UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-graduação em

Fármaco e Medicamentos

Área de Controle de Medicamentos e Matérias Primas

FARMACOGNOSIA DE *Cordia ecalyculata* Vell.
(*Boraginaceae*)

MARIA LUCIA SAITO

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. FERNANDO DE OLIVEIRA

São Paulo

1984

Aos meus pais,

Com carinho e gratidão

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Fernando de Oliveira, Professor Livre-Docente da Disciplina de Biofarmacognosia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, nossos sinceros agradecimentos pela orientação, assistência e apoio dispensados ao longo de todo o desenvolvimento do Trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Borge Ronning, Diretor Técnico do Laboratório Centroflora, pela amizade, incentivo e apoio recebidos.

Ao Professor Ass.Dr. Marden Antonio de Alvarenga, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelo auxílio prestado na interpretação das análises espectroscópicas.

Ao Prof. Ass. Dr. Gokithi Akisue, da Disciplina de Biofarmacognosia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pelo auxílio prestado na execução das fotos apresentadas neste Trabalho.

Ao Prof. Ass. Dr. Wolfgang F. Seidel, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelo auxílio prestado na síntese do ácido alantóico.

A todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste Trabalho.

SUMÁRIO

	Pág.
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVOS	3
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 - Aspectos Botânicos	4
3.1.1 - Posição Taxonômica da Espécie <u>Cordia ecalyculata</u> Vell.	4
3.1.2 - <u>Cordia ecalyculata</u> Vell. e o gênero <u>Cordia</u> L.	5
3.1.3 - Descrição Original de <u>Cordia ecalyculata</u> Vell.	8
3.1.4 - Sinonímia	8
3.1.5 - Fenologia, Distribuição Geográfica e Observações Ecológicas	10
3.1.6 - Aspectos Anatômicos da Família <u>Boraginaceae</u>	10
3.2 - Aspectos Químicos	12
3.2.1 - Química da Família <u>Boraginaceae</u>	12
3.2.2 - Química do Gênero <u>Cordia</u> L.	17

3.3 - Aspectos Farmacodinâmicos e Usos de Espécies do Gênero <u>Cordia</u> L.	24
3.4 - Alantoina	26
3.4.1 - Histórico	26
3.4.2 - Origem da Alantoina em Vegetais	27
3.4.3 - Propriedades Físicas e Químicas	28
3.4.4 - Características Espectrais da Alantoina	29
3.4.5 - Métodos de Identificação e Quantificação de Alantoina	30
3.4.6 - Usos	32
4. - MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1 - Materiais	33
4.2 - Métodos	36
4.2.1 - Estudo Morfológico e Anatômico do Vegetal	36
4.2.2 - Estudo Químico	37
4.2.2.1 - Reações Genéricas de Identificação de grupos de Substâncias	38
4.2.2.2 - Obtenção de Extratos	39

4.2.2.3 - Isolamento de Substâncias do Extrato Hexânico	43
4.2.2.4.- Isolamento de Substâncias do Extrato Etanólico das Folhas	48
4.2.2.5 - Isolamento de Substâncias do Extrato Etanólico de Caule	51
4.2.2.6 - Análise das Substâncias Isoladas	51
4.2.2.7 - Determinação de Substân- cias Voláteis a 105°C e de Cinzas nas Drogas	52
4.2.2.8 - Análise do Extrato Fluído..	53
4.2.2.9 - Quantificação da Alantoi- na e do Ácido Alantóico ...	55
4.2.2.10- Síntese do Ácido Alantói- co	56
4.2.2.11- Teste do Hidroxamato	57
5 - RESULTADOS	58
5.1 - Estudo Botânico	58
5.1.1 - Caracterização Macroscópica do Ve- getal	58

	Pág.
5.1.2 - Anatomia da Folha	66
5.1.3 - Anatomia do Caule	73
5.1.4 - Anatomia do Eixo da Inflorescência e de Peças Florais	86
5.1.4.1 - Eixo da Inflorescência ...	86
5.1.4.2 - Cálice	87
5.1.4.3 - Corola	89
5.1.4.4 - Gineceu	91
5.1.4.5 - Androceu	93
5.1.5 - Anatomia do Fruto	95
5.1.2 - Caracterização da Droga	98
5.2 - Estudo Químico	100
5.2.1 - Reações Genéricas de Identifica- ção	100
5.2.2 - Análise da Substância CH-1	102
5.2.3 - Análise da Substância CH-2	106
5.2.4 - Análise da Substância CH-3	107
5.2.5 - Análise da Substância CE-1	107
5.2.6 - Análise da Substância Inorgânica ...	109
5.2.7 - Determinação de Substâncias Volá- teis a 105°C e de Cinzas nas Dro- gas	113

5.2.8 - Análise do Extrato Fluído	113
5.2.8.1 - Parâmetros Físico-Químicos	113
5.2.8.2 - Análise Cromatográfica ...	114
5.2.8.3 - Presença de Ácido Alan- tônico	122
5.2.8.4 - Determinação do Teor de Alantoina e de Ácido Alan- tônico	122
6 - DISCUSSÃO	124
6.1 - Botânica	124
6.1.1 - Caracterização Macroscópica	124
6.1.2 - Caracterização Microscópica do Ve- getal	127
6.2 - Química	135
6.2.1 - Reações Genéricas de Identificação..	135
6.2.2 - Identificação de Substâncias CH-1...	136
6.2.3 - Identificação da Substância CH-2....	137
6.2.4 - Identificação da Substância CE-1....	137
6.2.5 - Identificação da Substância Inorgâ- nica	138

1. INTRODUÇÃO

A família Boraginaceae, criada por Jussieu em 1789 (3) compreende cerca de 100 gêneros e 2000 espécies (37,48), distribuídas por todas as regiões do globo, varia desde ervas até árvores de grande porte. Esta diversidade, aliada a variedade de formas, permitiu a sua divisão em quatro subfamílias a saber : Cordioideae, Eliretioideae, Heliotropioideae e Boraginoideae.

A utilização de suas espécies, ainda, não é grande, sendo sua expressão econômica reduzida. Algumas espécies dos gêneros Myosotis L, Cynoglossum L e Heliotropium L são cultivadas como plantas ornamentais. Espécies do gênero Cordia L são empregadas em marcenaria e em carpintaria (33,43). Os gêneros Symphytum L, Borago L, Pulmonaria L, Cynoglossum L e Cordia L apresentam espécies medicinais.

Symphytum officinale L e Symphytum asperum Lepechin, conhecidas pelos nomes de confrei e consolida, constituem espécies vegetais de uso medicinal consagradas no mundo inteiro, sendo ainda empregadas como forrageira.

Borago officinalis L, conhecido vulgarmente por borragem, é utilizada como diaforética, emoliente e diurética (48). Emprega-se para este mister as folhas e as sumidades floridas (48).

Pulmonaria officinalis L é empregada no tratamento de afecções do aparelho respiratório, especialmente, como expectorante (48). É empregada também como diurética, emoliente e sudorífera (48), empregando-se para este fim extratos obtidos a partir da planta inteira ou de suas partes aéreas.

As folhas e as raízes de Cynoglossum officinale L. possuem propriedades de paralizar os nervos motores semelhantes à do curare (48). Seus extratos são empregados como antiinflamatório das vias respiratórias e digestivas (48).

No Brasil, inúmeras espécies do gênero Cordia L são empregadas como emoliente e expectorante utilizando-se principalmente os frutos. Caminhoá (6) inclui neste rol as seguintes espécies : Cordia insignis Cham., Cordia excelsa A.DC., Cordia alliodora Ruiz e Pavon., Cordia grandifolia A.DC. e Cordia magnoliaefolia Cham..

Cordia verbenacea Al.DC., é empregada no tratamento de tumores e úlceras. O infuso em álcool de suas folhas é empregado como anti-reumático e como hemostático enérgico (2,12,13).

Cordia ecalyculata Vell., conhecida vulgarmente pelo nome de chá de bugre, tem sido empregada como diurético e emagrecedor. O uso deste vegetal vem aumentando sem, entretanto, haver dados na literatura que permitam sua caracterização farmacognóstica.

2. OBJETIVOS

Constituem objetivo deste trabalho :

- Caracterizar macro e microscopicamente as folhas, as cascas de caule e os ramos jovens de Cordia ecalyculata Vell.;
- Isolar e identificar componentes químicos do vegetal;
- Caracterizar o extrato fluído através da cromatografia, do resíduo seco, cinzas, pH, densidade e teor alcóolico;
- Quantificar componente ativo presente no extrato fluído.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - ASPECTOS BOTÂNICOS

3.1.1 - Posição Taxonômica da Espécie *Cordia ecalyculata* Vell.

É a seguinte a posição taxonômica de *Cordia ecalyculata*, de acôrdo com o sistema de Engler (42).

- 17^a Divisão - Angiospermae Brongniart
A. Brongniart in Enum. Gen. ed. 2.
26. 1850
- 1^a Classe - Dicotyledoneae De Candolle
A.P. De Candolle, Syst.Nat. 1:123.
1817
- 2^a Sub Classe - Sympetalae Engler
A. Engler, Syllab. ed. 1.151. 1892
- 8^a Ordem - Tubiflorae . Agardh
C.A. Agardh, Classes Pl. 11. 1825
- 2^a Sub Ordem - Boraginineae Engler
A. Engler in Engler et Plantl.Natürl.
Pflanzenf. Nachtr ed 1.1¹⁶⁵.355. 1897
- Família - Boraginaceae Jussieu
A.L. Jussieu. Gen.Pl. ed. 1. 143.
1789

Subfamília - Cordioideae Gurke
 A.L.A.M. Gurke, in Engler et Plantl.
 Natürl. Pflanzenf. ed. 1. 4 (3a)⁸⁵:
 80. 1983.

Gênero - Cordia L.
 C. Linnaeus Sp. Pl. ed 1. 1 : 190.
 1753

Cordia ecalyculata Vell.

Fl. Flum. Descrip. 96. 1825

Fl. Flum. Icon. 2 : tab. 149. 1827 - 1831

3.1.2 - Cordia ecalyculata Vell. e o Gênero Cordia L.

O gênero Cordia criado por Linnaeus em 1753 inclui cerca de 250 espécies das quais 26 ocorrem em São Paulo. Este gênero inclui especialmente arbustos podendo ocorrer menos frequentemente árvores, lianas e ervas.

De Candolle em 1845 (7) dividiu o gênero em sete secções a saber :

Seccio 1 - Gerascanthus Cham.

2 - Rhabdocalix A. DC.

3 - Pilicordia A. DC.

4 - Physoclada A. DC.

5 - Sebestenoides A. DC.

6 - Mixa Endl.

- 1 - Laxiflorae
- 2 - Spicaeformes
- 3 - Subcapitatae
- 4 - Dasycephalae
- 7 - Cordiopsis A. DC.

De Candolle inclui em sua obra Cordia ecalyculata Vell. na subsecção laxiflorae sob a denominação Cordia salicifolia Cham. atribuindo-lhe a seguinte descrição :

Cordia salicifolia Cham. (Cham. in Linnaeae 1829 p. 481 et 1883 p. 129).

Glabra summisque paniculae ramis pilosiusculis, ramis 2-4 chotomis teretibus, foliis lanceolatis acuminatis in petiolum attenuatis reticulato-venosis, cymis alaribus breviter pedunculatis dichotomis, floribus sicus ramulus pedicellatis alabastris obovoideis, calyce campanulato irregulariter rupto; cor. lobis reflexis, stam. exsertis in Brasilia aequinotiali. Petiolus 6 lin. longus. limb fol. 4,5 poll longus, pollicem latus. Calyx subbilinearis. Drupa ovata calyce fisso suf. fulta.

Com referência a Cordia ecalyculata Vell. De Candolle faz a seguinte observação :

Species vix notae. Cordia? ecalyculata Vell.

fl. Flum. 2 : t. 149. Ex fructu 5 locul. forte excludenda.

Fresenius em sua monografia sobre a família Boraginaceae incluída na Flora Brasiliensis de Martius divide o gênero Cordia da seguinte maneira (26) :

Secção 1 - Gerascanthus Cham.

" 2 - Corimbiformis Fresen.

Micranthae calyce calyphato

Micranthae calyce dentato

" 3 - Physocladra A. DC.

" 4 - Spicaeformes Fresen.

" 5 - Subcapitatae Fresen.

Fresenius inclui em sua monografia Cordia ecalyculata Vell. sob a denominação de Cordia salicifolia Cham. na secção Corymbiformes, sub secção Micranthae calyce dentato atribuindo-lhe a seguinte diagnose:

Cordia salicifolia Cham

Glabra, foliis novellis summisque inflorescentiae ramis pilosiusculis, foliis lanceolatis in petiolum attenuatis, acuminatis; cymis alaribus iterato-dichotomis; alabastris ovoideis, calyce campanulato, intus praeter basin piloso, dentibus 4 ovato-deltoides; lobis corolae ellipticis, obtusis, reflexis, ataminibus basi villosis exsertis.

Cordia salicifolia Cham in Linnaea 1829.

481 et 1833. 129 DC. Prodrum IX. 486

Brasilia aequinoctialis - Sellow

Specimina fructifera in Herb. Martii, a Luschnath m. Martio lecta in Serra dEstrella - foliis oblongo-lanceolatis, acuminatis, mucronatis, mitentibus, supra glabris, subtus a strigis brevis scabris, calyce in superficie utraque setulis appressis scabro, drupa in calyce persistente oblique-ovato acuta, 4-5 lin longa -: an varietas C. salicifolia.

3.1.3 - Descrição Original de Cordia ecalyculata Vell.(62)

Fl. Flum. 91. 1825

Fl. Flum. Icon. 2 : t. 149. 1827. 1831

C. foliis lanceolatis, glabris, floribus, racemosis, calyce deciduo (Tab. 149 T.2)

Observationes. Caulis truncus arboreus. Florem non vidi. Drupa apice acuto. Aug. fructum ferebat. Habitat ad radices Fluminensium Alpium Regii Proedii.

3.1.4 - Sinonimia

Cordia ecalyculata Vell. apresenta a seguinte sinonimia científica :

- Cordia digynia Vell.

Fl. Flum. 97. 1825

Fl. Flum. Icon 2 : tab. 153. 1835

- Cordia salicifolia Cham.
 Linnaea 4 : 481. 1829
 8 : 129. 1833
- Cordia leptocaula Fresen
 in Martius Fl. Bras. 8 (1) : 14. 1857
- Cordia coffeoides Warm.
 Kjoeb Vidensk Meddel. '1867' : 4, 44, Fig.3, 1868
- Patagonula glaziovii Mez
 Bot. Jahrb 12, Beibl. 27 : 17. 1890
- Lithocardium leptocaulon Kuntze
 Rev. Gen. 2 : 977. 1891
- Lithocardium salicifolium Kuntze
 Rev. Gen. 2 : 297. 1891
- Cordia glaziovii Taub.
 Bot. Jahr. 15 Beibl. 38 : 13. 1893

Cordia ecalyculata Vell. não consta da Farmacopeia Brasileira, não possuindo portanto, nome oficial. Esta espécie vegetal é conhecida pelos seguintes nomes vulgares (12,17,53) :

Porangaba, Chã de Frade, Chã de Bugre, Café do Mato, Cafezinho, Claraiba, Louro Salgueiro, Louro Mole.

3.1.5 - Fenologia, Distribuição Geográfica e Observações Ecológicas

Cordia ecalyculata Vell. floresce nos meses de novembro, dezembro e janeiro, frutificando em abril e maio.

Espécie heliófita e higrófita que ocorre em matas localizando-se, preferencialmente, próximo dos cursos d'água. Habita em clareiras abertas em florestas, nas orlas das matas e sobretudo em capoeiras.

No Brasil esta espécie vegetal ocorre desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, tendo sido encontrada ainda em Brasília e no Acre. Medra, ainda, na Argentina e no Paraguai (3,53).

3.1.6 - Aspectos Anatômicos da Família Boraginaceae

Segundo Metcalfe and Chalk (43) são bastante frequentes em exemplares de porte herbáceo a presença de pelos unicelulares de paredes espessadas providas de cutícula verrucosa. Incrustações de carbonato de cálcio ocorrem com frequência na base destes pelos ocorrendo, ainda, algumas vezes em células adjacentes. Pelos glandulares providos de glândula captada unicelular também ocorrem em diversas espécies. Akisue et alii (2) citam a presença destes anexos epidérmicos em Cordia verbenacea A.DC.

As folhas das boragináceas podem pos-

suir estrutura heterogênea simétrica ou heterogênea assimétrica, conforme o gênero, ocorrendo variações inclusive dentro do mesmo gênero. Segundo Salnis, citado por Metcalfe and Chalk, (43) células paliçádicas braciiformes ocorrem com frequência em espécies dos gêneros Heliotropium L. Trichodesma R.Br. e Arnebia Forsk.

Os estômatos são geralmente do tipo ranunculáceo ocorrendo com frequência somente na epiderme inferior.

Secções transversais do pecíolo de folhas pertencentes ao gênero Cordia L, Ehretia L e Patagonula L, apresentam com frequência um anel de feixes vasculares com feixes subsidiários junto a face adaxial ou junto a medula. Outras vezes os feixes vasculares se dispõem em arco.

Cristais de oxalato de cálcio ocorrem com frequência em forma de drusas ou com maior constância em forma de bolsas de areia cristalina.

O felogênio ocorre no caule inicialmente logo abaixo da epiderme. Os raios vasculares apresentam 3 a 4 células de largura e o parênquima do sistema axial localizado no lenho pode ser tanto do tipo apotraqueal como paratraqueal.

3.2 - ASPECTOS QUÍMICOS

3.2.1 - Química da Família Boraginaceae

Embora existam cerca de duas milhares de plantas pertencentes a família Boraginaceae poucas espécies desta categoria taxonômica foram estudadas quimicamente.

As principais classes de substâncias encontradas na família segundo Hegnauer (30) e Gibbs (29) são as seguintes : alcaloides, quinonas e naftoquinonas, saponinas, taninos e ácidos fenólicos, alantoina, mucilagens, polissacarídeos, flavonoides e ciclitois.

Os alcaloides pirrolizidínicos presentes em inúmeras espécies da família Boraginaceae tem recebido destaque em publicações científicas graças especialmente a sua ação hepatotóxica (31 e 54), que inclui carcinogenicidade.

