima medular. Seguindo a classificação de Oliveira e Akissue (1989) para a morfologia dos grãos de amido, Martins et al. (2010) classificaram como esféricos e simples (isolados) em *S. brasiliensis* e *S. goyazana*, poliédricos e compostos (agrupados) em *S. oblongifolia*, *S. campestris* e *S. cissoides*. Em *S. fluminensis* (SOARES, 2010) e em *S. syphilitica* (SILVA, 2010) os grãos de amido podem ser esféricos ou poliédricos.

Como dificilmente são obtidos caracteres distintivos morfológicos de material vegetal rasurado ou triturado, Martins (2009) descreveu marcadores anatômicos que podem ser usados na comparação com as amostras comerciais. Para as raízes de *S. polyantha* foram encontrados esclereides fibriformes, fibras e elementos de vaso com espessamento de parede do tipo pontoado e placa de perfuração do tipo escalariforme e para as espécies *S. brasiliensis* e *S. cissoides* além dessas características foram encontrados braquiesclereides.

As amostras de *Smilax ornata* e *S. regelii* também apresentaram caracteres diagnósticos tais como cristais aciculares de oxalato de cálcio; elementos de vaso com espessamento de parede do tipo reticulado e placa de perfuração do tipo escalariforme (JACKSON; SNOWDON, 1990).

2.5 Constituintes químicos

Outro item importante no controle de qualidade da salsaparrilha e de todas as outras plantas medicinais se refere aos constituintes químicos.

Um dos métodos mais simples e rápidos que pode ser utilizado rotineiramente no estabelecimento do perfil da composição química das espécies utilizadas na medicina tradicional é a cromatografia em camada delgada - CCD.

A análise por CCD de drogas vegetais nos permite obter um perfil (fingerprint) da amostra e comparar com o perfil de uma droga padrão, o que permite avaliar qualitativamente quais componentes chaves de uma droga em particular estão presentes na amostra analisada.

Mesmo nos dias de hoje, em muitas farmacopéias o CCD é utilizado para a identificação de uma grande variedade de compostos químicos (DURÓN et al., 2009), como na British Herbal Pharmacopoeia (1996), onde foi utilizado o CCD para identificação das espécies *Smilax aristolochiaefolia, S. febrifuga, S. ornata* e *S. regelii* e para mostrar os constituintes químicos de *S. regelii* e *S. aristolochiaefolia* (WAGNER, BLADT, RICKL, 1996). Esse tipo de método é conveniente para determinar a qualidade e a possível adulteração de plantas medicinais (LIANG; XIE; CHAN, 2004).

Os principais grupos de substâncias químicas isoladas são flavonóides, ácidos fenólicos em *S. bockii* (XU et al., 2005; GUO et al., 2004), em *S. glabra* (CHEN et al., 1999), e saponinas para *S. china* (SHU; GAO; YANG, 2004), *S. menispermoidea* (JU; JIA, 1992) e *S. officinalis* (BERNARDO; PINTO; PARENTE, 1996). Os estudos já realizados com o gênero *Smilax* demonstraram atividade antiinflamatória (XU et al., 2005; SHU; GAO; YANG, 2006), antioxidante (RUGNA et al., 2003), diurética (CÁCERES; GIRÓN;

MARTÍNEZ, 1987) e antirreumática (ADAMS, 2009). Muitas propriedades atribuídas ao gênero *Smilax* não tem comprovação científica e existem poucos trabalhos com esta planta.

2.5.1 Saponinas

As saponinas constituem uma classe química amplamente distribuída na natureza, ocorrendo principalmente no reino vegetal em diversas espécies vegetais abrangendo aproximadamente 100 famílias (OLESZEK, 2002), cujo nome deriva de sua propriedade de formação de espuma abundante quando agitados com água (VINCKEN, 2007). Essa atividade provém do fato de apresentarem na sua estrutura uma parte lipofílica, denominada aglicona (triterpeno ou esteróide) e uma parte hidrofílica constituída por um ou mais açucares.

Podem ser classificadas em dois grupos baseados na natureza do esqueleto de aglicona. O primeiro grupo formado por saponinas esteroidais são encontrados quase que exclusivamente em monocotiledôneas. O segundo grupo formado por saponinas triterpênicas são encontrados predominantemente em dicotiledôneas (SPARG; LIGHT; VAN STADEN, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção de material botânico

Durante todo o período experimental, foram adquiridas amostras comerciais de salsaparrilha em embalagens fechadas ou a granel, em estabelecimentos que comercializam plantas medicinais (farmácias de manipulação, casas de ervas e mercados públicos) em nove cidades de médio a grande porte distribuídas em diferentes regiões do Estado de São Paulo (Araraquara, Campinas, Piracicaba, Presidente Prudente, Registro, Ribeirão Preto, São José dos Campos, São Paulo e Sorocaba), durante o período de dezembro de 2010 a maio de 2011 (Figura 1).

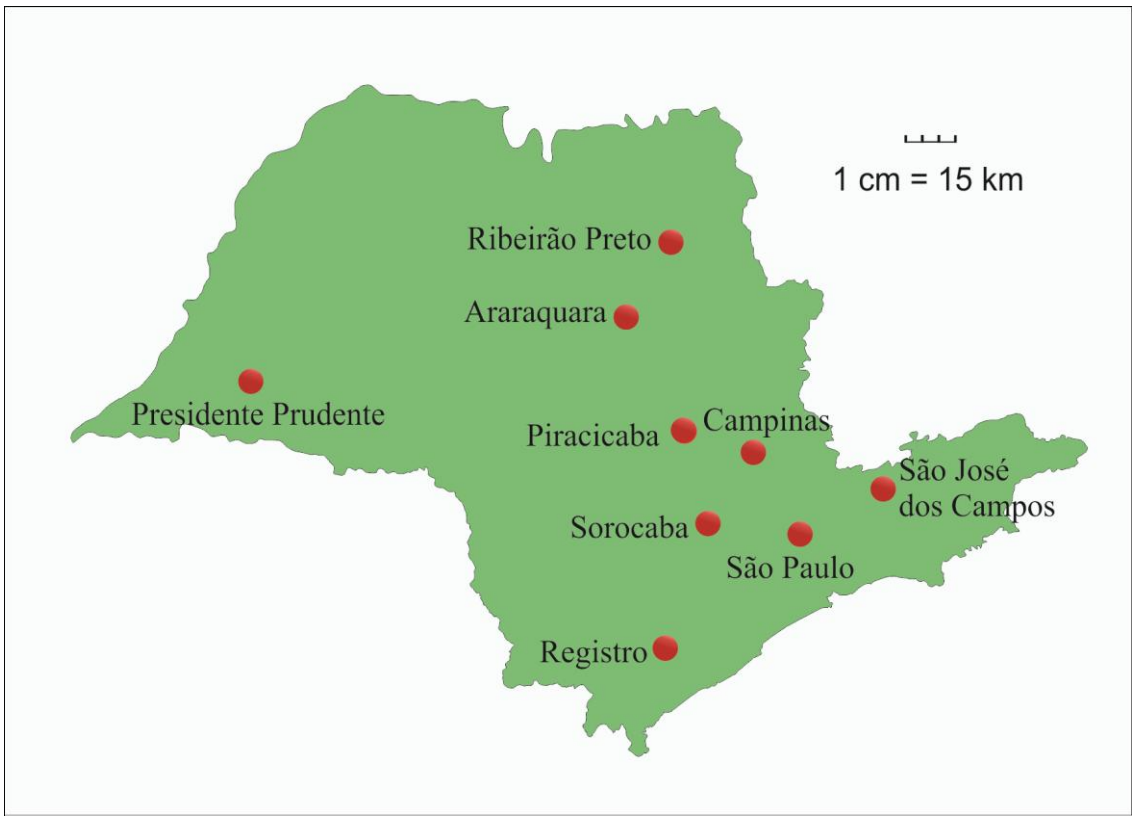

Figura 1 – Mapa do Estado de São Paulo, Brasil. Locais de coleta de amostras comerciais de salsaparrilha

As amostras comerciais de salsaparrilha foram adquiridas em pelo menos três diferentes estabelecimentos em cada cidade totalizando 44 estabelecimentos visitados, sendo 24 casas de ervas, 10 farmácias de manipulação e 10 mercados públicos. Em oito dos 44 estabelecimentos visitados não foi possível obter qualquer informação sobre a procedência das amostras, portanto foram consideradas 36 amostras identificadas como NPS (Tabela 1).

Além disso, diferentes estabelecimentos comercializavam salsaparrilha de mesma procedência, ou seja, foi possível detectar um total de 12 atacadistas distintos (Tabela 1) cuja identificação será mantida em sigilo a fim de não prejudicar os entrevistados e os estabelecimentos visitados.

Tabela 1 - Atacadistas que fornecem salsaparrilha e as respectivas amostras coletadas nos estabelecimentos comerciais visitados no Estado de São Paulo

Atacadistas	Amostras
A	NPS 7, NPS15, NPS 26, NPS 38, NPS 45
B	NPS 29A
C	NPS 9, NPS 19, NPS 29B
D	NPS 17, NPS 23, NPS 35, NPS 37, NPS 47
E	NPS 8, NPS 10, NPS 14, NPS 31, NPS 40
F	NPS 48
G	NPS 24, NPS 28
H	NPS 27, NPS 50
I	NPS 20, NPS 32, NPS 36
J	NPS 11, NPS 22
K	NPS 13, NPS 21, NPS 25, NPS 41, NPS 46
L	NPS 18, NPS 39

Para levantar os dados referentes ao uso das plantas, de valores comerciais e de procedência das amostras foi elaborado um questionário que foi aplicado ao responsável pelo estabelecimento comercial (anexo A).

Para as análises químicas comparativas também foram utilizadas folhas e raízes das espécies *Smilax goyazana, S. rufescens, S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. fluminensis, S. oblongifolia* e *S. polyantha* que se encontra em cultivo na casa de vegetação do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, Piracicaba-SP. Para a análise anatômica comparativa das raízes também foi analisada a espécie *S. oblongifolia.*

Para as descrições morfológicas das amostras comerciais foram realizados registros fotográficos com máquina digital marca Sony, modelo Cybershot DSC-W110.

3.2 Análises ao microscópio eletrônico de varredura (MEV)

As amostras de salsaparrilha (Figura 2A) foram subdivididas em pedaços menores com auxílio de lâmina de barbear, fixadas em suporte de alumínio com fita dupla face de carbono e metalizadas com uma camada de ouro de 30-40 nm (Figura 2B) no equipamento Balzers modelo SCD 050.

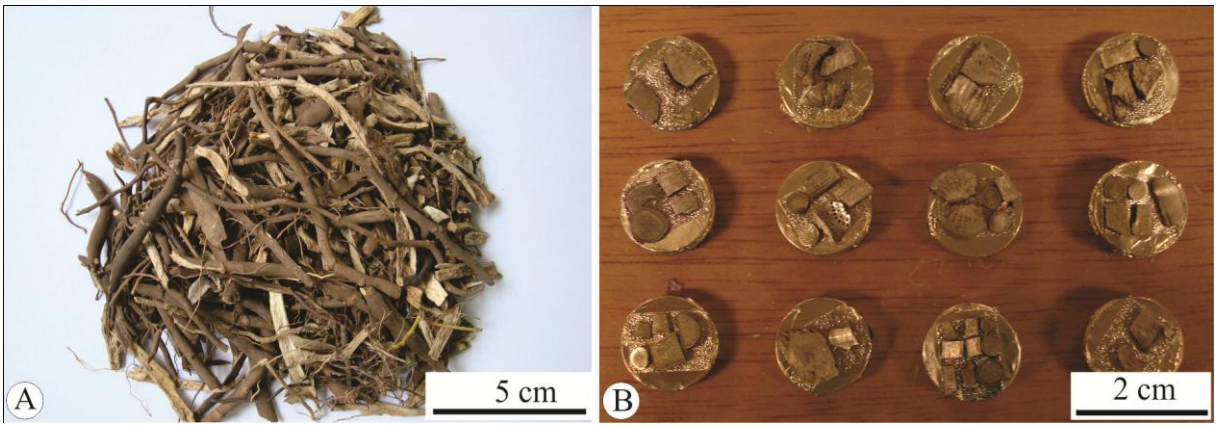

Figura 2 – Amostra NPS 35 na qual é possível visualizar o material fragmentado (A) que foram juntamente com outras amostras foram fixadas em suporte de alumínio, metalizadas (B) e analisadas ao MEV

As análises e a digitalização das imagens foram realizadas ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss modelo LEO 435VP, operado a 20kv com as escalas impressas diretamente nas eletromicrografias. Essa etapa foi realizada no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Agricultura (NAP/MEPA) da ESALQ-USP.

3.3 Análises ao microscópio de luz (ML)

Os materiais de raiz obtidos nos estabelecimentos comerciais foram submetidos à hidratação e amolecimento prévio com solução de água, glicerina e álcool (KRAUS; ARDUIN, 1997). As raízes de *S. oblongifolia* foram fixadas em Karnovsky (KARNOVSKY, 1965).

Os frascos com as amostras foram colocados dentro de um dessecador e com a ajuda de uma bomba a vácuo foi feita a retirada de ar contido nos materiais.

Em seguida, as amostras passaram por desidratação crescente de 15 minutos em cada etapa etanólica (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%), infiltradas em hidroxi-etil-metacrilato (Leica Historesin®) conforme recomenda o fabricante, modificando apenas no

tempo de pré-infiltração que foi de 24 horas para etanol 100%:resina (1:1 e 2:1) e de infiltração (0:1) que foi de 30 dias.

Os blocos obtidos foram seccionados a 7 μm de espessura no micrótomo rotativo Leica RM2245 com o auxílio de uma navalha de aço do tipo C. As secções foram distendidas numa cuba com água destilada a 30ºC e colocado na lâmina de vidro. Em seguida as lâminas foram depositadas sobre uma placa aquecedora a 40ºC para a secagem e fixação das secções na lâmina.

Após essa etapa, as secções foram corados com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato-citrato a pH 4-6 (SAKAI, 1973) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética "Entellan".

