

Artigo

Avaliação farmacognóstica de *Vernonia cognata* Less. – Astera-ceae, adulterante do nó-de-cachorro (*Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. – Malpighiaceae)

Marcelo de Souza Pinto¹, Maria Cristina Marcucci Ribeiro², Sérgio de Mendonça³, Luis Carlos Marques^{4*}

¹ Universidade Anhanguera de São Paulo, Mestrado Profissional em Farmácia. Rua Maria Cândida 1813, Vila Guilherme, CEP 02071-002, São Paulo – SP; marcelo.souza@grupobioclean.com.br

² Universidade Estadual Paulista, Instituto de Ciência e Tecnologia, Câmpus de São José dos Campos - Av. Eng. Francisco José Longo, 777, Jardim São Dimas - São José dos Campos/SP - CEP 12245-000; cris.marcucci@yahoo.com.br

³ Faculdade Anhanguera de Guarulhos, Av. Papa Pio XII 291 - CEP 07113-000, Guarulhos – SP; sergio.de.mendonca@gmail.com

⁴ Fitoscience Ensino (MEI), Rua Barão do Triunfo 763, CEP 04602-003, São Paulo – SP

* Correspondência: luis.marques1957@gmail.com; Tel.: (11)984473053

Resumo: O nome nó-de-cachorro refere-se principalmente às raízes de *Heteropterys aphrodisiaca*, espécie com efeitos positivos principalmente sobre a cognição. No entanto, o que se encontra comercialmente com essa denominação são órgãos subterrâneos de *Vernonia cognata* (nome atual *Chrysolaena cognata*), espécie ainda pouco estudada. Em vista disso, realizou-se a caracterização farmacognóstica e avaliação biológica preliminar dos órgãos subterrâneos de *C. cognata* como contribuição ao seu controle de qualidade e conhecimento científico. Tratam-se de tubérculos cilíndricos, aglomerados, tortuosos, de pontas arredondadas, dos quais partem raízes finas; em termos organolépticos, os tubérculos mostram súber liso, de coloração marrom acinzentada quando secos, parte interna amarelo clara, sabor adocicado e sem odor característico. Na microscopia destacam-se tricomas tec-tores unicelulares lisos no súber, agrupamento de células pétreas no córtex e ausência de cristais ou grãos de amido. Os tubérculos apresentam saponinas, esteroides/triterpenos e taninos hidrolisáveis e, em termos quantitativos, índice de espuma menor que 100 e 0,04% de polifenóis totais. A CE₅₀ da atividade antioxidante foi determinada em 66,58 µg/mL e a atividade antimicrobiana foi positiva na inibição de crescimento de fungos e bactérias Gram-positivas e negativas. A avaliação farmacológica preliminar de extrato hidroalcolico 50% não evidenciou nenhuma alteração dos parâmetros avaliados (ataxia, ptose, salivação dentre outros) e não ocorreu mortalidade em nenhum dos grupos e doses, estimando-se as DL₅₀ como superiores a 2.000 mg/Kg (intraperitoneal) e a 5.000 mg/Kg (oral). Confirma-se serem os tubérculos de *C. cognata* adulterantes das raízes de *H. aphrodisiaca*, com baixa toxicidade e pouco expressivo potencial farmacológico.

Palavras-chave: *Vernonia cognata*; *Chrysolaena cognata*; nó-de-cachorro; farmacognosia; controle de qualidade

Editores: Carlos Henrique Salvino
e João Augusto Oshiro Junior

Recebido: 29/01/2025

Revisado: 10/03/2025

Aceito: 29/03/2025

Publicado: 30/03/2025

Copyright: © 2025 by the authors.
Submitted for possible open access
publication under the terms and con-
ditions of the Creative Commons At-
tribution (CC BY) license ([https://cre-
ativecommons.org/licenses/by/4.0/](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)).

1. Introdução

O consumo de produtos derivados de plantas é uma realidade em todo o mundo, com impacto significativo tanto no aspecto terapêutico quanto econômico, com comercialização de matérias primas vegetais e produtos acabados [1].

O Brasil possui uma ampla biodiversidade, com aproximadamente 55 mil espécies de plantas superiores catalogadas, muitas delas importantes à fitoterapia como *Maytenus*

ilicifolia, *Mikania glomerata*, *Pfaffia glomerata*, dentre outras. Apesar disso, as inovações à base de espécies nativas têm sido pouco expressivas, sendo os fitoterápicos mais vendidos no mercado brasileiro produzidos a partir de espécies exóticas, como *Passiflora incarnata*, *Pelargonium sidoides*, *Peumus boldus*, *Hedera helix*, dentre outras; os motivos para essa situação são diversos, como os relacionados à legislação de acesso à biodiversidade, à complexidade e aos custos da cadeia de desenvolvimento, dificuldades na relação universidades e empresas, dentre outros [2].

Avaliações diversas têm mostrado que, infelizmente, há inúmeros problemas de qualidade nos produtos e matérias primas vegetais ofertados no Brasil, situação que tem persistido ao longo dos anos [3]. Um dos motivos dessa situação é a falta de monografias das matérias primas ofertadas comercialmente, sendo esta uma etapa básica e fundamental [4], que vem sendo menosprezada no Brasil.

Nesse contexto de problemas de qualidade, elaborou-se projeto de pesquisa junto ao Programa de Mestrado Profissional em Farmácia da Universidade Anhanguera de São Paulo [5] voltado à avaliação de alguns dos casos citados na literatura [6], visando-se conferir a identidade de algumas das espécies comercializadas e estabelecer-se parâmetros de qualidade dessas matérias primas.

Foram priorizados nesse projeto produtos comerciais ofertados com os nomes populares de jasmim, João-da-costa e nó-de-cachorro; os resultados obtidos confirmaram que jasmim e João-da-costa, rotulados como oriundos de *Jasminum officinale* L. e de *Echites peltata* L., de fato não correspondiam às essas espécies tratando-se de claros casos de adulteração [7-8]. O terceiro caso incluído no projeto envolveu produtos comerciais a base de órgãos subterrâneos, denominados comercialmente como nó-de-cachorro e com rotulagem indicando o nome científico 'Heteropteris aphrodisiaca'.