Smith e Culvenor (54) em 1981, publicaram um trabalho no qual reuniram as principais espécies vegetais produtoras de alcalóides pirrolizidínicos agrupando-as por famílias e gêneros. Este autor menciona como famílias formadoras destes alcalóides as seguintes : Apocynaceae, Boraginaceae, Compositae, Leguminosae, Ranunculaceae e Scrophulariaceae. Os seguintes gêneros de Boraginaceae são citados como produtores dos referidos alcalóides : Amsinckia Spach, Asperugo L., Cynoglossum L., Echium L., Heliotropium L., Lindelofia J.G.C. Lehmann, Myosotis L., Pa-

racynoglossum Popov., Rindera Pallas., Symphytum L. e Turne
fortia L.

Dentre os alcalóides pirrolizidínicos das Boraginaceae, foi dada importância especial àqueles que ocorrem no gênero Symphytum L. em função do uso de suas espécies e da probabilidade de motivarem lesões hepáticas de natureza maligna.

Os seguintes alcalóides pirrolizidínicos ocorrem em espécies do gênero Symphytum L. segundo Smith et alii (54) e Furuya e Araki (28).

TABELA 1 - Ocorrência de Alcalóides Pirrolizidínicos no Gênero Symphytum L. (27,28,54)

Espécies Alcalóides	<u>S.aspe-</u> <u>rum</u>	<u>S.cauca-</u> <u>sicum</u>	<u>S.offi-</u> <u>cinale</u>	<u>S.orien-</u> <u>tale</u>	<u>S.uplan-</u> <u>dicum</u>	<u>S.tube-</u> <u>rosum</u>
	Lepech.	Bieb.	L.	L.	Nyman	L.
Acetilechmi- dina	+		+			
7 Acetillicop samina	+		+		+	
7 Acetil in- termedina					+	
7 Angelil re- tronecina vi- ridiflorato			+			
Analodina				+		+
Asperumina	+	+				
Consolicina			+			
Consolidina			+			
Echinatina	+	+	+			
Echimidina		+	+	+	+	+
Heliosupina	+		+			
Intermedina					+	
Lasiocarpina		+	+			
Licopsamina					+	
Sinfitina			+	+	+	
Sinfitocino- glossina			+			
Sinlandina					+	
Uplandicina					+	
Viridiflorina			+			

+ Presença do alcalóide.

Culvenor et alii. estudando os alcalóides presentes em Symphytum uplandicum Nyman, considerado como híbrido de Symphytum officinale L. e Symphytum asperum Lepechim lograram isolar e identificar oito alcalóides atribuindo a eles as seguintes estruturas (18) :

(A)

(B)

		R^1	R^2
1) equimidina	(A) ou (B)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{Me} \\ \quad \\ \text{Me}-\text{C}=\text{C}-\text{CO} \end{array}$	OH
2) sinfitina	(A)	$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{Me}-\text{C}=\text{C}-\text{CO} \\ \\ \text{H} \end{array}$	H
3) licopsamina	(A)	H	H
4) intermedina	(B)	H	H
5) 7-acetillicopsamina	(A)	MeCO	H
6) 7-acetilintermedina	(B)	MeCO	H
7) simlandina	(A)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{Me} \\ \quad \\ \text{Me}-\text{C}=\text{C}-\text{CO} \end{array}$	H
8) uplandicina	(A) ou (B)	MeCO	OH

Entre as quinonas, alcanina tem sido encontrada em espécies pertencentes a gêneros diversos de Boraginaceae, bem como o seu isômero, a shiconina :

(-) Alcanina

(+) Shiconina

Gibbs (29) menciona a presença de alcanina em espécies de 20 gêneros diferentes de Boraginaceae, ocorrendo esta substância com mais frequência nos seguintes : Alkanna Tausch., Cynoglossum L., Echinosperrum Swartz, Echium L. e Onosma L.

Shiconina ocorre no gênero Lithospermum L.

Outra substância isolada frequentemente de espécies da família Boraginaceae é a alantoina. Esta substância foi detectada entre outras espécies nas seguintes : Anchusa officinalis L., Cordia atrofusca Taub., Cordia excelsa A.DC., Ehretia thyrsoiflora Nakai, Rhabdia lycioides Mart e Symphytum officinale L. (29).

A presença desta substância em plantas tem sido interpretada algumas vezes como resultado da degradação de bases púricas (34).

Alantoina

Gibbs (29) menciona teste positivo para juglona com as seguintes espécies: Alkanna graeca Boiss., Alkanna orientalis Boiss., Anchusa capensis Thumb., Caccinia glauca Savi., Ehretia acuminata R.Br., Ehretia tinifolia L., Heliotropium angiospermum Murr., Heliotropium peruvianum L., Tournefortia poliochros Spreng. e Tournefortia volutina HBK.

Juglona

3.2.2 - Química do Gênero Cordia L.

Gibbs (29) em sua revisão sobre a ocorrência de grupos de substâncias na família Boraginaceae indica a presença no gênero Cordia L. dos seguintes grupos de princípios : quinonas, hidroquinonas terpenóides, alcoois terpênicos, compostos fenólicos, flavonóides, saponinas, taninos, compostos cianogenéticos, mucilagens, esteróides, compostos nitrogenados, entre os quais alcalóides, alantoina e açúcares.

Manners e Jurd (39) estudando produtos naturais que conferem resistência ao apodrecimento logra-

ram constatar a presença em Cordia alliodora Ruiz e Pavon de sete novos compostos geranil-hidroquinônicos.

Manners (38,40) em 1977 propõe para as quinonas que ocorrem em espécies de Cordia L., os dois caminhos biosintéticos seguintes : geranil-hidroquinonas e geranil benzoquinonas.

Moir e Thomson (45) estudaram a ocorrência de quinonas terpenóides em 17 espécies do gênero Cordia L.. Isolaram inicialmente seis benzoquinonas terpenóides de Cordia millenii Back, as quais denominaram de cordiacromonas de A a F. Os autores verificaram a presença deste tipo de substância em oito das 17 espécies ensaiadas.

cordiacroma A: R = H

cordiacroma D: R = OMe

cordiacroma B: R = H

cordiacroma E: R = OMe

cordiacroma C: R = H

cordiacroma F: R = OMe

Seikel e Rowe (50) estudando o lenho de Cordia trichotoma (Vell) Arrab. isolaram mistura de cristais brancos no qual lograram identificar 48% de α -eudesmol, 35% de β -eudesmol, 13% de γ -eudesmol e traços de guaiol. As estruturas destes alcoóis terpenícos são as seguintes :

α -eudesmol β -eudesmol γ -eudesmol

guaiaol

Inúmeros flavonóides tem sido isolados de espécies do gênero Cordia L. Domingues e Butruille (22) estudando Cordia boissieri A.DC., espécie utilizada no tratamento de afecções bronquiais no norte do México, isolou e identificou a alantoina, o pinitol e um flavonóide, o dimetil-3,4'-caempferol.

Gibbs (29) menciona a presença de leucoantocianinas nas folhas de Cordia sebestena L. e Cordia leucosebestena Griseb.

Chauhan, Srivastava e Sultan (9) em 1978 isolaram do extrato etanólico das raízes de Cordia obliqua Willd., um outro flavonóide, o hesperitin 7-Ramno-

sido, uma flavanona até então não mencionada em vegetais.

Chauhan e Srivastava (11) em 1977 isolaram do extrato etanólico de Cordia obliqua Willd., um flavanonol, glicósido identificado como 5,7-dimetoxitaxifolin-3-O- α -L-ramnopiranosídeo.

Srivastava e Srivastava (55) isolaram do extrato clorofórmico das sementes de Cordia obliqua Willd. uma flavanona, a taxifolin-3,5-diramnósido.

Estes mesmos autores (56), estudando as raízes de Cordia obliqua Willd., isolaram um novo glicósido triterpênico o lupa-20 (29)-eno-3-O- α -L-ramnopiranosídeo.

Lins et alii (37a) estudando o extrato etanólico de Cordia verbacea A.DC., isolaram duas flavonas pentametoxiladas a saber : 5,6'-dihidroxí-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona e 5,6'-dihidroxí-3-3',4',6,7-pentametoxiflavona.

Velde et alii em 1982 confirmaram a presença de uma das flavonas mencionadas para Cordia verbenaceae A.DC. e identificaram no vegetal a 5-hidroxi-3,6,7,3'4'-pentametoxiflavona (61).

Estes autores lograram ainda isolar dois triterpenos novos para ciência, os quais foram denominados de cordialina A e de cordialina B.

Os dois triterpenos pertencem ao tipo do damarano.

A presença de esteróides em plantas do gênero Cordia L. tem sido diversas vezes evidenciada. Desai (20,21) estudando diversas plantas da Índia, identificou sitosterol no caule de Cordia rothii R. et S.. Tiwari e Srivastava (59) encontraram β -sitosterol nas cascas de Cordia obliqua Willd. Lins et alii estudando as partes aéreas de Cordia verbenacea A. DC. (37a), identificaram a presença de sitosterol.

Gibbs (29) indica como provável a presença de saponinas em dez espécies do gênero Cordia L.

Chauhan e Srivastava (10) estudando a composição de Cordia obliqua Willd. isolaram um glicósido que demonstrava possuir as propriedades das saponinas identificando-o como Lupa-20, 29 eno-3- β -D-maltósido.

Lupa-20,29-eno-3-O- β -D-maltósido

Mucilagens do gênero Cordia L. tem sido estudadas por Verma et alii (63) e por Karawya et alii (36).

Gibbs (29) menciona a presença de taninos em 9 espécies do gênero Cordia L.

A presença de alantoina foi evidenciada em Cordia atrofusca Taub. e Cordia excelsa A.DC. (29) bem como em Cordia obliqua Willd. estudada por Tiwari e Srivastava (59).

Dominguez e Butruille (22), por sua vez, evidenciaram a presença de alantoina em Cordia boissieri A.DC..

3.3 - ASPECTOS FARMACODINÂMICOS E USOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO Cordia L.

Embora inúmeras espécies do gênero Cordia L. sejam empregadas na medicina popular, faltam trabalhos científicos que comprovam a ação medicamentosa destas plantas.

No Brasil diversas espécies deste gênero são utilizadas no tratamento de inúmeras enfermidades. Empregadas frequentemente no tratamento de úlceras externas, de tosses catarrais e de obesidade, estas plantas são apontadas como possuidoras de atividades antiinflamatórias, emolientes e diuréticas. Prista et alii (47b) relacionaram o uso de vegetais da família Boraginaceae referente a tra-

tamento de feridas com a presença de alantoina. A ação emoliente pode estar relacionada com a presença frequente de mucilagens em espécies deste gênero.

Assim, Cordia verbenaceae A.DC., conhecida vulgarmente por balieira-cambará (53), cambará da praia, salicina, salicilina (2) tem sido empregada como cicatrizante, no tratamento de tumores e úlceras, como antireumática e ainda como hemostática.

Caminhoa (6) cita como emolientes e mucilaginosos os extratos obtidos a partir de frutos das seguintes espécies : Cordia insignis Cham., Cordia excelsa A.DC., Cordia alliodora Cham., Cordia grandifolia A. DC., Cordia superba Cham. e Cordia magnoliaefolia Cham.. Com os frutos destas espécies costumam ser elaborados xaropes que são apontados como possuidores de propriedades emolientes e béquicos (14). O nome de babosa atribuído em Minas Gerais a diversas espécies de Cordia L. (6) parece estar relacionado com o conteúdo mucilaginoso de seus frutos usados no tratamento de tosses catarrais.

As cascas de Cordia oncocalyx F.Allem. são adstringentes, sendo empregadas em forma de banhos no tratamento de golpes e feridas (15).

As folhas de Cordia patagonula A.t. são utilizadas na obtenção de infuso empregada no tratamento de feridas e de úlceras de mal caráter, tendo sido indicada como possuidora de ação antiinflamatória (14).

Cordia ecalyculata Vell. é frequentemente empregada como diurética, especialmente no tratamento de obesidade (17). Pio Correia (12) menciona que esta espécie é empregada como sudorípara, depurativa e antireumática, descrevendo-a sob o título de café do mato (Cordia coffeoides Warm.).

Tivemos oportunidade de ouvir da parte de pessoa simples que vive do comércio de plantas o emprego de Cordia ecalyculata Vell. em forma de banhos no tratamento de feridas.

3.4 - ALANTOINA

3.4.1 - Histórico

A alantoina é uma substância muito difundida na natureza, especialmente em embriões ou em partes em crescimento de plantas ou animais. Foi pela primeira vez encontrada na membrana alantoide da vaca, sendo encontrada na urina de mamíferos com exceção do homem e de macacos antropoides (47).

Por ocasião da primeira guerra mundial foi observado que ferimentos graves, especialmente aqueles envolvendo osteomielite, quando infectados por larvas, curavam-se com prontidão inesperada (58).

Esta observação levou ao uso comum da chamada "maggot therapy". Em 1935, Robinsom do "United

States Bureau of Entomology" apresentou evidências insofismáveis que a ação benéfica das larvas resultavam da alantoina de suas excreções (58).

Após esta descoberta a alantoina passou a ser largamente empregada pelos cirurgiões para acelerar a proliferação celular em ferimentos com recuperação lenta, especialmente a osteomielite. Hoje a alantoina continua sendo utilizada, especialmente em associação com outras substâncias, porém em menor intensidade.

3.4.2 - Origem da Alantoina em Vegetais

A degradação das bases púricas em muitas plantas leva à acumulação dos ureidos, alantoina e ácido alantóico.

alantoina

ácido alantóico

Em certos vegetais esses ureidos desempenham função no armazenamento e distribuição de substâncias. A 8-¹⁴C-adenina marca o ácido alantóico, a alantoina e a uréia quando é administrada às folhas de Acer saccharinum Wang. (19).

A formação de alantoina e de ácido alantóico se supõe que ocorre mediante as seguintes reações :

hipoxantina

xantina

adenina

guanina

ácido úrico

uricase

alantoina

alantoinase

ácido alantóico

alantoicase

uréia

ácido
glioxílico

As enzimas implicadas nestas reações foram encontradas em sementes e em plantas em crescimento, em algumas espécies vegetais.

3.4.3 - Propriedades Físicas e Químicas

A alantoina é um pó branco cristalino, pouco solúvel em água fria, solubilizando-se com maior facilidade em água quente. Um grama de alantoina dissolve-se em 190 ml de água ou 500 ml de etanol. É quase insolúvel no éter. Sua solução saturada possui pH 5,5. Apresen

ta um centro quiral. A forma d é a natural. A forma l se obtem por ação da enzima alantoinase sobre a dl-alantoina. Esta enzima ataca a forma d transformando-a em ácido alantôico e não ataca a forma l. A forma racêmica é sintetizada através da oxidação do ácido úrico com permanganato de potássio em meio neutro ou alcalino.

A alantoina é precipitada de suas soluções pelo nitrato de prata, originando um sal; reage com solução de hidróxido de potássio, originando sal de potás-sio.

3.4.4 - Características Espectrais da Alantoina

Kaliszam e Halkiewicz (35), estudaram amostras cristalinas de derivados da uréia, incluindo a alantoina, por espectroscopia no infravermelho. Estes autores preocuparam-se com a relação entre estrutura cristallina e a atividade de drogas.

A caracterização da alantoina no espectro infravermelho em pastilhas de KBr é dada no catálogo Sadtler, sob número 6488.

Stahl (57), estudando os produtos de oxidação do ácido úrico pelo ar, fornece as absorções características da alantoina em espectroscopia de ressonância magnética protônica, bem como, as constantes de acoplamento.

Coxon et alii (16) estudando o ácido úrico e seus produtos de degradação por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13 apresentam os resultados obtidos, entre os quais os referentes a alantoina.

3.4.5 - Métodos de Identificação e Quantificação de Alantoina

A quantificação da alantoina assume importância nos seguintes tipos de materiais :

- 1) líquidos biológicos, tais como sangue e urina;
- 2) preparações farmacêuticas e cosméticas;
- 3) drogas vegetais e seus extratos.

Inúmeros métodos foram propostos visando identificar e quantificar a alantoina.

Fell e Peck (25) estudando espécies vegetais da família Boraginaceae, efetua a separação da alantoina por cromatografia em camada delgada, quantificando-a a seguir, após sua conveniente eluição, por espectrometria no ultravioleta. Esses autores empregaram como fase móvel, metanol ou mistura de metanol e tolueno na proporção de 1:1, e como adsorvente, sílica gel.

Billabert et alii (4) descreveram um método de dosagem potenciométrico de alantoina. Esses autores empregaram o hidróxido de tetrabutylamônio e alantoil

na dissolvida em dimetilformamida. A variação do pH foi verificado em eletrodo de calomelano. Esse método foi aplicado na determinação de alantoina em diversas formas farmacêuticas e especialmente em cremes onde essa substância aparecia associada a antibiótico e azuleno.

Siest e Panek (51) estudaram reações coloridas e fluorescentes de derivados carbamídicos biológicos com α -dicetonas. Os espectros de reações coloridas da uréia, do ácido alantóico e da alantoina são mencionados por esses autores.

Borchers (5) apresenta um método de quantificação da alantoina na urina, fundamentado na transformação da alantoina em ácido glioxílico, o qual é quantificado por espectrofotometria, após reação com 2,4-dinitrofenilhidrazina e leitura a 520nm.

Abraham et alii (1) sugere um método de quantificação de alantoina através de cromatografia em camada delgada e leitura em densitômetro, após revelação com solução de p-dimetilaminobenzaldeído. Estes autores aplicam esse método para estimação de alantoina no soro, linfa e urina.

Hornawsky e Mueller (32) determinam alantoina em urina e soro, espectrofotometricamente, através de reação com fenilhidrazina e cianeto férrico.

Carrol e colaboradores (8), analisando diversos produtos com formulação complexa, sugerem técnica analítica empregando cromatografia líquida de alta

pressão. A alantoina contida em loção cosmética foi satisfatoriamente identificada e quantificada.

3.4.6 - Usos

A alantoina vem sendo utilizada a mais de 50 anos demonstrando sua eficiência sem causar reações indesejáveis. Inúmeras observações tem demonstrado ser a alantoina composto eficaz não tóxico, não sensibilizante, regenerador, suavizante, anti-irritante e umectante (41). Estes atributos, podem ser efetivamente utilizados em preparações cosméticas e farmacêuticas. Assim, é empregada externamente em preparações para o tratamento de acne, em loções e cremes para barbear, em produtos para cabelos, em sabonetes, preparações para uso ocular, em dentifrícios e preparações para higiene bucal, desodorantes e em produtos cicatrizantes (41).