Para os testes histoquímicos as amostras infiltradas em historesina foram submetidas a corantes e reagentes específicos. Para a localização de paredes suberificadas e cutinizadas e também a detecção de substâncias lipofílicas foi utilizado Sudan IV (JENSEN, 1962); para a localização de grãos de amido, o cloreto de zinco iodado (STRASBURGER, 1913); para evidenciar compostos fenólicos, o cloreto férrico (JOHANSEN, 1940); para lignina, a floroglucina em meio ácido (JOHANSEN, 1940) e para mucilagem e substâncias pécticas, o vermelho de rutênio (JOHANSEN, 1940). Para a verificação do aspecto natural do órgão, foram montadas secções do material somente em água, isto é, sem tratamento e observadas ao microscópio de luz.

As lâminas obtidas foram analisadas com o auxílio do microscópio binocular da marca Leica, modelo CME e as imagens foram capturadas com o auxílio do microscópio trinocular da marca Leica, modelo DMLB, acoplada à câmara de vídeo da marca Leica, modelo DC 300 e com software IM50 instalado no microcomputador e as escalas das imagens obtidas através da digitalização da escala micrométrica nas mesmas condições das demais imagens.

Todas as etapas da caracterização anatômica e histoquímica foram realizadas no laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) - USP.

3.4 Etapa química

Os ensaios fitoquímicos foram desenvolvidos na Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – CPQBA-UNICAMP. O extrato foi preparado a partir de amostras de salsaparrilha adquiridas

no comércio e também das folhas e raízes de *Smilax goyazana, S. rufescens, S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. fluminensis, S. oblongifolia* e *S. polyantha*.

3.4.1 Pulverização das amostras

Foram coletadas folhas e raízes de *Smilax*, secos em estufa de ar circulante a 40ºC por cinco dias (MARTINS, 2009; SOARES, 2010). Vinte gramas de amostras comerciais e de folhas e raízes de *Smilax* foram pulverizados com o auxílio de um moinho tipo faca (marca Marconi, modelo MAO 48) e transferidos para frascos de vidro previamente limpos e secos. As amostras foram identificadas e guardadas em armário fechado, protegidas de calor excessivo, luz e umidade. Para as amostras comerciais antes da pesagem houve uma seleção prévia para o descarte dos contaminantes.

3.4.2 Preparo dos extratos de *Smilax* e da salsaparrilha comercializada

Os extratos das folhas e raízes das oito espécies de *Smilax* e das amostras comerciais de salsaparrilha foram preparados a partir de extração a frio por turbólise com etanol. Para o preparo dos extratos foram utilizadas 10g de planta seca e moída, colocadas em um Becker de plástico com capacidade para 250 mL, seguidas da adição de 100 mL de etanol 96%.

A extração foi realizada com o auxílio de um dispersor mixer (tipo Polytron-Ultra Turrax 175, rotação 3 (16000 rotações/min.) durante quatro minutos. Após a extração as amostras foram distribuídas igualmente em quatro tubos Falcon e centrifugadas por 10 minutos (Centrífuga microprocessada 5500 D Cientec) com rotação de 3200 rpm.

Na sequência o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de fundo redondo com capacidade para 250 mL previamente pesado. Em seguida, o extrato foi resuspendido com 100 ml de etanol 96% e repetiu-se o processo de extração e centrifugação para melhor aproveitamento e completa extração dos compostos polares presentes nas amostras.

Em seguida, o balão volumétrico com a amostra foi conectado ao rotaevaporador (marca Fisatom), em temperatura de banho de 40 ºC para a evaporação do solvente e concentração do extrato. Posteriormente, foi mantida em estufa a vácuo (marca Equaterm) até atingir peso constante, isto é, a completa secagem do extrato, para análise e cálculo do rendimento (Figura 3).

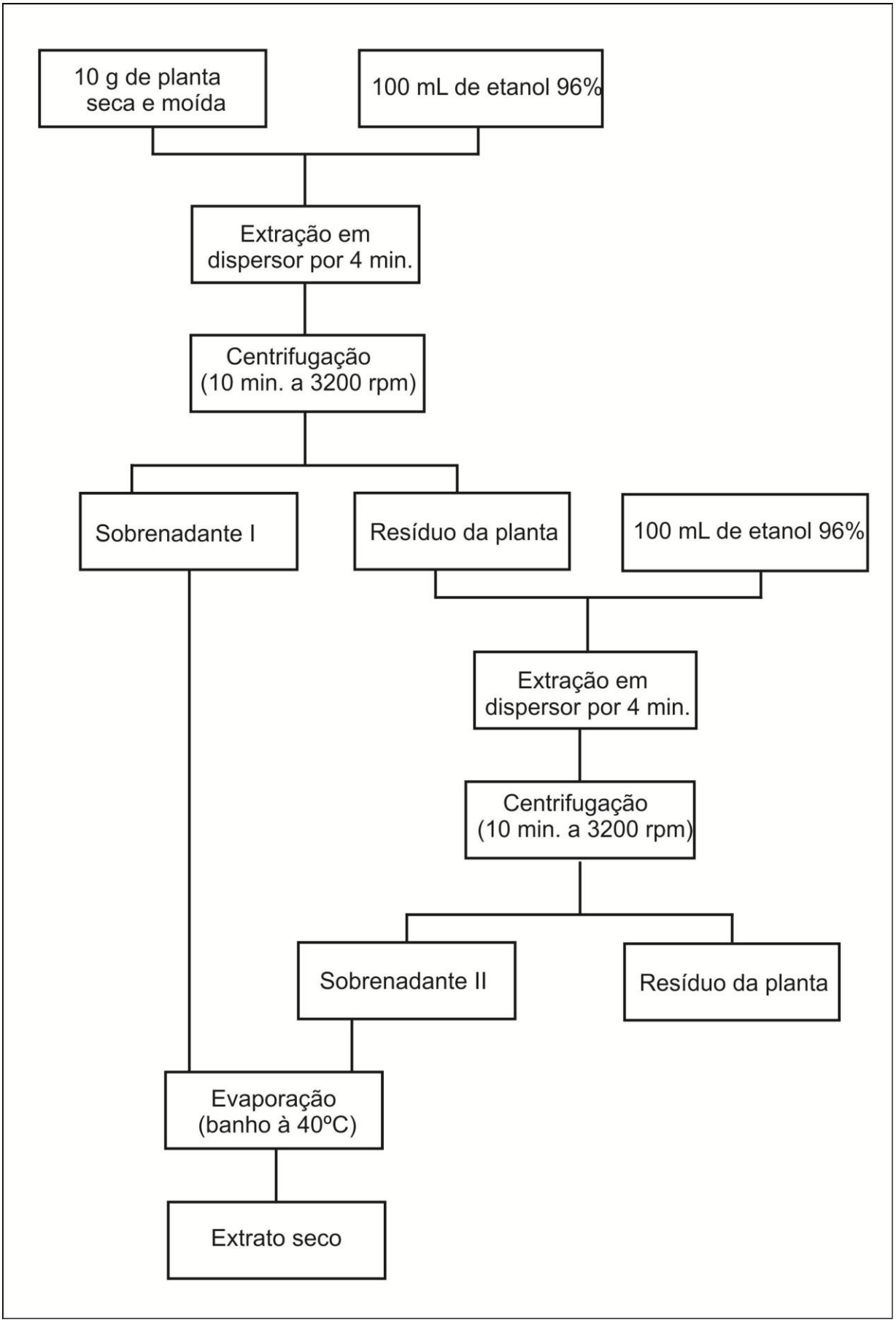

Figura 3 – Esquema de preparo dos extratos das espécies de *Smilax* e amostras comerciais de salsaparrilha

3.4.3 Análise cromatográfica e perfil químico (fingerprint)

Ensaios preliminares com extratos da folha e raízes de *Smilax brasiliensis* e de duas amostras comerciais foram realizados com a finalidade de escolher o eluente mais apropriado. O eluente escolhido foi o butanol:ácido acético:água destilada (BAW) (40:10:50) por ser o eluente que separou melhor e de maneira uniforme as substâncias presentes nos extratos analisados.

Primeiramente a cuba contendo o eluente BAW foi saturada por uma hora (Figura 4A). Em seguida, foi utilizada uma placa de gel de sílica (Merck, art. 1055540001) no tamanho 5x10cm (Figura 4B), marcando a linha base a um cm da base da placa até o ponto de aplicação da amostra. As amostras foram aplicadas com espaçamento de 1 cm entre elas. Também foi marcada a linha de frente (linha de chegada da fase móvel) contando 8,5 cm da linha de base.

Figura 4 – Cuba de saturação (**A**) e placa de gel de sílica com as marcações (**B**)

Foram solubilizados 10mg de extrato seco de cada amostra em 0,5 mL de metanol com auxílio do ultrasom para homogeneização das amostras. Em seguida, 5µL de cada extrato foi aplicado nas placas com auxílio de uma seringa de vidro. Após esse procedimento, as placas foram eluídas pelo sistema de fase móvel contendo BAW.

Após eluição, observou-se o cromatograma sob luz ultravioleta (UV) a 254nm e 366nm para verificar se alguma substância apresentava fluorescência. O ensaio foi realizado em duplicata para permitir a utilização de dois reveladores químicos. A primeira a ser utilizada foi a solução sulfúrica de anisaldeído (que identifica classes de flavonóides,

saponinas, terpenóides, esteróides e catequinas) e a outra foi NP/PEG (específico para identificação de compostos fenólicos - flavonóides) (WAGNER; BLADT, 1996). As placas foram borrifadas com a solução sulfúrica de anisaldeído e aquecidas em estufa Orion modelo 515 à 60ºC por 3 a 5 minutos, a fim de que houvesse a revelação, ou seja, o desenvolvimento de coloração através de reações químicas promovidas pelo calor. E as placas reveladas com NP/PEG foram secas apenas com ar comprimido.

Utilizaram-se como parâmetro de avaliação, a comparação do Rf (fator de retenção) e da cor das manchas reveladas com a solução sulfúrica de anisaldeído e NP/PEG.

3.4.4 Teste para saponinas

Para o teste foram utilizadas 0,25 g de amostras das oito espécies de *Smilax* e das amostras comerciais (NPS 9, 11, 18, 24, 19B, 32, 40, 45, 46, 47, 48, 49, 50). As amostras foram fervidas em 50 mL de água destilada durante cinco minutos, sendo em seguida esfriadas e filtradas. A partir da solução filtrada de cada amostra foram retirados 10 ml e colocados em tubo de ensaio para agitação durante 15 segundos seguida de repouso por 15 minutos (COSTA, 1982).

O teste confirmatório de saponinas foi feito adicionando-se 2 ml de ácido clorídrico concentrado ao conteúdo do tubo preparado no teste anterior. Em seguida foi colocado em banho Maria por uma hora e, após o resfriamento, foi neutralizado com solução de carbonato de sódio 10% e agitado novamente por 15 segundos (MATOS, 2009).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras comercializadas nas cidades do interior do Estado de São Paulo eram procedentes de 12 grandes casas de ervas (Figura 5) localizadas, principalmente, na capital do Estado. Os responsáveis por tais casas de ervas quando entrevistados afirmavam que o material não era procedente de cultivo e se recusaram a divulgar qualquer informação adicional sobre a sua procedência.

Conhecer a origem da droga vegetal é de grande relevância para a garantia da qualidade e segurança do produto. A exploração da flora nativa por meio do extrativismo tem levado a drásticas reduções das populações endêmicas, seja pelo processo predatório da exploração, seja pelo desconhecimento de mecanismos de perpetuação (SOUZA; PEREIRA; FONSECA, 2012). Assim, a falta de sustentabilidade na exploração de plantas medicinais pode comprometer o abastecimento futuro e pode provocar também adulterações de tais produtos pela mistura de diferentes espécies de plantas (LOURENZANI; LOURENZANI; BATALHA, 2004).

O uso indicado na literatura apontava a salsaparrilha para o tratamento das inflamações (XU et al., 2005; SHU; GAO; YANG, 2006) e reumatismo (ADAMS, 2009), além de ser usado como antioxidante (RUGNA et al., 2003) e diurético (CÁCERES; GIRÓN; MARTÍNEZ, 1987).

Os estabelecimentos visitados reconheceram esses usos e a citação mais frequente foi como depurativo do sangue, seguido pelo uso como antirreumático e diurético (Figura 6). Além dessas indicações, os entrevistados fizeram referências a várias outras finalidades como sudorífero, antissifilítico, diminuição do colesterol, tratamento para pedra nos rins, artrite, acne, ácido úrico, gota e má circulação.

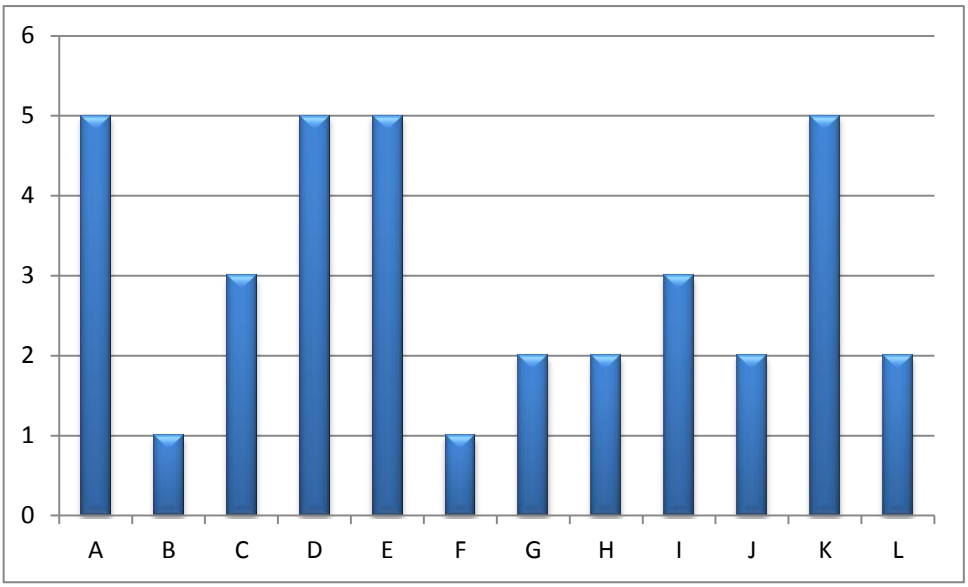

Figura 5 – Representação quantitativa dos 12 distribuidores de salsaparrilha (A-L) em função da presença do nome da empresa constando nas embalagens comercializadas ou do número de vezes que foram indicados pelos estabelecimentos visitados no Estado de São Paulo como sendo os atacadistas das plantas