As raízes de *Heteropteris aphrodisiaca* O. Mach., cujo nome foi atualizado para *H. tomentosa* A. Juss. [9], correspondem a uma droga vegetal de uso tradicional no Estado do Mato Grosso que tem recebido grande destaque na atualidade. As pesquisas realizadas com essas raízes mostraram presença de compostos polifenólicos, flavonoides, taninos, cardiotônicos, saponinas e nitro compostos, e confirmaram propriedades antioxidantes centrais protetoras de lesões cerebrais em ratos, facilitadoras dos processos cognitivos (melhora e aprendizado em ratos idosos), além de propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais [10]. Houve também um pedido de patente com extrato dessa espécie oriundo de parceria entre a Universidade Federal de São Paulo e o Laboratório Biossintética [11].

No entanto, por ser uma espécie nativa não cultivada cuja parte usada (raízes) destrói o exemplar como um todo e com uma demanda superior à oferta extrativista, houve o estímulo ao surgimento de adulterantes, como já verificado com outras espécies, como a espinheira-santa, a catuaba e a marapuama, dentre outras [3].

A adulteração de *H. tomentosa* com outra espécie foi detectada pela primeira vez pelo grupo de pesquisa que estudava os efeitos de suas raízes [12], obtendo-se amostra florida e a confirmação da identidade do material adulterante como sendo oriundo de *Vernonia cognata* Less. – Asteraceae, nome atualizado para *Chrysolaena cognata* (Less.) Dematt. [13].

C. cognata é uma espécie popularmente chamada como assa-peixe roxo, cambarazinho, mata-pasto, dentre outras denominações [14-15]. É uma planta herbácea, perene, que se reproduz através de sementes e também por reprodução vegetativa por meio de brotação de gemas do órgão subterrâneo. Essa espécie é ereta, de até 1 m de altura, sublenhosa, pouco ramificada, caule densamente sedoso-pubescente e apresentando folhas até o ápice; as folhas são alternas, não apresentam pecíolo, quase glabras na face superior e densamente sedoso-pubescentes na inferior. Apresenta inflorescências terminais, numerosos capítulos sésseis ou curto-pedunculados, dispostos em panículas amplas; as flores são vilóceas e em número de 10-20 por capítulo [14-16].

Em relação aos órgãos subterrâneos, a literatura traz classificações distintas sobre eles, ora citando-os como rizóforos, xilopódios, rizomas ou tubérculos; adota-se neste trabalho a classificação de Santos [17] que descreve os órgãos subterrâneos de *C. cognata*

como tubérculos por serem sistemas subterrâneos de orientação horizontal em relação ao solo, de formatos variados, com várias estruturas tuberosas fundidas, apresentando gemas laterais, raízes na parte inferior e ramos aéreos na parte superior.

Quanto à sua distribuição, *C. cognata* é encontrada do Rio Grande do Sul até o Mato Grosso, Minas Gerais e Goiás, sendo considerada uma planta daninha, com presença frequente em pastagens, terrenos baldios e beira de estradas [14]. Essa ampla ocorrência em biomas diversos deve ter contribuído à sua seleção como espécie adulterante em relação à *H. tomentosa*, de ocorrência restrita ao cerrado [9].

Sobre efeitos terapêuticos, há pouca informação sobre *C. cognata*, destacando-se os estudos de Petri *et al.* [15] indicando efeito imunossupressor e ausência de toxicidade sobre fígado, rins e baço, e os de Mahlke *et al.* [18] e de Mota *et al.* [19] mostrando efeito antioxidante e de atenuação de agressão oxidativa em teste de úlcera gástrica induzida por etanol. Nesses estudos, porém, foram empregadas as folhas e não as partes subterrâneas.

Apesar da verificação da comercialização fraudulenta de *C. cognata* no lugar de *H. tomentosa* divulgada no ano de 1996 [12], nada mudou em termos de mercado constituindo-se, ainda nos dias de hoje [20], uma falsificação grosseira muito comum que traz riscos e malefícios aos consumidores.

Em vista disso, realizou-se este estudo objetivando aprofundar o conhecimento farmacognóstico e farmacológico preliminar de *C. cognata* visando contribuir ao seu controle de qualidade, avaliar toxicologia aguda, melhorar o nível de conhecimento científico da espécie e auxiliar na identificação de adulterações.

2. Resultados e discussão

2.1 Obtenção do material botânico e identificação

A amostra botânica foi coletada no campus da Universidade de São Paulo, na cidade de São Paulo, e identificada pelo botânico especialista Dr. Benoit Loeuille, do Herbário do Instituto de Biociências da USP, que emitiu laudo e incorporou o material no acervo da instituição (coleta Loeuille & Souza Pinto nº 601 SPF – Figura S1). O registro desse acesso no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi realizado, gerando-se o número de cadastro AE98E07.

As amostras comerciais foram obtidas de quatro fontes (Figura 1), sendo três de casas de produtos naturais (A, B, C) e uma de vendedor ambulante (raizeiro - D) também de São Paulo - capital, adquiridas em embalagens lacradas e rotuladas como ‘*H. aphrodisiaca*’ ou sem identificação (raizeiro).



Figura 1. Fotos dos produtos comerciais adquiridos para estudo.

A identificação das amostras comerciais, feita por uma cromatografia em camada delgada (CCD) comparativa entre a amostra botanicamente identificada (A) e uma alíquota oriundas dos lotes comprados (B), confirmou serem oriundas da espécie *C. cognata* tendo em vista o perfil cromatográfico similar entre os lotes e o padrão botânico, com manchas mais destacadas com fatores de retenção (R_fs) de 0,47 e 0,77 (Figura 2). Confirma-se, portanto, o achado anterior de Marques *et al.* [12] quanto à adulteração em questão.