Atribui-se ainda a alantoina certa ação diurética. Constantinescu (11a) trabalhando com extratos de Pulmonaria mollissima Kern e com alantoina, aplicando estas substâncias intraperitonealmente em ratos, verificou a existência de aumento de diurese a qual relacionou com a alantoina.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - MATERIAIS

- Material Botânico

Os materiais destinados ao estudo morfológico e anatômico tiveram diversas origens. A morfologia externa de Cordia ecalyculata Vell. foi elaborada parcialmente a partir de exsicatas obtidas por empréstimo do Herbário do Instituto Botânico de São Paulo, cuja sigla oficial é SP. Assim, foram observadas as seguintes exsicatas :

- Estado de São Paulo, Limeira, leg. Wilsom Hoehne S/N coletado a 15-11-1946, SP 54.153.
- Estado de São Paulo, Loreto, sem leg. e sem data, SP 18.137.
- Estado de São Paulo, São Paulo (Instituto Butantã), leg. A Gehrt S/N, Janeiro de 1921, SP - 5.304.
- Estado do Rio Grande do Sul, Sem localidade, leg. Hering nº 323 sem data, SP 18.122.
- Estado de São Paulo, São Paulo (Instituto Butantã - Horto Oswaldo Cruz); Fernando de Oliveira nº 36, 10 de março de 1978 - SP 151.781.

- Estado de São Paulo, São Paulo, leg. Gehrt nº 4.482, sem data SP 42.239.
- Estado de São Paulo, Sertãozinho, leg. A Gehrt nº 3.978, 20 dez. 1938. SP 42.062.
- Distrito Federal, Brasília, leg. Navarro de Andrade, nº 16.240, sem data SP 42.328.
- Estado do Acre, Rio Purus, leg. B.A. Krukoff. nº 5.345, 9-8-33 SP 34.770.
- Estado de São Paulo, Loreto, leg. Martinho Hunger Fi lho nº 928 sem data, SP 24.566.
- Estado de São Paulo, Campinas (Largo São Benedito) leg. J.C. Mendes S/N 16-1-1942, SP 48.732.
- Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, leg. B. Rombo nº 8.306 28-12-1941.
- Estado de São Paulo, Santa Ernestina, leg. Gehrt nº 4.520, 24-9-1920, SP 4.520.
- Estado de São Paulo, Campinas, leg. Campos Novaes nº 939, 5-11-1896, SP 11.283.
- Estado de São Paulo, Piracicaba, leg. A. Puttemans nº 11.273, sem data, SP 11.273.
- Estado de São Paulo, Campinas (Parque do Instituto A grônômico), leg. Rosalina I. Campos s/n 25-11-1947 SP 69.532.

- Estado de São Paulo, Campinas (Fazenda Santa Eliza, Seção de Fumo) leg. A.R. Lima, s/n 5-1-1944, SP, 51.634.
- Estado de São Paulo, Amparo (Monte Alegre), leg. Moyses Kuhlmann nº 134, 17-12-1942, SP 47.929.
- Sem localidade, leg. Hehringer nº 1.117, sem data, SP 54.161.

A complementação do estudo da morfologia externa, bem como todo o estudo da morfologia interna, assim como, o estudo químico e o estudo do extrato fluído foram efetuados com materiais provenientes de exemplares de Cordia ecalyculata Vell. existentes no Horto Oswaldo Cruz do Instituto Butantã de São Paulo. Para o preparo dos extratos fluídos foram utilizadas ainda drogas provenientes da região de Apucarana no Estado do Paraná, constituída de folhas e ramos, secos ao ar livre.

Exsicatas do material utilizado no estudo foram depositadas no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo, onde receberam o número SP - 151.781.

- Substância Química

Alantoina Merck

4.2 - MÉTODO

4.2.1 - Estudo Morfológico e Anatômico do Vegetal

As caracterizações macroscópicas da folha, flores, ramos e frutos foram feitas através de observações diretas e com o auxílio da lupa Wild Heerbrugg, biocular.

Os desenhos que ilustram a parte da macroscopia foram executados por observação direta do material a vista desarmada ou com auxílio de lupa. As exsiccatas foram estudadas comparativamente com vistas a detectar detalhes que puderam ser empregados na diagnose da planta e da droga.

Para observação microscópica, foram feitos cortes histológicos a mão livre, de material fresco e de material conservado em F.A.A. (formol - ácido acético - álcool diluído, na proporção de 5:5:90).

O estudo do limbo foliar foi efetuado em secções transversais obtidas ao nível do terço médio inferior da folha. As epidermes foram destacadas com o auxílio de cortes paradérmicos e o pecíolo foi cortado transversalmente em sua região mediana.

O caule foi estudado com auxílio de secções transversais efetuadas em regiões localizadas próximo ao ápice caulinar. Estudou-se, ainda, a região da casca, em ramos medindo de 3 a 5 cm de diâmetro através de

cortes transversais, longitudinais radiais e longitudinais tangenciais.

Os verticilos florais foram estudados a través de montagens diretas diafanizadas pelo emprego da solução de cloral a 60%.

No estudo dos frutos foram executados cortes transversais.

Os cortes obtidos em todos os casos foram descorados pela solução de hipoclorito de sódio a 5%, lavados em água, e corados pela hematoxilina de Delafield (47a) sendo então montados em água ou glicerina.

A lignina foi identificada com o auxílio da floroglucina clorídrica (47a). A suberina e a cutina com o auxílio do Sudam III (47a). O amido foi identificado com o auxílio do lugol e a celulose com o auxílio da solução cloreto de zinco iodado (47a).

A presença de mucilagem foi evidenciada pelo entumescimento em água e pelo emprego da solução de azul de metileno.

Os desenhos de estruturas anatômicas foram obtidas com o auxílio de microprojecção.

4.2.2 - Estudo Químico

O material utilizado no estudo químico e isolamento de substâncias foi preparado da seguinte forma:

As folhas separadas do caule, foram secas em estufa a 50°C, com circulação de ar. O caule foi partido em pedaços de tamanho conveniente e submetido ao mesmo método de secagem. Tanto as folhas como os fragmentos de caule foram submetidos a moagem de forma a obter pó semifino(52).

4.2.2.1 - Reações genéricas de identificação de grupo de substâncias

Esses ensaios foram feitos separadamente nas folhas e caules, de materiais coletados na época de floração e no período vegetativo.

- Alcalóides

A dois gramas de cada uma das amostras foram juntados separadamente 15 ml de clorofórmio, sendo a mistura alcalinizada com hidróxido de amônio R. Após alguns minutos em contacto, sob agitação periódica, as misturas foram filtradas através de algodão e o filtrado evaporado até secura, com leve aquecimento.

Os resíduos foram redissolvidos em 5 gotas de HCl 1% e as amostras foram testadas com os seguintes reativos de precipitação : Reativo de Bertrand, de Bouchardat, Dragendorff e Mayer (Farm.Bras.) (23).

- Antraderivados

Foi empregada a reação de Borntraeger:

Um grama de cada uma das amostras foram fervidas separadamente, com aproximadamente 15 ml de etanol a 60%; o líquido foi filtrado através de algodão para um tubo de ensaio.

O meio foi acidificado com cerca de 4 ml de ácido sulfúrico a 10% e agitado com aproximadamente 4 ml de benzeno. A camada benzênica foi separada para outro tubo de ensaio, com auxílio de pipeta e agitada com 3 ml de hidróxido de potássio (23).

- Saponinas

Um grama de cada uma das amostras foram fervidas separadamente com 5 ml de água e filtrada através de algodão. A solução foi transferida para um tubo de ensaio e agitada vigorosamente para verificação de atividade afrogênica (23).

- Flavonóides

Dois gramas de cada uma das amostras foram aquecidas com cerca de 15 ml de etanol a 60% e filtradas através de algodão.

Uma gota dos extratos foram colocados separadamente em duas áreas distintas de papel de filtro, sendo que sobre uma delas foi adicionada uma gota de solu-

ção alcoólica a 5% de cloreto de alumínio. Essas manchas foram observadas sob luz U.V. de 365nm.

Reação de Shinoda : a 5ml da solução etanólica mencionada juntou-se um fragmento de magnésio metálico e algumas gotas de ácido clorídrico concentrado, observando-se a seguir a coloração desenvolvida.

- Esteróides

Reação de Lieberman : Dois gramas de cada uma das amostras foram fervidas separadamente com 20 ml de etanol diluído e filtrado através de algodão. Ao filtrado foi adicionado 0,5 ml de solução de acetato básico de chumbo a 10% e cerca de 5 ml de água. Essa mistura foi filtrada através de algodão para tubos de ensaio e agitada fortemente com clorofórmio (5 ml).

Cerca de 3 ml do extrato clorofórmico foi evaporado até secar, e o resíduo retomado em 1 ml de anidrido acético. Essa solução foi cuidadosamente transferida para um tubo contendo aproximadamente 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Observou-se a seguir a zona de contacto entre os líquidos.

- Taninos

Dois gramas de cada uma das amostras foram fervidas separadamente com cerca de 20 ml de água, sendo a seguir filtradas através de algodão.

O filtrado foi testado com os seguintes reativos :

- . acetato básico de chumbo a 10%
- . acetato de cobre a 4%
- . solução a 1% de alcalóide (quinina)
- . solução de cloreto férrico a 5%
- . solução de molibdato de amônio a 2% (aquoso).

Os testes foram feitos em tubos de ensaio, com aproximadamente 2 ml do extrato aquoso.

4.2.2.2 - Obtenção de extratos

- Extratos Obtidos da Folha

As folhas foram submetidas a secagem e a seguir pulverizadas de maneira a obter pó semifino de acordo com especificação da Farmacopeia Brasileira, 1^a ed.

Três Kg do material pulverizado foram umedecidos com hexano e transferidos para um percolador de aço inox, juntando-se a seguir mais solventes até que o nível do líquido se situasse acima da droga. Deixou-se em contacto durante 5 dias, sendo então extraído com cerca de 40 litros do líquido extrator.

Todo o extrato hexânico obtido foi concentrado a temperatura não superior a 45°C, a pressão reduzida.

A droga extraída pelo hexano foi retirada do percolador e submetida a secagem, sendo então extraída com acetato de etila, pelo mesmo processo utilizado para o extrato hexânico, obtendo cerca de 25 litros de extrato, que foram concentrados a temperatura inferior a 50°C.

Novamente seca, a droga foi extraída com etanol, obtendo-se cerca de 20 litros de extrato, que foram concentrados a 60°C.

- Extratos Obtidos do Caule

4 Kg de pó foram extraídos com 24 litros de éter de petróleo em percolador de aço inox. Os extratos obtidos foram concentrados a vácuo a temperatura menor que 40°C. O resíduo foi reservado para estudos futuros.

A torta foi retirada do percolador, submetida a secagem e novamente devolvida ao percolador e extraída com cerca de 40 litros de etanol. O extrato etanólico foi concentrado a vácuo a temperatura inferior a 60°C.

4.2.2.3 - Isolamento de substâncias do extrato hexânico obtido das folhas

Vinte e cinco gramas do extrato hexânico incorporado em sílica foram submetidos a fracionamento em coluna cromatográfica.

Foi utilizado coluna de vidro com 1,10 m de altura por 4.5 cm de diâmetro e como adsorvente, 500 gramas de sílica gel 60, 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM). A coluna foi cheia por via úmida, utilizando n-hexano como solvente.

Foram utilizados os seguintes solventes como fase móvel :

n-hexano	2000 ml
éter de petróleo	1000 ml
éter de petróleo - clorofórmio (7:3)	400 ml
éter de petróleo - clorofórmio (1:1)	1000 ml
clorofórmio	1000 ml
clorofórmio - acetato de etila (9:1)	200 ml
clorofórmio - acetato de etila (1:1)	200 ml

acetato de etila - etanol (1:1)	700 ml
etanol 96°	500 ml

Foram obtidas 65 frações com volume variando de 80 a 100ml, e o restante do solvente, coletado num becker.

Todas as frações foram concentradas a temperatura inferior a 50°C e cromatografadas em placas, utilizando os seguintes sistemas cromatográficos :

Frações de 1 a 21 :

suporte : placas de vidro de 20 X 15 cm
adsorvente : sílica gel GF, 250 μ de espessura
fase móvel : clorofórmio - n-hexano (8:2)
visualização : luz ultravioleta e vapor de iodo
tipo de desenvolvimento : ascendente
percurso : 10 cm.

Frações de 22 a 45 :

suporte : placas de vidro de 20 X 15 cm
adsorvente : sílica gel GF, 250 μ de espessura
fase móvel : clorofórmio
visualização : luz ultravioleta e vapor de iodo
tipo de desenvolvimento : ascendente
percurso : 10 cm.

Frações de 46 a 57 :

Foi utilizado o sistema cromatográfico empregado na análise das frações 22 a 45, em desenvolvimento triplo.

Os resultados obtidos permitiram reunir as frações que apresentaram composição semelhante.

Assim, foram reunidas as seguintes frações :

nº da fração	nº de componentes	observações
3 a 5	um	incolor
6 a 10	três	incolor
11 a 16	três principais	amarelo até alaranjado
17 a 19	cinco	vermelho
20	um	vermelho
21 a 22	um principal	alaranjado
23 a 26	muitas	alaranjado
27	um principal	alaranjado
28 a 33	dois	alaranjado
34 a 36	quatro	vermelho
37 a 45	misturas de muitos	marrom avermelhado
46 a 57	quatro	verde escuro
58 a 66	muitos	escuro

As frações 3 a 5, 20 e 27, em função da quantidade de substância e da pureza, foram escolhidas para análise com vistas a identificação.

Com o objetivo de certificar do estado de pureza da fração 3 a 5, foram executadas novas análises cromatográficas em camada delgada, utilizando os seguintes sistemas:

suporte : placas de vidro de 20 X 20 cm

adsorvente : sílica gel GF, com 250 μ de espessura

desenvolvimento : ascendente, simples

percurso : 12 cm

visualização : luz ultravioleta

como fase móvel foram utilizados os seguintes solventes :

n-heptano - clorofórmio (7:3)

tetracloroeto de carbono

benzeno

n-hexano

n-heptano

ciclo hexano.

Foram utilizados também desenvolvimento em cunha e bidimensional , empregando-se nesse caso, tetracloroeto de carbono como fase móvel. Com isso foi verificada a presença de duas substâncias na referida fração.

Tentou-se então sua purificação por recristalização em acetona.

Confirmada a pureza, a substância foi denominada de CH-1 e submetida a análises, com vistas a sua identificação.

A fração 20 denominada de CH-2 foi encaminhada a análise, com vistas a sua identificação.

As frações 21 a 22 reunidas, ao serem recromatografadas, apresentaram três componentes dos quais um em maior quantidade, e correspondente ao da fração 20. A mistura foi submetida a processo de fracionamento com vistas a isolar o componente existente em maior quantidade utilizando-se cromatografia preparativa.

O seguinte sistema cromatográfico foi empregado :

suporte : placa de vidro de 20 X 20 cm

adsorvente : sílica gel P

fase móvel : n-hexano : clorofórmio (6:4)

desenvolvimento : simples, ascendente

visualização : luz natural e luz ultravioleta 365nm.

Foram raspadas separadamente, as regiões das placas correspondentes a substâncias com os seguintes Rf : 0,02, 0,75 e 0,86.

Seguiu-se eluições das substâncias empregando-se como eluente o benzeno. A fração referente a substância de Rf 0,86 apresentou resíduo de coloração alaranjada.

Este resíduo, após alguns dias, ao ser recromatografado no mesmo sistema cromatográfico, apresentou decomposição.

A fração 27, que apresentava um componente principal ao lado de outro existente em quantidade bem menor, foi recromatografada preparativamente, empregando-se o seguinte sistema cromatográfico :

suporte : placas de vidro 20 X 20 cm

adsorvente : sílica gel PF

fase móvel : clorofórmio

desenvolvimento : simples, ascendente

visualização : luz ultravioleta.

O componente em maior concentração apresentou $R_f = 0,88$, foi raspado e eluído, utilizando éter etílico como solvente. Foi então submetido a análise com vistas à identificação, após confirmada sua pureza através de cromatografia.

4.2.2.4 - Isolamento de substâncias do extrato etanólico das folhas

Durante a concentração desse extrato, observou-se a separação de grande quantidade de cristais esbranquiçados com formato de agulhas.

Esses cristais foram separados e lavados com diversos solventes, tentando-se com isso, diminuir

as impurezas. Acetato de etila, acetona e etanol foram utilizadas para essa finalidade.

Verificada a solubilidade, os cristais foram recristalizados em álcool diluído e submetidos a teste de carbonização, observando-se presença de substâncias orgânicas e inorgânicas.

Os cristais foram redissolvidos em água, com aquecimento e cromatografados em camada delgada, utilizando-se o seguinte sistema cromatográfico:

suporte : placas de vidro 20 X 20 cm

camada de sílica gel GF

fase móvel : n-butanol - acetona - água (35:35:10)

desenvolvimento : simples, ascendente

visualização : luz ultravioleta, 245nm

vapores de iodo

ácido sulfúrico seguido de aquecimento
105°C.

Confirmada a presença de substância inorgânica, foi feita nova recristalização, utilizando-se como solvente, a água. Os cristais orgânicos resultantes foram descorados, após dissolução, utilizando-se óxido de alumínio como adsorvente.

Essa substância orgânica, denominada de cristais CE-1, foi então encaminhada a análise espectrofotométrica, após ter sido verificada sua pureza e o seu ponto de fusão.

Com finalidade de verificar a classe de substância à qual poderia pertencer os cristais CE-1, foram testados os seguintes reagentes, na revelação das placas cromatográficas com esse componente :

Reativo de ninhidrina	Reativo de Wasicky
Reativo Fosfomolibdico	Rodamina a 0,05% em EtOH
Reativo de Tricloreto de Sb	2,4-dinitrofenilhidrazina
Fluoresceína a 1%	Reagente de KMnO_4 a 0,25% em solução aquosa de carbonato de sódio a 0,5%.

A solução contendo o componente inorgânico foi concentrada, submetida a nova recristalização, e os cristais inorgânicos isolados, providos de formato cúbico, foram submetidos a pesquisa de cátions e ânions, conforme métodos indicados pela Farmacopeia Brasileira (23).