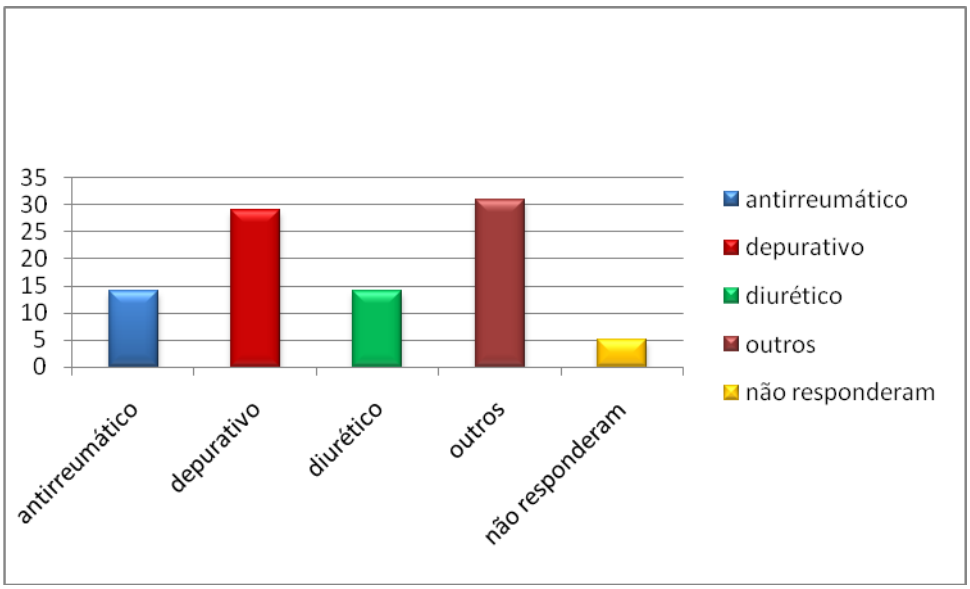

Figura 6 – Indicações terapêuticas da salsaparrilha mais representativas em número de vezes citadas em farmácias de manipulação e casa de ervas do Estado de São Paulo

Medeiros, Senna-Valle e Andreata (2007) fazendo um levantamento dos usos atribuídos a salsaparrilha pelos boticários no Mosteiro de São Bento, verificaram que possuíam basicamente as mesmas aplicações terapêuticas, tais como função depurativa, diurética, emoliente, expectorante, antileprosa e sudorífica. Segundo os mesmos autores, os portugueses ainda utilizavam tais plantas no tratamento de doenças venéreas como a sífilis.

Outro levantamento sobre o uso e conhecimento das plantas medicinais foi feito por Pereira (2006) na comunidade do distrito de Nova América (Itápolis – SP). Dentre as plantas

utilizadas pela comunidade local, constava salsaparrilha que foi categorizada pela pesquisadora dentro das que têm uso terapêutico para doenças associada ao sistema sanguíneo e utilizada como depurativo do sangue pelos entrevistados nessa comunidade.

Em relação ao modo de preparo, a infusão (9%) e a decocção (73%) foram os mais citados nas entrevistas. De acordo com Pereira (2006) tais métodos são considerados os mais empregados pela população, pois além do valor medicinal, contribuem para a hidratação, eliminação de toxinas e controle da temperatura corporal.

Na botica do Mosteiro de São Bento a decocção é descrita como método mais tradicional para o preparo do chá de salsaparrilha. Em algumas receitas a decocção da salsaparrilha ainda estava associada a várias outras plantas que eram misturadas durante a decocção tais como o guaiaco rasurado, sassafraz rasurado, alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra* L.), trovisco (*Daphne gnidium* L.) cortado e água (MEDEIROS; SENNA-VALLE; ANDREATA, 2007).

De acordo com Arnous, Santos e Beinner (2005), que entrevistaram 376 pessoas da cidade de Dantas (MG) com respeito ao uso de plantas medicinais, 75,2% dos entrevistados relataram a decocção como modo de preparo mais popular, o que segundo os autores, deve ser visto com ressalvas uma vez que apenas raízes, caule e a casca devem ser cozidos por apresentarem estrutura rígida e não folhas e flores que se apresentam menos fibrosas.

A quantidade indicada para o preparo dos chás pode ser observada na figura 7. A maioria dos levantamentos etnobotânicos não relata a quantidade de planta que deve ser empregada no preparo dos chás. Porém, como salienta Rodrigues e Carvalho (2001), que entrevistaram raizeiros de comunidades rurais do sul do Estado de Minas Gerais, é fundamental que a dosagem da planta medicinal utilizada seja adequada para a cura das doenças, uma vez que o excesso pode provocar intoxicação ou danos no organismo e que o tempo de utilização das plantas medicinais não deve ser muito prolongado.

Com relação ao preço (Figura 8), para cada 100 gramas de salsaparrilha comercializada, o valor médio encontrado nas farmácias foi de R$ 12,00 e, nas casas de ervas e mercados, foi de R$ 6,00. A quantidade comercializada mensalmente de salsaparrilha é elevada se for considerado o fato de que as raízes não são procedentes de cultivo e que vem sendo empregadas na medicina popular desde o século XVI (MEDEIROS; SENNA-VALLE; ANDREATA, 2007).

De acordo com Rodrigues e Carvalho (2001), os fatores que influenciam na alta demanda de plantas para cura de enfermidades, de acordo com os raizeiros entrevistados no estudo, são principalmente o preço elevado de certos medicamentos sintéticos; o anseio no

bem-estar e na cura mais rápida fazendo uso dos dois tipos de medicamentos (quimioterápicos e fitoterápicos) e as irritações causadas no organismo dos indivíduos pelo uso constante dos medicamentos sintéticos. No presente estudo foi verificado que o valor da salsaparrilha comercializada é alto e supera o valor de medicamentos sintéticos utilizados como, por exemplo, antiinflamatórios de ampla comercialização que podem ser encontrados por aproximadamente R$10,00.

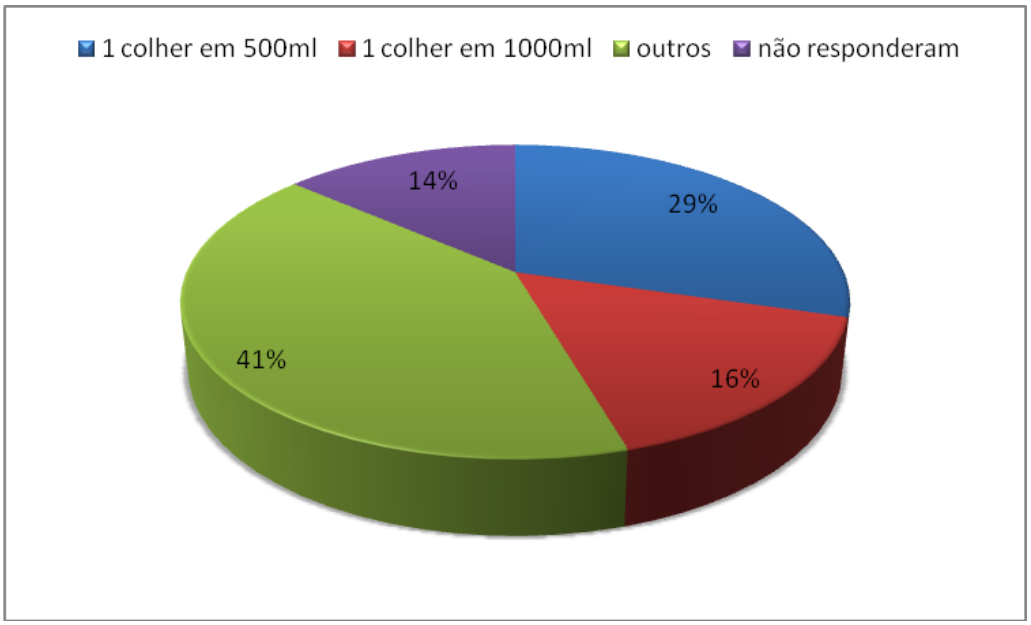

Figura 7 – Representação percentual da quantidade de salsaparrilha indicada para o preparo dos chás

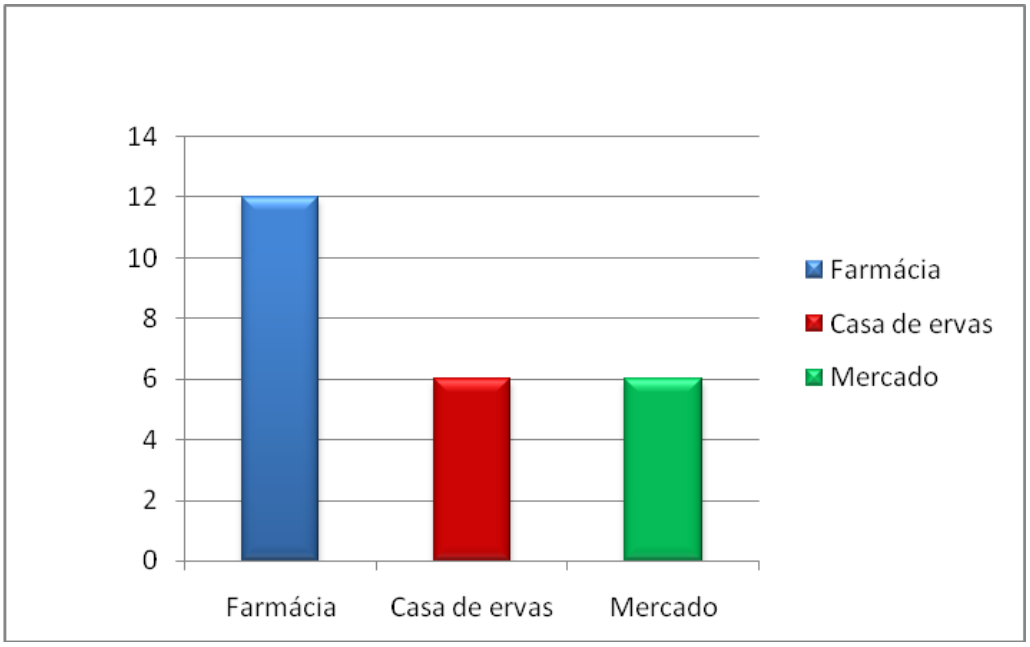

Figura 8 – Representação quantitativa do preço médio de cada 100 g de salsaparrilha comercializada em cada estabelecimento visitado na pesquisa

A quantidade de salsaparrilha comercializada por mês (Figura 9) na maioria das farmácias visitadas foi, em média, de 0,4 kg, porém nas casas de ervas as quantidades comercializadas chegavam a 9 kg e nos mercados 8 kg.

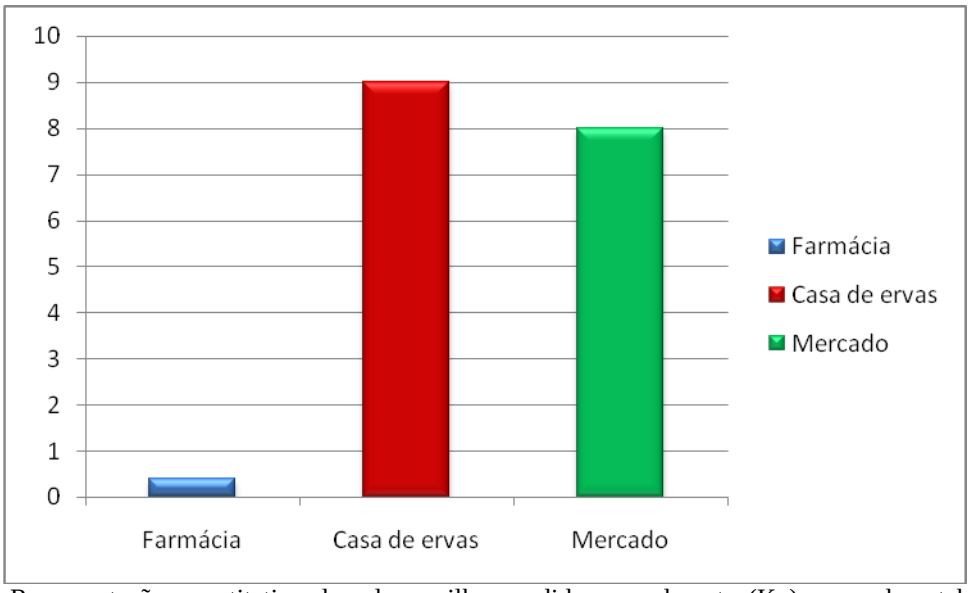

Figura 9 – Representação quantitativa de salsaparrilha vendida mensalmente (Kg) em cada estabelecimento visitado na pesquisa

Considerando que o peso médio da porção subterrânea (raízes e caules subterrâneos) seca de uma planta de salsaparrilha é de aproximadamente 60 gramas (dados não publicados) e que cada embalagem de salsaparrilha comercializada (Figura 2A), apresenta entre 30 a 50 gramas de raízes e caules subterrâneos secos, infere-se que, para cada embalagem, estão sendo colhidos entre uma e duas plantas nativas de nossa vegetação brasileira, ou seja, o nível de extrativismo é muito alto, e pode realmente comprometer a sobrevivência e conservação de tais espécies na flora brasileira..

Soares et al. (2011) comentam que a capacidade de propagação por sementes e por estacas em *S. fluminensis* confirma o seu potencial para a exploração econômica de maneira sustentável, sendo uma alternativa para reduzir o extrativismo predatório dessa espécie nativa. No entanto, a porcentagem de germinação de outras espécies brasileiras de *Smilax* analisadas por Martins et al. (2011) e Martins et al. (2012) ao contrário de *S. fluminensis* foi baixa. Segundo os autores, a germinação de espécies do gênero *Smilax* é complexa, as sementes demandam tempo para germinarem e o desenvolvimento das plântulas é lento. De acordo com os mesmos autores não existem relatos na literatura de cultivo em larga escala de espécies deste gênero no Brasil e que o que é comercializado como salsaparrilha é proveniente de extrativismo.

Segundo os comerciantes entrevistados na pesquisa, a média de venda da salsaparrilha aumenta caso ocorra alguma menção de sua utilização ou importância em reportagens ou propagandas na mídia televisiva. O mesmo foi relatado por Souza, Pereira e Fonseca (2012), os quais destacam a mídia como o principal veículo de informação sobre as plantas medicinais, entretanto essas informações chegam ao consumidor de forma incompleta, resultando em equívocos quanto ao uso medicinal.