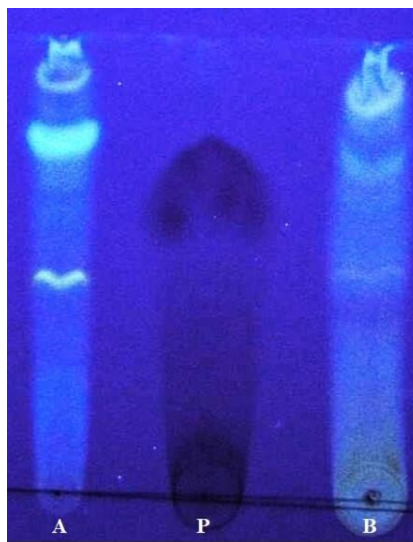


Figura 2. Perfis de CCD de extrato aquoso dos tubérculos da amostra coletada e identificada botanicamente (A) e uma alíquota das amostras comerciais (B); tanino gálico usado como padrão de referência (P).

2.2 Caracterização farmacognóstica da droga vegetal

Os materiais estudados correspondem a tubérculos cilíndricos, aglomerados, tortuosos, de pontas arredondadas, com tamanhos que variam entre 3,5 e 9,0 cm de comprimento e 1,0 a 4,0 cm de espessura, dos quais partem raízes finas com comprimento médio de 8 cm e espessura média de 4 mm; os tubérculos apresentam cicatrizes anelares proveniente de caules e raízes (Figura 3). Em termos organolépticos, os tubérculos mostram súber liso, de coloração marrom acinzentada quando secos, parte interna amarelo clara, sabor adocicado e sem odor característico.



Figura 3. Órgãos subterrâneos de *C. cognata* (tubérculos e raízes) de amostra coletada (esquerda) e comercial (direita).

A análise microscópica mostra presença de periderme fina de cerca de 2-5 camadas de células achatadas; região cortical com cerca de 20 camadas de células parenquimáticas

com grupos de células pétreas (de 2 a 10 células) distribuídas esparsamente; região xilemática ampla, com raios parenquimáticos estreitos e região medular parenquimática reduzida; ausência de grãos de amido ou cristais (Figura 4 – 4.1). No súber verifica-se presença de tricomas tectores unicelulares lisos, de ocorrência rara (Figura 4 - 4.2).

As raízes mostram crescimento primário, com súber de 2-3 camadas, córtex com cerca de 5 camadas de células parenquimáticas e cilindro vascular com estrutura do tipo poliarca; ausência de células pétreas, cristais ou grãos de amido (Figura 4 – 4.3).

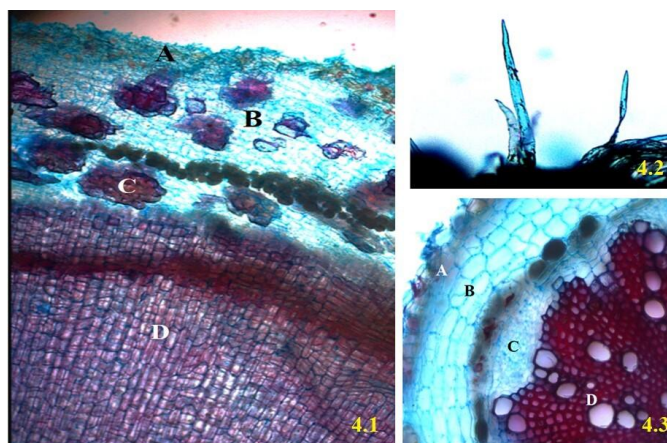


Figura 4. Microscopia dos órgãos subterrâneos de *C. cognata*. 4.1- Tubérculos (A- periderme; B- córtex; C- grupamentos de células pétreas; D- região xilemática (aumento 200 x). 4.2- Tricomas tectores unicelulares lisos no súber dos tubérculos (aumento 400 x). 4.3- Raízes (A- súber; B- córtex; C- floema; D- região xilemática).

Essas características de *C. cognata* são totalmente distintas de *H. tomentosa*, cujas raízes apresentam formatos alongados, cilíndricos, com partes mais espessadas e outras com estreitamentos ('nós'), de súber estriado de coloração marrom escuro, odor intenso e sabor adstringente (Figura S2). Na microscopia não se verificam tricomas nem estruturas esclerificadas tipo células pétreas, como os presentes em *C. cognata*, encontrando-se presença abundante de drusas e cristais prismáticos de oxalato de cálcio [21].

São, portanto, estruturas vegetais totalmente diferentes, não havendo qualquer semelhança que justifique troca comercial não intencional, condição comum a diferentes espécies do mesmo gênero utilizadas na fitoterapia, como ocorre em *Baccharis*, *Bauhinia*, *Equisetum*, *Mikania*, *Passiflora*, *Pfaffia*, *Phyllanthus*, dentre outras [3].

2.3 Testes físico-químicos, fitoquímicos preliminares e doseamentos

Os resultados das avaliações físico-químicas, fitoquímicas preliminares e doseamento de saponinas e polifenóis estão expressos na tabela 1. Esses dados são importantes para caracterizar preliminarmente a droga vegetal e contribuir aos testes de controle de qualidade.

Tabela 1. Resultados físico-químicos, fitoquímicos preliminares e doseamentos da droga vegetal tubérculos de *C. cognata*.

Testes físico-químicos	N	Resultado média ± dp
Perda por dessecação	6	8,5 ± 1,2%
Cinzas totais	6	5,5 ± 0,3%
Cinzas insolúveis em ácido	3	0,8 ± 0,2%

Teor de extrativos (aquoso)	4	34,8 ± 1,0%
Testes fitoquímicos preliminares	N	Resultados
Alcaloides	3	Negativo
Antracênicos	3	Negativo
Cardiotônicos	3	Negativo
Cumarinas	3	Negativo
Esteroides/Triterpenos	3	+
Flavonoides	3	Negativo
Saponinas	3	+
Taninos	3	+
subclasse de hidrolisáveis	3	+
Doseamentos fitoquímicos	N	Resultados média ± dp
Índice de espuma para saponinas	3	< 100 mL/g
Polifenóis totais	3	0,040 ± 0,001%
Polifenóis não adsorventes	3	0,038 ± 0,001%
Polifenóis adsorventes	3	0,002 ± 0,001%

Os parâmetros físico-químicos de *C. cognata* se aproximam dos de *H. tomentosa*, como em perda por dessecação (8,5 versus 11,5% em média), cinzas totais (5,5 vs 4,4%) e cinzas insolúveis (0,8 vs 0,7%) [22]. Portanto a distinção entre essas duas espécies não deve basear-se exclusivamente por esses testes que se mostram similares. Quanto ao teste teor de extrativos a diferença é expressiva, com *C. cognata* apresentando 34,8% de resíduo frente a 44,5% de *H. tomentosa* [21].

