

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

POLLYANNA MELO KZAM

**PADRONIZAÇÃO DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Cinnamomum*
verum J. S. Presl (Lauraceae) NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FITOTERÁPICOS**

São Luís
2019

POLLYANNA MELO KZAM

**PADRONIZAÇÃO DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Cinnamomum*
verum J. S. Presl (Lauraceae) NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FITOTERÁPICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Maranhão como requisito
para obtenção do título de Bacharela em Farmácia.

Orientador (a): Prof^ª Dr^ª Flavia Maria Mendonça do
Amaral

São Luís
2019

Kzam, Pollyanna Melo.

PADRONIZAÇÃO DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Cinnamomum verum*
J. S. Presl Lauraceae NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE
FITOTERÁPICOS / Pollyanna Melo Kzam. - 2019.

46 f.

Orientador(a): Flavia Maria Mendonça do Amaral.
Monografia (Graduação) - Curso de Farmácia,
Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Atividade antibacteriana. 2. Atividade
antioxidante. 3. Canela. 4. Caracterização química. 5.
Cinnamomum verum. I. Mendonça do Amaral, Flavia Maria.
II. Título.

POLLYANNA MELO KZAM

**PADRONIZAÇÃO DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Cinnamomum
verum* J. S. Presl (Lauraceae) NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FITOTERÁPICOS**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal do Maranhão como requisito
para obtenção do título de Bacharela em Farmácia.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Flavia Maria Mendonça do Amaral (orientadora)
Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal do Maranhão

Prof. (a). Dr. (a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (a). Dr. (a).: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho á minha mãe, meu tesouro mais puro, que sempre dedicou a mim, cuidado e amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo, por ter me fortalecido ao ponto de superar as dificuldades e também por toda saúde que me deu, me permitindo alcançar a conclusão desta etapa tão significativa da graduação.

À minha mãe Mônica Regina, por ter me moldado aos estudos, e por sempre acreditar em minha capacidade. Sua responsabilidade e competência profissional me inspiram, amo-te.

À minha família, tios, primos e em especial aos meus avós, Sebastião e Cleonôra, por serem exemplos únicos de sabedoria e garra, amo-os!

À minha querida orientadora, Flavia do Amaral, suas correções, sua paciência, comprometimento e sua simplicidade no trato foram essenciais para elaboração deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos que fiz durante a graduação, em especial: Alice Ferreira, Ana Lurdes Portela, Caio Cunha, Daniella Silveira, Danilo Ericeira, Carla Danielle, Caroline Martins, Ícaro Rodrigo Dutra, Ítalo Fernando Moraes, Malene Sodré, Antônio Sávyo Oliveira e Vanessa Siqueira! O companheirismo, as conversas e as alegrias, tornaram a vida universitária mais suportável. Todos vocês, sem exceção, têm minha gratidão.

Aos companheiros dos laboratórios de Farmacognosia e Fitoterapia, que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, Daniella Silveira, Francisco Assis, Izolda Costa, Jéssyca Wan Lume, José Antônio Leite, Nágilla Ferreira e Talíson Diniz. Gratidão!

Agradeço, também, ao seu Magalhães do laboratório de Controle de Qualidade, por sua paciência e bondade; e aos integrantes do laboratório de Microbiologia Clínica, em especial, Andressa Sousa, José Ribamar Castro e professora Patrícia Figueiredo, por suas valiosas contribuições.

À Universidade Federal do Maranhão por minha formação profissional, pela estrutura e incentivo a pesquisa.

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação.

Mas se você não fizer nada, não existirão resultados.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

O emprego de plantas para fins medicinais representa uma prática milenar, incentivada pela facilidade de acesso aos recursos de origem vegetal e informações errôneas da ausência de efeitos colaterais e contraindicação. Nesse sentido, os estudos de validação devem ser estimulados, especialmente as pesquisas de padronização de extratos, considerando o interesse da indústria nessas preparações por representarem matéria-prima farmacologicamente ativa para os fitoterápicos. Dessa forma, este trabalho objetiva realizar estudo de padronização dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl, conhecida como canela, espécie vegetal de grande ocorrência no Brasil e amplamente empregada para fins comerciais (perfumaria e culinária) e medicinais, devido as propriedades: antioxidantes, anticâncer, gastrointestinais, anti-inflamatórias, analgésicas, antidiabéticas, antimicrobianas, sedativas, vasodilatadoras e afrodisíacas, além de suas possíveis atividades farmacológicas na doença de Alzheimer, diabetes, artrite e arteriosclerose. As folhas de *Cinnamomum verum* foram coletadas em habitat natural, submetidas a secagem e moagem para obtenção dos extratos hidroetanólicos, empregando planejamento fatorial tendo como variáveis: operação de extração (maceração com ultrassom, extração em aparelho *Soxhlet* e percolação) e relação de hidromódulo (1:6, 1:8 e 1:10). Todos os extratos obtidos foram submetidos a determinação de rendimento, pH, densidade, viscosidade, caracterização da composição química, avaliação *in vitro* da atividade antioxidante e antimicrobiana. Os resultados demonstraram que o extrato obtido por maceração com ultrassom 1:6 apresentou valores mais expressivos quanto ao teor de polifenóis e atividade antibacteriana; evidenciando-se, porém, melhor rendimento para percolação 1:6, caracterização quantitativa dos constituintes químicos (percolação 1:6 e *soxhlet* 1:6), teor de flavonoides (*soxhlet* 1:10) e atividade antioxidante (percolação 1:8), entre os extratos analisados. As análises cromatográficas indicaram substâncias passíveis de serem empregadas como marcadores analíticos e/ou ativo para controle de qualidade dos extratos. Assim, o estudo permitiu concluir que, o procedimento extrativo e relação de hidromódulo são variáveis que influenciam nos extrativos da espécie, e conseqüentemente, na concentração dos constituintes químicos, atividade antioxidante e atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: *Cinnamomum verum*; canela; atividade antioxidante; atividade antibacteriana; caracterização química.

ABSTRACT

The use of plants for medicinal purposes represents a millenarian practice, encouraged by the ease of access to vegetal resources and erroneous information of the absence of side effects and contraindication. In this sense, validation studies should be encouraged, especially the standardization of extracts, considering the industry's interest in these preparations because they represent a pharmacologically active raw material for phytotherapies. Thus, this work aims to conduct a standardization study of extracts of *Cinnamomum verum* J. S. Presl, known as cinnamon, a plant species of great occurrence in Brazil and widely used for commercial purposes (perfumery and cooking) and medicinal, due to its properties: antioxidants, anti-inflammatory, analgesic, antidiabetic, antimicrobial, sedative, vasodilating and aphrodisiac, as well as their possible pharmacological activities in Alzheimer's disease, diabetes, arthritis and arteriosclerosis. *Cinnamomum verum* leaves were collected in natural habitat, subjected to drying and milling to obtain the hydroethanolic extracts, using factorial planning, with the following variables: extraction operation (ultrasonic maceration, *Soxhlet* extraction and percolation) and hydromodule ratio (1 : 6, 1: 8 and 1:10). All extracts were submitted to determination of yield, pH, density, viscosity, characterization of chemical composition, in vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activity. The results showed that the extract obtained by maceration with 1: 6 ultrasound showed more expressive values regarding the content of polyphenols and antibacterial activity; (percolation 1: 6 and *soxhlet* 1: 6), flavonoid content (*soxhlet* 1:10) and antioxidant activity (percolation ratio 1: 8), but also the best yield for 1: 6 percolation, quantitative characterization of chemical constituents between the extracts analyzed. Chromatographic analysis indicated substances that could be used as analytical and / or active markers for the quality control of extracts. Thus, the study allowed to conclude that the extractive procedure and hydromodule relationship are variables that influence the extractives of the species, and consequently, in the concentration of the chemical constituents, antioxidant activity and antimicrobial activity.

Key words: *Cinnamomum verum*; cinnamon; antioxidant activity; antibacterial activity; chemical characterization.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Estudos de padronização de extratos vegetais	14
2.1.1 Variáveis da extração	17
2.2 <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl (Lauraceae)	19
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Aquisição do material vegetal e identificação botânica	23
4.2 Preparo dos extratos	23
4.3 Análises químicas, físicas e físico-químicas	24
4.3.1 <i>Screening</i> químico.....	24
4.3.2 Determinação do teor de polifenóis totais	24
4.3.3 Determinação do teor de flavonoides	24
4.3.4 Determinação do pH.....	25
4.3.5 Determinação da viscosidade.....	25
4.3.6 Determinação da densidade	25
4.3.7 Análise por cromatografia em camada delgada (CCD).....	25
4.4 Avaliação da atividade antioxidante frente ao radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).....	26
4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana	26
4.6 Análises estatísticas.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28

5.1 Rendimentos dos extratos hidroetanólicos das folhas de <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl.....	28
5.2 Características químicas, físicas e físico-químicas dos extratos hidroetanólicos das folhas de <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl.....	29
5.2.1 Caracterização qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroetanólicos das folhas de <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl	29
5.2.2 Características de pH, densidade e viscosidade	30
5.2.3 Perfil cromatográfico.....	32
5.3 Teor de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante frente ao radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) dos extratos hidroetanólicos das folhas de <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl	34
5.4 Atividade antimicrobiana	35
6 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

01 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais, prática secular alicerçada no conhecimento popular, é fundamentada no acúmulo de informações, que em maioria, são transmitidas verbalmente, por sucessivas gerações de diversos grupos étnicos (SPAGNUOLO; BALDO, 2009; PANIS et al., 2010). Planta medicinal é definida como espécie vegetal, cultivada ou não, que possui substâncias químicas que lhes permitem atividades biológicas e conseqüentemente, efeitos terapêuticos, fato este que justifica seu reconhecimento no Brasil e no mundo (BRASIL, 2014; MESSIAS et al., 2015).

A fitoterapia é a ciência que estuda as plantas medicinais e suas aplicações nos tratamentos de morbidades, seja na prevenção, alívio ou cura das doenças, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal (BRASIL, 2006; CAMPOS et al., 2016). A fitoterapia alicerça a prática segura e eficaz dos bioprodutos de origem vegetal ao usuário, no que diz respeito a promoção do seu uso racional e também, a reprodutibilidade e constância de sua qualidade (BUENO et al., 2016).

