



Controle de Qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L. (MORACEAE)

Pedro Luis Guizzo¹; Thaís Cristina Cuba Bredda¹; Maria Virgínia Costa Scarpa³; Fernanda Flores Navarro^{1,2*}

¹ Fundação Hermínio Ometto, UNIARARAS, Faculdade de Farmácia, Araras, SP, Brasil.

² Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, SP, Brasil.

³ Universidade Estadual Paulista, UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Fármacos e Medicamentos, Laboratório de Controle de Qualidade Físico-Químico, Araraquara, SP, Brasil.

RESUMO

Uma rigorosa análise de controle de qualidade é uma das etapas na produção de fitoterápicos. Devido a escassez de estudos sobre *Morus nigra* L. (MORACEAE), mais conhecida como amora, este trabalho teve como objetivo o controle de qualidade das folhas da amoreira, incluindo uma análise Fitoquímica preliminar, controle de qualidade físico-químico e microbiológico utilizando metodologias farmacopeicas e não farmacopeicas. Os testes fitoquímicos evidenciaram a presença de isoflavonas, taninos hidrolisáveis e alcaloides. Os resultados do controle físico-químico e microbiológico mostraram-se de acordo com as especificações. Isso destaca a importância do estabelecimento de normas para o controle da qualidade para as plantas, a fim de que sejam utilizadas como fitoterápicos.

Palavras-chave: Controle de qualidade. Droga vegetal. Fitoquímica. *Morus nigra*.

INTRODUÇÃO

Os estudos de plantas medicinais crescem exponencialmente, e o conhecimento popular, muitas vezes baseado apenas em evidências, abrange ampla diversidade de espécies vegetais que ainda não possuem estudos científicos ou referências em farmacopeias (Farmacopeia Brasileira, 2010). Torna-se imprescindível no meio acadêmico realizar estudos, podendo assim, difundir uma informação idônea e concreta sobre as atividades terapêuticas e segurança no uso de plantas medicinais à população. Por isso é necessário conscientizar a população sobre o tipo de planta empregada, evitando possíveis equívocos na identificação das espécies, pois como já se sabe, uma mesma espécie possui diversos nomes populares, e estes podem ser atribuídos muitas vezes a mais de uma espécie vegetal (Navarro, 2009).

No momento em que algum fitoterápico é escolhido como forma de terapia, são necessários estudos para certificar-se que os mesmos possui o efeito desejado. Nesse aspecto são necessários requisitos que garantam a autenticidade dessa espécie vegetal como a identificação correta da espécie, pureza da droga vegetal, plantio, colheita, avaliação de seus princípios ativos, preparo do extrato vegetal e, finalmente, o medicamento. Também devem ser considerados diversos aspectos para a garantia da qualidade desse material vegetal, como os aspectos físicos, químicos, físico-químicos e microbiológicos. Para garantir a qualidade desses fitoterápicos é importante obedecer a parâmetros de qualidades estabelecidos nas Farmacopeias, Códigos Oficiais e Literaturas Confiáveis (Zaroni et al., 2004; Migliato et al., 2007; Michelin et al., 2010).

Morus nigra L. (MORACEAE) é uma espécie vegetal que tem sua origem na Ásia, frutificando com maior intensidade e abundância, sobretudo na Ásia menor e estando plenamente aclimatizada no Brasil, muito cultivada na região sul e sudeste. É uma árvore caducifólia, geralmente dioica, de 7-12 m de altura. Folhas simples, caráceas, glabras em ambas as faces, de 6-12 cm de comprimento, com as margens variavelmente lobadas em

exemplares jovens e apenas serreadas em plantas adultas, com nervação saliente e face superior lúzida. Inflorescência unissexuais formadas em julho-agosto, as masculinas e as femininas em amentilhos (espigas) pendentes de 3-6 cm de comprimento, sendo as masculinas mais curtas. Seus frutos são comestíveis de sabor agridoce, muito sumosas e todas as partes desta planta são empregadas na medicina popular, com base na tradição (Cruz, 1979; Morgan, 1982; Agarez et al., 1994; Lorenzi et al., 2006; Lorenzi & Matos, 2008).