Quanto à diferenciação entre as espécies com base nas classes fitoquímicas, destaca-se a presença, em *H. tomentosa*, de flavonoides e cardiotônicos [11], inexistentes em *C. cognata*, enquanto há similaridade na presença de esteroides/triterpenos, saponinas e taninos. Os flavonoides tem sido relatados como os ativos mais importantes em *H. tomentosa* [21], podendo ser focados numa avaliação de distinção entre as duas espécies em questão.

Na parte de dados quantitativos, o índice de espuma é menor que 100 em *C. cognata* e variando de 100 a 250 em *H. tomentosa* conforme as estações do ano [21], novamente valores próximos com base numa metodologia de alta variabilidade. Em relação aos polifenóis totais, a diferença é relevante (*C. cognata* 0,04 vs *H. tomentosa* 8,3%), podendo ser outro ponto de destaque para a diferenciação da espécie adulterante frente à clássica.

2.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi verificada pelo consumo do radical difenilpicrilidrazila (DPPH•) numa reação de oxido-redução, e o gráfico da figura 5 mostra a cinética da descoloração desse reagente. Essa atividade, expressa em CE₅₀ (concentração que elimina 50% dos radicais livres), indica o quão antioxidante é a amostra, isto é quanto menor o valor da CE₅₀ mais ativa é a amostra.

Obteve-se uma CE₅₀ de 66,58 µg/mL para extrato de *C. cognata*.

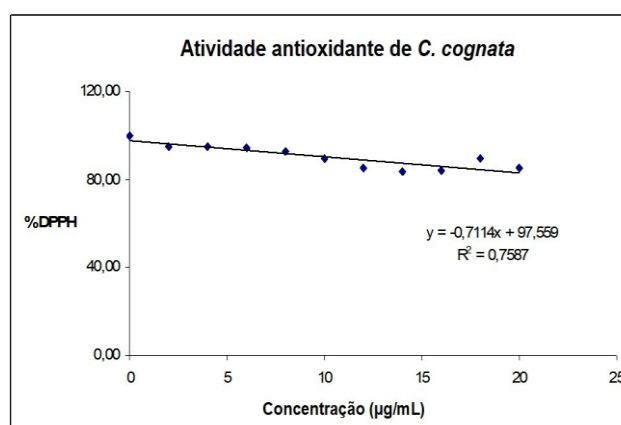


Figura 5. Gráfico da cinética do DPPH restante (%) versus a concentração da amostra (decocto a 20%) em µg/mL.

Este resultado é interessante se comparado, por exemplo, às folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller), que apresentou um resultado de CE_{50} de 29,92 µg/mL [22], sendo similar aos efeitos de algumas das espécies avaliadas por Souza *et al.* [23], que variaram de 27,59 a 111,14 µg/mL.

Em relação à atividade antioxidante de *H. tomentosa*, a literatura não dispõe de estudos específicos com a metodologia utilizada neste estudo para comparação, salvo um pequeno resumo de Bauermann *et al.* [24] que afirma não ter sido observado qualquer efeito antioxidante nas raízes dessa espécie, informação contraditória com outros estudos empregando modelos de lipoperoxidação *in vitro* que indicaram inibição desse processo e aumento nas atividades da enzima superóxido dismutase cerebral [25]. Tal contradição pode decorrer da relatada adulteração comercial entre essas espécies, dentre outros motivos não determinados.

2.5 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana das amostras de *C. cognata* foi avaliada pelo método de difusão em disco utilizando o antibiótico ampicilina (lote 10718005 - Laborclin) 10 µg/mL como padrão inibitório (tabela 2).

Tabela 2. Resultados do teste antimicrobiano com extrato hidroalcoólico 50% de *C. cognata* (halo de Inibição – mm)

Cepas		Teste (5 mg/disco)	
		resultado	halo
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	+	21 mm
<i>Candida albicans</i>	ATCC 14053	+	8 mm
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 9637	+	23 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	+	8 mm
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	+	9 mm
Ampicilina		+	25 mm

O extrato de *C. cognata* apresentou um potencial considerado relevante, tanto para micro-organismos gram positivos (*B. cereus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*), para gram negativo (*E. coli*), assim como para fungos, no caso de *C. albicans* (Figura 6), sendo um resultado interessante a ser desenvolvido em pesquisas posteriores.

Por outro lado, teste preliminar com 2 mg/disco não produziu efeitos inibitórios (dados não mostrados), indicando que a atividade antimicrobiana depende da concentração do extrato, com positividade com 5 mg/disco, mas não reproduzindo tais efeitos com menor concentração.