As embalagens das amostras adquiridas nas farmácias apresentavam rótulo contendo denominação, lote, data de fabricação, prazo de validade, parte utilizada da planta e em alguns casos identificação botânica como *Smilax officinalis* ou simplesmente *Smilax* sp. Nos mercados públicos e casas de ervas, na maioria das vezes, as embalagens não eram adequadas, não apresentavam prazo de validade ou identificação botânica.

Segundo Bello, Montanha e Schenkel (2002) há necessidade de uma padronização das informações contidas nos rótulos e bulas, pois a não padronização ou até mesmo a ausência dessas informações pode colocar em risco a saúde do paciente, pelo fato de ser normalmente dispensado sem prescrição médica.

Embora exista uma legislação específica para as drogas vegetais no Brasil, foram verificados que muitos produtos disponíveis no mercado ainda não são compatíveis com esta legislação e a grande parte dos produtos terapêuticos de origem vegetal é considerada "alimento" pelos fabricantes (AMARAL et al., 2007).

Após a verificação dos rótulos, as embalagens de salsaparrilha foram abertas e verificadas quanto à presença de matéria orgânica e o que se constatou é que em todas as amostras (Figura 10A-L) foi verificado alto teor de matéria orgânica estranha, isto é, fragmentos não identificados de outras partes da mesma planta, tais como caule e folha ou até mesmo de partes de outras plantas. Estudo semelhante foi realizado por Leite e Biavatti (1996), onde 39,47% das drogas vegetais foram desqualificadas pelo excesso de matéria orgânica estranha, alterando inclusive o conteúdo total dos princípios ativos na amostra. Segundo o mesmo autor, este tipo de contaminação pode indicar fraude, descaso ou ignorância dos produtores ou coletores.

Após essas observações foi feita uma pré-seleção dessas amostras para serem processadas em historesina, isto é, as amostras escolhidas para a análise anatômica estavam isentas dos materiais considerados contaminantes escolhendo apenas raízes rígidas, de coloração marrom e diâmetro variando entre 1,5 a 9 mm.

As 12 amostras de salsaparrilha comercializadas foram analisadas e comparadas com dados da literatura existente (FARMACOPÉIA, 1929, CUNHA, 1937a e b, STELLFELD,

1937, GATTUSO, 1995, MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006, MARTINS et al. 2010, GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA. 2010, SOARES, 2010 e SILVA, 2010).

Figura 10 - **A-L** Amostras de salsaparrilha coletadas nos estabelecimentos comerciais e provenientes de 12 atacadistas distintos, (**A**) NPS 29A, (**B**) NPS 22, (**C**) NPS 39, (**D**) NPS 28, (**E**) NPS 29B, (**F**) NPS 36, (**G**) NPS 40, (**H**) NPS 45, (**I**) NPS 46, (**J**) NPS 47, (**K**) NPS 48 e (**L**) NPS 50. Em A, D, H e K mostrando fragmentos de outras partes da planta como caules e folhas (setas)

4.1 Microscopia eletrônica de varredura e Microscopia de luz

A contaminação por caules e raízes de eudicotiledônea foi confirmada pela estrutura anatômica secundária das amostras observadas ao MEV na qual era possível verificar a atividade cambial e o revestimento do órgão pela periderme (Figura 11A-D). A estrutura de caule foi confirmada pela observação da maturação centrífuga do xilema primário (Figura 11A e B) e a estrutura das raízes pelo xilema exarco e presença do metaxilema no centro da estrutura (Figura 11C).

A presença de idioblastos com cristal de oxalato de cálcio do tipo cristal prismático (Fig. 11E), não observado em espécies de *Smilax* (MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006, MARTINS et al. 2010, GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA. 2010) também é um indicativo de que tais amostras eram contaminantes. Simões (2010) considera esses elementos como impurezas não caracterizando, portanto, falsificação ou adulteração do material propriamente dito. Porém, como analisado no presente estudo, tais impurezas constituíam grande parte das amostras podendo ser considerados adulterantes.

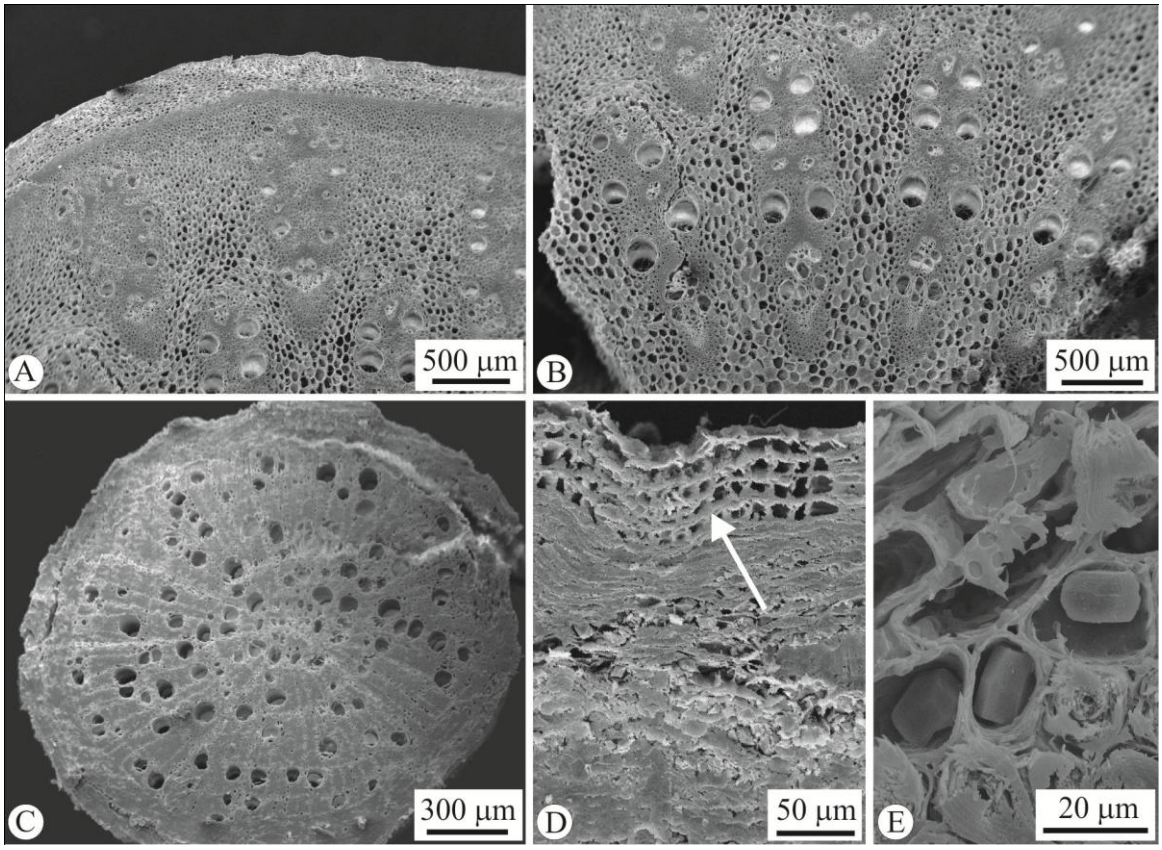

Figura 11 - Eletromicrografias de amostras comerciais de salsaparrilha em secção transversal. **A-B**. Visão geral e detalhe da amostra NPS 27 mostrando um caule de eudicotiledônea. **C**. Visão geral da amostra NPS 9 mostrando uma raiz de eudicotiledônea. **D**. Amostra NPS 11 mostrando revestimento pela periderme (seta). **E**. Amostra NPS 27 mostrando cristais de oxalato de cálcio do tipo prismático

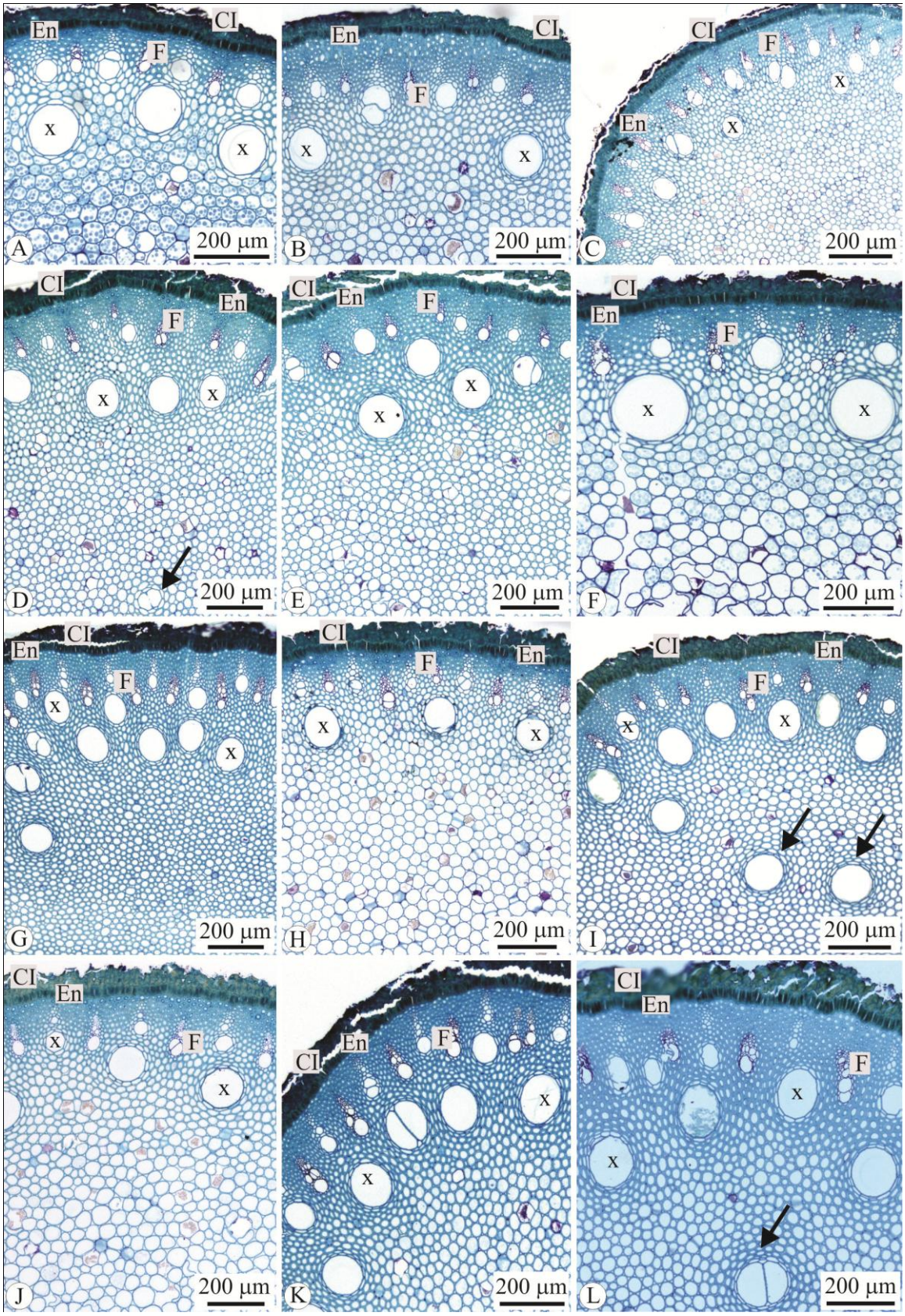

Figura 12 - Fotomicrografias das amostras comerciais de salsaparrilha. **A-L**. Visão geral das raízes das amostras comerciais em secção transversal. Observar em **D, I e L** o metaxilema (seta) no centro do órgão. (**A**) NPS 29A, (**B**) NPS 22, (**C**) NPS 39, (**D**) NPS 28, (**E**) NPS 29B, (**F**) NPS 36, (**G**) NPS 40, (**H**) NPS 45, (**I**) NPS 46, (**J**) NPS 47, (**K**) NPS 48 e (**L**) NPS 50. CI=córtex interno, En=endoderme, F=floema, X=xilema

As amostras comerciais de salsaparrilha selecionadas e mantidas para os estudos anatômicos mostravam, em secção transversal, estrutura semelhante ao encontrado em diversas raízes de monocotiledônea (ARBER, 1925; KAUF; RUDALL; CONRAN, 2000), ou seja, cilindro vascular oco com muitos elementos de protoxilema (Figuras 12A-L e 13A).

O revestimento dessas raízes era constituído pelo córtex interno (Figura 13B) formado por uma ou duas camadas de células com paredes espessadas e pela endoderme (Figuras 13B e C). Esse tipo de revestimento foi descrito por Stellfeld (1938) que verificou a perda do parênquima cortical na salsaparrilha do Paraná e atribuiu esse efeito a uma infecção da raiz por patógenos. Cunha (1940) também relata a perda do córtex na salsaparrilha do Ceará.

Martins e Appezzato-da-Glória (2006) observaram que em *S. polyantha*, a raiz jovem apresenta coloração branca em virtude de ainda possuir epiderme e córtex externo, porém com a maturidade a raiz vai adquirindo coloração marrom devido à perda desses tecidos e o revestimento passando a ser exercido pelo córtex interno espessado e pela endoderme.

A mesma característica foi observada em outras seis espécies de *Smilax* (*S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. goyazana, S. oblongifolia* e *S. rufescens*) por Martins et al. (2010) e em *S. subsessiliflora* (GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA, 2010).

Já em *S. fluminensis* (SOARES, 2010) e em *S. syphilitica* (SILVA, 2010) ocorre a perda total do parênquima cortical, restando apenas a parede periclinal interna da penúltima camada do córtex que passa a ter função de revestimento juntamente com a endoderme. As paredes das duas camadas do córtex interno e a parede da endoderme exibem uma coloração marrom devido ao acúmulo de compostos fenólicos no qual corrobora com as descrições feitas por Martins et al. (2010).

O formato das células da endoderme, em secção transversal, é retangular com as paredes anticlinais mais altas. O espessamento parietal em “O” apresenta lamelas e o lume é alongado (Figura 13C). Cunha (1937b) utiliza as características da endoderme, em especial, o formato do lume, para a separação de espécies de *Smilax*. No entanto, Martins et al. (2010) não verificaram diferenças no lume das células endodérmicas das espécies *S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. goyazana, S. oblongifolia* e *S. rufescens*.