A *M. nigra* é uma planta medicinal com várias propriedades farmacológicas. O chá das folhas de amora é utilizado para aliviar sintomas do climatério e os sintomas de cefaleia e irritação que ocorrem no período pré-menstrual, pela presença de constituintes flavonoides, especialmente as isoflavonas (Lorenzi & Matos, 2008). O xarope dos frutos é útil no tratamento de faringites e doenças inflamatórias do trato gastrointestinal. Os frutos, as folhas e as cascas são citados como laxativo, sedativo, expectorante, refrescante, emoliente, calmante, diurético, hipoglicemiante anti-inflamatório, emético, tônico, anti-helmíntico e tenífugo (Notelovitz, 1989; Sengul et al., 2005; Franzotti, 2006; Erclisli & Orhan, 2007).

Uma vez que somente o fruto de *M. nigra* é relatado na primeira edição da farmacopeia brasileira (Farmacopeia Brasileira, 1926), o objetivo desse trabalho foi realizar a identificação do material vegetal, uma análise fitoquímica preliminar e os controles de qualidade físico-químico e microbiológico da droga vegetal das folhas de *M. nigra* já que é muito utilizada pela população para fins terapêuticos.

MATERIAL E MÉTODO

Coleta, preparo e identificação do material vegetal

Todos os experimentos foram realizados na Farmácia-Ensino da Fundação Hermínio Ometto. Para isso, as folhas de *Morus nigra* L. (MORACEAE) foram coletadas no Horto de plantas medicinais da Fundação Hermínio Ometto – UNIARARAS com as coordenadas S22°22'29.39''; W47°22'07.05'' a 661 metros de altitude e depositadas em exsiccata ao acervo do Herbário ESA da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ – USP), sob o registro ESA-114938 e identificada e catalogada pelo Dr. Gerson Oliveira Romão.

As folhas foram previamente higienizadas, rasuradas e em seguida foi realizada secagem em estufa com circulação de ar forçada por 72 h a 40 °C. Após, as folhas foram trituradas em moinhos de facas.

Análise fitoquímica preliminar

Para a caracterização fitoquímica da planta foram realizados testes clássicos de identificação para os principais grupos de princípios ativos (Harbone, 1998; Mello et al., 2000; Falkenberg et al., 2007): 1) flavonoides (reação de Shinoda, reação com cloreto férrico e reação com cloreto de alumínio); 2) saponinas e índice de espuma; 3) taninos (reação com cloreto férrico e acetato de chumbo); 4) alcaloides (solúveis em meio ácido e meio básico: reações

de Dragendorff, Bertrand, Valsler-Mayer e Bouchardat); 5) cardiotônicos (reação de Liebermann-Burchard, reação de Balje, reação de Keller-Kiliani e reação de Kedde) e 6) antraquinonas.

Controle de qualidade físico-químico da droga vegetal

Análise granulométrica

Com o objetivo de padronizar a granulometria do pó das folhas, foram submetidos 15 g de amostra por passagem, através de tamises com abertura de malhas correspondentes de 0,150; 0,250; 0,300; 0,850; 1,18 mm e o coletor, utilizando vibração manual, durante 30 minutos. Após este processo, as frações foram retiradas dos tamises e do coletor e quantificadas quanto às suas proporções. (Farmacopeia Brasileira, 2010). Os resultados foram determinados pelo software *Graphpad Prism 3.0*. A metodologia foi realizada em triplicata.

$$TE = \frac{g \times FD \times 100}{m}$$

Densidade aparente da droga pulverizada

Distintas quantidades de amostras aleatórias da droga vegetal foram utilizadas para o preenchimento de 25 cápsulas gelatinosas de tamanho 00, volume médio de 0,95 mL e de massa conhecida, dispostas em encapsulador. Em seguida, a massa das cápsulas preenchidas foi determinada e a densidade aparente calculada pela relação massa/volume (Martins & Sacramento, 2004). A metodologia foi realizada em triplicata.

Determinação da perda por dessecação em balança de infravermelho

Amostras de 4,0 g de droga vegetal moída, exatamente pesada, foram submetidas ao aquecimento (105 °C) por raios infravermelhos até a estabilização do peso. Após este período foi realizada a leitura do peso. Este procedimento foi realizado de hora em hora até que o peso não variasse mais do que 0,25%. A porcentagem da perda por dessecação foi calculada pela equação segundo Farmacopeia Brasileira (Farmacopeia Brasileira, 2010). A metodologia foi realizada em triplicata.