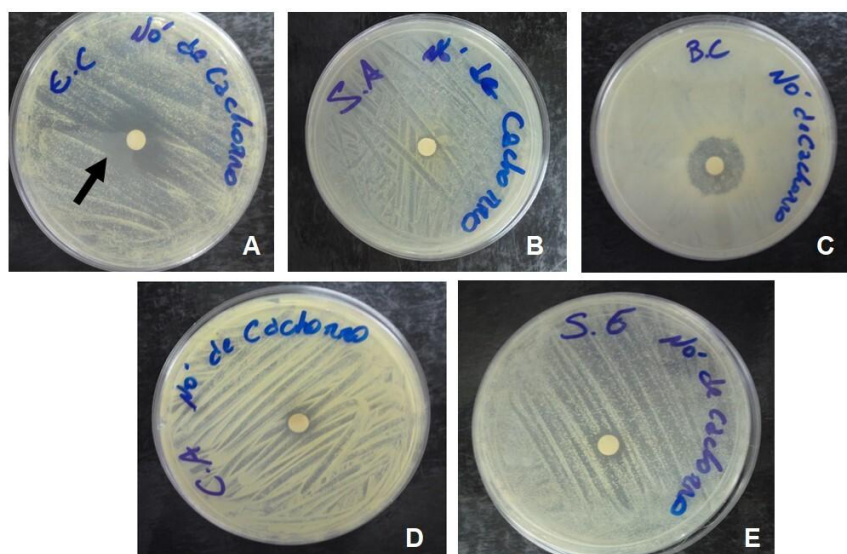


Figura 6. Fotos dos resultados de halos de inibição para *Escherichia coli* (A), *Staphylococcus aureus* (B), *Bacillus cereus* (C), *Candida albicans* (D) e *Staphylococcus epidermidis* (E) produzidos por extrato de *C. cognata*.

2.6- Avaliação farmacológica preliminar

Como evidenciado na tabela 3, não foi verificada nenhuma alteração expressiva nos parâmetros especificados no protocolo (ataxia, ptose, salivação dentre outros) nem ocorreu mortalidade em qualquer dos grupos e doses avaliados. Portanto, o extrato hidroalcoólico de *C. cognata* mostrou-se não indutor de efeitos farmacológicos agudos e, por outro lado, igualmente não mostrou potencial tóxico dentro das dosagens administradas, com estimativas de DL₅₀ acima de 2.000 mg/kg (via i.p.) e de 5.000 mg/kg (via oral).

Tabela 3. Parâmetros comportamentais e mortalidade do teste farmacológico preliminar (N= 5 por grupo)

[illegible]

Salivação	não	não	não	não	não	não	não
Tônus muscular	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
Tremor	não	não	não	não	não	não	não
Mortalidade	0	0	0	0	0	0	0

Estudo anterior [21] indicou, de forma contraditória aos presentes resultados, que os órgãos subterrâneos de *C. cognata* apresentam baixa DL_{50} em função da ocorrência de mortalidade nos animais testados à época, o que seria indicativo de riscos. Como a avaliação atual não replicou esse resultado, levantam-se dúvidas sobre a existência de diferenças fitoquímicas, variabilidade sazonal ou de outros aspectos, não determinados, que podem ter influenciado os dados. Novas pesquisas nesse tema se mostram necessárias.

3. Material e métodos

3.1 Obtenção do material botânico e identificação

Realizou-se coleta de exemplar da espécie botânica, a qual foi submetida à identificação por especialista e respectiva herborização que seguiu chaves botânicas como a presente em Dematteis [26]. Complementarmente, foram adquiridas três amostras de estabelecimentos comerciais e uma de um vendedor ambulante (raizeiro).

A identificação dos materiais comerciais foi feita por comparação organoléptica e macroscópica com a amostra coletada e complementarmente por uma CCD comparativa entre a amostra coletada. Foram preparados decoctos das amostras a 20% (peso/volume) em água, que foram filtradas e particionadas com 3 porções de 10 mL de acetato de etila (Dinâmica) em balão de separação. As fases orgânicas foram levadas a resíduo, ressuspensas com 1 mL de metanol (Synth) e aplicadas em placas de cromatografia de sílica gel Merck eluídas com mistura de *n*-butanol (Dinâmica) : ácido acético (Mec-Lab) : água (50:25:25:5) [27]. Foi realizada avaliação comparativa dos perfis cromatográficos em câmara escura com luz ultravioleta (Cienlab) de comprimentos de onda 254 e 365 nm e os melhores sistemas foram fotografados com câmera fotográfica digital (Nikon Coolpix L820).

Após as confirmações, os materiais comerciais foram misturados e pulverizados para os testes seguintes.

3.2 Avaliações organoléptica, macro e microscópica

As avaliações organoléptica e macroscópica foram realizadas com os materiais comerciais e com a amostra coletada e identificada, anotando-se todas as características relacionadas a cor, odor, sabor, textura e busca por matéria orgânica estranha, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira [28]. A avaliação microscópica foi realizada com auxílio de lâmina de barbear comum obtendo-se seções transversais que sofreram clarificação com hipoclorito de sódio comercial (2,5%), foram coradas pelo sistema Safranina - Azul de Astra (Sigma-Aldrich), observadas em microscópio binocular Nikon SC e fotografadas.

3.3 Testes físico-químicos e fitoquímicos preliminares

Foram realizados os testes de perda por dessecação, cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido conforme metodologias oficiais farmacopeicas, realizando-se também a determinação do teor de extrativos aquoso [4]. Todos os testes foram realizados em triplicata, no mínimo.

Para os testes dos grupos fitoquímicos foram realizados testes qualitativos conforme farmacopeia brasileira e métodos recomendados pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia [29] relacionados às classes fitoquímicas de mucilagens (teste de intumescimento

com azul de metileno Synth), flavonoides (teste de cianidina e reação com cloreto de alumínio Sigma), taninos (reação com gelatina, cloreto férrico a 1% e acetato de chumbo Synth), antraquinonas (livres, O e C-heterosídeos), alcaloides (com os reagentes de Dragendorff, Mayer e Bertrand (Sigma-Aldrich); testes direto e confirmatório), cumarinas (microsublimação e reação de fluorescência com NaOH 10% Dinâmica em luz UV), esteroides/triterpenos (coloração após anidrido acético e de ácido sulfúrico concentrado Dinâmica) e saponinas (teste de espuma persistente). Cada teste foi devidamente acompanhado de avaliação comparativa com drogas padrão.

3.4 Determinações quantitativas

3.4.1 Índice de espuma para saponinas

Pesou-se 1 g do material vegetal reduzido a pó fino e transferiu-se para Erlenmeyer com 50 mL de água fervente, mantendo-se sob fervura moderada por 30 minutos. Resfriou-se e filtrou-se para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume. Distribuiu-se o decocto em 10 tubos de ensaio com tampa (16 mm de diâmetro por 16 cm de altura), em série sucessiva de 1 até 10 mL ajustando-se o volume em cada tubo para 10 mL com água. Os tubos foram tampados e agitados energicamente por 15 segundos. Deixou-se em repouso por 15 minutos e mediu-se a altura da espuma. O índice de espuma é calculado segundo a equação $1000/A$, sendo A o volume, em mililitros, do decocto usado para preparação da diluição no tubo onde a espuma foi observada [28].