O ensaio para identificação de cátions foi feito por via seca e úmida, sendo efetuado reações para verificação da presença de cátions pertencentes ao grupo dos alcalinos, dos alcalinos terrosos e dos metais pesados.

Os ânions pesquisados foram os seguintes : carbonato, oxalato, cloreto, devido a sua frequência em vegetais.

4.2.2.5 - Isolamento de substância do extrato etanólico de caule

Separou-se um pó cristalino esbranquiçado durante a concentração do extrato etanólico. Em virtude deste cristal apresentar características semelhantes às daquelas dos cristais isolados do extrato etanólico de folhas procedeu-se à verificação de sua identidade com a substância mencionada. Empregou-se o mesmo sistema cromatográfico citado no item anterior, efetuando-se a revelação com vapores de iodo e reativo de Wasicky.

4.2.2.6 - Análise das substâncias isoladas

As seguintes análises foram efetuadas:

- ponto de fusão em aparelho Kofler das seguintes substâncias : CH-1, CH-2 e CE-1.

- Espectro infravermelho

Aparelho : espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 710A das substâncias : CH-1, CH-2, CH-3 e CE-1.

- Espectro de ressonância magnética protônica

Aparelho : NMR Varian Em-360 60 MHz

Amostras : CH-1, CH-2, CH-3 e CE-1.

- Espectro em C^{13}

substância CE-1

- Espectro de massa

substância CH-1

- Análise elementar

substância : CH-1 e CE-1.

4.2.2.7 - Determinação de substâncias voláteis
a 105°C e de cinzas nas drogas

Cerca de 2 g da droga pulverizada foram exatamente pesadas no interior de cadinho previamente tarado. Transferiu-se os cadinhos contendo a droga para estufa aquecida a 105°C, deixando-as por intervalos de aproximadamente três horas, até que a diferença entre duas pesagens consecutivas das amostras apresentaram valores menores que 0,05g. Os resultados foram expressos com o valor médio de duas determinações.

- Determinação de cinzas nas drogas

Os cadinhos contendo os resíduos do ensaio anterior foram inicialmente submetidos a combustão em bico de Bunsen e a seguir transferidos para mufla a 600°C, onde permaneceram até peso praticamente constante. Calculou-se a porcentagem de cinzas, considerando o valor médio de duas análises.

4.2.2.8 - Análise do extrato fluído

- Preparo do extrato fluído

Os extratos fluídos foram elaborados conforme o método A da Farmacopeia Brasileira segunda edição (23).

Foram preparadas quatro amostras de extrato fluído a saber :

Extrato A : empregando como droga, fragmentos de caule proveniente de exemplares existentes no Horto Oswaldo Cruz - Butantã.

Extrato B : empregando como droga folhas provenientes de exemplares existentes no Horto Oswaldo Cruz - Butantã.

Extrato C : empregando como droga folhas e caules finos procedentes do Paraná.

Extrato D : empregando como droga folhas e caules finos provenientes do Paraná.

- DETERMINAÇÃO DO TEOR ALCOÓLICO

Osteoresalcoólicos dos extratos fluídos foram determinados de acordo com o recomendado pela Farmacopeia Brasileira terceira edição (24).

- Resíduo seco

Dez mililitros do extrato fluído foram colocados em cadinho previamente dessecado e tarado, seguindo-se a evaporação do solvente em banho maria. A seguir os cadinhos foram transferidos para estufa a 105°C . Foram deixados por intervalos de aproximadamente duas horas, até que a diferença de peso do resíduo entre duas pesagens consecutivas fossem menores que 0,05 gramas. Os resultados foram expressos como o valor médio de três determinações.

- Determinação de cinzas

Os cadinhos contendo o resíduo seco do ensaio anterior foram inicialmente submetidos a combustão em Bico de Bunsen e a seguir transferidos para mufla a 600°C onde permaneceram até peso praticamente constante. Calculou-se a porcentagem de cinzas a qual foi expressa através do valor médio.

- Densidade

A determinação das densidades dos extratos fluídos foram efetuados com o auxílio do método do picnômetro, à temperatura de 20°C . A determinação foi feita a partir da média de três determinações.

- Determinação do pH

Esta determinação foi efetuada em pHmetro Richmond-Surrey modelo 38B.

- Cromatografia em camada delgada

Os extratos fluídos de Cordia ecalyculata Vell. foram submetidos a análise em cromatografia em camada delgada empregando-se como adsorvente sílica gel G ou sílica gel GF. Como fase móvel foram empregadas as seguintes misturas de solventes : a) acetato de etila:metanol:clorofórmio (5:4:1); b) acetato de etila:metiletilcetona:ácido fórmico e água (5:3:1:1).

A visualização foi efetuada a luz normal e a luz ultravioleta de 254nm e 365nm.

Foram empregados os reveladores seguintes : reativo sulfovanílico, anisaldeído, e para-dimetilaminobenzaldeído.

As frações metanólicas dos extratos fluídos foram preparados da seguinte forma : 10ml do extrato fluído foram concentrados até a secura. O resíduo foi retomado em 10ml de metanol PA. O extrato metanólico, a seguir, foi submetido a filtração.

Foi utilizado como padrão, solução aquosa a 0,5% de alantoina Merck e solução aquosa de ácido alantóico obtido por síntese.

Foram depositadas nas placas cromatográficas, 10µl tanto do padrão como das amostras de extratos.

Empregou-se desenvolvimento ascendente em percurso de 12cm.

4.2.2.9 - Quantificação da alantoina e do ácido alantóico

- Preparo da amostra

Foram tomados 10 ml de cada um dos extratos fluídos e evaporados sobre banho maria até quase secura, em cápsulas de porcelana.

Os resíduos dos extratos foram extraídos quantitativamente em metanol e concentrados. O volume do metanol foi ajustado para 5ml e adicionado água até 10ml, em balão volumétrico.

Desse extrato metanólico-aquoso foi tomado 1ml e diluído com água para 200 ml em balão volumétrico.

- Preparo do padrão

Foram preparadas soluções-padrões nas concentrações de 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6% e 0,7% em água. Um mililitro de cada uma dessas soluções foi diluída com água para 200ml em balão volumétrico.

- Marcha analítica

2,5 ml dessas soluções foram aquecidas separadamente em banho maria com 0,5 ml de hidróxido de sódio 0,6M durante 15 minutos. Após esse período foram adicionados 1 ml da solução a 0,1% de 2,4-dinitrofenilhidrazina em ácido clorídrico 2M, continuando o aquecimento por mais 2 a 4 minutos.

Os tubos foram esfriados à temperatura ambiente e a solução alcalinizadas com 5 ml de hidróxido de sódio 2,5M.

Após cerca de 10 minutos, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro Beckman DB-G a 520nm contra branco preparado utilizando-se os mesmos reativos, omitindo o aquecimento.

Com os dados obtidos traçou-se curva padrão.

4.2.2.10- Síntese do ácido alantóico

1 g de alantoina finamente pulverizada foi dissolvida em solução fria de 0,8 g de KOH em 0,8 g de água. Adicionou-se ao conjunto mais 3 gotas de água. O sal precipitado foi dissolvido em cerca de 5ml de água. Adicionou-se então cuidadosamente, excesso de ácido clorídrico ao conjunto, o qual foi mantido em banho de gelo.

Os cristais formados foram separados por decantação, lavados com água e submetidos a secagem em dessecador.

4.2.2.11 - Teste do hidroxamato

Juntou-se 30mg da substância problema a 2ml de cloridrato de hidroxamina 1N em propileno glicol. A mistura foi submetida a fervura por 2 minutos e esfriada. Juntou-se 0,5 ml de cloreto férrico a 5% e observou-se o aparecimento de cor (46).

5. RESULTADOS

5.1 - ESTUDO BOTÂNICO

5.1.1.- Caracterização Macroscópica do Vegetal

Cordia ecalyculata Vell., quando adulta (Foto 1), possui porte arbóreo, podendo atingir até 20 metros de altura por até 30 cm de diâmetro na base do tronco. Este é aproximadamente reto, diminuindo o diâmetro, gradativamente, e aparecendo as ramificações nos exemplares mais desenvolvidos à altura de 2,5 a 3 m do solo. Sua coloração varia do pardo acinzentado ao pardo avermelhado predominando a segunda. A casca observada de perto (Foto 2, 3 e 4) apresenta-se com aspecto verrucoso devido ao grande número de lenticelas de aspecto globoso e um tanto saliente.

Pode-se perceber, ainda, a presença de estrias (Foto 4) que em conjunto assume aspecto reticulado. Os ramos mais desenvolvidos apresentam aproximadamente 20 cm de diâmetro, possuem em secção transversal coloração amarello-palha e que, escurece um pouco em contacto com o ar. As secções transversais deixam ver a presença de anéis de crescimento concêntricos. Os ramos jovens são finamente estriados no sentido longitudinal, possuem coloração amarronzada e lenticelas semelhantes aquelas mencionadas para o tronco. As pontas dos ramos são lisas e de coloração verde.

FOTOS 1a e 1b - Cordia ecalyculata Vell. Planta adulta.

FOTOS 2 e 3 - Cordia ecalyculata Vell. Casca do tronco.

FIGURA 1. Cordia ecalyculata Vell. Ramo florido (tamanho original).

As folhas (Foto 5 e Figura 1) são lanceoladas ou ablongolanceoladas de ápice acuminado, raras vezes agudo e de base cuneata. A margem apresenta-se lisa. As folhas possuem nervação peninerveia sendo a nervura mediana bem evidente, saliente na face dorsal e na face ventral. As nervuras secundárias emergem da nervura principal num ângulo de aproximadamente 60° e são pouco evidentes, curvam-se para o ápice e anastomosam-se com as seguintes. O peciolo mede de 1 a 2 cm de comprimento, possui seção plano-convexa ou ligeiramente concavo-convexo.

A inflorescência (Figura 2A e Fotos 6 e 7) é cimosa, laxamente corimboso-paniculada, geralmente axilares, medindo geralmente de 10 a 12 cm de comprimento por 10 a 12 cm de largura. O cálice (Figura 2C) é campanulado provido de lacínias curtas, medindo de 3 a 4 mm de comprimento, sendo sua face externa glabra, ou quase glabra. A corola (Figura 2B) é campanulada, medindo aproximadamente 5 mm de comprimento. Possui lacínias arredondadas, voltadas para baixo quando a flor alcança o desenvolvimento pleno. O ovário (Figura 2E) é súpero bícarpelar, provido de estilete terminal bifido duas vezes e provido de quatro estigmas. Estames exsertos em número de cinco. Filete provido de pelos e antera, quando desenvolvida, assumindo forma sagitada (Figura 2D). O fruto (Figura 2F) possui forma que varia de subcônica a globosa. Apresenta quatro ou raras vezes cinco arestas dispostas no sentido longitudinal.

FOTOS 4 e 5 - Cordia ecalyculata Vell. Casca do caule e fo
lhas.

FIGURA 2. Cordia ecalyculata Vell. A. inflorescência (tamanho original); B. flor (10X); C. cálice e estilete bífi-do duas vezes (10X); D. estame epipétalo (20X); E. gineceu (20X); F. frutos (tamanho original).

FOTOS 6 e 7 - Cordia ecalyculata Vell. Inflorescência e ramo florido.

5.1.2 - Anatomia da Folha

Secção transversal da folha ao nível do terço médio inferior mostra mesofilo do tipo heterogêneo e assimétrico (Figura 3A).

A epiderme superior (Figura 3. ep.sup) é constituída por uma fileira de células de contorno arredondado e um tanto alongado no sentido periclinal recoberta por cutícula espessa e a epiderme inferior (Figura 3. ep.inf.) é representada por células irregulares na forma e no tamanho, recobertas por cutícula menos espessa que aquela mencionada anteriormente.

O parênquima paliçádico (Figura 3. p. pal) é formado por uma fileira de células cilíndricas dispostas uma ao lado das outras e que ocupam aproximadamente um terço da espessura do limbo. Intercalados entre as células do parênquima paliçádico e relacionados com a epiderme superior pode ser observada a presença de cistólitos (Figura 3. cist).

O parênquima lacunoso (Figura 3. p.lac.) possuindo 6 a 8 fileiras de células de contorno arredondado, algumas emitindo braços, inclui idioblastos contendo areia cristalina (Figura 3. b.a.cr).

A epiderme superior (Figura 4A) visto em secção paradérmica é constituída de células providas de paredes sinuosas um tanto espessadas. Podem ser ainda observados por transparência os pontos de inserção dos cistólitos (Figura 4. cist.).

100 μ

A

100 μ

B

FIGURA 3. *Cordia ecalyculata* Vell. Secção transversal da folha. A: região mediana do limbo: ep.sup.- epiderme superior; p.pal - parênquima paliçádico; cist.- cistólito; p.lac. - parênquima lacunoso; f.v.- feixe vascular; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina; ep.inf.- epiderme inferior. B: margem foliar: ep - epiderme; p.pal.- parênquima paliçádico; f.v.- feixe vascular; col - colênquima; p.lac.- parênquima lacunoso.

FIGURA 4. Cordia ecalyculata Vell. A. epiderme superior vista de face: cist.- ponto de inserção de cystólito; B. epiderme inferior mostrando estômatos.

A epiderme inferior (Figura 4B), vista em secção paradérmica, é representada por células de contorno sinuoso e inclui estômatos do tipo anisocítico. As células da epiderme inferior apresentam maior sinuosidade em suas paredes do que aquelas da epiderme superior.

A Figura 3B mostra secção transversal da folha ao nível da margem. Nela pode ser observada a presença de epiderme constituída por células irregulares na forma e no tamanho recobertas por cutículas relativamente espessa. Abaixo da epiderme na margem foliar pode-se observar a presença de algumas células colenquimáticas (Figura 3B. col.). As células do parênquima paliçádico são um pouco mais curtas que as correspondentes ao resto do limbo foliar e o parênquima lacunoso possui menor número de camadas celulares. Um pequeno feixe vascular do tipo colateral pode ser observado na região adjacente a margem (Figura 3B. fv).

A nervura mediana (Figura 5) em secção transversal apresenta-se recoberta por uma fileira de células de contorno arredondado e de tamanho menor que as correspondentes a região do limbo foliar (Figura 5. ep.sup. e ep.inf.). Logo abaixo das epidermes aparece uma região colenquimática (Figura 5. col.), caracterizada por apresentar células com espessamento celulósico nos ângulos. O parênquima fundamental (Figura 5. p.fund.) é constituído por células de contorno arredondado que envolve um conjunto de até 15 feixes vasculares dispostos em círculo separados entre si por raios parenquimáticos estreitos.

FIGURA 5. Cordia ecalyculata Vell. Secção transversal da folha ao nível da nervura mediana: ep.sup.- epiderme superior; col.-colenquima; p.fund - parênquima fundamental. f.v. - feixe vascular; c.muc - canal de mucilagem; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina; ep.inf. - epiderme inferior.

Os feixes vasculares (Figura 5. f. v.) que são do tipo colateral possuem uma calota fibrosa protegendo o floema. Acham-se dispostos em círculo, delimitando internamente uma região medular.

Idioblastos (Figura 5. b.a.cr.) contendo areia cristalina podem ser observados na região do parênquima fundamental.

Na região medular pode ser observada a presença de canal mucilaginoso (Figura 5. c.muc.).

Secção transversal do pecíolo (Figura 6) ao nível da região mediana, apresenta contorno côncavo-convexo e estrutura semelhante à nervura mediana. O pecíolo é ligeiramente canaletado, do que resulta a presença de duas pequenas alas.

A epiderme (Figura 6. ep.) que envolve o pecíolo é constituída de células irregulares na forma e no tamanho possuindo a maioria delas contorno arredondado, um tanto achatado no sentido periclinal. A cutícula que recobre a epiderme é lisa e pouco espessa.

Abaixo da epiderme observa-se a presença de uma camada de tecido colenquimático (Figura 6. col) provido de células portadoras de espessamento celulósico nos cantos. A camada colenquimática apresenta número menor de fileiras de células nas regiões localizadas adjacentes às bases das alas. O parênquima fundamental (Figura 6. p.fund.) é bem desenvolvido sendo constituído por células

FIGURA 6. *Cordia ecalyculata* Vell. Pecíolo secção transversal: ep.- epiderme; col. - colênquima; end - endoderme; f.v. feixe vascular; b.a.cr. - bolsa contendo areia cristalina ; p.fund. - parênquima fundamental.

de contorno arredondado que deixam entre si espaços intercelulares do tipo meato. Este tipo de tecido inclui idiblastos contendo areia cristalina (Figura 6. b.a.cr.), e na região central da estrutura pode-se observar, algumas vezes, a presença de ductos de mucilagem.

O parênquima fundamental envolve ainda um conjunto de doze feixes vasculares (Figura 6. f.v.) do tipo colateral dispostos em círculo e, ainda, outros localizados na região adjacente às alas.

Pode-se ainda observar a presença de endoderma atípico amilífero (Figura 6. end.).

5.1.3 - Anatomia do Caule

O caule de Cordia ecalyculata Vell possui estrutura eustélica (Figura 7). Os feixes vasculares são do tipo colateral aberto e acham-se dispostos em círculo (Figura 7. f.v.).

Secção transversal do caule jovem mostra epiderme (Figura 8. ep.) constituída por células de contorno aproximadamente retangular alongadas ao sentido periclinal, recobertas por cutícula fina.

O colênquima (Figura 8. col.) apresenta-se constituído por 3 a oito fileiras de células providas de espessamento celulósico pronunciado ora nos cantos das células ora em suas paredes tangenciais.

FIGURA 7. *Cordia ecalyculata* Vell. Desenho esquemático de secção transversal do caule: ep.- epiderme; col. - colênquima; f.v. feixe vascular; r.m. - raio medular; p. med.- parênquima medular; p.f. - periciclo fibroso; f.fl. - fibras floemáticas; fl. - floema; x. - xilema; p. cort. - parênquima cortical.