No Brasil, muitos fatores contribuem para que a fitoterapia seja uma alternativa terapêutica crescente, tais como: a flora rica e diversificada, a tradição popular desta prática, a percepção errônea da ausência de efeitos colaterais e contraindicações, o alto custo dos medicamentos sintéticos e consultas médicas, a relativa facilidade para aquisição das plantas, principalmente aos que residem em localidades consideradas de difícil acesso as unidades básicas de saúde, como as populações tradicionais, tais como indígenas, ribeirinhas, extrativistas e produtores rurais (MESSIAS et al., 2015; MENEGUELLI et al., 2017; RODRIGUES et al., 2017).

O comércio de plantas e seus produtos como prática alternativa e/ou complementar com fins terapêuticos é crescente. Nesse sentido, manter a qualidade do material vegetal, investigar os efeitos farmacológicos, toxicológicos e aplicar metodologias de controle microbiológico são indispensáveis para o cumprimento da qualidade, segurança e eficácia dos bioprodutos (ARRAIS, 2008; SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010; SILVEIRA; BANDEIRA; BOCHNER et al., 2012).

Estudos locais de Farmacovigilância em Fitoterapia têm comprovado a má qualidade de drogas vegetais disponibilizadas no comércio informal do município de São Luís, estado do Maranhão, constatando condições precárias do comércio de drogas vegetais e preparações derivadas, com elevado índice de contaminação por bactérias e fungos proibidos pela legislação vigente. Situação preocupante, pois expõe o consumidor à utilização de material

vegetal impróprio ao consumo, evidenciando a necessidade de atuação efetiva das autoridades sanitárias competentes (BRITO et al., 2016; GONÇALVES, 2016; BATALHA JÚNIOR, 2017; GONDIM, 2019).

Nesse segmento de investigação da qualidade de drogas vegetais medicinais e suas preparações comercializadas em São Luís, estudos locais também têm comprovado que a comercialização de espécies vegetais para fins medicinais e seus derivados em estabelecimentos farmacêuticos (farmácias e drogarias) não é totalmente segura, visto que mesmo com as exigências legais que devem disciplinar a comercialização de produtos medicinais em estabelecimento comercial de saúde, inclusive com a exigência da presença de profissionais tecnicamente qualificados, não há garantia da oferta de produtos com certificação de qualidade (BRITO et al., 2016; GONÇALVES, 2016; BATALHA JÚNIOR, 2017; GONDIM, 2019).

Nesse sentido, para a obtenção de fitoterápicos qualificados é indispensável à definição de parâmetros para padronização e uniformidade do material utilizado, que pode ser fundamentada em análise química de constituintes ou metabólitos secundários, representando assim, critério de avaliação de integridade fundamental no controle de qualidade, bem como para a constância dos efeitos terapêuticos e segurança do usuário (CUNHA et al., 2009; KLEIN et al., 2009; NÓBREGA, 2012; GARCIA, 2015; BRITO et al., 2016).

Assim, os estudos de validação das metodologias analíticas, com ênfase aos estudos de padronização, devem ser incentivados, pois permitem a confirmação da eficácia farmacológica e da ausência de toxicidade da planta; assegurando, assim, a confiabilidade dos resultados que possibilitam transformar as plantas medicinais em produtos fitoterápicos (KLEIN et al., 2009; NEIVA et al., 2011; SILVA, 2018).

Nessa perspectiva, o Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) tem desenvolvido estudos de padronização de espécies vegetais amplamente utilizadas para fins terapêuticos, com destaque: *Anacardium occidentale* L. (caju), *Averrhoa carambola* L. (carambola), *Hancornia speciosa* Gomes (mangaba), *Chenopodium ambrosioides* L. (mastruz), *Eleutherine plicata* Herb. (coquinho), *Jacaranda decurrens* Cham. (carobinha), *Orbignya phalerata* Mart. (babaçu), *Passiflora edulis* Sims (maracujazeiro) e *Psidium guajava* L. (goiaba) (MENEZES, 2013; FERREIRA, 2015; NEIVA et al., 2014; SILVA, 2018).

Diante do exposto, em continuidade à linha de pesquisa do Grupo de Produtos Naturais da UFMA, esse trabalho propõe desenvolver estudo de padronização dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl, sinônimo científica: *Cinnamomum*

zeylanicum Blume (Lauraceae), conhecida popularmente como canela, com ênfase aos parâmetros químicos, físicos, físico-químicos e biológico *in vitro*.

Os estudos de padronização dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum*, espécie vegetal de grande ocorrência e representatividade cultural no estado do Maranhão, podem definir variáveis que influenciam na qualidade dos extrativos, logo na eficácia e segurança terapêutica dos produtos derivados desses extratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estudos de padronização de extratos vegetais

O uso de produtos medicinais a base de plantas é prática comum na terapêutica, devido à crença popular de que esses recursos podem prevenir, aliviar ou curar enfermidades. Desse modo, sua utilização deve ser feita de maneira consciente, previamente validada, isto é, com ação terapêutica comprovada e toxicidade potencial avaliada, assim como seu controle de qualidade realizado, visto que, o emprego de material vegetal de má qualidade representa ineficiência das ações, riscos e perigos reais ao consumidor (NEIVA et al., 2014; ENDERLE et al., 2018).

A Organização Mundial de Saúde (OMS, 2002) reconhece a utilização desta prática, dada a facilidade do acesso a esses recursos, possibilitando diminuir os custos dos programas de saúde pública, constituindo importante recurso na Atenção Básica em Saúde no Brasil (AGRA et al., 2008; VEIGA JÚNIOR, 2008; MACHADO, 2014).

Constatando os riscos e, ainda, visando promover a recuperação e manutenção da saúde, o governo brasileiro tem adotado políticas públicas norteadoras e determinantes para a introdução do uso de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS), com destaque para a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006a), a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006b) e o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (BRASIL, 2009), que além de promoverem a educação continuada dos profissionais da saúde e união do saber popular ao saber técnico, ampliam o acesso seguro da população a esta opção terapêutica (TELESI JÚNIOR, 2016; BORGES;SALES, 2018).

Na perspectiva de regulamentar a comercialização das matérias-primas vegetais e/ou suas preparações, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicou a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 26/2014, dispondo sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos,

incluindo ainda, a definição de alguns termos, dentre eles: droga vegetal, fitoterápico, medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico (BRASIL,2014).

Droga vegetal corresponde a planta medicinal, ou suas partes, que contenham as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta/colheita, estabilização, quando aplicável, e secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada. Fitoterápico, produto obtido de matéria-prima ativa vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico; medicamento fitoterápico traduz-se pela confirmação de sua segurança e eficácia baseados em evidências clínicas e o produto tradicional fitoterápico por sua segurança e efetividade baseadas em dados de uso seguro e efetivo publicados na literatura técnico-científica (BRASIL,2014).

Com os adventos científicos, essa prática milenar cedeu espaço aos medicamentos sintéticos, porém, a “onda verde” dos naturalistas com seu auge na década de 80, aliado aos efeitos adversos e alto custo para aquisição, favoreceram o retorno do exercício da Fitoterapia como uma alternativa “natural” aos medicamentos sintéticos com sua frequente lista de efeitos indesejáveis (ANDRADE, 2018).

O Brasil tem a maior biodiversidade do mundo, apesar disso, o desenvolvimento e a produção de medicamentos fitoterápicos em todas as suas fases é muito pequena, não gerando inovações de forma continuada, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente. O processo de Pesquisa & Desenvolvimento (P & D) de novos fármacos a partir de espécies vegetais envolve estudos etnodirigidos, botânicos, agrônômicos, químicos, biológicos (farmacologia e toxicologia pré-clínica e clínica) e farmacêutico (desenvolvimento de metodologia analítica de controle de qualidade e produção tecnológica (ALVES, 2013; SIMÕES et al., 2017; ENDERLE et al., 2018).

De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17/2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF), a indústria farmacêutica é responsável por zelar pela qualidade de seus medicamentos, garantindo segurança e eficácia, o que inclui também rigor com a matéria prima utilizada (BRASIL, 2010; CASTRO; ALBIERO, 2016).

Dentre as barreiras que corroboram para os baixos investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P & D) e consolidação da Fitoterapia como oferta terapêutica, merece destaque: carência de estudos com as espécies vegetais nativas, insuficientes investimentos da iniciativa privada e principalmente, a falta de estudos de padronização dos fitoterápicos (SOUSA et al.,2017).

A padronização de fitomedicamentos é um pré-requisito para a garantia da qualidade, com reprodutibilidade e constância dos efeitos terapêuticos. Para garantir a uniformidade é necessária a manutenção da estabilidade química da matéria-prima vegetal em todas as etapas operacionais, avaliada pela integridade química das substâncias ativas e controle da atividade biológica (TOLEDO et al., 2003; LAPA et al., 2010; KLEIN et al., 2010).

Para tal, a produção de fitoterápicos requer, necessariamente, o desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para padronização das preparações. Assim, o desenvolvimento e validação de metodologia analítica capaz de quantificar os marcadores analíticos e/ou ativos envolvidos na padronização, aliado ao posterior estudo de estabilidade e condições adequadas de armazenamento, garantem condições para avaliar a manutenção e a reprodutibilidade da qualidade do fitoterápico (BRASIL, 2005; KLEIN et al., 2010).

Dessa forma, os estudos de validação devem direcionar esforços e recursos nos estudos de padronização, principalmente dos extratos vegetais, visto que estes representam as preparações mais frequentemente empregadas nas formulações fitoterápicas, envolvendo várias etapas operacionais com diversas variáveis, que podem alterar a estabilidade dos constituintes químicos e, conseqüentemente, a atividade terapêutica desejada (LAPA et al., 2010; NEIVA et al., 2011; SILVA et al., 2018).