3.4.2 Polifenóis totais, não adsorventes e adsorventes (taninos totais)

Esse teste foi realizado conforme o método de Glasl [30], com pequenas modificações. Para a determinação de polifenóis totais (PT), 5 mL da solução de 0,750g da amostra e 150 mL de água, agitada por 30 minutos a 70°C, foram diluídos com água em balão volumétrico de 25 mL. Dois mililitros desta solução foram transferidos com 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (Merck) e 10 mL de água para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com solução de carbonato de sódio (Dinâmica) a 14,06 %. Após 15 minutos da adição da última solução, mediu-se a absorbância em 691 nm no espectrofotômetro Fento 800XI, empregando-se a água como branco.

Para a determinação de polifenóis não adsorventes (PNA), 10 mL da solução e foram transferidos com 0,100 g de pó-de-pele R levemente cromado (Freiberg - Alemanha) para um béquer e agitados durante 60 minutos. Após este tempo, a solução foi filtrada. Cinco mililitros do filtrado foram diluídos com água para 25 mL em balão volumétrico. Dois mililitros dessa solução foram transferidos com 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (Merck) e 10 mL de água para um balão volumétrico de 25 mL completando-se o volume com solução de carbonato de sódio (Dinâmica) a 14,06%.

Após 15 minutos da adição da última solução mediu-se a absorbância em espectrofotômetro a 691 nm, empregando-se a água como branco. O conjunto de operações (extração e diluições) foi realizado sob proteção da ação da luz direta. As porcentagens foram calculadas segundo as fórmulas a seguir.

$$PT = \frac{15625 \times \text{Abs. PT}}{1000 \times m}$$

$$PNA = \frac{15625 \times \text{Abs. PNA}}{1000 \times m}$$

$$TT = PT - PNA$$

Onde: PT = Polifenóis Totais (%); PNA= Polifenóis não Adsorventes (%); Abs.= Absorbância medida; m= massa da droga em g; TT= Teor de Taninos Totais (%).

3.5 Avaliação da atividade antioxidante

Este método se baseia na redução do radical 2,2'-difetil-1-picrilhidrazila (DPPH•) em solução de etanol, o qual apresenta um máximo de absorção a 515-528 nm. Ao fixar um H•, abstraído ao antioxidante em estudo, observa-se uma diminuição na absorbância,

o que permite calcular, após estabelecimento do equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir 50% do DPPH• (CE₅₀) [31].

Preparou-se uma solução a 10% de droga e 90% de álcool etílico (Synth) e determinou-se o teor dos sólidos solúveis para posterior utilização no procedimento de atividade antioxidante. Este teor foi obtido segundo o procedimento a seguir: foram pesados os béqueres de 25mL e anotados os pesos. Foram pipetados 5 mL da solução de extrato em cada béquer e levados à estufa Fanem 502 a 60 °C até a secura. Os béqueres foram retirados da estufa e resfriados em dessecador. Foram pesados e repetiu-se a operação até peso constante. O procedimento foi realizado em triplicata e a quantidade de sólidos solúveis foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ sol. solúveis (m/V)} = \frac{(m - b) \times 100}{V_a}$$

$$\% \text{ sol. solúveis (m/m)} = \% \text{ sol. solúvel (m/V)} / \text{densidade}$$

Onde: b é a massa do béquer; m é a massa final da solução mãe (SM), após secagem; densidade da SM = m/V (massa da alíquota de 5 mL pesada, e V o volume de 5 mL)

Foram utilizadas as soluções-mãe (SM) cujo valor dos sólidos solúveis foi determinado conforme procedimento acima. Foram então obtidos os extratos a 0,01% (m/V) a partir das soluções-mãe. Aproximadamente 10 tubos foram organizados, enumerando-os de 0 até 10. Foram adicionados os volumes de álcool e da SM a 0,01% em cada tubo, de acordo com a diluição desejada. O volume de DPPH (Sigma) foi adicionado no 1º tubo e o cronômetro ligado, desligando-o depois de um minuto. O DPPH foi adicionado nos outros tubos a cada 1 minuto. A leitura foi feita em espectrofotômetro (Cary 50) após 30 minutos da adição do DPPH no 1º tubo no comprimento de onda de 217 nm. Foi feito um gráfico absorbância (em %) versus a concentração da solução mãe (µg/mL) e calculada a CE₅₀ pela planilha, pelo método dos mínimos quadrados.

3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana

Essa atividade foi verificada pelo método de difusão em disco (ensaio preliminar) para se confirmar suas atividades contra alguns micro-organismos básicos, conforme preconizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute [32]. Foi analisado um extrato hidroalcolico 50% (v/v) e de concentração de 5% (25 g para 500 mL de líquido extrator) dos tubérculos e raízes de *C. cognata* obtido em maceração dinâmica por 24 h, filtrado e liofilizado. O liofilizado foi diluído em água a 100 mg/mL de concentração; a colocação de 50 µL dessa solução por disco de papel forneceu a quantidade de 5 mg para o teste.

Os inóculos foram preparados através de suspensão direta do crescimento microbiano com turvação equivalente a 0,5 da escala de Mc Farland (1,5x10⁸ UFC/mL) em 0,5 mL de solução salina a 0,85% (NaCl). Em seguida um *swab* estéril foi imerso no inóculo e estriado na placa de Petri contendo meio de cultura (Muller-Hinton ágar Merck). Após 20 minutos, foram colocados discos impregnados com 5 mg do extrato vegetal. As placas foram inoculadas a 37 °C por 24 horas e em seguida os halos de inibição (em mm) foram medidos com régua [33].