Determinação do valor de pH

Pelo processo extrativo de infusão foi preparada uma solução a 1% (m/v) das folhas de *M. nigra*. Após 15 minutos realizou-se a filtração utilizando algodão. Aguardou o resfriamento da solução obtida. Verificou-se o pH da solução em potenciômetro, previamente calibrado. Para uma melhor reprodutibilidade deste teste o valor do pH da água também foi verificado (Farmacopeia Brasileira, 2010). A metodologia foi realizada em triplicata.

Determinação do teor de cinzas

Para este procedimento, primeiramente, cadinhos

de porcelana foram colocados em mufla a 450 °C, durante 30 min. Os mesmos foram resfriados em dessecador e tiveram as respectivas massas determinadas em balança analítica. Foram tomados exatamente 3,0 g da droga vegetal pulverizada, cuja transferência para o cadinho se deu prontamente. Os mesmos foram incinerados e, posteriormente, submetidos à calcinação em mufla aquecida a 450 °C durante 2 h. Em seguida, deixou-se arrefecer em dessecador e procedeu-se à determinação da massa do conjunto. Esta operação foi repetida até a obtenção de valores de massa constantes. Calculou-se a porcentagem das cinzas totais em relação a massa da droga (Farmacopeia Brasileira, 2010). A metodologia foi realizada em triplicata.

Determinação do teor de cinzas insolúveis em ácido

Os resíduos obtidos na determinação de cinzas totais foram fervidos durante 5 min com 25 mL de solução de ácido clorídrico a 7% (p/V) em cadinhos cobertos com vidro de relógio. Em seguida o vidro de relógio foi lavado com 5 mL de água quente e essa água transferida para o cadinho. O resíduo insolúvel em ácido foi recolhido em papel de filtro isento de cinzas, e lavado com água quente até que o filtrado se mostrasse neutro. O papel de filtro contendo o resíduo foi transferido para o cadinho original, o mesmo foi seco em chapa quente e incinerado a 500 °C até peso constante. Foi então calculada a porcentagem de cinzas insolúveis em ácido em relação à droga (Farmacopeia Brasileira, 2010). A metodologia foi realizada em triplicata.

Determinação do teor de extrativos

Cerca de 1,0 g da droga vegetal moída, exatamente pesada, foi submetido a decoção com 100 mL de água durante 10 min. Após o resfriamento, o volume foi completado para 100 mL em balão volumétrico. A solução foi filtrada em papel de filtro, e os primeiros 20 mL foram desprezados. Do restante do filtrado, foi pesada uma alíquota equivalente a 20 g, em pesa-filtro previamente tarado, e foi evaporado até *secura* em banho-maria, sob agitação constante. O resíduo foi colocado em estufa, à 105 °C durante 3 h, e em seguida resfriado em dessecador e pesado. O teor de extrativos foi calculado em massa percentual (WHO, 1998; Melo & Petrovick, 2000). A metodologia foi realizada em triplicata.

$$TE = (g \times FD \times 100) / m$$

Onde: TE = teor de extrativos (%; m/m), g = massa de resíduo seco (g), m = massa da amostra (g), FD = fator de diluição (5)

Controle de qualidade microbiológico.

O controle de qualidade microbiológico foi realizado segundo a 5ª edição da Farmacopeia Brasileira (2010), de acordo com a metodologia para análise de produtos não estéreis (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Pesquisa do número total de micro-organismos mesófilos

A pesquisa foi feita através da diluição de 1:10

da amostra em tampão fosfato pH 7,2. Após diluição, a amostra foi agitada com auxílio de vortex. Para contagem do número total de bactérias, foi utilizado Ágar Caseína-soja, e para fungos e leveduras foi utilizado Ágar Sabouraud. Foi inoculado 1.0 mL da amostra diluída em cada placa de petri pela técnica de espalhamento. A placa contendo Ágar Caseína-soja foi incubada a 35 °C por 3 dias e as placas contendo Ágar Sabouraud a 25 °C por 7 dias. Após crescimento, foi calculado número de unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Pesquisa de bactérias Gram negativas bile tolerantes

Para pesquisa de bactérias Gram negativas bile tolerantes foi realizado através da adição de 1,0 g de amostra em 9,0 mL de caldo caseína-soja na qual foi incubado a 23 °C por 2 h. Após esse período, 1 mL da amostra foi transferido para caldo Mossel EE e colocado em estufa a 22.5 °C por 24 h. Após incubação, 1 mL da diluição foi transferido para Ágar Vermelho Violeta pela técnica de espalhamento, na qual foi incubado a 32.5 °C por 24 h. Após 24 h, foi verificado a presença ou ausência de colônias (Farmacopeia Brasileira, 2010). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados.