A biossíntese dos metabólitos secundários, os quais são responsáveis pela atividade biológica da espécie vegetal alvo da investigação, pode sofrer variação qualitativa e/ou quantitativa de constituintes químicos relacionada a diversos fatores como a sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano, temperatura, altitude, idade e desenvolvimento da espécie, radiação ultravioleta, nutrientes, poluição atmosférica e ação de patógenos; ocasionando, assim, perda de integridade do material vegetal, com conseqüente perda e/ou alteração da atividade biológica esperada (MARTINS, 2005; GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Vale enfatizar que a composição química pode ser alterada, ainda, pelas tecnologias operacionais e potencial genético; influenciando, assim, na concentração de constituintes químicos no material vegetal e, conseqüentemente, no valor terapêutico das preparações derivadas ou fitoterápicos (KLEIN et al., 2010; MIGLIATO et al., 2011). Assim, os estudos de padronização representam parâmetros de avaliação de integridade necessário no controle de qualidade de matérias-primas vegetais, devendo ser estimulados (SIMÕES et al., 2017).

Os estudos químicos ou fitoquímicos para padronização compreendem etapas de avaliação qualitativa e quantitativa de constituintes ou metabólitos secundários, isolamento e elucidção estrutural dos princípios ativos ou substâncias responsáveis pela ação biológica,

empregando métodos químicos, físicos e/ou físico-químicos envolvendo técnicas de caracterização, métodos cromatográficos, espectrometria de massas, espectroscopia no ultravioleta, no visível e no infravermelho; bem como a ressonância magnética nuclear (RMN) de próton e carbono 13 (WAGNER; BLADT, 1996; COLLINS et al., 1997; MATOS, 1997; SILVERSTEIN et al., 2002; SILVA, 2018).

2.1.1 Variáveis da extração

Algumas substâncias químicas são características de uma determinada espécie vegetal, servindo como parâmetros para sua caracterização e identificação, porém, deve-se destacar a importância da validação das metodologias utilizadas na extração, pois durante esse processo, diversas variáveis podem alterar os constituintes (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MIGLIATO et al., 2011).

Incontestavelmente, a extração é uma das etapas mais importante do processo de desenvolvimento do fitoterápico. Migliato et al. (2011) recomendam o planejamento fatorial nos estudos para desenvolvimento de padronização de soluções extrativas, enfatizando a definição das variáveis que influenciam na extração, já que essa representa a etapa fundamental na obtenção de fitoterápicos, pois garante a separação de substâncias de interesse da matriz complexa e conseqüentemente, otimiza todo o processo empregando modelos estatísticos que permitem assegurar resultados confiáveis (USLU et al., 2013).

Dentre as variáveis que podem influenciar na extração, destacam-se: granulometria, solvente, temperatura, potencial hidrogeniônico (pH), pressão, tempo de contato, agitação do sistema e método de extração (MIGLIATO et al., 2011; USLU et al., 2013).

A escolha da granulometria está diretamente relacionada à eficiência extrativa, tendo em vista que o tamanho da partícula é o parâmetro que determina a superfície de contato disponível para a interação com o solvente, influenciando assim em propriedades importantes como a solubilidade e fluidez do produto. Vale enfatizar ainda que, as estruturas teciduais dos diversos vegetais possuem densidades diferentes, assim, a redução de partículas para tamanho homogêneo permite maior penetrabilidade no material, devido ao aumento da superfície de contato (MIGLIATO et al., 2011; SIMÕES et al., 2017).

O solvente a ser utilizado deve ser o mais seletivo possível, sendo sua polaridade determinada pelos grupos de constituintes químicos que se deseja extrair. Assim, compostos fenólicos apresentam caráter polar, tendo como solventes mais eficientes para a extração destes compostos as misturas hidroalcoólicas, preparadas com metanol e etanol, sendo este

último mais seguro e de baixa toxicidade. O volume empregado de solvente na extração define o hidromódulo (relação droga: solvente), podendo influenciar no processo, sendo a quantidade de solvente dependente ao equilíbrio de gradiente de concentração no meio (PRISTA et al., 2002; NORIEGA et al., 2005; CAVALHEIRO, 2013; OLIVEIRA, 2015).

As técnicas de extração e a natureza do solvente extrator afetam diretamente nos rendimentos extrativos e no teor de metabólitos presentes, devendo ser considerado na escolha do método, a eficiência, a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade dos meios e o custo do processo escolhido, considerando a finalidade do extrato que se quer preparar (OLIVEIRA et al., 2016).

Os métodos extrativos para obtenção de extratos vegetais incluem maceração e suas variações, infusão, percolação e suas variações, decocção, extração contínua quente (aparelho de *Soxhlet*), extração em contracorrente, extração assistida por micro-ondas, ultrassom, fluido supercrítico e turbólise. Sendo a maceração, a percolação e a extração por aparelho de *Soxhlet*, referidas como as mais utilizadas (PRISTA et al., 2002; CAVALHEIRO, 2013; OLIVEIRA et al., 2016).

A maceração consiste na extração da matéria-prima vegetal em recipiente fechado, em temperatura ambiente, estando a droga e o solvente em contato íntimo durante um período prolongado (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator. A maceração não esgota a matéria prima vegetal, seja devida, a saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio durante o processo de difusão entre o meio extrator e o interior da célula (NAVARRO, 2005; SIMÕES et al., 2017).

A maceração assistida por ultrassom, uma variante da maceração, apesar de ser considerada um método não convencional, vem demonstrando eficiência na extração de compostos bioativos. O ultrassom é definido como o conjunto de ondas eletromagnéticas com frequência superior a 20 kHz, a extração por ultrassom usa a alta potência que produz cavitação acústica conduzindo à desestruturação celular e tecidual; permitindo, assim, o contato imediato dos componentes com o solvente. Vantagens como menor consumo de reagentes, economia de energia e tempos de extração são frequentemente observadas em comparação aos outros métodos (CAVALHEIRO, 2013; SIMÕES et al., 2017).

A percolação é uma operação caracterizada pela utilização de utensílios especiais, os percoladores, sendo indicada para extração de substâncias pouco solúveis ou presentes em pequenas quantidades. Ao contrário da maceração, é um processo dinâmico, onde o solvente é renovado continuamente, pois o líquido extrator flui em movimento descendente, levando ao esgotamento da planta através do gotejamento lento do material vegetal, permitindo soluções

extrativas mais concentradas, com tempo relativamente reduzido e economia de solvente (NÓBREGA, 2012).

A extração por aparelho de *Soxhlet* é um método muito utilizado na extração de substâncias orgânicas. O sistema é contínuo, promove a ebulição e condensação do solvente para realizar a extração, gerando assim, a constante renovação do líquido extrator até o esgotamento do material vegetal. No entanto, a elevada temperatura do solvente pode afetar substâncias termo sensíveis (NÓBREGA, 2012; CAVALHEIRO, 2013; FELIZARDO 2017).

A eficiência das soluções extrativas está relacionada a muitos fatores, como a escolha do solvente e o método extrativo para cada substância que se deseja extrair, a conservação das preparações e economia dos insumos e processos. Considerando-se também, que o maior tempo de contato entre a droga-solvente eleva a extração, pois permite um maior fluxo de difusão do solvente através da parede celular da droga. A agitação da solução diminui o tempo de extração, devido ao aumento da superfície de contato droga-solvente nas zonas de concentração. A elevação da temperatura nas preparações extrativas melhora a solubilidade das substâncias, diminui a viscosidade do solvente e aumenta a velocidade de difusão (MIGLIATO et al., 2011; SIMÕES et al., 2017).

2.2 *Cinnamomum verum* J. S. Presl.(Lauraceae)

Cinnamomum verum J. S. Presl., pertence a família: Lauraceae, tem como sinonímia científica *Cinnamomum zeylanicum* Blume. O gênero *Cinnamomum* é constituído por aproximadamente 350 espécies, muitas das quais são produtoras de óleo essencial, o valor comercial deste depende da espécie e da parte da planta utilizada, sendo os óleos obtidos das cascas e folhas de *Cinnamomum verum*, *Cinnamomum cassia* e *Cinnamomum camphora*, os mais importantes no mercado mundial (LIMA et al., 2005; MENDES, 2011).

Cinnamomum verum (figura 1) é conhecida por diversos nomes populares, dentre os quais: canela, canela da Índia, canela da China, canela do Ceilão, canela verdadeira, canela de cheiro, canela da Índia, canela de tubo e canela rainha (LIMA et al., 2005).

A caneleira é uma árvore originária do Sri Lanka (antigo Ceilão), conhecida há mais de 2500 anos a.C. pelos chineses, foi introduzida no Brasil pelos jesuítas e é aclimada em várias regiões tropicais do mundo. A parte interna da casca do tronco e dos ramos constitui a canela do comércio, com uso mundial na perfumaria e na culinária, devido suas propriedades aromáticas e condimentares, além de ter vasta utilização na medicina popular (VINITHA; BALLAL, 2008; DIAS, 2009).



Figura 1. Exemplo de *Cinnamomum verum* J. S. Presl.

Fonte: N Parks Flora & FaunaWeb.

A canela é uma árvore aromática de ciclo perene, que atinge entre 6 a 12 metros de altura e seu tronco cerca de 35 cm de diâmetro. A casca apresenta uma espessura de até 12 milímetros e coloração marrom avermelhada; as folhas são coriáceas, lanceoladas, com nervuras na base, brilhantes e lisas na parte superior e verde-clara, e finamente reticulada na parte inferior; seu fruto é roxo, e mede apenas um centímetro, sendo assim capaz de elaborar somente uma semente; as flores são numerosas e pequenas, de coloração amarelada ou esverdeada agrupadas em cachos ramificados, sua floração ocorre nos meses de setembro, outubro e novembro (VINITHA; BALLAL, 2008; REIS, 2012).

Cinnamomum verum teve boa adaptação em regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o litoral nordestino brasileiro, sobretudo, no Maranhão; pois seu cultivo em regiões sujeitas a geadas intensas é incompatível, com desenvolvimento a pleno sol. Essa árvore requer solos de fertilidade mediana a alta, com boa drenagem, profundos e com bom teor de matéria orgânica, em média requer cerca de 1.300 mm de chuva por ano e temperatura média anual superior a 21°C (WANSI et al.; 2007; LI et al., 2015).