3.7 Avaliação farmacológica preliminar

Foram utilizados camundongos suíços machos, jovens (2 meses), pesando entre 20-30g, oriundos do biotério da Unicamp (CEMIB - Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica). Os animais foram aclimatados no Laboratório de Farmacologia Experimental da Uniban e pesados.

Preparou-se extrato hidroalcolico a 20% (p/v) com etanol (Synth) 50% (volume/volume) dos tubérculos de *C. cognata*, seguido de concentração e liofilização. Grupos de 5 camundongos receberam diferentes doses do liofilizado solubilizado em água, sendo de 1, 100, 500, 2000 mg/Kg por via intraperitoneal, 100 e 5000 mg/kg por via oral mais um

grupo controle (total= 35 camundongos). Imediatamente após a administração, foram colocados em gaiolas de arame, sendo observados nos tempos de 5, 15 e 30 minutos, 1 e 4 h e a cada 2 dias até completar 14 dias, com pesagem regular, anotando-se todos os comportamentos pertinentes à expressão de algum efeito farmacológico e/ou tóxico [34]. Com base na ocorrência de mortalidade, pode-se obter também dados indicativos preliminares de toxicidade aguda.

4. Conclusões

As presentes informações confirmam que os tubérculos de *C. cognata* são adulterantes comerciais das raízes de *H. tomentosa*, situação comercial que vem se mantendo, pelo menos, há 30 anos no mercado brasileiro.

Complementarmente, os dados contribuem para a caracterização dos tubérculos de *C. cognata* e podem compor uma monografia de especificações de qualidade nos moldes farmacopeicos a ser empregada rotineiramente pelas empresas que comercializam matérias-primas vegetais e produtos delas derivados.

As características dos tubérculos de *C. cognata* mostram-se bastante diferentes das raízes de *H. tomentosa*, não justificando a adulteração verificada. Por outro lado, também não há semelhanças fitoquímicas ou farmacológicas que possam induzir a alguma substituição alternativa tipo sucedâneo. Indica-se o uso da avaliação dos flavonoides e doseamento dos fenóis totais como parâmetros fitoquímicos de diferenciação entre as espécies.

Em relação às atividades biológicas avaliadas, destacam-se os efeitos antimicrobianos sobre bactérias gram positivas, gram negativas e fungos (particularmente sobre *B. cereus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *C. albicans*) e, em menor escala, e também a atividade antioxidante, efeitos que podem ser posteriormente melhor avaliados e caracterizados.

Por fim, reitera-se a necessidade da ampliação e insistência nas atividades de vigilância sanitária nessa área de comércio de drogas vegetais, atualmente também realizado via internet e redes sociais, tendo em vista ser um setor historicamente relacionado a erros, confusões e adulterações, situações obviamente inadequadas e perigosas aos usuários e pacientes.

Contribuição dos autores:

Concepção do estudo: LCM

Coleta de dados: MSP, LCM, MCMR, SM

Análise dos dados: MSP, LCM

Redação do manuscrito original: LCM

Redação da revisão e edição: MSP, LCM, MCMR, SM

Patrocínio

Universidade Bandeirante de São Paulo. Esta pesquisa não recebeu financiamento externo.

Declaração do Comitê de Ética

O protocolo do teste envolvendo animais foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da instituição (CEUA UNIAN - protocolo 194/11).

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. Bachhav, A; Ganpat, AT; Yogesh, ES; Rajendra, RA; Dadaji, PA. Current scenario of herbal medicines & future prospectus. *WJPMR* **2024**, v. 10, n. 6, p. 170-172. ISSN 2455-3301.
2. Marques, LC; Alves, LF; Vigo, CLS. Chapter 1 - Research and development of herbal medicines: perspectives and challenges. In: Oliveira WP. *Phytotechnology: a sustainable platform for the development of herbal products*. CRC Press: Boca Raton, United States of America, **2022**; pp. 3-20. ISBN: 9781032126111.