Pesquisa de Escherichia coli

A pesquisa do patógeno *E. coli* foi realizada adicionando 1,0 g de amostra em 9,0 mL de caldo caseína-soja, na qual foi incubado a 35° C por 24 h. Após esse período de incubação, 1,0 mL da amostra enriquecida foi transferida para caldo MacConkey a 35° C por 24 h. Após o período, foi transferido 1,0 mL do caldo para Ágar MacConkey, que também foi incubado a 35° C por 24 h e após avaliado pela presença ou ausência de colonias (Farmacopeia Brasileira, 2010). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados.

Pesquisa de Salmonella sp

A pesquisa do patógeno *Salmonella sp.* procedeu-se adicionando 1,0 g da amostra em 9,0 mL de caldo de enriquecimento Caseína-Soja, o qual foi incubado em estufa a 35° C por 24 h. Após o período de incubação, foi semeado 0,1 mL da amostra enriquecida para o caldo Rappaport Vassiliadis broth e encubado a 35 °C por 24 h. Após 24 h, pela técnica de espalhamento, 0,1 mL do caldo enriquecido foi transferido para o Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) que também foram incubado a 35 °C por 24 h e avaliados pela presença ou ausência de colônias (Farmacopeia Brasileira, 2010). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados.

Pesquisa de Pseudomonas aeruginosa

A pesquisa do patógeno *Pseudomonas aeruginosa* procedeu-se adicionando 1,0 g da amostra em 9,0 mL de caldo de enriquecimento Caseína-Soja, o qual foi incubado em estufa a 35° C por 24 h. Após o período de incubação,

foi semeado 0,1 mL da amostra enriquecida no Agar Cetrímida (CET) pela técnica de espalhamento. As placas foram incubadas em estufa a 35° C por 24 h e avaliadas quanto a presença ou ausência de colônias (Farmacopeia Brasileira, 2010). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados.

Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

A pesquisa do patógeno *S. aureus* procedeu-se adicionando 1,0 g da amostra em 9,0 mL de Caldo Caseína-Soja (caldo de enriquecimento), o qual foi incubado em estufa a 35° C por 24 h. Após o período de incubação, foi semeado 0,1 mL da amostra enriquecida no Ágar sal de manitol pela técnica de espalhamento. As placas foram incubadas em estufa a 35° C por 24 h e avaliadas quanto a presença ou ausência de colônias (Farmacopeia Brasileira, 2010). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados.

Pesquisa *Candida albicans*

A pesquisa de *C. albicans* procedeu-se adicionando 1,0 g da amostra em 9,0 mL de caldo Sabouraud Dextrose que foi incubado a 32,5 °C por 3 horas. Após esse período, 0,1 mL da amostra foi transferida para Ágar Sabouraud Dextrose pela técnica de espalhamento e levada em estufa a 32,5 °C por 24 h e avaliadas quanto a presença ou ausência de colônias (Farmacopeia Brasileira, 2010). O estudo foi feito em triplicata para melhor resolução dos dados.

RESULTADOS

Os resultados da análise fitoquímica, controle de qualidade físico-químico e microbiológico estão expressos, respectivamente, nas tabelas 1 e 2. Essas análises tiveram o objetivo de controlar a qualidade da droga vegetal em estudo.

DISCUSSÃO

Através da análise fitoquímica preliminar foi comprovada a presença de flavonoides: reação de Cloreto de Alumínio (isoflavonas), alcaloides: Reagentes de Mayer, Bertrand, Bouchardout e Ácido Fosfomolibdico (devido a Formação de Precipitados nas Reações) e taninos hidrolisáveis: reação com acetato ácido de chumbo (formando um precipitado). De acordo com dados da literatura plantas ricas em taninos são empregadas na medicina no tratamento de reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, problemas renais, processos inflamatórios e diarreia. Já plantas ricas em flavonoides são responsáveis por ações antitumoral, anti-hemorragicos, hormonais, anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes (Hasla, 1996; De Brunye et al., 1999; Dufrense & Farnworh, 2001; Toshio et al., 2005; Zuanazzi & Montanha, 2007).