O parênquima cortical (Figura 8.p.cort) é pouco desenvolvido, sendo representado por células de contôrno arredondado ou achatadas no sentido periclinal. A endoderme não é muito característica, sendo formada por células contendo grãos de amilo simples. O periciclo (Figura 8. p.f.) é descontínuo e fibroso. O floema primário (Figura 8. fl₁) é pouco desenvolvido sendo representado por alguns tubos crivados, células companheiras e parênquima floemático. O floema secundário por sua vez, (Figura 8. Fl₂) é mais desenvolvido, contém grupos de fibras de lúmen estreito (Figura 8. f.fl.) dispostas em lâminas. O xilema primário (Figura 8. X₁) apresenta os elementos de metaxilema e protoxilema dispostos em filas radiais, ao passo que o xilema secundário (Figura 8. X₂) apresenta vasos isolados ou reunidos em grupos de dois. Os raios medulares (Figura 8. r.med.) são bem evidentes, sendo estreitos na região próxima à medula, alargando-se em direção a região cortical assumindo a forma de cunhas.

Tanto no parênquima cortical como no parênquima medular e nos raios medulares pode ser observada a presença de bolsas contendo areia cristalina (Figura 8. b.a.cr.).

A Figura 9, mostra secção transversal de casca. Lenticelas (Figura 9. lent) podem ser observadas externamente, sendo representadas por regiões salientes onde o súber encontra-se descontinuado. O tecido suberoso (Figura 9. s.) possui origem subepidérmica e é representado por diversas fileiras de células providas de parede pouco espessada. Logo abaixo da feloderme, que é muito

FIGURA 8. *Cordia ecalyculata* Vell. Secção transversal de caule jovem: ep.- epiderme; col. - colênquima; p. cort. - parênquima cortical; p.f. - periciclo fibroso; fl₁- floema primário; f.fl. fibras floemáticas; fl₂ - floema secundário; r.c. - região cambial; r.med. - raio medular; x₂ - xilema secundário; x₁ - xilema primário; p.m. - parênquima medular; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina.

FIGURA 9. *Cordia ecalyculata* Vell. lent. - lenticela; s - súber; col. - colênquima; p.cort. - parênquima cortical; b.a. cr. - bolsa de areia cristalina; p.f. - periciclo fibroso; fl₁ - floema primário; f.fl.- fibras floemáticas; r.v. -raio vascular; fl₂ - floema secundário.

pouco desenvolvida, pode-se observar uma camada remanescente de colênquima provida de células com espessamentos típicos. A região do parênquima cortical (Figura 9. p.cort) é constituída de células quase sempre achatadas periclinalmente. O periciclo (Figura 9. p.f.) é fibroso, descontínuo e provido de fibras de lúmen estreito. O floema é bem desenvolvido e apresenta caracteristicamente diversas regiões fibrosas em forma de lâminas alternadas com regiões floemáticas provida de células de paredes não espessadas. A região floemática secundária é atravessada por raios vasculares providos de até quatro células de largura. Estas regiões, possuem forma que lembra calota, encimada por fibras pericíclicas. Os raios medulares (Figura 9. rm) apresentam caracteristicamente a forma de cunhas, separando entre si, as calotas de floema. Tanto na região do parênquima cortical, como nas regiões de raios medulares e de raios vasculares podem ser observadas a presença de bolsas contendo areia cristalina.

A Figura 10, representa secção longitudinal radial externa da casca. Nela pode-se observar a presença de súber (Figura 10. s), representada por diversas camadas celulares. O feloderma (Figura 10. fel) é pouco desenvolvido, sendo representado por uma a duas fileiras de células de contorno arredondado. A região colenquimática (Figura 10. col.) é bem evidente, sendo constituída por células alongadas longitudinalmente e providas de paredes espessadas. O parênquima cortical (Figura 10. p.cort) é formado por diversas camadas celulares, as quais com frequência incluem idioblastos contendo areia cristalina (Figura

FIGURA 10. *Cordia ecalyculata* Vell. Secção longitudinal radial externa da casca. s. - súber; fel. - feloderme; col. - colênquima; p.cort. - p.cortical; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina; p.f. - periciclo fibroso.

10. b.a.cr). O periciclo fibroso (Figura 10. p.f.) apresenta fibras não muito longas.

A Figura 11, representa secção longitudinal tangencial de casca floemática.

Os raios vasculares possuem número elevado de células em altura e, geralmente, até quatro células em largura. Apresentam forma fusiforme, são heterogêneos, sendo constituídos por células de contorno arredondado com excessão das células localizadas nas extremidades, que são ogivais. Frequentemente, as células do raio vascular englobam idioblastos contendo areia cristalina. Fibras libriiformes e fibras tabicadas podem ser observadas nesta região.

A Figura 12, representa secção transversal do lenho ao nível das proximidades do cerne. Os vasos (Figura 12. v) apresentam-se isolados ou reunidos em grupos de dois.

O parênquima do sistema vertical (Figura 12. p.sv.) envolve os vasos e emitem alas que se encontram anastomosando-se. As fibras (Figura 12. f.) formam conjuntos característicos. Os raios vasculares (Figura 12. r.v.) apresentam-se em faixas bem evidentes constituídas geralmente de 1 a 4 células de largura. Bolsas de areia cristalina podem ser observadas nesta região.

A Figura 13, mostra uma secção transversal do lenho ao nível do alburno junto à região cambial. Nela pode-se observar a presença de vasos, (Figura 13. v),

FIGURA 11. Cordia ecalyculata Vell. Secção longitudinal tangencial da casca: r.v. - raio vascular; f.fl. - fibras floemáticas; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina.

FIGURA 12. *Cordia ecalyculata* Vell. Secção transversal do lenho; r.v. - raio vascular; v. - vaso; p.s.v. - parênquima do sistema vertical; f. - fibra; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina.

FIGURA 13. *Cordia ecalyculata* Vell. Secção transversal do lenho - região do alburno junto ao câmbio: fl₂ - floema secundário; r.c. - região cambial; r.v. - raio vascular; v. - vaso.

FIGURA 14 . Cordia ecalyculata Vell. Secção longitudinal tangencial do lenho: v.p. - vaso pontuado; b.á.cr. - bolsa de areia cristalina; r.v. - raio vascular; f.tab. - fibra tabicada.

FIGURA 15. Cordia ecalyculata Vell. - Secção longitudinal radial do lenho: v.p. - vaso pontuado; p.s.v. - parênquima do sistema vertical; r.v. - raio vascular.

raios medulares (Figura 13. r.m) com as características já descritas.

Esta região, quando observada em secção longitudinal tangencial (Figura 14) evidencia a presença de raios vasculares (Figura 14. r.v) heterogêneos constituídos por inúmeras células em altura e até quatro células em largura. As células terminais são ogivais e as demais são arredondadas. Bolsas contendo areia cristalina (Figura 14.b.a.cr) podem ser observadas tanto na região do parênquima do sistema horizontal como na região do parênquima do sistema vertical. Fibras comuns e fibras tabicadas ocorrem nesta região.

A Figura 15, representa uma secção longitudinal radial do lenho. Nela podem ser observadas fibras, vasos pontuados, parênquima do sistema horizontal (Figura 15. p.s.v.) e raios vasculares (Figura 15. r.v.).

5.1.4 - Anatomia do Eixo da Inflorescência e de Peças Florais

5.1.4.1 - Eixo da Inflorescência

O eixo da inflorescência apresenta estrutura anatômica semelhante a de ramos vegetativos com estrutura primária. Observa-se a presença de epiderme provida de células de contorno retangular alongadas no sentido tangencial. O parênquima cortical, o parênqui-

ma medular e os raios medulares possuem características semelhantes aos descritos para o caule primário. Bolsas de areia cristalina podem ser observadas nesta região. Nota-se, ainda, a presença de feixes vasculares típicos.

5.1.4.2 - Cálice

O cálice possui forma campanulada apresentando a extremidade das sépalas livres. Em secção transversal pode-se observar que o número de camadas celulares localizadas entre as epidermes diminui de sua região basal para o ápice.

Ao nível de sua altura média possui cinco a dez fileiras celulares de contorno arredondado, as quais envolvem feixes vasculares do tipo colateral. Células repletas de areia cristalina podem ser observadas na região.

As epidermes são constituídas por células de contorno aproximadamente retangular, recobertas por cutícula fina. Grande quantidade de pelos tecutores cônicos unicelulares podem ser observados sobre a epiderme interna das sépalas. Raramente estes elementos são observados sobre a epiderme externa.

A Figura 16A, mostra visão para a dermíca da epiderme interna da sépala. Nela pode ser observada a presença de grande quantidade de pelos cônicos simples providos de base espessada. Por transparência po-

FIGURA 16. *Cordia ecalyculata* Vell. Cálice: A. epiderme interna; B e C - epiderme externa. b.a.cr. - bolsa contendo areia cristalina.

de-se observar ainda a presença de células contendo areia cristalina.

As Figuras 16B e 16C, mostram visão paradérmica da epiderme externa da sépala. As células epidérmicas apresentam contorno aproximadamente poligonal. Por transparência podem ser observadas a presença de células contendo areia cristalina.

5.1.4.3 - Corola

Secção transversal da corola mostra que as pétalas são constituídas pelas epidermes externa e interna e por uma a três camadas de células parenquimáticas. Feixes vasculares delicados podem ser observados nesta região.

A Figura 17A, mostra visão paradérmica de pétala ao nível de sua parte basal. As células epidérmicas apresentam contorno aproximadamente poligonal.

A Figura 17B, exibe detalhe da epiderme externa ao nível das lacínias da corola. As células nesta região apresentam paredes de contorno bastante sinuoso, as quais emitem projeções para o interior das células.

Todas as peças que integram o perianto possuem células contendo mucilagem. Estas células ocorrem tanto nas regiões epidérmicas como nos mesófilos.

100 μ

FIGURA 17. Cordia ecalyculata Vell. A. epiderme de pétala ao nível de sua região basal; B - epiderme de pétala ao nível da lacínea.

5.1.4.4 - Gineceu

A Figura 18A, mostra a epiderme ovariana no nível do terço médio inferior do órgão. Essa região apresenta-se constituída de células de contorno aproximadamente poligonal. O tamanho das células epidérmicas aumenta um pouco a medida que nos aproximamos do ápice do órgão. As paredes celulares são mais espessadas na região basal.

A secção transversal do ovário apresenta-se ligeiramente angulosa. Sua região parenquimática é representada por células de contorno arredondado, as quais englobam feixes vasculares delicados que se localizam em regiões angulosas. Bolsas contendo areia cristalina podem ser observadas nesta região. Células contendo mucilagem podem ser encontradas tanto na região epidérmica como na região parenquimática.

O estilete Figura 18B, é recoberto por células epidérmicas delicadas, alongadas no sentido longitudinal, sendo que algumas contém mucilagem. A região do parênquima fundamental, é representado por células arredondadas que envolvem um delicado feixe vascular. Este sofre dupla bifurcação ao nível da porção distal dirigindo-se cada um dos quatro novos feixes para a região estigmática terminal.

FIGURA 18. Cordia ecalyculata Vell. A. epiderme do ovário;
B. epiderme do estilete abaixo da primeira bifurcação.

5.1.4.5 - Androceu

Os estames são epipétalos sendo constituídos de antera sagitada e de filetes cilíndricos providos de pelos na base.

Secção transversal da antera mostra camada epidérmica constituída de células de tamanho e forma irregulares.

Abaixo da epiderme localiza-se uma fileira de células providas de espessamentos em forma de fitas.

A Figura 19A, mostra a epiderme da antera vista de face. As células epidérmicas apresentam formas alongadas e são recobertas por cutícula lisa.

A Figura 19D, mostra a camada mecânica vista em montagem paradérmica. O contorno de suas células é aproximadamente poligonal e suas paredes apresentam espessamentos típicos que lembram contas de um rosário.

A Figura 19C, mostra a porção basal de um filete visto em montagem paradérmica. As células epidérmicas apresentam forma alongada. A presença de pelos tectores simples é característica desta região. Pode-se ainda observar por transparência a presença de bolsas contendo areia cristalina. Um feixe vascular delicado percorre a região do filete.

A Figura 19B, exhibe grãos de pólen com

FIGURA 19. *Cordia ecalyculata* Vell. A. Epiderme da antera vista de face; B. Grãos de pólen; C. - filete: montagem direta de pedaço; b.a.cr. - bolsa de areia cristalina. D. camada mecânica em montagem paradérmica.

três poros de germinação providos de exina finamente granulosa.

5.1.5 - Anatomia do Fruto

O fruto em secção transversal apresenta contôrno tetra ou pentanguloso.

Secção transversal do fruto não totalmente desenvolvido, mostra epiderme (Figura 20A. ep) formada por células irregulares na forma e no tamanho. Esta camada celular é recoberta por cutícula lisa. A Figura 20B mostra o epicarpo visto de face. As células exibem contôrno poligonal e apresentam paredes providas de pontuações. Estômatos do tipo anomocítico podem ser observados nesta região.

O mesocarpo em secção transversal é constituído de duas regiões bem distintas. A primeira delas (Figura 20A. mes ext) localizada logo abaixo da epiderme apresentam células achatadas tangencialmente. Esta região frequentemente apresenta de 8 a 12 camadas celulares. A região mais interna (Figura 20A. mes.int) é constituída de células bem maiores de contôrno arredondado. Tanto a região externa como a região interna do mesocarpo inclue células contendo mucilagem.

As regiões angulosas do fruto são providas de feixe vascular do tipo colateral e a região parenquimática que se localiza adjacientemente é representada por células de contôrno arredondado não se observando nitidamen-

FIGURA 20. *Cordia ecalyculata* Vell. A- Secção transversal de fruto; B e C - epiderme vista de face; D - endocarpo.

te nestes locais a diferenciação do mesocarpo em duas regiões.

O endocarpo é provido de diversas camadas de células esclerenquimáticas, as quais algumas vezes estão relacionadas com grupo de fibras.

5.1.6 - Caracterização da Droga (Fotos 8, 9 e 10)

A droga comercializada como chá de bugre é encontrada no comércio em duas apresentações a saber : droga constituída de folhas e droga constituída de ramos.

A droga primeiramente, citada apresenta-se constituída de folhas com as características já descritas. Estas folhas devido o processo de secagem adquirem coloração amarronzada ou coloração verde escura provida de certo brilho.

O segundo tipo de droga representada por ramos floridos ou não é mais encontrada. Neste tipo de material as folhas possuem as características já descritas e os fragmentos de caule de coloração castanho escuro ou amarronzadas apresentam-se estriadas longitudinalmente. Flores e frutos podem ocorrer neste material.

FOTO 8 - Cordia ecalyculata Vell. Droga

FOTOS 9 e 10 - Cordia ecalyculata Vell. Droga.

5.2 - ESTUDO QUÍMICO

5.2.1 - Reações Genéricas de Identificação

- ALCALOIDES

Os resíduos dos extratos clorofórmicos redissolvidos em ácido clorídrico diluído apresentaram resultados negativos para alcalóides frente aos reativos de Bertrand, Mayer, Bouchardat e Dragendorff.

- ANTRADERIVADOS

Os extratos etanólicos de folhas provenientes de planta florida ou em estágio vegetativo, bem como os extratos de caules respectivos, apresentaram reação de Borntraeger negativa.

- SAPONINAS

Os extratos obtidos a partir dos quatro tipos de material apresentaram baixa atividade afrogênica.

- FLAVONOIDES

Os extratos obtidos a partir dos quatro tipos de material apresentaram os seguintes resultados : Cloreto de alumínio, seguido de observação a luz ultravioleta : positivo. Reação de Shinoda : fracamente positiva.

- ESTEROIDE

Os quatro tipos de extratos deram reação de Lieberman negativo.

- TANINOS

Os extratos de folhas e de caules apresentaram os seguintes resultados :

TABELA 2 - Caracterização de Taninos em Cordia ecalyculata Vell.

Agente caracterizador	Planta florida		Planta sem flor	
	Folha	Caule	Folha	Caule
Acetato básico de chumbo 10%	precipitado amarelo	precipitado amarelo	precipitado amarelo	precipitado amarelo
Acetato de cobre 4%	precipitado azul fraco	precipitado azul fraco	precipitado azul fraco	precipitado azul fraco
Solução de alcalóide a 1%	leve turvação	leve turvação	leve turvação	leve turvação
Sol. cloreto férrico 5%	cor verde pouco intensa	cor verde intensa	cor verde pouco intensa	cor verde intensa
Sol.molibdato de amônio 2%	cor alaranjada	cor alaranjada	cor alaranjada	cor alaranjada
Sabor	salgado e levemente adstringente	salgado e adstringente	levemente salgado e adstringente	levemente salgado e adstringente

Resultado fracamente positivo para taninos.

5.2.2.- Análise da Substância CH-1

A substância CH-1, proveniente do extrato hexânico apresentou as seguintes características analíticas :

- Ponto de fusão : $64-65^{\circ}\text{C}$
- Análise elementar : C = 85,38%
H = 14,74%

- Espectro no Infravermelho

O espectro no infravermelho, em pastilha de KBr (Fig. 21) apresentou as seguintes absorções :

- 720 cm^{-1} dobramento assimétrico de CH_2
- 1460 cm^{-1} dobramento simétrico de C-H
- 2800 cm^{-1} estiramento C-H
- 2900 cm^{-1} estiramento C-H

- Espectrometria de Ressonância Magnética Protônica (Fig. 22).

O espectro de ressonância magnética protônica, empregando tetracloreto de carbono como solvente, apresentou os seguintes sinais :

- ppm (δ) = 0,85 ($-\text{CH}_3$)
- ppm (δ) = 1,30 ($-\text{CH}_2-$)

- Espectrometria de Massa

A espectrometria de massa (Fig. 23) apresentou como pico base 57,15 e como íon molecular, 464.

FIGURA 21 - Espectro no infravermelho da substância CH-1.

FIGURA 22 - Espectro de ressonância magnética protônica da substância CH-1.