A espécie é utilizada na culinária, na fabricação de bebidas, medicamentos, perfumes e sabonetes. Seu aproveitamento é bastante amplo, praticamente utilizando toda parte aérea do vegetal. As folhas são utilizadas para a extração de óleos essenciais, e a casca dos ramos, parte muito valorizada, é comercializada em rama (pau), raspas e em pó (MENDES,2011).

O potencial farmacológico das folhas e cascas de *Cinnamomum verum* é incontestável, sendo considerada planta multifacetada, a canela tem sido alvo de pesquisas devido a sua vasta utilização na medicina popular, fundamentada nas propriedades: antioxidantes, anticâncer, gastrointestinais, anti-inflamatórias, analgésicas, antidiabéticas, antimicrobianas, sedativas, vasodilatadoras e afrodisíacas (HARIRI; GHIASVAND, 2016; FELIZARDO 2017; JIMÉNEZ et al., 2018). Recentemente, estudos exploraram as atividades farmacológicas da canela na doença de Alzheimer, diabetes, artrite e arteriosclerose (RAO; GAN, 2014).

Estudo realizado por Reis (2012) confirmou toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial das folhas de *Cinnamomum verum* frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata*, vetor da esquistossomose, doença endêmica que afeta áreas com saneamento básico precário. A atividade moluscicida do óleo apresentou valor de concentração letal 50% (CL₅₀) de 18,62 mg/L ± 2,18, sendo considerado moderadamente tóxico, com CL₅₀ de 162,1 mg/L ± 2,80.

Cinnamomum verum apresenta uma grande diversidade em sua composição química: ácido cinâmico, açúcares, aldeído benzênico, aldeído cinâmico, aldeído cumínico, benzonato de benzil, cimeno, cineol, eugenol, felandreno, furool, linalol, metilacetona, mucilagem, oxalato de cálcio, pineno, resina, tanino e vanilina (DIAS, 2009). No entanto, essas substâncias dizem respeito a trabalhos realizados com o óleo essencial, sendo raros os estudos que padronizem o extrato bruto da espécie (WANSI et al., 2007; VINITHA; BALLAL, 2008; LI et al., 2015; ELHAG et al., 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver estudo de padronização dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum*; visando o desenvolvimento de tecnologia farmacêutica na obtenção de novas alternativas e/ou complementos terapêuticos, possibilitando definição de parâmetros para obtenção de fitoterápico.

3.2 Objetivos específicos

Analisar parâmetros químicos, físico-químicos e biológicos *in vitro* nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por planejamento fatorial;

Desenvolver e/ou aplicar ensaios qualitativos e quantitativos de caracterização e doseamento dos constituintes químicos nos extratos hidroetanólicos de *Cinnamomum verum*;

Padronizar a obtenção dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* com emprego de parâmetros químicos, físico-químicos e biológico *in vitro* (atividade antibacteriana);

Contribuir nos estudos de desenvolvimento tecnológico de terapêutica alternativa e/ou complementar com base em espécie vegetal de ampla ocorrência nacional.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aquisição do material vegetal e identificação botânica

As amostras das folhas de *Cinnamomum verum* foram obtidas por coleta manual em área de cultivo, no Horto “Berta Langes de Morretes”, Campus Dom Delgado no Bacanga, na cidade de São Luís, estado do Maranhão, segundo as determinações estabelecidas na literatura especializada (OLIVEIRA et al., 1991; VON HERTWIG, 1991; COSTA, 1994; BOTSARIS, 1995). A identificação botânica foi realizada no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), com registro nº 1490.

4.2 Preparo dos extratos

A amostra vegetal foi, em separado, submetida à secagem em temperatura ambiente; seguida de trituração em moinho de facas, para obtenção de pó moderadamente grosso (tamanho inferior a 710 µm e superior a 250 µm) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Amostra do material seco e moído foi extraída, em separado, por procedimentos extrativos a frio (maceração com ultrassom e percolação) e a quente (extração por *Soxhlet*), com etanol a 70%, por período médio de 02 (dois) dias para percolação, 01 (um) dia para a extração por *Soxhlet* e 01 (um) dia para a maceração com ultrassom, utilizando apenas 01 (um) ciclo de 30 minutos.

Nesta etapa do estudo foram definidas como variável dos hidromódulos, as relações de droga/solvente de 1:6, 1:8 e 1:10, determinadas em função da maceração (BARROS NETO, 1995; NORIEGA et al., 2005; MATOS, 2009; SIMÕES et al., 2017).

Após o término das extrações, as soluções foram filtradas, sendo que parte do filtrado foi concentrado em evaporador rotativo, e o restante acondicionado em frascos apropriados e mantidas em refrigeração até a realização dos ensaios (COSTA, 1994; BARROS NETO et al., 1995; NORIEGA et al., 2005; MATOS, 2009; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; SIMÕES et al., 2017).

Parte das soluções extrativas foram reservadas para algumas análises químicas e o restante submetido à concentração sob pressão reduzida em rota evaporador. Todos os extratos obtidos foram submetidos a determinação do rendimento (COSTA, 1994; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; SIMÕES et al., 2017).

Assim, para esse estudo de padronização foram definidas como variáveis dependentes: rendimento, composição química qualitativa e quantitativa, pH, viscosidade, densidade, atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro*; e como variáveis independentes: procedimento extrativo (maceração com ultrassom, percolação e extração em aparelho de *Soxhlet*) e relação de hidromódulo (1:6, 1:8, 1:10).

4.3 Análises químicas, físicas e físico-químicas

4.3.1 *Screening* químico

Os extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por planejamento fatorial (procedimento extrativo e relação de hidromódulo) foram submetidos a métodos de avaliação qualitativos e semi-quantitativos dos constituintes químicos (COSTA, 1994; FALKENBERG et al., 2004; MATOS, 2009).

4.3.2 Determinação do teor de polifenóis totais

As concentrações de polifenóis totais foram obtidas utilizando 100 µL da solução do extrato (2 mg/mL), 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu (Merck) e 1,0 mL da solução de carbonato de sódio a 20%, por duas horas em temperatura ambiente ao abrigo da luz. Concentrações de ácido gálico (Merck) foram utilizadas como padrão. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS (Lambda 35, Perkin Elmer) a 760 nm e os resultados expressos em porcentagem de ácido gálico (WOISKY; SALATINO 1998; CHAILLOU et al., 2004; ABREU et al., 2006).

4.3.3 Determinação do teor de flavonoides

As concentrações de flavonoides totais foram obtidas com 500 µL da solução do extrato (2 mg/mL) e 500 µL de solução metanólica de cloreto de alumínio a 5%, por 30 minutos, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Concentrações conhecidas de quercetina (Merck) foram utilizadas como padrão. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS (Lambda 35, Perkin Elmer) a 425 nm e os resultados expressos em porcentagem de quercetina (WOISKY; SALATINO 1998; CHAILLOU et al., 2004; ABREU et al., 2006; DUTRA et al., 2008).

4.3.4 Determinação do pH

A análise foi realizada logo após o processo de filtração em todos os extratos hidroetanólicos, com emprego de pHmetro digital. Foi avaliada a diferença de potencial entre dois eletrodos imersos nas amostras em estudo (BRASIL, 2004). O eletrodo foi inserido diretamente na dispersão aquosa (DAVIS; BURBAGE, 1997; ISAAC et al., 2008; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010) e valores mantidos entre 5,5 e 6,5, compatíveis com o pH cutâneo, foram usados como critério (ISAAC et al., 2008).

4.3.5 Determinação da viscosidade

Por meio do viscosímetro digital, o teste foi realizado com os extratos hidroetanólicos obtidos por planejamento fatorial logo após o processo de filtração. A viscosidade foi medida pela força necessária para girar o *spindle* no líquido que está sendo testado. A amostra foi adicionada no recipiente coletor do aparelho até a marca desejada, sendo definido o *spindle* e a rotação a serem testadas; em seguida foi imerso o *spindle* na amostra a ser analisada e depois de estabilizado, o valor fora no display em mPa.s. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

4.3.6 Determinação da densidade

A densidade relativa é a relação entre a densidade absoluta da amostra e a densidade absoluta de uma substância usada como padrão. Nesse estudo a substância padrão utilizada foi a água, a densidade determinada foi a densidade específica (BRASIL, 2007). A densidade específica foi determinada em picnômetro, acoplado com termômetro, previamente pesado vazio, para determinação da mPv. A amostra foi inserida no picnômetro e a temperatura foi ajustada para 20°C, quando, então, o picnômetro foi pesado, para determinação da mPa. A diferença entre a massa do picnômetro com a amostra e do picnômetro vazio é a massa da amostra. A relação entre a massa da amostra e a massa da água, ambas a 20°C, representaram a densidade específica da amostra analisada (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

4.3.7 Análise por cromatografia em camada delgada (CCD)

Para a realização da cromatografia em camada delgada, alíquotas de 10 µL da solução etanólica de cada amostra (1 mg/mL) foram aplicadas em placas de sílica gel F₂₅₄, sendo utilizado como eluente: éter de petróleo/éter etílico/ácido acético (80:20:1), segundo Elhaget

al. (2005), com modificações. As amostras foram analisadas sob luz UV365; análise qualitativa e quantitativa foi fundamentada no valor de R_f (índice de retenção), na coloração e intensidade relativa (int. rel.) entre os extratos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

4.4 Avaliação da atividade antioxidante frente ao radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)

Os extratos das folhas de *Cinnamomum verum* foram submetidos ao método fotocolorimétrico *in vitro* utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, Sigma) segundo Brand-Willians et al. (1995) e Molyneux (2004), com modificações. As amostras foram diluídas em diferentes concentrações em etanol P.A (5 a 100 µg/mL), em seguida adicionados à solução metabólica de DPPH (40 µg/mL). Após 30 min de reação em temperatura ambiente ao abrigo da luz, a absorbância de cada solução foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (Lambda 35, PerkinElmer) a 517 nm. Padrões de ácido gálico, elágico e ascórbico serão usados como controle positivo, nas mesmas condições das amostras.