Em todas as espécies analisadas pelos referidos autores, em *S. polyantha* (MARTINS; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006) e em *S. subsessiliflora* (GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA, 2010) o espessamento parietal em “O” era lamelado e similar ao observado nas amostras comerciais. Porém, em *Smilax*, pode haver também endoderme com reforço em “U”, por exemplo, em *S. fluminensis* (SOARES, 2010) e em *S. syphilitica* (SILVA, 2010).

Os elementos de vaso do xilema nas amostras apresentaram placa de perfuração do tipo escalariforme (Figura 13D) como descrito por Gattuso (1995) para a espécie *Smilax campestris* e por Martins e Appezzato-da-Gloria (2006) para o caule subterrâneo de *S. polyantha*.

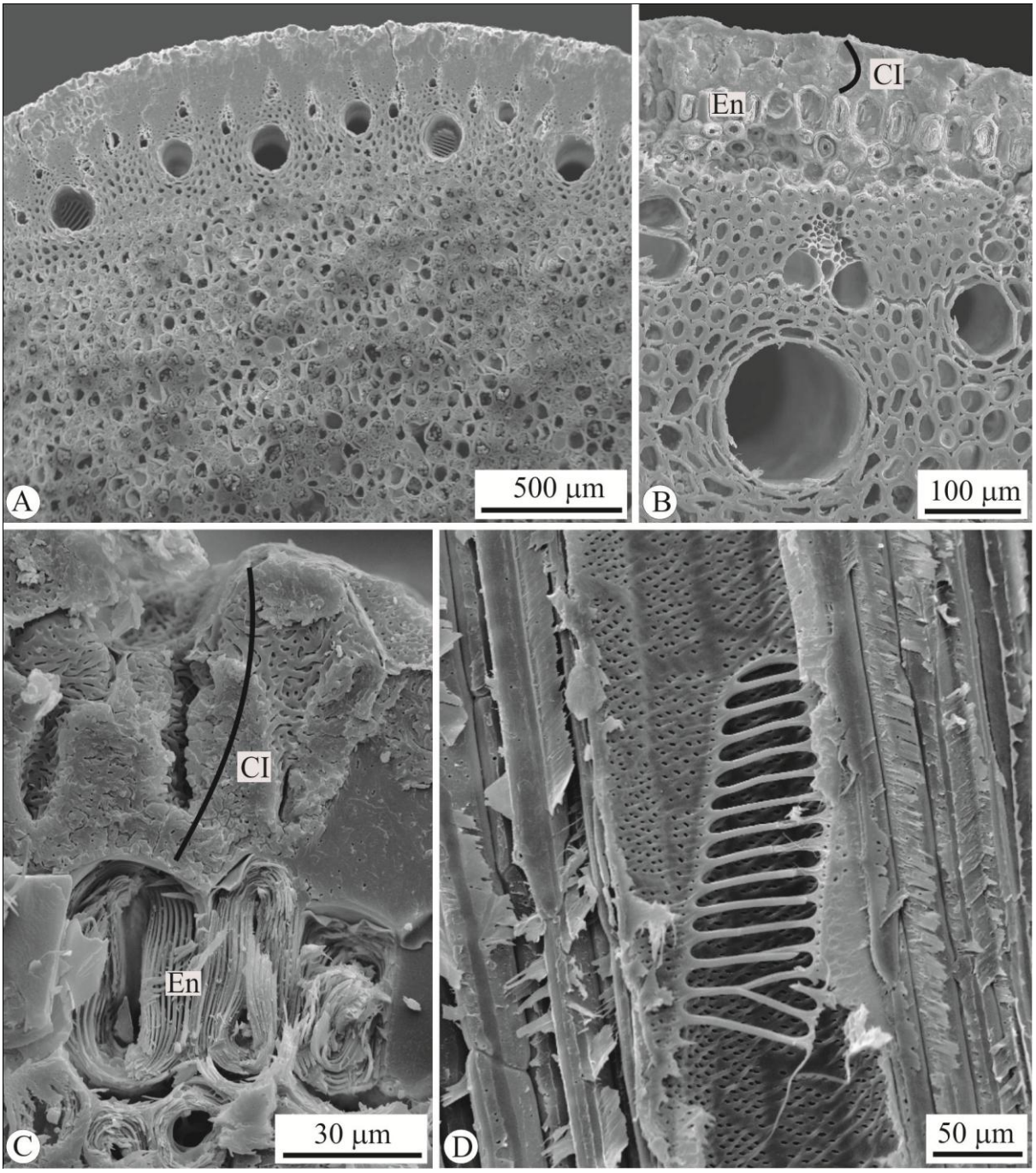

Figura 13 – Eletromicrografias de amostras comerciais de salsaparrilha. **A**. Visão geral da raiz da amostra NPS 7, mostrando cilindro vascular poliarco e parênquima medular contendo grãos de amido. **B**. Detalhe da amostra anterior mostrando o revestimento efetuado pelo córtex interno. **C**. Amostra NPS 24 mostrando a lamelação em "O" da endoderme. **D**. Amostra NPS 9 mostrando elemento de vaso com placa de perfuração do tipo escalariforme. CI=córtex interno, En=endoderme. **A-C.** em secção transversal e **D.** em secção longitudinal

Cheadle (1942) estudando tipos de elementos de vaso em monocotiledôneas observou a ocorrência de placas de perfuração do tipo escalariforme em cinco espécies de *Smilax*, porém também descreve este tipo de placa para a família Dioscoreaceae e tais plantas muitas vezes são vendidas como salsaparrilha. Em raízes de Araceae, os elementos de vaso também possuem placas de perfuração escalariforme (GRAYUM, 1990), por exemplo, em *Monstera deliciosa* e em *Philodendron undulatum* (HUGGETT; TOMLINSON, 2010).

O arranjo triangular do floema (Figura 14B) é similar ao verificado nas raízes aéreas de *Philodendron bipinnatifidum* (VIANNA; SOARES; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2001) e *Rhodospatha oblongata* (FILARTIGA, 2011) espécies de Araceae, porém não foi verificado nas espécies de *Smilax* descritas na literatura (MARTINS et al., 2010; GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA, 2010; SILVA, 2010; SOARES, 2010) as quais apresentam o floema com arranjo circular (Figuras 14A e C).

Outra diferença marcante em relação às espécies de *Smilax* foi a presença de elementos de metaxilema no centro da medula nas amostras comerciais (Figura 12D, I e L; 14D e E). Tal característica não foi observada em espécies da *Smilax* (MARTINS et al., 2010; GUIMARÃES; COSTA; ANDREATA, 2010; SILVA, 2010; SOARES, 2010) (Figura 14A), porém ocorre em raízes de Araceae (HUGGETT; TOMLINSON, 2010; VIANNA; SOARES; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2001).

A medula é ampla e bem visível e formada por células lignificadas contendo grãos de amido de formato esférico e simples (Figuras 15A e B). Oliveira e Akissue (1989) sugerem como característica importante na identificação de fraudes em alimentos o formato e o estado de agregação de grãos de amido.

Grãos de amido no parênquima medular similares àqueles das amostras comerciais foram observados em *Smilax goyazana* e *S. brasiliensis* (MARTINS et al. 2010). No entanto, no gênero *Smilax* podem também ser observados grãos de amido poligonais e agrupados em *S. oblongifolia*, *S. campestris* e *S. cissoides* (MARTINS et al. 2010) e em *S. fluminensis* (SOARES, 2010) e em *S. syphilitica* (SILVA, 2010) são observados grãos de amido tanto poliédricos quanto esféricos no parênquima medular.

Observam-se ainda na medula das amostras com grande frequência idioblastos em série (Figura 15C) constituídos por células relativamente maiores que as vizinhas repletas de cristais aciculares de oxalato de cálcio do tipo ráfides (Figura 15D). Idioblastos em série contendo ráfides já foi descrito no córtex de raízes de *Smilax* (MARTINS et al., 2010) e no córtex de caule de *Smilax muscosa* e *S. pilosa* (DIAS NETO, 2012), mas não na medula.

Observou-se a ausência de idioblastos contendo compostos fenólicos nas amostras comerciais (Figura 15C), porém os mesmos estão presentes na medula de raízes de *Smilax oblongifolia* (Figuras 15E e F) e em outras espécies do gênero estudadas por Martins et al. (2010), Guimarães, Costa e Andreata (2010), Silva (2010), Soares (2010).

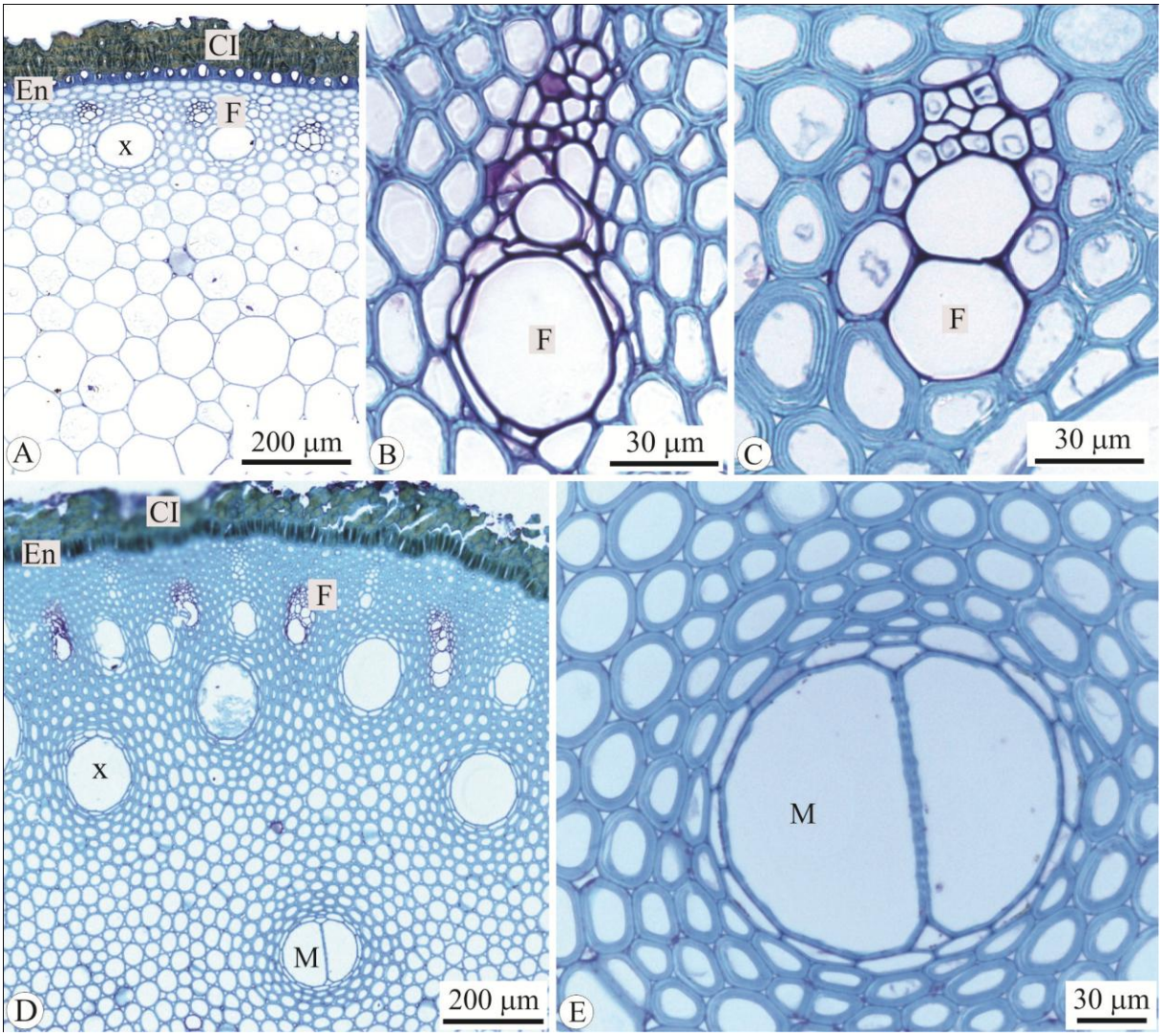

Figura 14 - Fotomicrografias de *Smilax oblongifolia* (**A, C**) e de amostras comerciais de salsaparrilha (**B, D, E**) em secção transversal. **A**. Visão geral da raiz. **B**. Formato triangular do floema na amostra NPS 36. **C**. Detalhe da figura A mostrando o formato arredondado do floema. **D**. Visão geral da raiz da amostra NPS 50 mostrando metaxilema no centro da estrutura. **E**. Detalhe da figura anterior. CI=córtex interno, En=endoderme, F=floema, X=xilema e M=metaxilema