Lower Abundance Cutoff Level = 0.0%

MASS	ABUNDANCE (%)	MASS	ABUNDANCE (%)	MASS	ABUNDANCE (%)
15.10	0.3	124.15	1.1	267.35	0.7
16.10	0.3	125.15	3.9	268.35	0.2
17.10	1.6	126.25	3.6	280.45	0.4
18.10	5.5	127.05	8.3	281.35	0.6
27.10	4.1	128.15	0.9	282.35	0.1
28.20	2.4	138.15	0.8	294.35	0.3
29.10	13.9	139.05	1.7	295.45	0.5
30.20	0.3	140.15	2.9	296.40	0.1
32.00	0.4	141.15	6.1	308.40	0.3
39.05	2.6	142.15	0.6	309.40	0.5
41.15	32.4	152.10	0.5	310.40	0.1
43.05	92.4	153.20	0.9	322.40	0.2
44.05	3.2	154.20	2.4	323.50	0.4
53.15	1.1	155.10	4.0	324.40	0.1
55.15	27.6	156.10	0.5	336.45	0.2
56.25	15.9	166.20	0.3	337.45	0.4
57.15	100.0	167.10	0.6	338.45	0.1
58.15	4.8	168.20	1.9	350.45	0.2
67.15	3.3	169.20	3.0	351.45	0.4
69.15	3.4	170.20	0.4	352.45	0.1
69.15	18.3	180.20	0.2	364.55	0.1
70.25	11.3	181.20	0.3	365.55	0.3
71.05	65.4	182.20	1.6	366.55	0.1
72.15	3.5	183.30	2.1	378.50	0.1
79.10	0.4	184.10	0.3	379.50	0.3
81.10	2.0	194.25	0.2	380.40	0.1
82.10	4.2	195.25	0.2	392.60	0.1
83.10	15.3	196.15	1.3	393.50	0.2
84.20	6.8	197.15	1.9	394.50	0.1
85.10	42.0	198.15	0.3	406.45	0.0
86.10	2.9	209.35	0.2	407.55	0.1
95.10	1.1	210.35	1.0	408.45	0.4
96.10	3.1	211.35	1.6	409.55	0.1
97.10	12.6	212.35	0.2	421.55	0.0
98.20	4.7	224.30	0.8	422.55	0.1
99.10	17.2	225.30	1.2	423.55	0.0
100.10	1.3	226.30	0.2	436.65	1.4
109.20	0.5	238.40	0.6	437.55	0.5
110.20	1.5	239.30	0.9	438.65	0.1
111.10	6.9	240.40	0.2	450.60	0.2
112.20	4.1	252.40	0.5	451.60	0.1
113.15	11.2	253.30	0.8	464.70	0.2
114.15	1.2	254.40	0.2	465.60	0.1
123.15	0.3	266.35	0.4		

FIGURA 23 - Espectro de massa da substância CH-1.

5.2.3 - Análise da Substância CH-2

Ponto de fusão : 49-54°C.

- Espectro no Infravermelho

- 3.430 cm^{-1} estiramento O-H
 2.920 cm^{-1} estiramento de C-H de $-\text{CH}_2-$
 2850 cm^{-1} estiramento de C-H de $-\text{CH}_2-$
 1.730 cm^{-1} estiramento de carbonila
 1.475 cm^{-1} deformação de C-H de $-\text{CH}_2-$
 1.410 cm^{-1}
 1.160 cm^{-1} estiramento de C-O (de éster saturado)
 915 cm^{-1}
 855 cm^{-1}
 775 cm^{-1}
 735 cm^{-1}
 690 cm^{-1}
 590 cm^{-1}

- Espectro de Ressonância Magnética Protônica

- ppm (δ) = 0.9, t ($-\text{CH}_3$)
 ppm (δ) = 1.2, banda larga, $(\text{CH}_2)_n$
 ppm (δ) = 2.3, t, $\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{C}^{\text{O}}$
 ppm (δ) = 4.1, $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$

4.1 δ : devida a presença de prótons carbinólico.

2.3 δ : devido a presença de próton em alfa em relação ao grupo carbonila.

0.9 δ : prótons relacionados com o grupo $-\text{CH}_3$

1.2 δ : prótons relacionados com o grupo $-\text{CH}_2-$

Provavelmente trata-se de hidróxi-éster-alifático.

5.2.4 - Análise de Substância CH-3

A substância CH-3 apresentou características próximas da substância CH-2. O espectro no infravermelho efetuado inicialmente, para esta substância não apresentou boa qualidade. A análise cromatográfica em camada delgada efetuada dias mais tarde demonstrou ter esta substância degradado.

5.2.5 - Análise da Substância CE-1

Os ensaios analíticos efetuados com a substância CE-1, proveniente do extrato etanólico, purificada com o auxílio de adsorvente e recristalizada em água, apresentou os seguintes resultados :

- Ponto de fusão : 230°C com decomposição

- Análise elementar : C = 30,29%

N = 35,40%

H = 3,79%

O = 31,02%

- Espectro no Infravermelho

O espectro no infravermelho em pastilhas de KBr (Fig. 24) evidenciou as seguintes absorções :

690 cm^{-1}	
740 cm^{-1}	
800 cm^{-1}	dobramento simétrico fora do plano de N-H
1000 cm^{-1}	
1045 cm^{-1}	
1175 cm^{-1}	
1275 cm^{-1}	
1320 cm^{-1}	
1350 cm^{-1}	
1390 cm^{-1}	dobramento C-N
1425 cm^{-1}	dobramento C-H
1520 cm^{-1}	dobramento N-H (2^{a})
1600 cm^{-1}	dobramento N-H (1^{a})
1650 cm^{-1}	estiramento de C=O
1710 cm^{-1}	estiramento de C=O
1780 cm^{-1}	estiramento de C=O
2770 cm^{-1}	estiramento de C-H
3070 cm^{-1}	estiramento de N-H
3220 cm^{-1}	estiramento de N-H
3350 cm^{-1}	estiramento de N-H
3430 cm^{-1}	estiramento de N-H

- Espectrometria de Ressonância Protônica

O espectro de ressonância magnética Protônica, empregando dimetilsulfóxido deuterado como solvente (Fig. 25) mostrou os seguintes sinais :

ppm (δ) = 5,25, d, ($J = 8\text{Hz}$), $\text{C}_4\text{-}\underline{\text{H}}$

ppm (δ) = 5,83, s, NH_2

ppm (δ) = 6,90, d, ($J = 8\text{Hz}$), $\text{C}_4\text{-}\underline{\text{N-H}}$

ppm (δ) = 8,08, s, $\text{N}_3\text{-}\underline{\text{H}}$

ppm (δ) = 10,58, s, $\text{N}_1\text{-}\underline{\text{H}}$

- Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

O espectro de ressonância magnética nuclear em ^{13}C (Fig. 26) foi obtido empregando-se como solvente dimetilsulfóxido.

HT	PPM	HZ
40,00	173,67	3473,62
29,77	157,50	3150,18
36,11	156,89	3137,87
36,86	62,54	1251,05

5.2.6 - Análise da Substância Inorgânica

Foi detectada a presença do cátion potássio e do ânion cloreto.

FIGURA 24 - Espectro no infravermelho da substância CE-1.

FIGURA 25 - Espectro de ressonância magnética protônica da substância CE-1.

FIGURA 26 - Espectro de ressonância magnética nuclear em ^{13}C da substância CE-1.

A substância inorgânica isolada é o cloreto de potássio.

5.2.7 - Determinação de Substâncias Voláteis a 105°C e de Cinzas nas Drogas

- Substâncias voláteis a 105°C :

folhas	13,8%
caules	10,9%
droga proveniente do Paraná ..	14,6%

- Cinzas :

folhas	10,8%
caules	3,6%
droga proveniente do Paraná ..	10,3%

5.2.8 - Análise do Extrato Fluído

5.2.8.1 - Parâmetros físico-químicos

- Teor alcoólico

extrato A - 26,6%

extrato B - 26,5%

extrato C - 22,3%

extrato D - 25,8%

- Resíduo seco

extrato A - 5,48%

extrato B - 6,50%

extrato C - 5,05%

extrato D - 4,71%

- Cinzas

extrato A - 1,34%

extrato B - 2,06%

extrato C - 1,41%

extrato D - 1,26%

- Densidade relativa

extrato A - 0,991

extrato B - 0,997

extrato C - 0,986

extrato D - 0,991

- pH

extrato A - 5,6

extrato B - 7,0

extrato C - 7,2

extrato D - 6,9

5.2.8.2 - Análise cromatográfica

As tabelas seguintes representam resultados obtidos com os extratos fluídos de Cordia ecalyculata Vell.

TABELA 3 - CCD do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.
 Adsorvente: sílica gel GF; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); visualização: luz ultravioleta 254nm.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	escura	1	arred.	escura	1				90
arred.	escura	tr	arred.	escura	tr				67
ogival	escura	2	ogival	escura	2				56
ogival	escura	tr	ogival	escura	tr				34
ogival	escura	2	ogival	escura	2				12
circ.	escura	3	circ.	escura	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços.
 arred. = arredondada; circ. = circular.

TABELA 4 - CCD do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.
 Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); revelador : reativo sulfovanílico.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
oval	roxa	2	oval	roxa	1				71
arred.	azul	2	arred.	azul	tr				50
-	-	-	sagit.	cast.	tr	sagit.	cast.	3	45
arred.	cinza	3	arred.	cinza	2				26
sagit.	clara	1	sagit.	clara	1				16
sagit.	amar.	1	sagit.	amar.	1				5
circ.	marr.	3	circ.	marr.	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços.
 arred. = arredondada; circ. = circular; sagit. = sagitada;
 cast. = castanha; amar. = amarelada; marr. = marron.

TABELA 5 - CCD do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.
 Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); revelador : reativo p-dimetilaminobenzaldeído.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
-	-	-	arred.	amar.	1	arred.	amar.	3	58
arred.	amar.	2	arred.	amar.	2				50
arred.	cast.	3	arred.	cast.	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte
 arred. = arredondada; amar. = amarela; cast. = castanha.

TABELA 6 - CCD do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.
 Adsorvente: sílica gel G, fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); revelador : reativo de anisalaldeído

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	marrom	1	arred.	marrom	tr				87
arred.	verde	1	arred.	verde	1				72
arred.	amar.	1	arred.	amar.	2	arred.	amar.	2	65
arred.	amar.	tr	arred.	amar.	tr				58
arred.	verde	1	arred.	verde	1				54
ogival	verde	2	ogival	verde	2				46
ogival	roxa	tr	-	-	-				34
ogival	verde	tr	-	-	-				26
-	-	-	ogival	rosa	tr				8
circ.	marrom	3	circ.	marrom	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços.

arred. = arredondada; amar. = amarelo; circ. = circular.

TABELA 7 - CCD do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.
 Adsorvente: sílica gel GF; fase móvel: acetato de etila - metil-etilcetona - ácido fórmico - água (5:3:1:1:); visualização: luz ultravioleta 254nm.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
circ.	escura	3	circ.	escura	3				96
circ.	escura	1	circ.	escura	1				57
circ.	escura	1	circ.	escura	1				23
-	-	-	circ.	escura	1				13
circ.	escura	3	circ.	escura	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços.
 circ. = circular.

TABELA 8 - CCD do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.
 Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metil-etilcetona - ácido fórmico - água (5:3:1:1); revelador: reativo p-dimetilaminobenzaldeído.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	amar.	2	arred.	amar.	2				69
-	-	-	arred.	amar.	1	arred.	amar.	2	58
oval	amar.	1	-	-	-				30
-	-	-	oval	amar.	1				17
-	-	-	-	-	-				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços.
 arred. = arredondado; amar. = amarelo.

TABELA 9 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metil-etilcetona - ácido fórmico - água (5:3:1:1); revelador: reativo p-dimetilaminobenzaldeído.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	amar.	2	arred.	amar.	2				69
-	-	-	arred.	amar.	1	arred.	amar.	2	58
-	-	-	-	-	-				00

Intensidade: 1 = fraca; 2 = mediana; arred. = arredondada; amar. = amarela.

TABELA 10 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel GF; fase móvel: acetato de etila - metil-etilcetona - ácido fórmico - água (5:3:1:1); visualização: luz ultravioleta 254nm.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
circ.	escura	3	circ.	escura	3				96
circ.	escura	1	circ.	escura	1				57
circ.	escura	1	circ.	escura	1				23
-	-	-	circ.	escura	1				13
circ.	escura	3	circ.	escura	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte
circ. = circular.

TABELA 11 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel GF; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); visualiza_ção : luz ultravioleta 365nm.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	azul c	2	-	-	-				86
arred.	azul	tr	arred.	azul	tr				79
arred.	amar.	tr	arred.	amar.	tr				72
ogival	azul	2	ogival	azul	2				67
ogival	amar.	1	ogival	amar.	tr				54
ogival	azul	1	-	-	-				37
ogival	amar.	1	-	-	-				20
-	-	-	ogival	amar.	1				17
circ.	amar.	3	circ.	amar	3				00

Intensidade: 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços. arred. = arredondada; circ.= circular; amar.= amarela; azul c = azul clara.

TABELA 12 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel GF; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); visualiza_ção : luz ultravioleta 254nm.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	escura	2	-	-	-				90
arred.	escura	1	-	-	-				79
arred.	escura	1	arred.	escura	tr				72
arred.	escura	1	arred.	escura	1				67
ogival	escura	3	ogival	escura	2				56
ogival	escura	tr	ogival	escura	tr				39
ogival	escura	2	ogival	escura	2				16
circ.	escura	3	circ.	escura	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços. arred. = arredondada; circ. = circular.

TABELA 13 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); revelador: reativo p-dimetilaminobenzaldeído.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
-	-	-	arred.	amar.	1	arred.	amar.	3	58
arred.	amar.	2	arred.	amar.	2				50
circ.	cast.	3	circ.	cast.	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte.
arred.= arredondada; amar.= amarela; circ.= circular; cast.= castanha.

TABELA 14 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); revelador: reativo sulfovanílico.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
oval	roxa	2	oval	roxa	1				71
circ.	roxa	2	circ.	roxa	tr				59
arred.	azul	2	arred.	azul	tr				50
difusa	cast.	tr	difusa	cast.	tr	sagit.	cast.	3	45
circ.	cinza	1	circ.	cinza	1				40
circ.	cinza	1	circ.	cinza	1				32
arred.	cinza	3	arred.	cinza	3				26
sagit.	clara	1	sagit.	clara	1				16
difusa	roxa	tr	ogival	roxa	1				10
sagit.	amar.	1	sagit.	amar.	1				5
circ.	marr.	3	circ.	marr.	3				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços.
arred. = arredondada; circ. = circular; sagit. = sagitada; cast. = castanha; amar. = amarelada; marr. = marrom.

TABELA 15 - CCD da Fração Metanólica do Extrato Fluído de Cordia ecalyculata Vell.

Adsorvente: sílica gel G; fase móvel: acetato de etila - metanol - clorofórmio (5:4:1); revelador: reativo de anisaldeído.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
circ.	marr.	2	circ.	marr.	tr				87
circ.	marr.	1	circ.	marr.	tr				77
circ.	esverd.	1	circ.	esverd.	1				72
circ.	amar.	1	circ.	amar.	2	circ.	amar.	2	65
circ.	amar.	1	circ.	amar.	1				58
circ.	esverd.	1	circ.	esverd.	1				54
ogival	esverd.	2	ogival	esverd.	2				46
ogival	roxa	tr	-	-	-				39
ogival	verde	tr	-	-	-				26
-	-	-	ogival	rosa	tr				8
circ.	cinza	3	circ.	cinza	2				00

Intensidade : 1 = fraca; 2 = mediana; 3 = forte; tr = traços
 circ. = circular; marr. = marrom; esverd. = esverdeada;
 amar. = amarelada.

5.2.8.3 - Presença de ácido alantóico

As análises cromatográficas referentes às tabelas onde o revelador foi o p-dimetilaminobenzaldeído foram repetidas, empregando-se ao lado do padrão de alantoina, ácido alantóico. Após revelação verificou-se que houve coincidência entre o R_f do ácido alantóico, com o das manchas amarelas localizadas próximas da mancha de alantoina.

5.2.8.4 - Determinação do teor de alantoina e de ácido alantóico

A análise quantitativa da alantoina e do ácido alantóico nos extratos fluídos de Cordia ecalyculata Vell. pelo método espectrofotométrico apresentaramos seguintes resultados :

- Extrato A = 0,73%
- B = 0,67%
- C = 0,37%
- D = 0,36%

Foi utilizada no cálculo a seguinte equação :

$$- \frac{A}{P} \cdot C_p \cdot \frac{200 \times 100}{2,5} = T$$

onde A = absorvância da amostra

P = absorvância do padrão (média)

C_p = quantidade do padrão em gramas

T = % de alantoina em g.

FIGURA 27 - Extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell. Quantificação da alantoina e de ácido alantóico expresso em alantoina. T = teor de alantoina; C = concentração; A = absorvância.

6. DISCUSSÃO

6.1 - BOTÂNICA

6.1.1 - Caracterização Macroscópica

Cordia ecalyculata Vell. tem inúmeras vezes sido confundida com outras espécies de Cordia, principalmente quando transformada em droga. Dentre as espécies que tem propiciado confusão citam-se Cordia sellowiana Cham. e Cordia silvestris Fresen..

Cordia ecalyculata Vell. diferencia-se de Cordia sellowiana Cham. principalmente pelo tamanho menor de suas folhas providas de base cuneata ou aguda, ao passo que esta outra espécie possui base arredondada ou largamente aguda. Com referência a Cordia silvestris Fresen a diferenciação também é fácil. Esta espécie apresenta folhas de forma elíptica até obovada, bastante diferentes das da espécie em estudo.

Confusão parece também existir entre a droga obtida de Cordia ecalyculata Vell. denominada de "chá de bugre" e a proveniente de diversas outras espécies, igualmente denominadas, pertencentes a famílias diversas. Assim, tivemos a oportunidade de constatar que no Horto Botânico da Estação Experimental do Instituto Brasileiro do Desenvolvimento Florestal medra espontaneamente uma planta pertencente a família Rubiaceae conhecida na região pelos nomes de chá de bugre e de bugre. Este vegetal é em-

pregado pelo povo como diurético da mesma forma de Cordia ecalyculata Vell. derivando deste fato a confusão existente entre a identidade das drogas obtidas. Algumas vezes chegaram às nossas mãos amostras de drogas designadas por chá de bugre constituída por folhas desta Rubiaceae, visando o fornecimento deste material à indústria de extratos, quando o que se pretendia eram as folhas de Cordia ecalyculata Vell..

Hoehne (3la), comparando o material vendido por dois comerciantes de drogas vegetais, sob a denominação de chá de bugre, identifica a droga como proveniente de Cordia salicifolia Cham. (Cordia ecalyculata Vell.). Afirma ainda que chá de bugre e porangaba são expressões empregadas para designar a planta em estudo. Menciona ainda que um dos comerciantes utiliza também, com esta denominação vulgar, espécie da família Rubiaceae.