A percentagem de descoloração do radical DPPH foi obtida com a equação: Atividade antioxidante (%) = [(ADPPH – Aamostra) / ADPPH] x 100. Onde ADPPH é a absorbância do DPPH (controle negativo) e Aamostra é a absorbância do radical na presença dos extratos ou dos padrões.

Os resultados foram expressos como valores de CE50 (concentração efetiva 50%), concentração do extrato que causa a perda de 50% da atividade do DPPH (BRAND – WILLIAMS et al., 1995; MOLYNEUX, 2004).

4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana

Para os bioensaios da atividade antimicrobiana foram empregadas cepas oriundas do Laboratório de Microbiologia Clínica – Departamento de Farmácia/UFMA. Foram utilizados microrganismos padrão (*American Type Culture Collection - ATCC*) de bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e Gram-negativa, *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Para avaliar a atividade antibacteriana foi utilizada a técnica da microdiluição segundo a metodologia da diluição em caldo proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Em placas de 96 poços estéreis foram colocados, em cada poço, 150 µL de

caldo *Mueller Hinton*, 150 μ L do extrato a ser testado seguido de diluições seriadas e 5 μ L da suspensão bacteriana, levados à estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, após o período de incubação foi adicionado o revelador de crescimento microbiano, resazurina a 0,1%, com posterior leitura após 4 horas de incubação (PALOMINO et al., 2002; ARAÚJO; LONGO, 2016).

Foram utilizadas placas com o meio de crescimento de cada microrganismo específico, onde foi retirada uma alçada de cada diluição até a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e semeada nas placas com o ágar com o meio de crescimento específico de cada microrganismo para se verificar a Concentração Bactericida Mínima (CBM), que é a menor concentração que inibe pelo menos 99,9% do crescimento bacteriano. Todos os testes foram realizados em triplicata; como controle positivo, foi utilizado Cloranfenicol e como controle negativo, caldo *Mueller Hinton* (NAKANO, 2011).

4.6 Análises estatísticas

Os resultados das análises para padronização dos extratos selecionados foram expressos em média \pm desvio padrão ($X \pm SD$), ou média \pm erro padrão ($X \pm SEM$). Foi empregado análise de variância (ANOVA), seguida do teste Tukey-Kramer ou Kruskal-Wallis. O nível de significância foi pré-estabelecido em 5% ($p < 0,05$). Todos os dados foram analisados pelo Programa *GraphPadPrism* versão 5.0 (*GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA*).

05 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimentos dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl

Os dados da figura 2 indicam que o extrato hidroetanólico de *Cinnamomum verum* obtido por percolação no hidromódulo 1:10, apresentou melhor rendimento, evidenciando que o método extrativo e o hidromódulo interferem no teor de resíduos sólidos (TRABULSI FILHO et al., 2013).

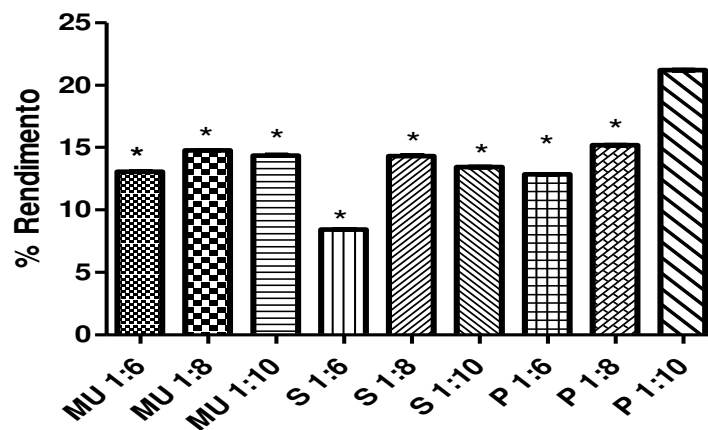


Figura 2. Rendimento (%) dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10. * indica diferença significativa em relação a P 1:10 ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey- Kramer.

Embora a literatura enfatize como vantagens da extração em aparelho de *Soxhlet* a rentabilidade do procedimento, possibilitando uma extração altamente eficiente, empregando uma quantidade reduzida de solvente, em comparação com as quantidades necessárias nos outros processos extrativos (PRISTA et al., 2002; SIMÕES et al., 2017), os resultados desse estudo evidenciam que os extratos obtidos em aparelho de *Soxhlet* obtiveram rendimentos inferiores ao obtidos por percolação. Esse melhor rendimento pode ser explicado pela dinâmica do processo, pois na percolação o líquido extrator é renovado constantemente levando ao esgotamento da planta (SIMÕES et al., 2017).

5.2 Características químicas, físicas e físico-químicas dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl

5.2.1 Caracterização qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl

Os resultados da prospecção química nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos nos ensaios de avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos, apresentam resultados positivos para alcalóides, compostos fenólicos, saponinas, taninos condensados, esteroides, flavononóis, catequinas e flavononas; sendo demonstrados resultados negativos para cumarinas, taninos hidrolisáveis, triterpenos, antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas e leucoantocianidinas (tabela 1).

Estudos químicos realizados com extratos brutos das folhas de *Cinnamomum verum* demonstraram presença vasta de metabólitos secundários: açúcares redutores, fenóis, taninos, esteroides, triterpenóides, alcaloides, antraquinonas, saponinas espumídica e flavonoides (MAZIMBA et al., 2015; GOMES; PENA; ALMEIDA, 2016). Resultados compatíveis aos obtidos nesse trabalho, comprovando a presença de alcalóides, saponinas, taninos condensados, esteróides e flavonóides.

As alterações nas concentrações semi-qualitativas dos compostos fenólicos, saponinas, taninos condensados, esteroides e catequinas (tabela 1) comprovam a influência dos procedimentos extrativo e relações de hidromódulo na extração desses constituintes químicos.

Tabela 1. Caracterização qualitativa e semiquantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por percolação, extração em aparelho de *Soxhlet* e maceração assistida por ultrassom com diferentes relações de hidromódulo.

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	MÉTODO DE EXTRAÇÃO/RELAÇÃO DE HIDROMÓDULO								
	MU 1:6	MU 1:8	MU 1:10	S 1:6	S 1:8	S 1:10	P 1:6	P 1:8	P 1:10
alcaloides	+	+	+	+	+	+	+	+	+
compostos fenólicos	+	+	+	+	+	+	++	++	++
cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
saponinas	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++
taninos condensados	+	+	+	+	+	+	++	++	++
taninos hidrolisáveis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
esteroides	+	+	+	+++	+++	+++	+	+	+
triterpenos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
antocianinas e antocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
chalconas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
flavononois	++	++	++	++	++	++	++	++	++
leucoantocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
catequinas	+	+	+	+++	++	++	+++	++	++
flavononas	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação qualitativa e semi-quantitativa de constituintes químicos realizados em triplicata nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10.+++ resultado fortemente positivo; ++ resultado moderadamente positivo; + resultado fracamente positivo; - resultado negativo.

5.2.2 Características de pH, densidade e viscosidade

A tabela 2 apresenta os valores de pH, densidade e viscosidade dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum*.

O pH é importante parâmetro no processo de padronização das soluções extrativas e na estabilidade dos componentes das formulações farmacêuticas (CARDOSO, 2013; CAMELO, 2010; LUBI; SATO; GAENSLY, 2003). Os valores de pH desse estudo demonstram caráter

ácido para os extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum*; a presença de compostos ácidos como polifenóis, referidos no estudo de Zanardo, Rambo e Schwanke (2014), pode justificar essa característica. Os valores de pH dos extratos testados não demonstraram diferenças significativas entre si.

Tabela 2. Valores de pH, densidade (g/mL) e viscosidade (mPa.s) dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por percolação, extração em aparelho de *Soxhlet* e maceração assistida por ultrassom em diferentes relações de hidromódulo.

EXTRATOS*	pH	Densidade	Viscosidade
MU 1:6	5,0	0,90 ^a	75 ^b
MU 1:8	5,5	0,89 ^a	74,76
MU 1:10	5,3	0,90 ^a	75 ^b
S 1:6	5,5	0,91 ^a	75 ^b
S 1:8	5,3	0,91 ^a	75 ^b
S 1:10	5,0	0,90 ^a	75 ^b
P 1:6	5,3	0,90 ^a	74,76
P 1:8	5,5	0,90 ^a	74,70
P 1:10	5,4	0,88	74,71

* Extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10. ^a indica diferença significativa em relação a P 1:10 ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey- Kramer; ^b indica diferença significativa em relação a P 1:8 ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey- Kramer.

Os valores de densidade dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* variaram de 0,88 a 0,91 g/mL (tabela 2), logo, dentro da normalidade, já que a literatura estabelece valores de 0,87 a 0,98 g/mL, como normais após o processo de extração de plantas medicinais (PRISTA et al., 1990; FONSECA, 2009).

Quanto à viscosidade dos extratos de *Cinnamomum verum*, as extrações obtidas em aparelho de *Soxhlet* (S 1:6, S 1:8, S 1:10) e maceração com ultrassom (MU 1:6, MU 1:10), demonstraram serem mais viscosas que as demais; apresentaram, ainda, diferenças significativas em relação a P 1:8; demonstrando, assim, que os procedimentos extrativos e as relações de hidromódulo interferem na viscosidade dos extratos em estudo.

5.2.3 Perfil cromatográfico

A figura 3 e tabela 3 apresentam os resultados dos cromatogramas obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD), valores de R_f (razão entre a distância percorrida pela substância e a distância percorrida pela fase móvel), coloração e intensidade relativa das manchas reveladas dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo.