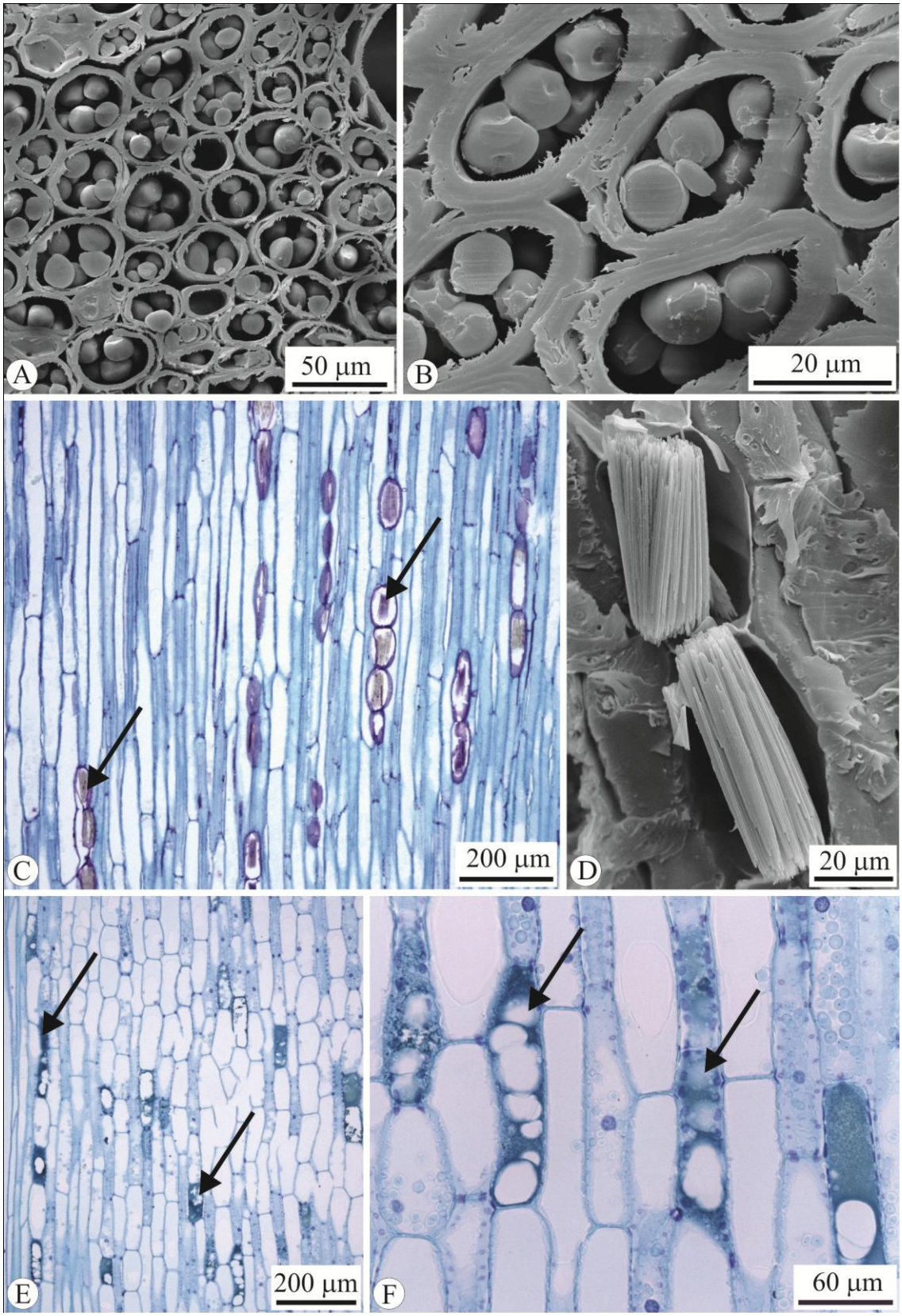

Figura 15 – Eletromicrografias (**A, B, D**) e fotomicrografia de amostras comerciais de salsaparrilha (**C**) e fotomicrografias da espécie *Smilax oblongifolia* (**E, F**). **A**. Parênquima medular da amostra NPS 8 contendo grãos de amido. **B**. Detalhe da amostra anterior. **C**. NPS 28 mostrando idioblastos em série contendo ráfides (setas). **D**. Amostra NPS 24 mostrando dois idioblastos contendo ráfides. **E**. e **F**. Idioblastos contendo compostos fenólicos (setas). **A** e **B** em secção transversal e **C-F** em secção longitudinal

4.2 Perfil químico

4.2.1 Rendimento dos extratos

Os extratos das folhas que obtiveram os melhores rendimentos foram das espécies *S. rufescens* e *S. brasiliensis* (7,86%) e para os extratos das raízes foi de *S. oblongifolia* (7,6%). Os extratos das folhas que apresentaram os rendimentos mais baixos foram das espécies *S. fluminensis e S. polyantha*. (4,35% e 3,42%, respectivamente) e para o extrato das raízes foi de *S. brasiliensis* (2,2%) (Tabela 2).

O rendimento dos extratos das amostras compradas nas farmácias variou de 3,97% a 7,10%. Portanto observamos que não existe um rendimento padrão para tais amostras, pois a variação é muito grande (Tabela 3).

Tabela 2 - Resultado da quantidade de extratos e rendimento (% de massa) obtido das folhas e raízes de espécies de *Smilax*

Espécie	Parte utilizada	Extrato (g)	Rendimento (%)
S. oblongifolia	Folha	0,54	5,37
	Raiz	0,76	7,60
S. campestris	Folha	0,62	6,26
	Raiz	0,35	3,53
S. cissoides	Folha	0,53	5,26
	Raiz	0,32	3,18
S. brasiliensis	Folha	0,79	7,86
	Raiz	0,27	2,72
S. rufescens	Folha	0,79	7,86
	Raiz	0,50	5,03
S. polyantha	Folha	0,34	3,42
	Raiz	0,13	5,05
S. fluminensis	Folha	0,43	4,35
	Raiz	0,31	3,13
S. goyazana	Folha	0,76	7,58
	Raiz	0,45	4,48

Tabela 3 - Resultado da quantidade de extrato e rendimento (% de massa) obtidos das amostras comerciais de salsaparrilha

Fornecedor	Amostra	Extrato (g)	Rendimento (%)
A	NPS 45	0,42	4,20
B	NPS 29A	0,66	6,61
C	NPS 9	0,58	5,78
D	NPS 47	0,60	6,00
E	NPS 40	0,64	6,42
F	NPS 48	0,43	4,27
G	NPS 24	0,64	6,42
H	NPS 50	0,40	3,97
I	NPS 32	0,70	7,02
J	NPS 11	0,50	5,03
K	NPS 46	0,56	5,62
L	NPS 18	0,71	7,10

O rendimento dos extratos de ramos aéreos e raízes de *Smilax* encontrados por Martins (2009) e Soares (2010) diferiram do rendimento obtido neste trabalho, principalmente pela natureza e concentração do solvente, pelo método e pelo tempo de extração utilizado, mas também pela origem do material vegetal e parte da planta utilizada.

4.2.2 CCD's dos extratos de salsaparrilha

A análise utilizando CCD mostrou que os perfis cromatográficos obtidos para os extratos de folha e raiz de espécies de *Smilax* foram semelhantes qualitativamente, no que diz respeito ao aparecimento de manchas no cromatograma quando revelados com solução sulfúrica de anisaldeído (Figuras 16A, B) e NP/PEG (Figuras 17A, B), mas diferente daquelas apresentadas pelas amostras comerciais (Figuras 16C e 17C).

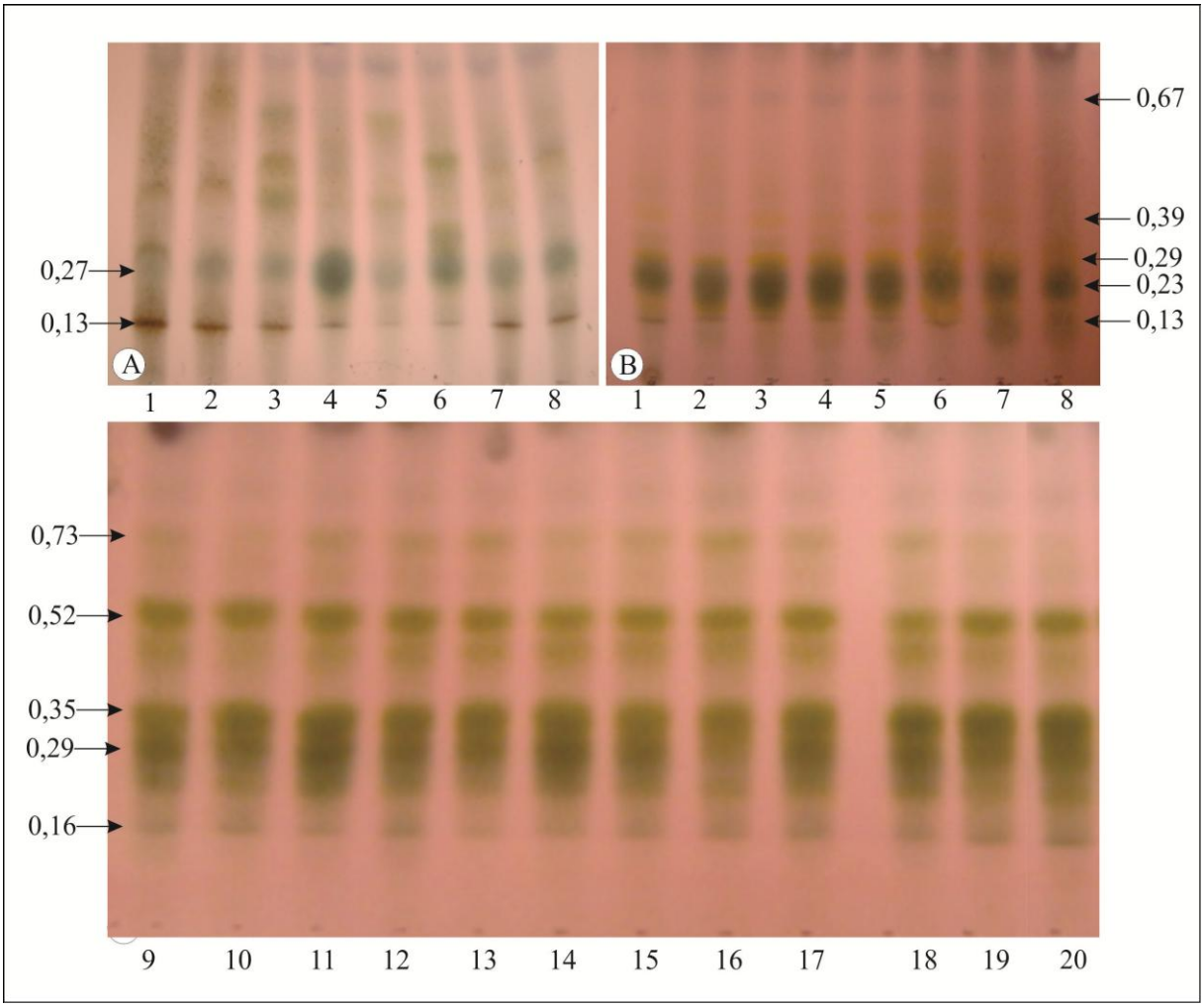

Figura 16 – CCD dos extratos mostrando componentes químicos revelados com solução sulfúrica de anisaldeído, utilizando o eluente BAW (Butanol:Acetic acid:Water). **A**. Folhas de *Smilax*, **B**. Raízes de *Smilax* e **C**. Raízes de amostras comerciais de salsaparrilha. Numeração de 1 ao 8 (*S. goyazana, S. rufescens, S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. fluminensis, S. oblongifolia* e *S. polyantha*) e de 9 ao 20 (NPS 9, 11, 18, 24, 29A, 32, 40, 45, 46, 47, 48, 50)

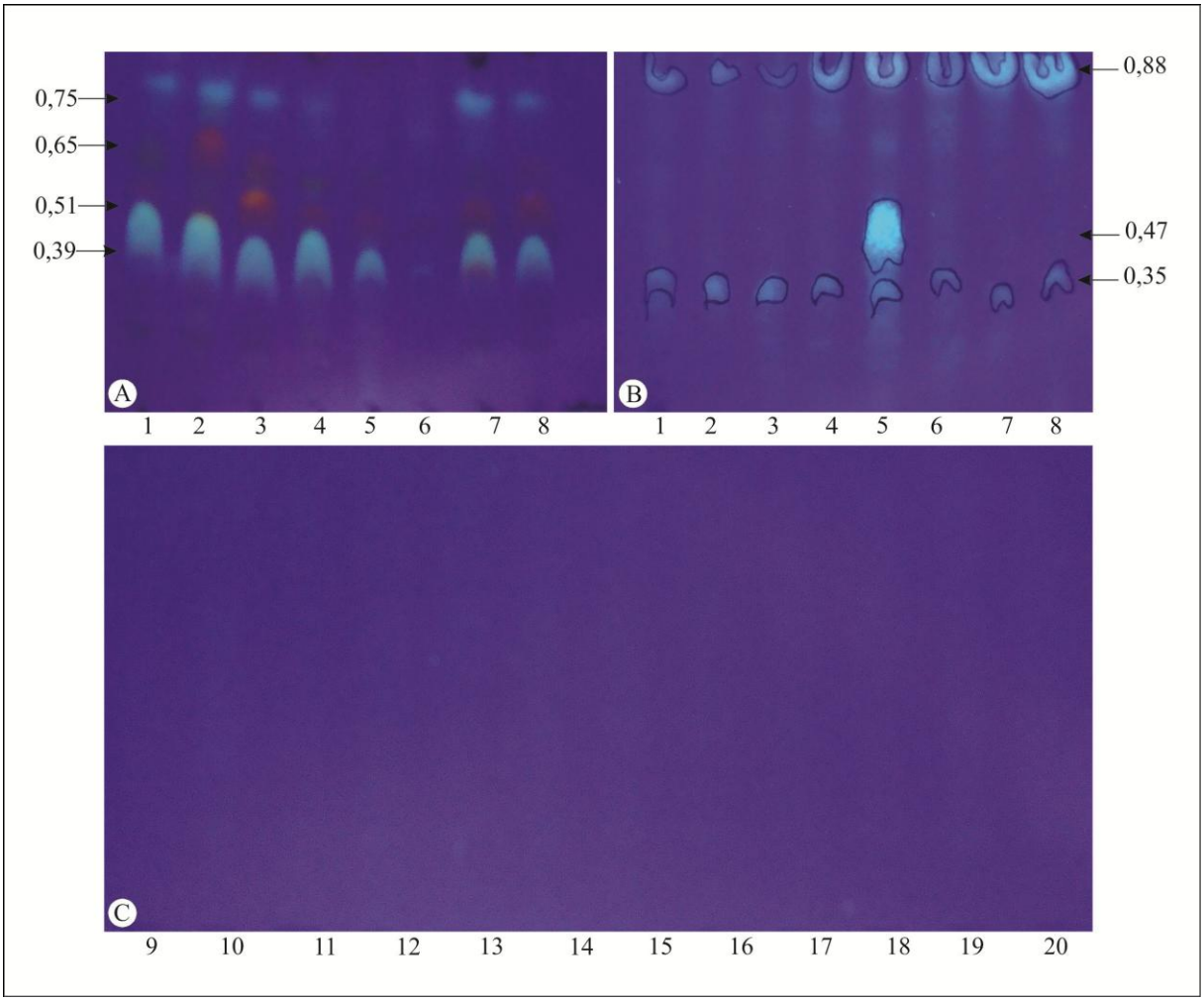

Figura 17 - CCD dos extratos mostrando componentes químicos revelados com NP/PEG, utilizando o eluente BAW (Butanol:Acetic acid:Water). **A**. Folhas de *Smilax*, **B**. Raízes de *Smilax* e **C**. Raízes de amostras comerciais de salsaparrilha. Numeração de 1 ao 8 (*S. goyazana, S. rufescens, S. brasiliensis, S. campestris, S. cissoides, S. fluminensis, S. oblongifolia e S. polyantha*) e de 9 ao 23 (NPS 9, 11, 18, 24, 29A, 32, 40, 45, 46, 47, 48, 50)

Pela CCD, as amostras de folhas de espécies de *Smilax* (*S. goyazana*, *S. rufescens*, *S. brasiliensis*, *S. campestris*, *S. cissoides*, *S. fluminensis*, *S. oblongifolia* e *S. polyantha*) revelado por solução sulfúrica de anisaldeído apresentaram manchas com fatores de retenção (Rf) (Tabela 4) com valores de Rf 0,13 (coloração marrom), Rf 0,27 (coloração verde) (Figura 16A).