Estes fatos despertaram em nós a curiosidade no sentido de identificar esta outra planta. Consequimos através de fornecedor de plantas medicinais amostra desta Rubiaceae contendo flores e frutos, o que nos possibilitou chegar a identidade do vegetal. Trata-se de Rudgea viburnoides Benth.

Observando exsicatas existentes no Herbário do Instituto de Botânica de São Paulo, deparamos com material coletado por Amaro Macedo registrado como SP-69452 e coletado por Alberto Loefgreen, registrado como SP-11651, nos quais atribuí-se a Rudgea viburnoides Benth. as designações vulgares de bugre, chá de bugre, coto-coto

e purga do gentio.

Outra espécie conhecida como chá de bugre é Hedyosmum brasiliensis Martius ex Miguel, família Chloranthaceae. Este vegetal é empregado na medicina popular no tratamento de febres e de dores de cabeça. Elabora-se com ele um chá bastante aromático, daí talvez o seu outro nome popular - cidreira. A diferenciação desta espécie com Cordia ecalyculata Vell. não apresenta dificuldades.

Hedyosmum brasiliensis Martius ex Miguel apresenta ramos marcados por nós e entre nós de forma acentuada. As folhas apresentam margem serrilhada, são opostas, concrecidas no pecíolo por uma espécie de bainha pequena e com estípulas.

A popular Casearia sylvestris Sw. pertencente à família Flacourtiaceae oficializado pelo nome de erva de bugre pela primeira edição da Farmacopéia Brasileira, também tem sido confundida com chá de bugre Cordia ecalyculata Vell..

As folhas de Casearia sylvestris Sw. são bem menores que as de Cordia ecalyculata Vell.. Apresentam margem caracteristicamente serrilhada, o que permite diagnose diferencial fácil.

A droga chá de bugre derivada de Cordia ecalyculata Vell. é comercializada em duas formas a saber : droga constituída de folhas e drogas constituídas por partes aéreas integradas por caules não muito grossos e folhas podendo

vir ou não acompanhado de flores e frutos.

Os fragmentos de caules, apresentam características de valor na diagnose. Seu aspecto externo verrugoso e reticulado, devido respectivamente a presença de lenticelas arredondadas e salientes e de estrias persiste mesmo após o processo de secagem empregado na obtenção da droga.

As inflorescências cimosas do tipo corimboso-paniculada são muito características. As flores caem durante o processo de secagem, permanecendo aderido ao caule, quase sempre em axilas de folhas, o eixo ramificado da inflorescência com sua forma típica. As flores quando encontradas na droga são características pelo cálice campanulado um tanto rígido, pelos estames epipétalos e de filetes pilosos e pelo gineceu provido de estilete bifido duas vezes.

6.1.2 - Caracterização Microscópica do Vegetal

- FOLHA

Metcalf e Chalk (43) tratando de características anatômicas da família Boraginaceae afirma ser bastante variável o tipo de mesofilo nos diversos gêneros deste grupo de vegetais. Assim, podem ser, dependendo da espécie, heterogêneo simétrico e heterogêneo assimétrico. Estes autores, baseando-se nas pesquisas de Chodat et Vischer, Evenary, Kienholz, Sabnis, Starr, Sayeedud et Din,

mençionaram a presença de mesófilo simétrico em espécies de Cordia L., Heliotropium L. e Thurnefortia L..

Akisu et alii estudando Cordia verbenacea Al.DC., espécie da flora medicinal brasileira, mencionaram a presença de mesófilo heterogêneo e assimétrico como característica importante na diagnose da droga obtida a partir de órgãos desta espécie (2).

Cordia ecalyculata Vell. possui, caracteristicamente, mesofilo heterogêneo e assimétrico. O parênquima paliçádico desta espécie é representado por uma única fileira celular e constitui cerca de um terço ou um pouco mais, da espessura total do limbo foliar. Outra característica importante na diagnose de Cordia ecalyculata Vell. transformada em droga é a presença de cistólitos localizados em grandes litocistos incrustados no parênquima paliçádico. Esta estrutura permite diferenciar facilmente a droga obtida a partir desta espécie de outras conhecidas pelo mesmo nome vulgar, obtidas de espécies vegetais pertencentes a famílias vegetais diferentes daquela da espécie em questão.

A presença de pelos tectores unicelulares providos de paredes espessadas e providos de inclusão de carbonato de cálcio semelhantes a cistólitos localizadas em suas regiões basais tem sido apontada como frequente em espécies de porte herbáceo pertencentes à família Boraginaceae.

Akisie et alii (2) mencionam a presença de litocistos ogivais contendo carbonato de cálcio nas epidermes das folhas de Cordia verbenaceae Al.DC.. Pelos tectores simples e pelos tectores unisseriados providos de duas células também podem ser observados nesta região ao lado de pelos glandulares, de acordo com estes autores.

As epidermes das folhas de Cordia ecalyculata Vell. são glabras, a diferença de Cordia verbenaceae Al.DC..

Característica importante na diagnose de Cordia ecalyculata Vell. é a presença de bolsas contendo areia cristalina distribuídas em todo o mesofilo foliar.

Cristais de oxalato de cálcio tem sido mencionado em diversas espécies do gênero Cordia L.(43). Akisie et alii (2) menciona a presença de bolsas de areia cristalina em Cordia verbenaceae Al.DC. Metcalfe et Chalk (43) mencionam a presença de cristais agrupados e de cristais isolados em diversos gêneros de Boraginaceae. Estes autores citam ainda a presença de elementos secretores em folhas de espécies pertencentes ao gênero Ehretia L. e Heliotropium L..

A presença de canais resiníferos e de sacos taníferos tem sido mencionada em espécies de Boraginaceae.

Cordia ecalyculata Vell. não possui estes tipos de estrutura. Pode-se observar entretanto

nas folhas destas espécies a presença de células e de ductos mucilaginosos especialmente na região da nervura mediana.

Os estômatos de Cordia ecalyculata Vell. apresentam caracteristicamente três células paraestomatais das quais duas maiores e uma menor. Com menor frequência pode-se observar quatro células paraestomatais. Os estômatos nas espécies pertencentes à família Boraginaceae são com maior frequência do tipo ranunculáceo. Os pecíolos de Cordia ecalyculata Vell., em secção transversal apresentam os feixes vasculares dispostos em um círculo, suplementados por 2 feixes localizados em cada uma das alas situadas do lado da epiderme adaxial.

Metcalf e Chalk (43) mencionam que os feixes vasculares de espécies herbáceas de Cordia apresentam-se, com frequência, dispostos em arcos suplementados por outros localizados do lado da epiderme adaxial ou então na região medular.

A região medular do pecíolo de Cordia ecalyculata Vell. possui ductos mucilaginosos e não feixes vasculares.

- CAULE

O caule de Cordia ecalyculata Vell., de acordo com a teoria estelar, é do tipo eustele. A região cortical é pouco desenvolvida, sendo a endoderme, atípica. Como característica importante na diagnose mencionamos a presença de bolsas contendo areia cristalina.

Como ocorre frequentemente em espécies do gênero Cordia L., segundo Metcalfe et Chalk (43), o felôgeno ocorre próximo à epiderme em Cordia ecalyculata Vell.. O periciclo da espécie em estudo é descontínuo, apresentando-se em forma de cordões fibrosos isolados como os mencionados por Metcalfe et Chalk (43) para espécies de Cordia L., Ehretia L., Heliotropium L. e Pulmonaria L..

Os feixes vasculares localizam-se uns bem próximos aos outros. O floema apresenta-se em forma de calota e apresenta caracteristicamente uma sucessão de zonas fibrosas rígidas e de zonas providas de elementos histológicos de paredes delicadas. Metcalfe e Chalk (43) citam este tipo de estrutura para Cordia gerascanthus L. bem como para espécies do gênero Ehretia L..

Os raios medulares de Cordia ecalyculata Vell. inicialmente estreitos, se alargam e assumem o formato de cunhas graças a divisões celulares anticlinais.

O xilema apresenta caracteristicamente vasos isolados ou reunidos em grupos de dois e o parênquima do sistema axial é do tipo paratraqueal confluyente. Estas características xilemáticas foram assinaladas por Metcalfe et Chalk (43), como encontradas no gênero Cordia L. Os raios vasculares são bem característicos, apresentando uma a três fileiras de células em largura e muitos em altura.

Estas características xilemáticas auxiliam na identificação da droga, permitindo com facilidade

de diferenciar a droga obtida a partir de Cordia ecalyculata Vell. e drogas igualmente conhecidas pelo nome de chá de bugre, proveniente de espécies pertencentes a outras famílias vegetais.

A casca de Cordia ecalyculata Vell. não é muito desenvolvida.

A casca externa com frequência inclui região colenquimática. A periderme é pouco desenvolvida. A característica mais importante do ponto de vista da diagnose da droga pertencente a esta região é a presença de bolsas de areia cristalina.

A casca interna por sua vez é muito peculiar. A alternância de regiões fibrosas com regiões providas de células de paredes delicadas na casca floemática é muito característica, facilitando o trabalho da diagnose da droga.

Outra estrutura que assume forma típica são os raios medulares que apresentam caracteristicamente aspecto de cunhas. Bolsas contendo areia cristalífera, localizadas tanto na região dos raios medulares como nos raios vasculares, contribuem igualmente para o estabelecimento da diagnose da droga.

Característica auxiliar da diagnose pode também ser observada nos raios vasculares que são tipicamente heterogêneos, providos de células terminais ogivais e incluem com frequência bolsas de areia cristalina.

- FLOR

A presença de flores em drogas comercializadas em São Paulo, poucas vezes tem sido constatada. Entretanto, com frequência razoável, temos observado a presença do eixo da inflorescência peculiarmente ramificado.

Do ponto de vista da caracterização microscópica, esta parte do corpo vegetal exhibe estrutura parecida com aquela mencionada para o caule jovem. Bolsas contendo areia cristalífera aparecem nesta região.

O cálice caracteristicamente apresenta sépalas portadoras de epidermes constituídas de células providas de contorno poligonal, sendo que a epiderme interna diferencia-se da externa pela presença de grande quantidade de pelos tectores simples e cônicos. Montagens diretas de fragmentos de sépalas, previamente descoradas, mostram a presença de idioblastos contendo areia cristalina na região do mesófilo, o que é significativo, como característica, no trabalho de diagnose da droga.

A corola apresenta pétalas cujas epidermes externas podem ser diferenciadas por dois tipos de contorno celular. As células epidérmicas localizadas ao nível das lacínias possuem paredes bastante sinuosas, as quais emitem prolongamentos para o interior das células. A região epidérmica, localizada ao nível da região basal da corola, por sua vez apresenta células providas de contorno aproximadamente poligonal. Esta variação do contorno celu

lar pode ser útil na diagnose da droga.

O gineceu fornece poucos detalhes que auxiliam na identificação da droga. Suas células epidérmicas possuem contorno poligonal. Como caráter útil na diagnose podem ser mencionadas a presença de bolsas contendo areia cristalina e a presença de células mucilaginosas, aquelas localizadas na região parenquimática e estas tanto na região parenquimática como na região epidérmica.

Como elementos importantes na caracterização da droga, localizados na região do androceu, pode-se mencionar a presença de pelos simples e cônicos, grãos de pólen com exina finamente granulosa providos de três poros de germinação.

A epiderme da antera quando vista de face é representada por células que são poligonais aproximadamente e, quando observadas por transparência em montagens diretas de anteras, deixam ver a camada mecânica representada por células de contorno menor e provida de espessamentos que, em visão paradérmica, lembram o aspecto de contas de um rosário.

- FRUTO

Como características de valor na diagnose da droga pode-se mencionar a região do mesocarpo caracteristicamente diferenciada em duas zonas. A zona mais externa provida de células de tamanho menor e a zona interna provida de células grandes e ricas em conteúdo mucil-

laginoso.

A região do endocarpo por sua vez apresenta-se esclerificada. Grupos de braquiescleritos e de fibras podem ser observados nesta região.

6.2 - QUÍMICA

6.2.1 - Reações Genéricas de Identificação

As reações genéricas de detecção de princípios ativos permitiram evidenciar a presença de taninos em quantidades não elevadas. Por outro lado, os extratos aquosos obtidos a partir dos quatro materiais ensaiados exibiram baixa atividade afrogênica. Este achado pode ser considerado como evidência da presença ^{de saponina}. Este tipo de substância ocorreria em pequena quantidade no vegetal, o que deveria entretanto ser confirmado pelo teste de hemólise.

Os extratos da droga mostraram fluorescência aumentada quando tratados pela solução de cloreto de alumínio e observadas à luz ultravioleta. Tais extratos, por outro lado, deram teste de Shinoda fracamente positivo o que permite concluir pela presença de flavonoides.

Foi ainda verificada a ausência de derivados antraçênicos, esteróides e alcalóides. A ausência de alcalóides nos extratos de Cordia ecalyculata Vell., nas condições experimentais mencionadas, representa de certa

forma evidência da não existência de alcalóides pirrolizídínicos no vegetal. Os alcalóides pirrolizídínicos, frequentes na família Boraginaceae e no gênero Cordia L., têm sido apontados como agentes hepatotóxicos capazes de ocasionar neoformações.

6.2.2 - Identificação de Substância CH-1

A espectroscopia de massa e a análise elementar quantitativa permitiram concluir que a substância CH-1 é um hidrocarboneto.

A presença exclusiva de carbono e hidrogênio, evidenciada pela análise elementar aliada a espectroscopia de massa que indica massa molecular 464, leva a concluir que a substância CH-1 é um hidrocarboneto alifático saturado, de fórmula molecular $C_{33}H_{68}$, devido a sua fragmentação característica.

A análise do espectro em infravermelho permitiu concluir pela ausência de grupos isopropila, terciobutila e outros tipos de ramificações, em virtude das ausências de absorções características. O espectro de ressonância magnética nuclear protônica confirmou esta assertiva, visto apresentar apenas absorções referentes a prótons metílicos ($\delta = 0,85$) e metilênicos ($\delta = 1,30$).

Todos estes dados levaram à proposição da estrutura do tritriacontano para a substância CH-1.

6.2.3 - Identificação da Substância CH-2

O espectro no infravermelho da substância CH-2 evidenciou além da provável presença de grupo OH (3430cm^{-1}), absorção em 1730cm^{-1} , que foi atribuída a presença de carbonila.

A frequência de absorção da carbonila aliada a uma banda larga em 1160cm^{-1} atribuída a estiramento C-O, permitiu supor tratar-se de um hidróxi éster.

O espectro de ressonância magnética protônica é compatível com esta proposta, principalmente levando-se em consideração as absorções em 2,3 δ atribuível a $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})$ e em 4,1 δ devido a próton carbinólico.

6.2.4 - Identificação da Substância CE-1

A análise elementar da substância CE-1 evidenciou a presença de nitrogênio, além de carbono, hidrogênio e oxigênio.

O espectro no infravermelho mostrou a presença de grupos carbonilas. As frequências de absorção desses grupos, aliados a ocorrência de absorções acima de 3000cm^{-1} , que foram atribuídas a estiramento N-H, permitiu concluir que se tratavam de carbonilas de amidas, provavelmente primárias e secundárias. A presença de deformações C-N reforçou esta atribuição.

A substância em questão deu teste do hidroxamato positivo, o que comprovou sua natureza amídica.

A família Boraginaceae à qual pertence Cordia ecalyculata Vell. apresenta com frequência produtos nitrogenados oriundos do metabolismo secundário. Entre tais substâncias verificou-se a presença de alantoina, cuja composição centesimal e ponto de fusão eram compatíveis com os da substância problema.

Comparando-se os dados espectroscópicos em infravermelho, de ressonância magnética protônica e de carbono-13 da substância problema com os da alantoina descritos na literatura (16,60) verificou-se que houve identidade entre eles.

A substância CE-1 é portanto a alantoina.

6.2.5 - Identificação da Substância Inorgânica

As reações características para o cátion potássio e para o ânion cloreto permitiram com facilidade identificar a substância inorgânica isolada como sendo cloreto de potássio.

6.2.6 - Determinação de Substâncias Voláteis a 105°C e de Cinzas na Droga

O teor de substâncias voláteis a 105°C foi um pouco mais elevado no material proveniente do Estado do Paraná em relação ao material coletado no Estado de São Paulo. Com referência ao material coletado no Estado de São Paulo pode-se verificar sensível diferença. Quando a droga era constituída exclusivamente de folhas os valores eram um pouco mais elevados do que quando a droga era constituída de partes aéreas.

Com referência a cinzas, ficou bem evidenciado que as drogas provenientes exclusivamente de folhas apresentam valores bem mais elevados para este item, do que aquelas constituídas por partes aéreas. As drogas provenientes do Paraná apresentaram valores de cinzas próximos daqueles encontrados para aquelas constituídas exclusivamente de folhas oriundas de São Paulo, pelo fato destas apresentarem em sua constituição pequena porcentagem de caules.

6.2.7 - Análise do Extrato Fluído

6.2.7.1 - Parâmetros físicos e químicos do extrato fluído

O teor alcoólico dos extratos analisados situaram-se entre 22,3% no extrato C e 26,6 no extrato A.

O resíduo seco por sua vez localizou-se entre 4,71% e 6,50% ao passo que as cinzas entre 1,26% e 2,06%. Houve coincidência no sentido de o extrato possuidor do maior resíduo seco (Extrato B = 6,50%) conter igualmente o maior teor em cinzas (2,06%). Diga-se o mesmo com referência aos valores mínimos. O extrato D apresentou 4,71% de resíduo seco e 1,26% de cinzas estabelecendo os limites mínimos para as drogas ensaiadas.

A densidade relativa dos extratos situou-se entre 0,986 e 0,991. O pH por sua vez variou entre 5,6 a 7,2. Os pHs próximos da neutralidade ou básicos favorecem a hidrólise da alantoina. Para evitar isto seria recomendável a acidificação dos extratos.

6.2.7.2 - Análise cromatográfica dos extratos fluídos

O acetato de etila misturado ao metanol e ao clorofórmio na proporção em volume de 5:4:1 e o acetato de etila misturado a metiletilcetona, ácido fórmico e água na proporção, em volume de 5:3:1:1 demonstraram ser eficientes na separação de componentes do extrato fluído de Cordia ecalyculata Vell. quando se emprega como camada delgada a sílica gel GF.