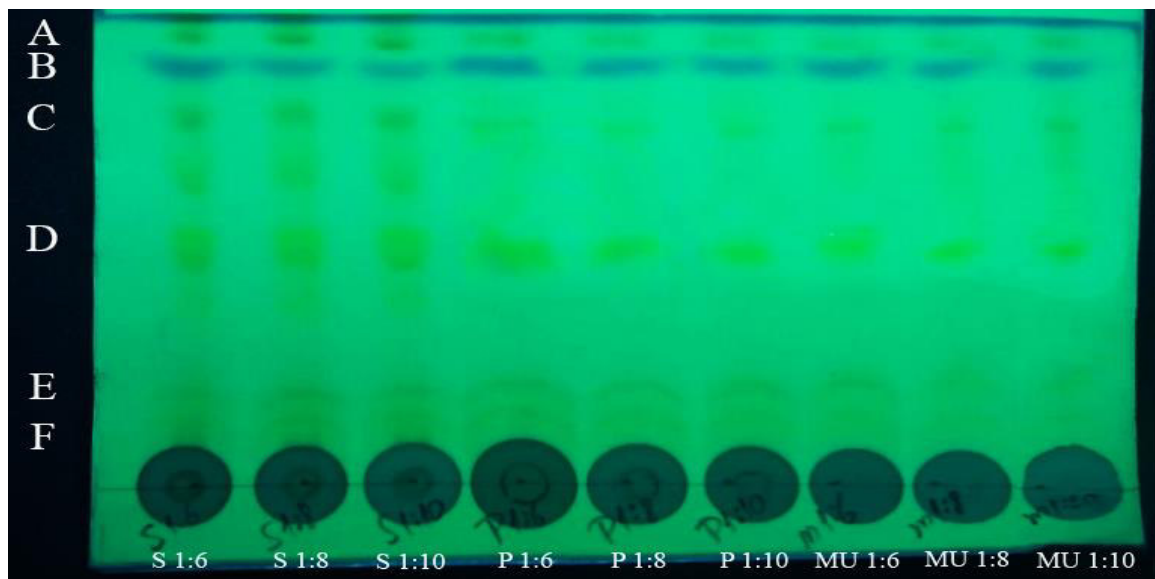


Figura 3. Cromatograma obtidos por cromatografia em camada delgada dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10. Alíquota de 10 μ L; Fase móvel: éter de petróleo/éter etílico/ácido acético (80:20:1); Fase estacionária: Sílica gel 60 F254 – MERCK; Revelador: luz UV365.

Tabela 3. Valores de fator de retenção (R_f), colorações e intensidade relativa das manchas reveladas no cromatograma obtido por cromatografia em camada delgada dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por percolação, extração em aparelho de *Soxhlet* e maceração assistida por ultrassom em diferentes relações de hidromódulo.

EXTRATOS	MANCHAS REVELADAS / CRITÉRIOS DE ANÁLISES					
	A	B	C	D	E	F
	R_f / Int. Rel.	R_f / Int. Rel.	R_f / Int. Rel.	R_f / Int. Rel.	R_f / Int. Rel.	R_f / Int. Rel.
MU 1:6	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
MU 1:8	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
MU 1:10	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
S 1:6	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
S 1:8	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
S 1:10	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
P 1:6	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
P 1:8	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T
P 1:10	0,948/+	0,896/+++	0,862/+	0,655/++	0,189/T	0,138/T

Extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10. T=traços; + = fracamente positivo; ++ = moderadamente positivo e +++ = fortemente positivo.

A análise dos cromatogramas dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por planejamento fatorial permite evidenciarmos a presença de 06 (seis) substâncias em todas as amostras, sendo 03 (três) de alta polaridade ($R_f = 0,948$; $R_f = 0,896$ e $R_f = 0,862$), 01 (uma) de média polaridade ($R_f = 0,655$) e 02 (duas) mais apolar ($R_f = 0,189$; $R_f = 0,138$). A substância com $R_f=0,896$ apresenta intensidade da mancha mais expressiva em todos os extratos, passível de utilização como marcador analítico e/ou ativo para os extratos dessa espécie vegetal.

5.3 Teor de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante (DPPH) dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl

A avaliação quantitativa de polifenóis totais, flavonoides e atividade antioxidante dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por planejamento fatorial demonstraram variação em função do processo extrativo e relação de hidromódulo empregados (tabela 4).

Tabela 4. Polifenóis totais (mgGA)/g, flavonoides (mgQE)/g e atividade antioxidante por DDPH (CE₅₀) nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por percolação, extração em aparelho de *Soxhlet* e maceração assistida por ultrassom em diferentes relações de hidromódulo.

EXTRATO	POLIFENÓIS TOTAIS (mgGA)/g	FLAVONOIDES (mgQE)/g	DPPH (CE ₅₀) (µg/mL)
MU 1:6	257,947 ± 0,388 ^a	55,456 ± 0,154 ^b	2,78 ± 0,13 ^c
MU 1:8	222,748 ± 6,581 ^a	44,374 ± 1,742 ^b	2,97 ± 0,31 ^c
MU 1:10	195,776 ± 5,999 ^a	53,275 ± 1,701 ^b	2,70 ± 0,01 ^c
S 1:6	173,130 ± 6,674	68,807 ± 0,539 ^b	2,98 ± 0,01 ^c
S 1:8	207,990 ± 7,339 ^a	58,615 ± 1,211 ^b	2,75 ± 0,02 ^c
S 1:10	204,173 ± 18,173 ^a	83,760 ± 0,053	2,63 ± 0,05 ^c
P 1:6	201,204 ± 0,777 ^a	56,880 ± 0,908 ^b	2,76 ± 0,05 ^c
P 1:8	210,110 ± 2,072 ^a	78,598 ± 0,582 ^b	2,27 ± 0,19
P 1:10	224,020 ± 1,166 ^a	50,649 ± 0,770 ^b	2,92 ± 0,01 ^c

Extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10. ^aindica diferenças significativas em relação à S 1:6 (polifenóis totais) (p≤0,05), ANOVA seguido de Tukey- Kramer; ^b indica diferenças significativas em relação à S 1:10 (flavonoides) (p≤0,05), ANOVA seguido de Tukey- Kramer. ^cindica diferenças significativas em relação à P 1:8 (DDPH) (p≤0,05), ANOVA seguido de Tukey-Kramer. Ácido gálico (controle positivo): CE₅₀: 1,5 µg/mL.

Teor mais expressivo para fenóis foi constatado no extrato MU 1:6 ($257,947 \pm 0,388$ mg EAG/g). Em relação ao teor de flavonoides o extrato S 1:10 apresentou melhor resultado ($83,760 \pm 0,053$ mg EQ/g).

Estudo realizado por Prasad et al. (2009) com extrato etanólico das folhas de *Cinnamomum verum* revelou teores de polifenóis e flavonoides inferior aos obtidos nesse estudo. Essa diferença quantitativa pode ser justificada pela qualidade da matéria prima vegetal, que sofre influência de sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano, temperatura, altitude, idade e desenvolvimento da espécie, radiação ultravioleta, nutrientes, poluição atmosférica e ação de patógenos; e ainda, alterações em função da metodologia e solvente empregados (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SILVA, 2018).

A avaliação da atividade antioxidante demonstrou resultados de CE_{50} mais expressivos para os extratos P 1:8 e S 1:10, necessitando de menores concentrações de extrato para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Esse resultado pode ser justificado pelos significativos teores de polifenóis e, principalmente, aos teores de flavonoides apresentados para esses extratos, visto que, compostos fenólicos estão intimamente associados à atividade antioxidante (GALLO, 2010).

5.4 Atividade antimicrobiana

Os extratos das folhas de *Cinnamomum verum* apresentaram atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, exercendo ação bacteriostática ao inibir a multiplicação desse microrganismo; maiores atividades foram constatadas nos extratos S 1:6, S 1:8, MU 1:6, MU 1:8 e MU 1: 10, ambos apresentando a menor Concentração Inibitória Mínima (CIM) (12,5 mg/mL) em relação aos extratos S 1:10, P 1:6, P 1:8 e P 1:10 com concentração de 25 mg/mL. Os extratos de *Cinnamomum verum* não demonstraram atividade bactericida para os microorganismos testados (tabela 5).

Tabela 5. Atividade antimicrobiana (mg/mL) dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por percolação, extração em aparelho de *Soxhlet* e maceração assistida por ultrassom em diferentes relações de hidromódulo.

EXTRATOS	MICRORGANISMOS/ CONTROLE NEGATIVO					
	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. aureus</i> ATCC 25923		CONTROLE (-)	
	CIM *	CBM **	CIM*	CBM **	CIM*	CBM **
MU 1:6	--	--	12,5	--	--	--
MU 1:8	--	--	12,5	--	--	--
MU 1:10	--	--	12,5	--	--	--
S 1:6	--	--	12,5	--	--	--
S 1:8	--	--	12,5	--	--	--
S 1:10	--	--	25	--	--	--
P 1:6	--	--	25	--	--	--
P 1:8	--	--	25	--	--	--
P 1:10	--	--	25	--	--	--

Extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. MU 1:6: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:6; MU 1:8: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:8; MU 1:10: maceração com ultrassom no hidromódulo de 1:10; S 1:6: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:6; S 1:8: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:8; S 1:10: extração em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo de 1:10; P 1:6: percolação no hidromódulo de 1:6; P 1:8: percolação no hidromódulo de 1:8; P 1:10: percolação no hidromódulo de 1:10. *E. coli* ATCC 25922 indica *Escherichia coli*; *S. aureus* ATCC 25923 indica *Staphylococcus aureus*; * indica Concentração Inibitória Mínima; ** indica Concentração Bactericida Mínima do extrato em mg/mL, com uma concentração inicial de 100 mg/mL; controle (-) indica controle negativo. Controle negativo: água/ DMSO 0,5%; Controle positivo: Clorafenicol: 0,02 mg/mL.

Embora os resultados deste trabalho não tenham demonstrado atividade para *Escherichia coli*, estudo realizado por Mazimba et al. (2015), utilizando extratos metanólicos das folhas de *Cinnamomum verum*, identificou atividade inibitória para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*; reafirmando assim, a influência do solvente extrator e, no presente trabalho, a variação quantitativa da CIM em função do processo extrativo e relação de hidromódulo empregados.