Quando revelado por NP/PEG e observado sob luz UV de 365 nm, observou-se Rf 0,39 (branco brilhante), exceto em *S. fluminensis*; em Rf 0,51 (vermelho) sendo mais intenso em *S. brasiliensis*, em Rf 0,65 (vermelho) somente em *S. rufescens* e Rf 0,75 (branco brilhante) exceto em *S. cissoides* e *S. fluminensis* (Figura 17A).

Tabela 4 - Valores de Rf's de folhas e raízes de espécies de *Smilax* e de amostras comerciais de salsaparrilha com diferentes reveladores

	Folha (*Smilax*)	**Raiz (*Smilax*)**	**Amostras comerciais**
Anisaldeido	0,13 (marrom)	0,13 (marrom)	
			0,16 (verde)
		0,23 (verde)	
	0,27 (verde)		
		0,29 (amarelo)	0,29 (verde)
			0,35 (verde)
		0,39 (amarelo)	
			0,52 (verde)
		0,67 (azul)	
			0,73 (verde)
NP/PEG		0,35 (branco brilhante)	
	0,39 (branco brilhante)		
	0,51 (vermelho)		
		0,55 (branco brilhante)	Nenhuma mancha
	0,65 (vermelho)		
	0,75 (branco brilhante)		
		0,88 (branco brilhante)	

Nas amostras de raízes identificadas de espécies de *Smilax* acima citadas, nas CCD's reveladas com solução sulfúrica de anisaldeído observou-se Rf 0,13 (coloração marrom), em Rf 0,23 (coloração verde), Rf 0,29 e Rf 0,39 (amarelo) e Rf 0,67 (azul) (Figura 16B).

Na CCD revelada com NP/PEG e observado sob luz UV de 365 nm, observou-se em Rf 0,35 (branco brilhante) para todas as espécies, mas em intensidades diferentes, em Rf 0,55 (branco brilhante intenso) somente em *S. cissoides* e em Rf 0,88 (cor branco brilhante intenso) em todas as espécies (Figura 17B).

As amostras comerciais reveladas por solução sulfúrica de anisaldeído mostraram nos Rf 0,16, 0,29, 0,35, 0,52, 0,73 diferentes tonalidades de verde como mostra a figura 16C. Quando revelado por NP/PEG e observado sob luz UV de 365 nm não foi observada nenhuma mancha, o que evidencia a ausência de compostos fenólicos nessas amostras (Figura 17C).

O padrão de distribuição e coloração das manchas na CCd´s para as espécies identificadas parece seguir o mesmo padrão, indicando similaridade química entre as oito espécies analisadas. O mesmo ocorre quando analisamos o grupo de amostras de raízes provenientes da farmácia, porém, quando comparamos tal grupo com as oito espécies de *Smilax* identificadas o padrão cromatográfico se apresenta diferente, indicando que os dois grupos analisados apresentam grande diferenciação em relação à composição química.

Os extratos de amostras comerciais não apresentam manchas com fluorescência branca nos Rf 0,39 e 0,75 (folha), vermelha nos Rf 0,51 e 0,75 (folha) e branca nos Rf 0,35 e 0,47 e

0,88 (raiz). Estes resultados indicam que as amostras comerciais podem ser de plantas pertencentes a outro gênero, diferente do gênero *Smilax*.

De acordo com Cáceres et al. (2012), o extrato etanólico de *Smilax domingensis* apresentou Rf's entre 0,32- 0,88 (indicando antocianinas), 0,27-0,81 (indicando flavonoides) e 0,8 (indicando saponinas). Além disso, os mesmos autores confirmaram a presença de saponinas pelo teste de agitação e verificação de espuma persistente. No presente estudo não foi detectado Rf 0,8, que corresponderia a saponina identificada por Cáceres et al. (2012), provavelmente pela utilização de uma fase móvel diferente da empregada pelos autores.

A CCD é comumente utilizada no controle de qualidade de fitomedicamentos. Barbosa, Yoshida e Scudeller (2009) utilizaram a CCD no controle de qualidade de 12 amostras comerciais de óleo de copaíba e observaram que apenas três amostras analisadas apresentavam Rf's similares as amostras identificadas de *Copaifera.* Os mesmos autores com o auxílio de outras técnicas conseguiram detectar a presença de óleo de soja nas amostras comerciais.

Além do controle realizado por comparação da similaridade dos Rf's dos extratos brutos, a CCD também pode ser utilizada na identificação de compostos majoritários ou de compostos que funcionem como marcadores químicos específicos através da aplicação de padrões químicos comerciais e extratos brutos simultaneamente na placa cromatográfica. Tal metodologia foi utilizada por Camargo e Vilegas, 2010 para diferenciar espécies de *Turnera*. O padrão comercial utilizado foi a p-arbutina presente apenas no extrato aquoso da espécie *Turnera diffusa* possibilitando a distinção da espécie *T. ulmifolia*.

Segundo Wagner e Bladt (1996) os extratos etanólicos das raízes de *Smilax regelii* e *S. aristolochiaefolia* apresentam entre 1,8 e 3% de saponinas esteroidais. O mesmo autor caracterizou em CCD tais extratos utilizando como fase móvel clorofórmio:ácido acético glacial:metanol:água (60:32:12:8) e revelador anisaldeido sulfúrico. A CCD apresentou seis manchas com tonalidades variando entre amarelo e marrom que corresponde às áreas com Rf's característicos de saponinas (Rf 0,2 - 0,75) tais como sarsaparilósido e parilina.

4.2.3 Teste de saponinas

Tanto as amostras de espécies de *Smilax* (Figuras 18A-C) quanto as amostras comerciais (Figuras 18D-F) formaram espuma persistente após agitação (Figuras 18A e D). O aparecimento de um anel de espuma persistente, de aproximadamente 1 cm de altura confirma a presença de glicosídeos saponínicos (MATOS, 1997).

De acordo com Costa (1982), o sarsaparilósido é o composto responsável por formar a espuma persistente após agitação em meio aquoso em testes para detectar saponinas em extratos vegetais de um modo geral. Já a parilina ou parilósido são atribuídas as atividades hemolíticas, bacteriostáticas, fungicidas e a formação de complexo insolúvel com o colesterol.

A presença do precipitado (Figuras 18B e E) e a não formação de espuma após acréscimo de ácido clorídrico concentrado, aquecido em banho-maria e com nova agitação confirma a presença de saponinas (Figuras 18C e F). O tratamento hidroliza as saponinas, precipitando as agliconas (MATOS, 1997).

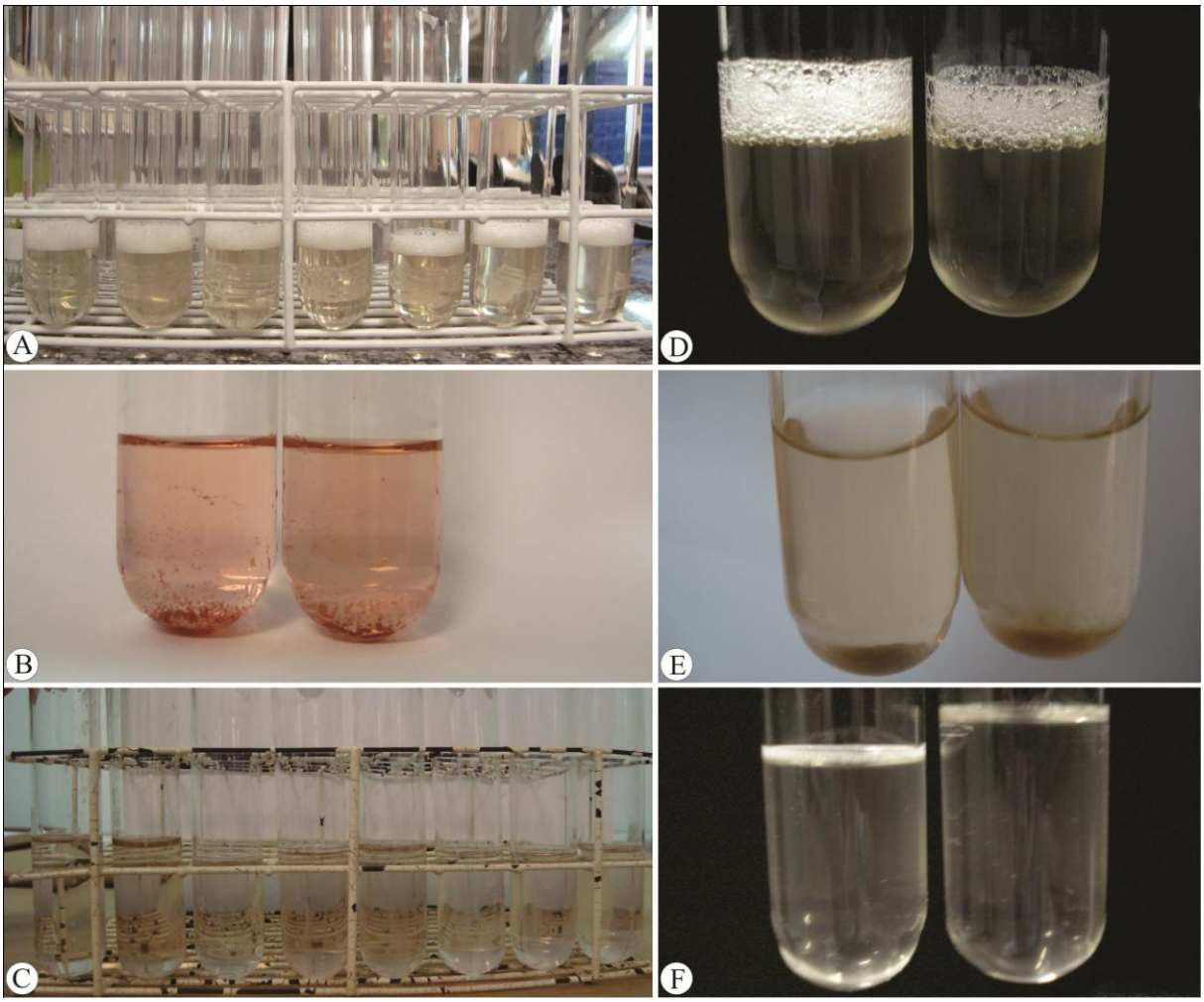

Figura 18 – Teste para saponinas. **A-C**. Amostras das espécies de *Smilax*. **D-F**. Amostras comerciais. **A** e **D**. Formação de espuma após 15 segundos de agitação. **B** e **E**. Precipitação das agliconas. **C** e **F**. Confirmação do teste para saponinas pela não formação de espuma após a segunda agitação

Embora o presente estudo tenha demonstrado que as saponinas estão presentes na salsaparrilha comercializada, não se pode afirmar que se trata de plantas do gênero *Smilax*, pois as saponinas encontradas em Smilacaceae são saponinas esteroidais que também estão presentes em muitas outras famílias, tais como, Liliaceae, Dioscoreaceae, Araceae e

Agavaceae. Segundo a literatura, os gêneros mais conhecidos em relação à presença marcante de saponinas são *Smilax*, *Agave*, *Yucca* e *Dioscorea* (HOSTETTMANN; MARSTON, 1995; SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2010).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diferenças anatômicas e químicas entre as amostras de salsaparrilha comercializadas e as amostras das espécies de *Smilax* estudadas revelam que os dois grupos analisados são muito distintos, portanto tudo indica que a salsaparrilha comercializada no Estado de São Paulo pode não pertencer ao gênero *Smilax*. Estudos moleculares poderão esclarecer esse aspecto.

A similaridade encontrada no perfil químico e na anatomia das amostras de salsaparrilha dos 44 estabelecimentos visitados sugere que embora tenham sido identificadas 12 empresas, a procedência da salsaparrilha deve ser a mesma. Lamentavelmente tais empresas não revelaram o seu fornecedor.

REFERÊNCIAS

ADAMS, M.; BERSET, C.; KESSLER, M.; HAMBURGER, M. Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders – A survey of European herbals from the 16th and 17th century. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 121, p. 343-359, 2009.

AMARAL, C.L.F.; COELHO, L.A.; SILVA, A.B.; SOUZA, M.F. Análise das bulas de medicamentos fitoterápicos comercializados no município de Jequié, Bahia, Brasil. **Diálogos & Ciência:** Revista eletrônica da Faculdade de Tecnologia e Ciências de Feira de Santana, Feira de Santana, v. 10, p. 1-7, Mai. 2007. Disponível em: HTTP://www.ftc.br/dialogos. Acesso em: 18 nov. 2012.

ANDREATA, R.H.P. Revisão das espécies brasileiras do gênero *Smilax* Linnaeus (Smilacaceae). **Pesquisas Botânica**, Rio de Janeiro, v. 47, p. 7-244, 1997.

_____. Smilacaceae. In: MELO, M.M.R.F. **Flora Fanerogâmica da Ilha do Cardoso** . São Paulo: Instituto de Botânica, 2000. v. 7, p. 323-332.

ANDREATA, R.H.P. A New Species of *Smilax* and a Key to All Species from Minas Gerais, Brazil. **Systematic Botany**, Laramie, v. 34, n. 1, p. 28-31, Jan./Mar. 2009.

APG III. 2011. Angiosperm Phylogeny Website. Disponível em: http://www.mobot.org/mobot/research/apweb. Acesso em: 23 ago.2011.

ARBER A. **Monocotyledons**: A morphological study. Cambridge: Cambridge University Press. 1925. 258p.

ARNOUS, A.H.; SANTOS, A.S., BEINNER, R.P.C. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, Londrina, v. 6, p. 1-6, 2005.

BARATA, L. Empirismo e Ciência: Fonte de novos fitomedicamentos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 57, n. 4, p. 4-5, 2005.

BARBOSA, K.S.; YOSHIDA, M.; SCUDELLER, V. Detection of adulterated copaiba (Copaiba multijuga Hayne) oil resins by refractive index and thin layer chromatography. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** Curitiba, v. 19, p. 57-60, 2009.