O maior número de manchas foi evidenciado empregando-se como fase móvel o acetato de etila : metanol:clorofórmio na proporção em volume de 5:4:1, empregando-se como agente revelador o reativo sulfovanílico ou o reativo de anisaldeído.

O padrão de alantoina empregado como auxiliar na identificação do extrato fluído pode ser evidenciado tanto pelo reativo salfovanílico (cor castanha) como pelo reativo de anisaldeído (cor amarelada)

A visualização desta substância, com o reativo de anisaldeído, requer um tempo maior de aquecimento para permitir sua observação.

A alantoina e seus derivados são mais eficientemente visualizados quando se emprega como revelador o p-dimetilaminobenzaldeído, seguido de aquecimento. Nestas circunstâncias, estas substâncias aparecem como mancha de coloração amarela. As demais substâncias presentes ao extrato não são evidenciadas por este revelador.

Sendo o revelador de p-dimetilaminobenzaldeído seletivo para a alantoina e substâncias aparentadas ele presta grande auxílio na caracterização do extrato fluído de Cordia ecalyculata Vell..

A revelação de cromatogramas de extrato fluído de Cordia ecalyculata Vell. com p-dimetilaminobenzaldeído, tanto do extrato total como de sua fração metanólica, evidenciava a presença de mancha de hRf próximo à alantoina com características bastante semelhantes a desta substância. Este fato levou à suspeita da ocorrência de ácido alantóico no extrato fluído. Para averiguar a veracidade ou não deste fato sintetizou-se certa quantidade de ácido alantóico que foi empregado como padrão cromatogrâfico ao lado da alantoina em análises cromatográficas de ex-

trato fluído. Verificou-se haver correspondência entre o hRf da mancha existente no extrato e do padrão de ácido alantóico o que nos levou à conclusão da existência desta substância nos extratos de Cordia ecalycylata Vell.

O ácido alantóico corresponde a um produto de hidrólise da alantoina e com frequência ocorre nos vegetais onde a alantoina está presente.

6.2.7.3 - Teor de alantoina e de ácido alantóico

Os resultados da quantificação da alantoina e do ácido alantóico foram expressos em alantoina.

Verificou-se que as drogas coletadas no Estado de São Paulo apresentaram teores maiores duas vezes aproximadamente que aqueles de materiais provenientes do Estado do Paraná.

Estes resultados estão próximos daqueles obtidos gravimetricamente quando efetuou-se a extração do pó da planta com etanol.

Os resultados obtidos graficamente são compatíveis com aqueles obtidos por cálculo utilizando a média dos padrões.

Foi empregado o método apresentado por Borchers (5) onde a alantoina e o ácido alantóico são transformados em ácido glioxílico.

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no estudo de Cor
dia ecalyculata Vell. permitem as seguintes conclusões :

1. São dados morfológicos importantes na identificação das drogas :

Características macroscópicas : presença de folhas lanceoladas glabras, de ápice acuminado, base cuneata e margem lisa; caules estriados longitudinalmente providos de casca com lenticelas verrucosas; inflorescência cimosa, laxamente carimboso-paniculada provida de flores possuidoras de cálice e de corola campanuladas, androceu cinco estaminados e ovário súpero bicarpelar encimado por estilete bifido duas vezes; fruto drupáceo e subcônico.

Características microscópicas : Folhas contendo mesofilo heterogêneo e assimétrico provida de uma camada de células em paliçada e de cristólitos; caule do tipo eustélico com feixes vasculares colaterais; casca com região floemática onde ocorre alternância de regiões fibrosas e de não fibrosas; lenho contendo vasos isolados ou em grupos de dois e parênquima do sistema vertical envolvendo os vasos e emitindo alas que se anastomosam; cálice provido de epiderme interna pilosa e corola possuidora de células epidérmicas com paredes sinuosas algumas vezes emitindo projeções para o interior do lúmen;

grãos de pólen tricolporados; frutos com endocarpo pétreo. Todas as partes reprodutivas ou vegetativas possuidoras de bolsas contendo areia cristalina e de células de mucilagem.

2. As reações genéricas de identificação de grupos de princípios ativos permitiram detectar : presença de flavonóides, saponinas, taninos e mucilagens; ausência : alcalóides, antraderivados, esteróides.
3. Foram isolados e identificados dos extratos as seguintes substâncias : tritriacontano, alantoina, um hidróxi-éster-alifático e cloreto de potássio.
4. Constatou-se a presença do ácido alantóico nos extratos fluídos.
5. O teor de substâncias voláteis a 105°C nas drogas variou de 10,9 a 14,6% e o de cinzas 3,6% a 10,8%. O teor de cinzas é cerca de 3,5^{vezes} maior nas folhas do que nos caules.
6. O teor alcoólico no extrato fluído variou de 22,3 a 26,6%, o resíduo seco de 4,71 a 6,50%, as cinzas de 1,34 a 2,06% a densidade relativa, de 0,986 a 0,997 e o pH de 5,6 a 7,2.
7. A análise cromatográfica em camada delgada dos extratos fluídos em sílica gel GF permitiu obter bons resultu

tados empregando-se as duas fases móveis seguintes :

- a) acetato de etila:metiletilcetona:ácido fórmico:água,
na seguinte proporção : 5:3:1:1;
- b) acetato de etila:metanol:clorofórmio 5:4:1.

Como revelador foram utilizados : reativo sulfovanílico : reativo de anisaldeído : p-dimetilaminobenzaldeído e a luz U.V de 254nm e 365nm.

- 8. O p-dimetilaminobenzaldeído como revelador cromatográfico demonstrou possuir certa seletividade para a alantoina e para o ácido alantóico.
- 9. Os teores de alantoina e de ácidos alantóico nos extratos fluídos podem ser estimados através do método espectrofotométrico mencionado por Borchers. Os teores de alantoina e ácido alantóico nos extratos fluídos varriaram de :

0,73% a 0,36% - cálulo

0,75% a 0,34% - gráfico

As drogas provenientes do Estado de São Paulo deram teores mais altos do que aquelas do Estado do Paraná.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abrahan, J.; Simeone, F.A. e Hopkins, R.W. - A sensitive assay for allantoin. - Anal.Biochem., 70 (2) : 377-80, 1976.
2. Akisue, M.K.; Oliveira, F.; Moraes, M.S.; Akisue, G. e Mancini, B. - Caracterização farmacognóstica da droga e da tintura de Cordia verbenacea Al.DC. - Boraginaceae - Rev.Ciênc.farm., 5 : 69-82, 1983.
3. Angely, J. - Flora analítica e fitogeográfica do Estado de São Paulo - São Paulo, Edições Phytton, 1970, p. 819-825.
4. Billabert, A.; Willemot, J. e Parry, G. - Dosage de l'allantoïne dans des produits pharmaceutiques. - Ann.Pharm.Franç., 34 (1) : 65-66, 1976.
5. Borchers, R. - Allantoin determination. - Anal.Biochem., 79 (1) : 612-613, 1977.
6. Caminhoã, J.M. - Elementos de Botânica Geral e Médica - Rio de Janeiro, Tipografia Nacional, 1877, v. 3, p. 2719-2720.
7. Candolle, A.P. - Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. - Parisii - Sumptibus Fortin, Masson et Sociorum, 1845, v. 9, p. 471-501.

8. Carroll, M.A.; White, E.R.; Zarembo, J.E. - Over-the-counter drug analyses with HPLC - Anal.Chem., 53 (9): 1111A-1114A, 1981.
9. Chauhan, J.S.; Srivastava, S.K. e Sultan, M. - Hesperetin 7-rhamnoside from Cordia obliqua - Phytochemistry., 17 (2) : 334, 1978.
10. Chauhan, J.S. e Srivastava, S.K. - Lupa -20,29-ene-3-O- β -D-maltoside from the roots of Cordia obliqua - Phytochemistry., 17 : 1005-1006, 1978.
11. Chauhan, J.S. e Srivastava, S.K. - 5,7-Dimethoxytaxifolin-3-O- α -L-rhamnopyranoside from the roots of Cordia obliqua Linn.- Indian J.Chem.Sect.B., 15 (8) : 760-761, 1977.
- 11a. Constantinescu, E.; Cristea, E.; Albulescu, D. e Todor, D. - Allantoin, ein Pflanzeninhaltsstoff mit diurestischer Wirkung - Pharmazie., 22 (10) : 601-602, 1967.
12. Correia, M.P. - Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas - Rio de Janeiro - Ministério da Agricultura, 1952, v. 1, p. 186, 229, 240, 385, 437, 657.
13. Correia, M.P. - Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas - Rio de Janeiro - Ministério da Agricultura, 1952, v. 2, p. 29, 142, 216, 317.
14. Correia, M.P. - Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas - Rio de Janeiro - Ministério da Agricultura, 1952, v. 3, p. 468, 466, 530.

15. Correia, M.P. - Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas - Rio de Janeiro - Ministério da Agricultura, 1952, v. 5, p. 379-380.
16. Coxon, B.; Fatiadi, A.J.; Smiegoski, L.T.; Hertz, H.S. e Schaffer, R. - A novel acylative degradation of uric acid. Carbon-13 NMR studies of uric acid and its degradation products. - J.Org.Chem., 42 (19) : 3132-3139, 1977.
17. Cruz, G.L. - Dicionário das Plantas Úteis do Brasil - Rio de Janeiro, Editora Civilizações Brasileiras S.A., 1979, p. 190.
18. Culvenor, C.C.J.; Edgar, J.A.E.; Fralin, J.L. e Smith, L.W. - The alkaloids of *Symphytum X uplandicum* (Russian comfrey) - Aust.J.Chem., 33 : 1105-1113, 1980.
19. Davies, D.D.; Giovanelli, J. e Rees, T.Ap. - Bioquímica Vegetal - Barcelona, Ediciones Omega, S.A., 1969, p. 465-469.
20. Desai, H.K.; Gawad, D.H.; Joshi, B.S.; Parthasarathy, P.C.; Ravindranath, K.R.; Saindane, M.T.; Sidhaye, A. R. e Viswanathan, N. - Chemical investigation of Indian plants : Part X. - Indian J.Chem.Sect.B., 15 (3) : 291-293, 1977.
21. Desai, H.K.; Gawad, D.H.; Govindachari, T.R.; Joshi, B. S.; Parthasarathy, P.C.; Ramachandran, K.S.; Ravindraⁿath, K.R.; Sidhaye, A.R. e Viswanathan, N. - Chemical Investigation of some Indian plants : Part IX. -

Indian J.Chem.Sect.B., 14 (6) : 473-475, 1976.

22. Dominguez, X.A.; Escarria, S. e Butruille, D. - Dimethyl-3,4'-kaempferol de Cordia boissieri - Phytochemistry., 12 (3) : 724-725, 1973.
23. Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil, 2^a ed. São Paulo, Ind.Graf.Siqueira, 1959.
24. Farmacopeia Brasileira, 3^a ed. São Paulo, Andrei, 1977.
25. Fell, K.R. e Peck, M.J. - Phytochemical investigation of some species of the Boraginaceae - Planta Med., 16 (4) : 411-420, 1968.
26. Fresenius, J.B.G.W. - Boraginaceae (monografia) in Martius, C.F.P. - Flora Brasiliensis - Monachin, Lipsiae, 8 (1)²¹ : 61-64, 1857.
27. Furuya, T. e Hikichi, M. - Alkaloids and triterpenoids of Symphytum officinale - Phytochemistry., 10 : 2217-2220, 1971.
28. Furuya, T. e Araki, K. - Studies on constituents of crude drugs. I. Alkaloids of Symphytum officinale Linn. - Chem.Pharm.Bull., 16 (12) : 2512-2516, 1968.
29. Gibbs, R.D. - Chemotaxonomy of flowering plants, London Mc Gill-Queen's - University Press London. 1974, vol. 3, p. 1748-1755.
30. Hegnauer, R. - Chemotaxonomie der Pflanzen - Birkhauser Verlag. v. 3, p. 288-306, 1964.

31. Hirono, I.; Mori, H.; Haga, M. - Carcinogenic activity of Symphytum officinale - J.Natl.Cancer.Inst., 61(3): 865-869, 1978.
- 31a. Hoehne, F.C. - O que vendem os herbanários da Cidade de São Paulo - São Paulo, Casa Duprat, 1920, p. 83-84.
32. Hornawsky, G. e Mueller, H. - Determination of allantoin in serum and urine of farm animals. - Arch.Exp.Veterinaermed., 34 (3) : 333-337, 1980.
33. Johnson, P. e Morales, R. - A review of Cordia alliodora (Ruiz e Pav) Oken. - Turrialba., 22 (2) : 210-220, 1972.
34. Kalberer, P. - Breakdown of caffeine in the leaves of Coffea arabica L. - Nature., 205 (4971) : 597-598, 1965.
35. Kaliszan, R. e Halkiewicz, J. - IR analysis of crystalline samples of some urea derivatives - Pol.J.Pharmacol.Pharm., 27 : 579-587, 1975.
36. Karawya, M.S.; Wassel, G.M.; Baghdadi, H.H. e Ammar, N. M. - Mucilagenous contents of certain Egyptian plants. - Planta Med., 38 (1) : 73-78, 1980.
37. Lawrence, G.H.M. - Taxonomia das Plantas Vasculares - Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1951, p. 705-708.
- 37a. Lins, A.P.; Marden, A.A.; Gottlieb, O.R. e Oliveira, F. - Flavonóis de Cordia verbenacea Al.DC. In : Reunião

- Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 32^a, 1980. Ciênc.e Cult., (Supl), p. 457, (35- D.2.5).
38. Manners, G.D. e Jurd, L. - The hidroquinone terpenoids of Cordia alliodora - J.Chem.Soc.Perkin.Trans.I., nº 4, 405-410, 1977.
39. Manners, G.D. e Jurd, L. - New natural products from marine borer resistant woods. A review - J.Agric. Food.Chem., 25 (4) : 726-730, 1977.
40. Manners, G.D. - The hidroquinone terpenoids of Cordia elaeagnoides - J.Chem.Soc.Perkin.Trans.I., 39-43, 1983.
41. Mecca, S.B. - The function and applicability of the allantoin - Proc.Sci.Sect.Toilet Goods.Assoc., nº 39 7-15, 1963.
42. Melchior, H. in Engler, A. - Syllabus der Pflanzenfamilien. Berlin, Gebruder Borntraeger Nicolasse, 1964, v.2, 666p.
43. Metcalfe, C.R. e Chalk, L. - Anatomy of the dicotyledons - London. Clarendon Press. 1950, v.2, p. 945-954.
44. Miller, R.W.; Earle, F.R. e Wolff, I.A. - Search for new seed oils. XV. Oils of Boraginaceae - Lipids., 3 (1): 43-45, 1968.
45. Moir, M. e Thomson, R.H. - Naturally occurring quinones. Part XXII. Terpenoid quinones in Cordia Spp. - J.Chem. Soc.Perkin.Trans.I., 1352-1357, 1973.

46. Moscovici, R. e Muradian, J. - Curso Prático de Análise Orgânica Qualitativa - São Paulo, Edição dos Autores, 1983, p. 71.
47. Novelli, A. - Química Orgânica - Buenos Aires, Editorial "El Ateneo", 1954, p. 1019-1020.
- 47a. Oliveira, F. e Akisue, G. - Farmacobotânica (Curso de Identificação de Drogas Vegetais) - São Paulo, Edição dos Autores, 1979, v. 1. 97p.
- 47b. Prista, N.L.; Alves, C.; Araújo, F.C. - Pesquisa de a-lantoina em algumas plantas de São Tomé usadas no tratamento de feridas - Garcia Orta., 8 (2) : 327-331, 1960.
48. Quer, P. Font - Plantas Medicinales - El Dioscorides Renovado-Barcelona - Editorial Labor, S.A., 1962, p. 545.
49. Saleh, N.A.M.; El Sherbeiny, A.E.A. e El Sissi, H.I. - Local plants as potential sources of tannins in Egypt, Part IV - Qual.Plant.Mater.Veg., 17 (4) : 384-394, 1969.
50. Seikel, M.K. e Rowe, J.W. - Eudesmol isomers from Cordia trichotoma Wood - Phytochemistry., 3 : 27-32, 1964.
51. Siest, G. e Panek, E. - Réactions colorées et fluorescentes des dérivés carbamides biologiques avec des alpha-dicétones. Bull.Soc.Chim.Biol., 49 (12) : 1879-1883, 1967.

52. Silva, R.A.D. - Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil - São Paulo, Campanhia Editora Nacional, 1929, p. 685.
53. Smith, L.B. - Boragináceas in Reitz, P.R. - Flora Ilustrada Catarinense, Itajaí, 1970, p. 3 e 28-30.
54. Smith, L.W. e Culvenor, C.C.J. - Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloides - J.Nat.Proc., 44 (2) : 129-152, 1981.
55. Srivastava, S.K. e Srivastava, S.D. - Taxifolin 3,5-diramnoside from the seeds of Cordia obliqua - Phytochemistry., 18 : 2058-2059, 1979.
56. Srivastava, S.K.; Srivastava, S.D. e Nigam, S.S. - Lupa-20(29)-ene-3-O- α -L-rhamnopyranoside from the roots of Cordia obliqua - J.Indian.Chem.Soc., 60 (2) : 202, 1983.
57. Stahl, P.H. - The product of air oxidation of uric acid. An intermediate formed in the presence of dimethylamine. - Biochemistry., 8 (2) : 733-736, 1969.
58. The United States Dispensatory - Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 27^a ed. p. 43-44.
59. Tiwari, K.P. e Srivastava, S.D. - Chemical investigation of the stem bark of Cordia obliqua - Planta Med., 36 (2) : 191-192, 1979.
60. Vargas, J.A.L. - Phytochemical study of seeds of Cordia collococca L.C. micrantha Swartz (Boraginaceae) -

Ing.Cienc.Quim., 6 (1) : 157, 1982.

61. Velde, V.V.; Lavie, D.; Zelnik, R.; Panizza, S. - Cordialin A and B, two new triterpenes from Cordia verbenacea DC - J.Chem.Soc.Perkin.Trans.I., 2697-2700, 1982.
62. Velloso, J.M.C. - Flora Fluminensis Descriptiones - Parisiis, Senefelder, 1825, p. 96.
63. Verma, Y.S.; Saxena, V.K. e Nigam, S.S. - Structure of Cordia rothii Roem and Schult mucilage. Part II : Methylation and periodate oxidations studies - Planta Med., 32 (2) : 188-194, 1977.