A atividade dos óleos e extratos de canela contra uma variedade de patógenos, incluindo fungos, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é bem estabelecida, dada presença de metabólitos secundários, tais como: polifenóis, terpenoides, alcaloides, lectinas, polipéptideos e poliacetilenos; conhecidos por serem agentes antimicrobianos; nos estudos com óleos essenciais a atividade antibacteriana se deve principalmente à presença de compostos fenólicos, como o cinamaldeído e o eugenol (NABAVI et al., 2015).

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no estudo de padronização dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum*, visando definição da influência das variáveis independentes (procedimento extrativo e relação de hidromódulo) no rendimento, composição química qualitativa e quantitativa, pH, viscosidade, densidade, atividade antioxidante e antibacteriana, demonstraram que:

- a) o extrato hidroetanólico obtido por Percolação 1:10 apresentou melhor rendimento;
- b) os ensaios de caracterização qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos dos extratos indicaram resultados mais expressivos nos extratos obtidos por Percolação 1:6 e em aparelho de *Soxhlet* 1:6;
- c) o procedimento extrativo não influenciou no pH e os valores de densidade encontraram-se dentro da faixa de normalidade;
- d) o extrato hidroetanólico obtido por Maceração com ultrassom 1:6 apresentou maior concentração de polifenóis; enquanto o extrato obtido em aparelho de *Soxhlet* 1:10 apresentou maior concentração de Flavonoides;
- e) o extrato obtido por Percolação 1:8 apresentou atividade antioxidante *in vitro* mais intensa identificada nesse estudo;
- f) os extratos obtidos por Maceração com ultrassom (1:6, 1:8 e 1:10) e em aparelho de *Soxhlet* (1:6 e 1:8) apresentaram maior atividade antibacteriana *in vitro*;
- g) As análises cromatográficas permitiram detectar substâncias que podem servir de marcadores analíticos e/ou ativos para os extratos, ocorrendo semelhanças nas manchas reveladas obtidos pelos procedimentos empregados.

Em conjunto, comprovou-se que o extrato obtido por Maceração com ultrassom 1:6 demonstrou resultados mais expressivos quanto ao teor de polifenóis e atividade antimicrobiana *in vitro*; comprovando que procedimento extrativo e relação de hidromódulo influenciam na obtenção dos extratos da espécie em estudo, o que deve estimular a continuidade dos estudos de padronização da espécie.

REFERÊNCIAS

- ABREU, B. V. B.; DUTRA, R. P.; BATISTA, M. C. A.; AZEVEDO, C. C.; NOGUEIRA, A. L. C.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. Quantificação de polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith. coletado no Cerrado maranhense. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 8, p. 18-24, 2006.
- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p. 472-508, 2008.
- ALVES, L. F. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. **Revista Virtual Química**, v. 5, n. 3, p. 450-513, 2013.
- ANDRADE, N. C. M. S.; PONTES, E. D. S.; ALVES, M. E. F.; SOUZA, M. L. A.; SILVA, E. C. A.; DANTAS, C. M. G.; COSTA, T. A. M.; SILVA, E. C. A. Regulamentação e Consumo de Fitoterápicos no Brasil como Prática Complementar de Saúde. **International Journal of Nutrology**, v. 11, n. S 01, p. 674, 2018.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, vol. 1, 5. ed. Brasília, 2010.
- ARAÚJO, M. M.; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Pharmacology / Scientific Article**, São Paulo, v. 83, n. 7, p.1-7, 2016.
- BARROS, L. M.; CRISÓSTOMO, J. R. Melhoramento Genético do Cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P. e SILVA, V.V. Caju cultura: Modernas Técnicas de Produção. **EMBRAPA\CNPAT**, Fortaleza, p.73-96, 1995.
- BATALHA JÚNIOR, N. J. P. FARMACOVIGILÂNCIA EM FITOTERAPIA: comercialização de fitoterápicos para perda de peso e controle de qualidade de produtos à base de folhas de *Camellia sinensis* L. adquiridas em farmácias de São Luís, Maranhão. Monografia (Curso de Farmácia) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís – MA, 2017.
- BOCHNER, R.; FISZON, J. T.; ASSIS, M. A.; AVELAR, K. E. S. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, vol. 14, n. 3, p. 537-547, 2012.
- BORGES, F. V.; SALES, M. D. C. Políticas públicas de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: sua história no sistema de saúde. **Revista Pensar Acadêmico**, v. 16, n. 1, p. 13-27, 2018.
- BOTSARIS, S.A. **Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras**. São Paulo: Ícone, 550p. 1995.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, vol. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de Cosméticos. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. **Guia para a realização de estudos de estabilidade**. Brasília, DF: DOU, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 02 de 13 de maio de 2014. **Publica a “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado” e a “Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado”**. DOU, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 5813 de 22 de junho de 2006. **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências**. Brasília, DF: DOU, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria ANVISA-MS nº 971, de 03 de maio de 2006. **Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde**. Brasília, DF: DOU, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 17, de 16 de Abril de 2010. **Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos**. Brasília, DF: DOU 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos**. Brasília, DF: DOU, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF: DOU, 2009.

BRITO, M. C. A.; GODINHO, J. W. L. S. FERREIRA, T. T. D.; LUZ, T. R. S. A.; LEITE, J. A. C.; MORAES, D. F. C.; AMARAL, F. M. M. Trade and quality control of medicinal plants in Brazil. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, vol. 8, n. 10, p. 32-39, 2016.

BUENO, M. J. A.; BUENO, J. C.; MARTÍNEZ, B. B. **Manual de plantas medicinais e fitoterápicos: utilizados na cicatrização de feridas**. Universidade do Vale do Sapucaí, Porto Alegre, 2016.

CAMELO, S. R. P. Estudos de pré-formulação e formulação de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2010.

CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; ALMEIDA, V. L. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1 supl I, p. 373-382, 2016.

CARDOSO, N. Q. Desenvolvimento tecnológico de extratos vegetais padronizados a partir de *Lafoensia pacari* A. St. - Hill (Lythraceae). 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Faculdade de farmácia, programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

CAVALHEIRO, C. V. Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europaea* L. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria- RS, 2013.

CHAILLOU, L. L.; HERRERA, H. A.; MAIDANA, J. F. Estudo de própolis de Santiago Del Estero, Argentina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 11-15, 2004.

COLLINS, C.; BRAGA, G.; BONATO, P. **Introdução aos métodos cromatográficos**. 7.ed. Campinas: Ed. UNICAMP. 279 p, 1997.

COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. II. p.1023, 1994.

CUNHA, M. S.; DUTRAS, R. P.; BATISTA, M. C. A. B.; ABREU, B. V. B. A.; SANTOS, J. R.; NEIVA, V. A.; AMARAL, F. M. M.; RIBEIRO, M. N. S. Padronização de extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba). **Cadernos de Pesquisa**, v. 16, n. 3, 2019.

DAVIS, S.S., BURBAGE, A.S. Electron micrography of waterin-oil-in-water emulsions. **J Colloid Interface Sci**, vol. 62, p. 361-363, 1997.

DIAS, V. L. Fitodisponibilidade de metais, caracterização nutricional, constituição química, avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da *Cinnamomum zeylanicum* Breyn. 2009. 115 p. Tese (Doutorado em Química) -Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB, 2009.

DUTRA. R. P.; NOGUEIRA. A. M. C; MARQUES, R. R. O.; COSTA, M. C. P.; RIBEIRO, M. N. S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) em municípios da Baixada maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18 p.557-562, 2008.

ELHAG, D. E.; OSMAN, Z.; OMER, H.; AYOUB, S. M. H.; MOHAMMED, W. J. A. Chemical composition, antimicrobial activities and TLC profile of different bark extracts of *Cinnamomum zeylanicum*. **The Pharma Innovation Journal**, v. 3, n. 12, p. 50-53, 2015.

ENDERLE, D. C.; PAVAN, E. O.; COSTTETI, G. A.; HICKMANN, S.; CARVALHO, A. C. G.; GHELLER, A. C. G. V. Controle de qualidade do fitoterápico (*Passiflora incarnata* L.). **FACIDER-Revista Científica**, n. 11, 2018.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução a fitoquímica experimental. In: SIMÕES, C.O.M.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**.5.ed. rev. ampl. Primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, p.163-17, 2004.

FELIZARDO, V. A. Extração e análise do óleo de *Cinnamomum cassia* Presl (canela). 37 f. Monografia (Licenciatura em Química) –Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA. Ariquemes – RO, 2017.

FERREIRA, T. T. D. Padronização de extratos de *Averrhoa carambola* L. no desenvolvimento de fitoterápicos. Monografia (Curso de Farmácia) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís – MA, 2015.

FONSECA, F. C. Desenvolvimento tecnológico de fitoproduto a partir de *Justicia pectoralis* – chambá: obtenção do extrato seco padronizado (CLAE – DAD) e avaliação farmacológica. 130f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

GALLO, M.; FERRACANE, R.; GRAZIANI, G.; RITIENI, A.; FOGLIANO, V. Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices. **Molecules**, v. 15, n. 9, p. 6365-6374, 2010

GARCIA, M. L. Extrato padronizado de *Rosmarinus officinalis* L.(Lamiaceae) na supressão da brusone foliar em arroz. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2015.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, v: 30, No.2, p. 374-381, 2007.

GOMES, E. M. C.; PENA, R. C. M.; ALMEIDA, S. S. M. S. Composição fitoquímica e ação fungicida de extratos brutos de *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Quambalaria eucalypti*. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 6, n. 4, p. 54-58, 2016.

GONDIM, R. S. D. FARMACOVIGILÂNCIA EM FITOTERAPIA: qualidade de drogas vegetais e fitoterápicos empregados em doenças do aparelho digestivo em São Luís, Maranhão, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís – MA, 2019.

GONÇALVES, M. C. FARMACOVIGILÂNCIA EM FITOTERAPIA: comércio e controle de produtos vegetais adquiridos em estabelecimentos farmacêuticos no município de São Luís, estado do Maranhão.117 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís- MA, 2016.

HARIRI, M.; GHIASVAND, R. *Cinnamon* and chronic diseases. In: **Drug Discovery from Mother Nature**. Springer, Cham, p. 1-24, 2016.