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

BERNARDO, R.R.; PINTO, A.V.; PARENTE, J.P. Steroidal saponins from *Smilax officinalis*. **Phytochemistry**, Maryland Heights, v. 43, p. 465-469, 1996.

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**, Botucatu, v.5, n. 1, p. 56-59, 2002.

BRANDÃO, M.G.L.; COSENZA, G.P.; GRAEL, C.F.F.; NETO JUNIOR, N.L.; MONTEMÓR, R.L.M. Traditional uses of American plant species from the 1st edition of Brazilian official pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 2A, p. 478-487, 2009.

BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA. Compiled and typeset by WILLOUGHBY, M.J.; MILLS, S.Y. Exeter: University of Exeter, 1996. 212p.

CÁCERES, A.; CRUZ, S.M., MARTÍNEZ, V.;GAITÁN, I; SANTIZO, A.; GATTUSO, S.; GATTUSO, M. Ethnobotanical, pharmacognostical, pharmacological and phytochemical studies on *Smilax domingensis* in Guatemala. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 22, p. 239-248, 2012.

CÁCERES, A.; GIRÓN, L.M.; MARTÍNEZ, A.M. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 19, p. 233-246, 1987.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, p. 37-39, 2003.

CAMARGO, E.E.S.; VILEGAS, W. Controle de qualidade dos extratos polares de *Turnera diffusa* Willd. ex Schult., Turneraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 2, p.228-232, Abr./Mai. 2010.

CAPONETTI, J.D.; QUIMBY, M.W. The comparative anatomy of certain species of *Smilax*. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, Washington, v. 45, p. 691-696, 1956.

CHEADLE, V.I. The occurrence and types of vessels in the various organs of the plant in the monocotyledoneae. **American Journal of Botany**, Saint-Louis, v. 29, p. 441-450, 1942.

CHEN, T.; LI, J.; CAO, J.; XU, Q.; KOMATSU, K.; NAMBA, T. A new flavonone isolated from rhizome *Smilax glabra* and structural requirements of its derivates for preventing immunological hepatocyte damage. **Planta Medica**, New York, v. 65, p. 56-59, 1999.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 2. ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, V. III, 1982. 1032p.

CUNHA, N.S. Curiosa falsificação de salsaparrilha**. Revista da Associação Brasileira de Farmacêuticos**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 399-352, 1937a.

CUNHA, N.S. Da salsaparrilha a japecanga. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v. 5, p. 145-150, 1937b.

CUNHA, N.S. As salsaparrilhas em face da Farmacopéia Brasileira. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v. 8, p. 105-112, 1940.

DIAS-NETO, A.O.; PALAZZO, F.M.A.; ANDREATA, R.H.P.; MONTEIRO, M.H.D.A. Sinopse comentada de Smilacaceae nas restingas de Rio das Ostras (RJ, Brasil). **Pesquisas Botânica**, Rio de Janeiro, v. 61, p. 307-314, 2010.

DIAS-NETO, A.O. **Morfo-anatomia do eixo vegetativo de *Smilax muscosa* Tol. e *S. pilosa* Andreata e Leoni (Smilacaceae)**. 2012. 62p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Botânica) – Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2012.

DURÓN, R.R.; ALMAGUER, L.C.; GARZA-JUÁREZ, A.J.; LUZ, M; CAVAZOS, S.; WAKSMAN-DE-TORRES, N. Development and validation of thin-layer chromatographic methods for quality control of herbal products. **Acta Chromatographica**, Katowice, v. 21, p. 203-215, 2009.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução de B.L. de Morretes. São Paulo: Edgard Blucher, 1974. 293p.

FARMACOPÉIA (PHARMACOPÉIA) DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. Redigida por SILVA, R.A.D. Rio de Janeiro:Companhia Editora Nacional, 1929. 186p.

FARNSWORTH, N.R; SOEJARTO, D.D. Potential Consequence of Plant Extinction in the United States on the Current and Future availability of prescription drugs. **Economic Botany**, New York, v. 39, n. 3, p. 231-240, 1985.

FILARTIGA, A.L. **Caracterização morfo-fisiológica de hemiepífita *Rhodospatha oblongata* POEPP (Araceae):** Desenvolvimento em direção à copa das árvores. 2011.117p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011.

GATTUSO, S.J. Exomorfología y Anatomía de *Smilax campestris* Griseb. (Smilacaceae). **Acta farmaceutica bonaerense**, Buenos Aires, v. 14, p. 181-190, 1995.

GRAYUM, M.H. Evolution and phylogeny of the Araceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden,** Saint Louis, v. 77, p. 628-697, 1990.

GUIMARÃES, A.R.; COSTA, C.G.; ANDREATA, R.H.P. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smilax subsessiliflora* (Smilacaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 2, p. 181-194, 2010.

GUO, M.; KOIKE, K.; LI, W.; GUO, D.; NIKAIDO, T. Matol glucosides from the tuber of *Smilax bockii*. **Phytochemistry**, Maryland Heights, v. 65, p. 481-484, 2004.

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. **Saponins**: Chemistry and Pharmacology of Natural Products. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 548p.

HUGGETT, B.; TOMLINSON, P.B. Aspects of vessel dimensions in the aerial roots of epiphytic Araceae. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 171, p. 362-369, 2010.

JACKSON, B.P.; SNOWDON, D.W. **Atlas of microscopy of medicinal plants, culinary herbs and spices**. London: Belhaven Press, 1990. 257p.

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry**: principle and practice. San Francisco: W.H. Freeman, 1962. 408p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.

JU, Y.; JIA, Z. Steroidal saponins from rhizomes of *Smilax menispermoidea*. **Phytochemistry**, Maryland Heights, v. 31, p. 1349-135, 1992.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n. 1, p. 137-138, 1965.

KAUFF, F.; RUDALL, P.J.; CONRAN, J.G. Systematic root anatomy of Asparagales and other monocotyledons. **Plant Systematics and Evolution**, Vienna, v. 223, p. 139-154, 2000.

KOROLKOVAS, A. A riqueza potencial de nossa flora. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 1, p.1-7, 1996.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: ERDUR, Rio de Janeiro, 1997. 198p.

LEITE, S.N.; BIAVATTI, M.W. Avaliação da qualidade de chás medicinais e aromáticas comercializados em Itajaí – SC. **Revista Brasileira de farmacognosia**, Curitiba, v.5 p. 175-184, 1996.

LIANG.Y.Z.; XIE, P.; CHAN, K.. Quality controlo f herbal medicines. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 812, p. 53-70, 2004.

LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LOURENZANI, A.E.B.S.; LOURENZANI, W.L.; BATALHA, M.O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.34, p. 15-25, 2004.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA Jr., V.F.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 429-438, 2002.

MARTINS, A.R.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos *Smilax polyanta* Griseb. (Smilacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, p. 555-567, 2006.

MARTINS, A.R. **Morfoanatomia dos órgãos vegetativos e perfil químico de espécies do gênero *Smilax* L. (Smilacaceae)**. 2009. 158p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2009.

MARTINS, A.R.; PÜTS, N.; SOARES, A.N.; BOMBO, A.B.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B. New approaches to underground system in Brazilian *Smilax* species (Smilacaceae). The **Journal of the Torrey Botanical Society**, Athens, v. 137, p. 220-235, 2010.

MARTINS, A.R.; PÜTZ, N.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; PIEDADE, S.M.S.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Seed germination and seedling morphology of Smilax polyantha (Smilacaceae). **Biota Neotropica**, Campinas, v.11, p. 1-7, 2011.

MARTINS, A.R.; SOARES, A.N.; BOMBO, A.B.; FIDELIS, A.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Germination and seedling morphology of four South American Smilax (Smilacaceae). **Revista de Biología Tropical**, Costa Rica, v. 60, p. 495-504, 2012.

MATOS, J.F.A.; **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: EUFC, 1997. 148 p.

MEDEIROS, M.F.T.; SENNA-VALLE, L.; ANDREATA, R.H.P. Histórico e o uso da "salsa parrilha" (*Smilax* spp.) pelos boticários no Mosteiro de São Bento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 27-29, 2007.

MELO, J.G.; MARTINS, J.D.G.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-india (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiática* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 212, n. 1, p. 27-36, 2007.

MING, L.C. Estudos e pesquisas de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 12, p. 3-9, 1994.

OLESZEK, W.A. Chromatographic determination of plant saponins. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 967, p. 147-162, 2002.

OLIVEIRA, A.B.; BRAGA, F.C. Produtos naturais bioativos de plantas brasileiras e sua contribuição para o desenvolvimento da química medicinal. **Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica**, São Paulo, v.1, p. 49-58, 2003.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica**. Rio de Janeiro: Atheneu. 1989. 178p.

PEREIRA, S.A.C. **Levantamento do uso e conhecimento das plantas medicinais na comunidade do Distrito de Nova América (Itápolis – SP)**. 2006. 93p. Dissertação (Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – Centro Universitário de Araraquara - UNIARA, Araraquara, 2006.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A.C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande –Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 102-123, 2001.

RUGNA, A.; POLO, J.; EVELSON, P.; GURNI, A.A.; LLESUY, S.; WAGNER, M.L. Antioxidant activity in rhizomes from *S. campestris* Griseb. Smilacaceade. **Molecular Medicinal Chemistry**, Washington, D.C., v. 1, p. 21-25, 2003.

SAKAI, W.S. Simple Method for differential stainning of paraffin embedded plant material using toluidine blue. **Stain Technology**, Baltimore, v. 48, p. 247-248, 1973.

SANT'ANA, P.J.P.; ASSAD, A.L. O contexto brasileiro para a bioprospecção: A competência científico-tecnológica brasileira. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasilia, v. 29, p. 32-37, 2002.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. p. 711-740.

SHU, X.S.; GAO, Z.H.; YANG, X.L. Supercritical fluid extraction of saponins from tubers of *Smilax china*. **Fitoterapia**, Maryland Heights, v.75, p. 656-661, 2004.

SHU, X.S.; GAO, Z.H.; YANG, X.L. Anti-inflamatory and anti-nociceptive activities of *Smilax china* L. aqueous extract. **Journal of ethnopharmacology**, Lausane, v. 103, p. 327-332, 2006.

SILVA, J.M. **Anatomia e perfil químico de duas espécies do gênero *Smilax* L. (Smilacaceae)**. 2010. 68p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, , Piracicaba, SP, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1102p.

SOARES, A.N. **Morfoanatomia, perfil químico e propagação de *Smilax fluminensis* Steud. (Smilacaceae).** 2010. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2010.

SOARES, A.N.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; MARTINS, A.R.; PIEDADE, S.M.S.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Propagation studies in *Smilax fluminensis* Steud. (Smilacaceae). **Ciência Rural** , Santa Maria, v. 41, p. 1762-1768, 2011.

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

SOUZA, M.R.M; PEREIRA, R.G.F.; FONSECA, M.C.M. Comercialização de plantas medicinais no contexto da cadeia produtiva em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.14, p. 242-245, 1012.

SPARG, S.G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 94, p. 219-243, 2004.

STELLFELD, C. A salsaparilha do Paraná e a ausência do parênquima cortical. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v. 6, p. 5-7, 1938.

STELLFELD, C. Sarçaparilha e Jupicanga. **Tribuna Farmacêutica**, Curitiba, v. 8, p. 193-202, 1940.

STRASBURGER, E. **Handbook of practical botany**. (Transl. W. Hillhouse). London: George Allen, 1913. 527p.

VANDERCOLME, E. História botânica e terapêutica das salsaparrilhas. **Revista da Flora Medicinal**, Rio de Janeiro, v. 7-11, p. 316-524, 1947.

VIANNA, W.O.; SOARES, M.K.M. APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomia da raiz escora de *Philodendron bipinnatifidum* Schott (Araceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 313-320, Set./Dez. 2001.

VINCKEN, J.P.; HENG, L.; GROOT, A.; GRUPPEN, H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. **Phytochemistry**, Maryland Heights, v. 68, p. 275-297, 2007.

XU, J.; Li, X.; ZHANG, P.; ZHAN, L.L.; WANG, Y. Antiinflamatory constituents from roots of *Smilax bockii* Warb. **Archives of Pharmacal Research**, Seul, v. 28, n. 4, p. 395-399, 2005.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis**: A thin layer chromatography atlas. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1996. 384p.

ANEXO

ANEXO A

QUESTIONÁRIO DE PESQUISA DE CAMPO

NPS – ____

ESTABELECIMENTO NO ESTADO DE SÃO PAULO
QUE COMERCIALIZAM SALSAPARRILHA

ESALQ/USP – Piracicaba- SP

Os dados serão utilizados para pesquisa e elaboração de Pós-Doc da Profa. Dra. Aline Redondo Martins e da Dissertação de Mestrado de Marli K. M. Soares dentro do Projeto de Pesquisa: "DIVERSIDADE GENÉTICA, CULTIVO E CONTROLE DE QUALIDADE DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Smilax* L. (SALSAPARRILHA) AMPLAMENTE UTILIZADAS NA MEDICINA POPULAR", sob orientação da Profa. Titular Beatriz Appezzato da Glória.

Data do preenchimento do questionário: _____. Horário: _____
Cidade: _____ Responsáveis pela pesquisa: Aline e Marli

1. Dados do estabelecimento:

1a. Nome: _____

1b. Telefone: _____ Contato: _____

1c. Endereço: _____ Bairro: _____

1d. Site: _____ E-mail: _____

2. Dados sobre a amostra:

2a. Nome na embalagem: _____

2b. Quais as utilizações medicinais atribuídas à salsaparrilha?

Reumatismo ( ) Depurativo ( ) Diurético ( ) Outras: _____

2c. Qual a quantidade utilizada indicada? _____

2d. Modo de preparo do chá: Infusão ( ) Decocção ( ) Tintura ( ) Outras: _____

2e. Preço atribuído: _____ para 1 kilograma. **2f.** Quantidade comprada: ____ pacote de _____g.

2g. Quantidade de salsaparrilha vendida no mês: 200g ( ) 500g ( ) 1000g ( ) outra: _____kg/mês.

2h. Data de fabricação: _____ **2i.** Data de validade: _____

2j. Lote: _____ **2h**. Farm. Resp.: _____ CRF-SP _____

3. Dados do fornecedor: Qual a origem do fornecimento da salsaparrilha vendida na farmácia ou ervarias:

3a. Nome: _____

3b. Endereço: _____ Bairro: _____ Cidade: _____/SP

3c. Telefone: _____ 3d. Site: _____ e-mail: _____