3. Vendramini, JRHEA; Reis, RD; Marques, LC; Marcucci, MC. Controle de qualidade de fitoterápicos no Brasil: avaliação diagnóstica e proposta de intervenção. *Rev. Fitoter.* **2014**, v. 14, n. 2, p. 129-136. ISSN: 1988-5806.
4. WHO – World Health Organization. *Quality control methods for medicinal plant materials*. England, **1998**. p.122.
5. Marques, LC. *Contribuição ao controle de qualidade de drogas vegetais comercializadas na cidade de São Paulo*. **2011**. (Projeto de pesquisa docente apresentado à Universidade Bandeirante de São Paulo)
6. Tobias, ML; Oliveira, F; de Oliveira, KP; Marques, LC. Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá (Paraná - Brasil). *REF* **2007**, v. 4, n. 1, p. 95-103. DOI: 10.5216/ref.v4i1.2126.
7. Alpiovezza, AR; Pinto, MS; Gonçalves, ID; Barbosa, AP; Araujo, FRC.; Mendonça, S.; Marcucci, MC; Marques, LC. Avaliação farmacognóstica da droga vegetal flores de jasmim. *Rev. Fitos* **2013**, v. 7, n. 4, p. 216-224. ISSN: 2610-4775.
8. Vendramini, JRHEA; Villagra, BLP; Marques, LC. Esclarecimento da identidade botânica da droga vegetal joão-da-costa (caules de *Diclidanthera laurifolia* Mart.). *RPIInF* **2013**, v.5, p. 32.
9. Pessoa, C; Almeida, RF; Amorim, AMA. *Heteropterys* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB19460> (Acessado em: 23 nov. 2024).
10. Barata, LES; Alencar, AAJ; Tascone, M; Tamashiro, J. Plantas medicinais brasileiras. III. *Heteropterys aphrodisiaca* Machado (nó-de-cachorro). *Rev. Fitos* **2009**, v. 4, n. 1, p. 129-131.
11. Galvão, SM; Marques, LC; Oliveira, MG; Carlini, EA. *Heteropterys aphrodisiaca* (extract BST0298): a Brazilian plant that improves memory in aged rats. *J Ethnopharmacol.* **2002**, v. 79, n. 3, p. 305-11. doi: 10.1016/s0378-8741(01)00402-0.
12. Marques, LC; Galvão, SMP; Peres, PG; Rebecca, MA; Mello, JCP. Caracterização farmacognóstica da droga vegetal “nó-de-cachorro” (*Vernonia cognata* Less. Asteraceae). *Anais do XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, Florianópolis, 17-20 de setembro; Universidade Federal de Santa Catarina: Florianópolis, **1996**.
13. Via do Pico, GM; Dematteis, M; Nakajima, J. *Chrysolaena* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB104817> (Acessado em: 28 nov. 2024).
14. Lorenzi, H. *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, tóxicas e medicinais*. Instituto Plantarum: Nova Odessa, SP, Brasil, **1991**; p. 109.
15. Petri, RD; Pletsch, MU; Zeifert, M; Schweigert, ID. Efeito de extratos hidroetanólicos de *Vernonia tweedieana* e *Vernonia cognata* sobre imunidade de camundongos. *Rev Bras Farmacogn.* **2008**, v. 89, n. 2, p. 139-141.
16. Tertuliano, MF; Figueiredo-Ribeiro, RCL. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. *New Phytol.* **1993**, v. 123, p. 741-749.
17. Santos, LS. *Morfoanatomia do sistema subterrâneo e de plântulas de Asteraceae ocorrentes no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná*. Doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá – PR, **2017**. Disponível on line https://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-terra/arquivos_restritos/files/documento/2024-01/morfoanatomia_do_sistema_subterraneo_e_de_plantulas_de_asteraceae_ocorrentes_no_parque_estadual_de_vila_velha.pdf (Acessado em 10 de outubro de 2024).
18. Mahlke, JD; Boligon, AA; Athayde, ML. Avaliação preliminar da *Vernonia cognata* L.: screening, conteúdos fenólicos e atividade antioxidante. *Arq Mudi* **2007**, v. 11, supl 1, p. 146.
19. Mota, CS; Freitas, RB; Athayde, ML; Boligon, AA; Augusti, PR; Somacal, S; Rocha, MP; Bauermann, LF. Effect of *Vernonia cognata* on oxidative damage induced by ethanol in rats. *HET* **2010**, v. 30, n. 7, p. 675–684. DOI: 10.1177/0960327110377646.
20. Penha, MEF; Lago, JHG; Pinto, UM; Kato, ETM; Demarque, DP; Mendes, FR. Análise fitoquímica e prospecção biológica in vitro de raízes de nó-de-cachorro de diversas procedências. In: *Resumos do XXVII Simpósio Plantas Medicinais do Brasil*, 26-29 de novembro; Universidade Federal do Ceará: Fortaleza, **2024**.
21. Marques, LC; Pieri, C; Roman-Júnior, WA; Cardoso, MLC; Milaneze-Gutierrez, MA; Mello, JCP. Controle farmacognóstico das raízes de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. (Malpighiaceae). *Rev Bras Farmacogn.* **2007**, v. 17, n. 4, p. 604-615.
22. Del Vechio, N; Marcucci, MC; Melo, A. Estudo da atividade antimicrobiana e antioxidante do extrato de ora-pro-nóbis. *RETEC* **2002**, v. 15, n. 20, p. 61-73.
23. Souza, CMM; Silva, HR; Vieira-Jr, GM; Ayres, MCC; Costa, CIS; Araújo, DS; Cavalcante, LCD; Araújo, PBM; Brandão, MS; Chaves, MH. Fenólicos totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. In: *Anais da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química* **2006**. Águas de Lindóia – SP, Brasil. Disponível on line <https://www.s bq.org.br/29ra/cdrom/resumos/T0707-1.pdf> (Acessado em 11.12.24).
24. Bauermann, L; Ramirez, MR; Aboy, A L; Henriques, AT. Atividade antioxidante de extrato hidroalcolico de *Trichilia catigua*, *Heteropterys aphrodisiaca* e *Guazuma ulmifolia*. In: *Anais do XIX Salão de iniciação científica e XVI feira de iniciação científica da UFRGS*, **2007**, Porto Alegre. Disponível on line em https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/57271/Resumo_200701306.pdf?sequence=1&isAllowed=y. (Acessado em 22.12.2024).
25. Mattei, R; Barros, MP; Galvão, SMP. *Heteropterys aphrodisiaca* O. Machado: effects of extract BST 0298 on the oxidative stress of young and old rat brains. *PTR* **2001**, v.15, p. 604-7. doi: 10.1002/ptr.838.
26. Dematteis, M. Revisión taxonómica del género sudamericano *Chrysolaena* (Vernonieae, Asteraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* **2009**; v. 44, n. 1-2, p. 103-170.
27. Matos, FJA. *Introdução à fitoquímica experimental*. 3.ed. Universidade Federal do Ceará: Fortaleza, - CE, Brasil, **2009**; pp. 45-46.
28. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 6ª ed. Anvisa: Brasília, Brasil, **2019**; pp. 330-352.
29. SBF – Sociedade Brasileira de Farmacognosia. *Ensino*. Disponível em <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/index.html>. Acesso em 27.07.2024.

30. Glasl, H. Zur photometrie in der Drogenstandardisierung – 3. Gehealtsbestimmung von Gerbstoffdrogen. *Dtsch Apoth Ztg* **1983**, v.123, p. 1979-1987.
31. Brand-Williams, W; Cuvelier, ME; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT* **1995**, v. 28, n. 1, p. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
32. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, **2005**.
33. Bugno, A; Buzzo, AA; Nakamura, CT; Pereira, TC; Matos, D; Pinto, TJA. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *RBCF* **2005**, v. 41, p. 491-497. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000400012>.
34. Carlini, EA. Screening farmacológico de plantas brasileiras. *Rev Bras Biol.* **1972**, v. 32, n. 2, p. 65-274. ISSN: 0034-7108.

Material Suplementar

Figura S1. Exsicata de *C. cognata* identificada botanicamente e herborizada



Figura S2. Raízes de *Heteropterys aphrodisiaca* nas formas fresca e seca