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.29, n.1, p.81-96, 2008.

JIMÉNEZ, E. G.; SANDOVAL, A. P.; BOLAÑOS, L. M.; GAXIOLA, J. A. S.; GONZÁLEZ, F. G. Efecto de aceites naturales contra *Mycosphaerella fijiensis* en condiciones in vitro y detección de fitoquímicos activos. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 36, n. 1,

p. 141-150, 2018.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M. L.; MELLO, J. C. P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista Ciência Farmacológica Básica e Aplicada**, v. 30, n.3, p. 241-248, 2009.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LIMA, T. C. M. Farmacologia e Toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C.O.M.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2010.

LI, Y.; KONG, D.; LIN, X.; XIE, Z.; BAI, M.; HUANG, S.; NIAN, H.; WU, H. Quality evaluation for essential oil of *Cinnamomum verum* leaves at different growth stages based on GC-MS, FTIR and microscopy. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 202-212, 2015.

LIMA, M. P.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, T. M. D.; FERNANDES, C. S. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Revista Acta Amazônica**, v. 35 (3): 363 – 366, 2005.

LUBI, N. C., SATO, M. E. O., GAENSLY, F. Desenvolvimento de forma farmacêutica líquida de uso oral, isenta de substâncias glicogênicas, com extrato fluido de *Mikania glomerata* Sprengel - Asteraceae (guaco). **Revista Brasileira Farmacognosia**. 13, 43-46, 2013.

MACHADO, R. D. **Desenvolvimento tecnológico e caracterização de extratos vegetais obtidos a partir das raízes de *Piper umbellatum* L. (Piperaceae)**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3.ed. rev. e atual. Fortaleza: EUFC, 220 p., 1997.

MAZIMBA, O.; WALE, K.; KWAPE, T. E.; MIHIGO, S. O.; KOKENGO, B. M. *Cinnamomum verum*: Ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, n. 3, p. 28-32, 2015.

MENDES, L. S. S. Estudo químico e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do óleo essencial das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela). 71 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís-MA, 2011.

MENEGUELLI, A.Z.; RIBEIRO, S.B.; LIMA-JUNIOR, G. A.; SPIROTTTO, E. O.; SOUZA, J.H.G. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos na saúde pública brasileira. **Revista Enfermagem e Saúde Coletiva-REVESC**, v. 1, n. 1, 2017.

MENEZES, V. J. M. Padronização de extrativos bioativos e identificação de compostos de *Jacaranda decurrens* Cham. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís-MA, 2013.

MESSIAS, M. C. T. B.; MENEGATTO, M. F.; PRADO, A. C. C.; SANTOS B.R.; GUIMARÃES, M.F.M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil, 2015.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**. v. 26, p. 211–219, 2004.

NAKANO, V. Antimicrobianos Teste de Susceptibilidade. Universidade de São Paulo – USP. 2011. Disponível em: <<http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/arquivos/Aulas/antimicrobianos.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2018.

NABAVI, S. F.; DI LORENZO, A.; IZADI, M.; SOBARZO-SÁNCHEZ, E.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. M. Antibacterial effects of cinnamon: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7729-7748, 2015.

NAVARRO, D. F. **Estudo químico, biológico e farmacológico das espécies *Allamanda blanchettii* e *Allamanda schottii* na obtenção de moléculas bioativas de potencial terapêutico**. 293f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

NEIVA, V. A.; RIBEIRO, M. N. S.; CARTAGENES, M. S. S.; COUTINHO-MORAES, D.F.; NASCIMENTO, F. R.; REIS, A. S.; AMARAL, F. M. M. Estudos pré-clínicos de atividade giardicida de *Chenopodium ambrosioides* L. e a padronização dos extratos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos. **Revista de Ciências da Saúde** (São Luís), v.13, n.2, p. 155-165, 2011.

NEIVA, V. A.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; CARTAGENES, M. S. S.; COUTINHO, D. F.M; AMARAL, F. M. M. Plant species used in giardiasis treatment: ethnopharmacology and in vitro evaluation of anti-Giardia activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.24, n.2, p. 215-224, 2014.

NÓBREGA, A. B. Padronização de extratos de eugenia florida DC. E seu estudo toxicológico para o desenvolvimento de um fitoterápico ou Fitofármaco. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) –Farmácia da Universidade Federal Fluminense. Niterói-RJ, 2012.

NORIEGA, P.; RÖPKE, C. D.; CAMILO, C. M.; FREITAS, P. C. D.; BARROS, S. B. M. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (L). Miq. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, p. 261-269, 2005.

NParks Flora & FaunaWeb. Jardim Botânico de Cingapura. Disponível em: <<https://florafaunaweb.nparks.gov.sg/Special-Pages/plant-detail.aspx?id=2807>>. Acesso em: 10 Mar. 2019

OLIVEIRA, A. I. T.; MAHMOUD, T. S.; NASCIMENTO, G. N. L.; SILVA, J. F. M.; PIMENTA, R. S.; MORAIS, P. B. Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Palm Leaf Extracts from Babaçu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), and Macaúba (*Acrocomia aculeata*). **The Scientific World Journal**, v. 2016, 5p, 2016.

OLIVEIRA, F. D. E; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo-Atheneu, 1991.

OLIVEIRA, F. G. S. **Influência do método extrativo sobre a produção de compostos fenólicos em *Hymenaea martiana* (Fabaceae) e controle de qualidade da droga vegetal**. 208 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina- PE, 2015.

OMS. **Organización Mundial de la Salud**. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Genebra: Organización Mundial de la Salud; 2002.

PALOMINO, J. C; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PANIS, C.; SPANHOL, K. T.; PEREIRA, M.; MANCHINI, I.; BRAGA, L. B. Caracterização do uso popular de plantas medicinais em Londrina, Paraná, Brasil. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 22, n. 7/8, p. 14-19, 2010.

PRASAD, K. N.; YANG, B.; DONG, X.; JIANG, G., ZHANG, H., XIE, H.; JIANG, Y. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 4, p. 627-632, 2009.

PRISTA, L. N., ALVES, A. C., MORGADO, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3a ed, v. II. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian, 1990.

PRISTA, L. V. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 6. ed. Porto Alegre: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

RAO, P. V.; GAN, S. H. *Cinnamon*: a medicinal multifaceted plant. **Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências**, v. 2014, 2014.

REIS, J. B. Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata*. (Say, 1818). 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís-MA, 2012.

RODRIGUES, K. A.; OLIVEIRA, L. S.; RAIMUNDO-NETO, F.; ARAUJO, M. P.; GOMES, D.C.V. O uso de plantas medicinais pela comunidade da zona norte de Teresina–Pi e seus fins terapêuticos. **Revista Interdisciplinar**, v. 10, n. 4, p. 77-81, 2017.

SANTOS, D. S.; SILVA, I. G.; ARAUJO, B. Q.; LOPES JUNIOR, C. A.; MONCAO, N. B.N.; CITÓ, A. M. G. L.; SOUZA, M. H. S. L.; NASCIMENTO, M. D. S. B.; COSTA, M. C. P. Extraction and evaluation of fatty acid composition of *Orbignya phalerata* Martius soils (Arecaceae) from Maranhão State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.24, p.355-362, 2013.

SILVA, E. C. Estudo de padronização de extratos de *Hancornia speciosa* Gomes como alternativa terapêutica para obesidade. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão. São Luís-MA, 2018.

SILVEIRA, P.F da; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.

SILVERSTEIN, R. G.; BRASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Spectro metric identification of organic compounds**. 6. ed. New York: John Wiley and Sons. 419 p., 2002.

SIMÕES C. M. O; SCHENKEL, E. P; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis, Editora Artmed, 2017.

SOUSA, I. J. O.; ARAÚJO, S.; NEGREIROS, P. S.; FRANÇA, A. R. S.; ROSA, G. S.; NEGREIROS, F. S.; GONÇALVES, R. L. G. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. **Revista Uningá Review**, v. 31, n. 1, 2018.

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

SPAGNUOLO, R. S.; BALDO, R. C. S. **Plantas Mediciniais e Seu Uso Caseiro: o Conhecimento Popular**. UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde. 2009; 11(1):31-4.

TELESI JÚNIOR, E. Práticas integrativas e complementares em saúde, uma nova eficácia para o SUS. **Estudos avançados**, v. 30, n. 86, p. 99-112, 2016.

TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v.21, n.1/2, p.7-13, 2003.

TRABULSI FILHO, F. A.; ANDRADE, K. C. S.; SILVA, E. C.; CASTRO, A. T. O.; BATISTA, M. C. A.; RIBEIRO, M. N. S.; AMARAL, F. M. M. Estudo de padronização de extratos de *Anacardium occidentale* L. na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos giardicidas. *Caderno de Pesquisa*, São Luís, v. 20, p 7-15, 2013.

USLU, M. E.; ERDOGAN, I.; BAYRAKTAR, O.; ATEŞ, M. Optimization of extraction conditions for active components in Equisetum arvense extract. **Romanian Biotechnological Letters**, v.18, n.2, p. 8115-8131, 2013.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. vol. 18 nº2. 308-313, Abr./Jun, 2008.

VINITHA, M.; BALLAL, M. *In vitro* anticandidal activity of *Cinnamomum verum*. **Journal of Medical Sciences**, v. 8, n. 4, p. 425-428, 2008.

VON HERTWIG, I. F. Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem e comercialização. 2.ed. São Paulo: Ícone, 414 p., 1991.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2. ed. Berlin: Springer, 384 p., 1996.

WANSI, S. L.; NYADJEU, P.; NGAMGA, D.; MBUYO, E. P. N.; NGUELEFACK, T. B.; KAMANYIA. Blood pressure lowering effect of the ethanol extract from the stem bark of *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) in rats. *Pharmacol online*, v. 3, p. 166-176, 2007.

WOISKY, R. G; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

ZANARDO, V. P. S; RAMBO, D. F.; SCHWANKE, C. H. A. Canela (*cinnamomum sp*) e seu efeito nos componentes da síndrome metabólica. **Perspectiva, Erechim**. v. 38, Edição Especial, p. 39-48, 2014.