O objetivo do controle de qualidade é verificar se o produto está em conformidade com as especificações

Tabela 1 - Análises de controle de qualidade das folhas de *M. nigra*.

Análise	Especificação	Resultados
Granulometria	-	0,533 mm
Densidade aparente	-	0,3673 g/mL ± 0,005
Umidade	No máximo 14 %**	7,00% ± 0,173
pH	-	6,73 ± 0,01
Cinzas Totais	No máximo 14%*	9,93% ± 0,045
Cinzas Insolúveis em Ácido	No máximo 3%*	0,34% ± 0,051
Teor de Extrativos	-	15,43% ± 0,115
Análise Fitoquímica	-	Flavonóides, Taninos e Alcaloides.

Fonte: *Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010); ** Sonaglio et al., 2007.

Tabela 2 - Análise do Controle de Qualidade Microbiológico da folha de *Morus nigra* L.

Micro-organismos	Especificação	Resolução
Bactérias Mesófilas	≤ 10 ⁵ UFC/g*	130 UFC/g
Fungos e leveduras	≤ 10 ³ UFC/g*	360 UFC/g
Bactérias Gram-negativas Bile Tolerante	≤ 10 ³ UFC/g*	< 20 UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	≤ 10 ¹ UFC/g*	Ausência
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausência*	Ausência
Salmonella	Ausência**	Ausência
<i>Candida albicans</i>	Ausência**	Ausência
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausência**	Ausência

Fonte: * Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (2010); **Pinto et al., 2010.

farmacopeicas e literaturas confiáveis. A não-conformidade representa um somatório de atribuições para a empresa que podem resultar, além dos prejuízos, a perda de credibilidade e até a cassação da licença de funcionamento e do registro do produto. Para o paciente, a falta de qualidade do medicamento ocasiona sérios transtornos com o comprometimento da sua saúde (Peixoto Jr. et al., 2005).

A moagem possibilitou reduzir mecanicamente o material vegetal a fragmentos, preparando para a próxima etapa, a extração. Partículas menores permitem uma maior superfície de contato entre o material vegetal e solvente extrator, tornando, desta forma, mais eficiente a extração (Sonaglio, et al., 2003). A análise granulométrica possibilitou a mensuração do tamanho médio das partículas, podendo ser classificada de acordo com a farmacopeia como pó grosso pelo tamanho médio ter sido de 0,533 mm.

A densidade aparente para as partículas constituiu-se numa exigência estabelecida pela RDC n. 14/2010 ANVISA, uma vez que permite a manipulação correta de medicamentos fitoterápicos como, por exemplo, na produção de cápsulas. A densidade aparente para o pó da folha foi de 0,3673 g/mL.

A determinação de cinzas totais é resultado da incineração do material vegetal que pode ser fisiológica, ou seja, componentes minerais da própria planta ou a

determinação de substâncias inorgânicas não voláteis que podem estar presentes como constituintes ou contaminantes da droga vegetal. Altos teores de cinzas pode ser indicio de contaminação, contendo areia e/ou terra, indicando um mau tratamento na colheita, higienização e processamento do material (Couto et al., 2009; Leite 2009; Navarro, 2009). Obteve-se um valor de cinzas totais de 9,93% para as folhas de *Morus nigra*. Esses valores estão de acordo com o limite estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (2000), que é de no máximo 14%.

O resultado obtido no ensaio de cinzas insolúveis em ácido foi de 0,34% para a folha de amora. O resultado apresenta-se dentro da faixa preconizada pela Farmacopeia (2000), que indica no máximo 3%. Isso indica que as amostras não apresentavam contaminação por material estranho como sílica e constituintes silicosos na droga vegetal (Couto et al., 2009).

O valor de pH do extrato da droga vegetal foi de 6,73 utilizando água com pH 7,73, o que sugere a presença de substâncias ácidas no farmacógeno estudado, pois nas plantas encontram-se diversos ácidos minerais orgânicos combinados sob a forma de sais, ésteres, lactonas, lipídeos, essências, resinas e proteínas. Partes desses componentes ácidos também podem estar no citoplasma da planta, podendo ser doseados e caracterizar um determinado extrato vegetal, sendo de caráter ácido ou básico (Hubinger, 2009).

A determinação do teor de extrativos foi feita por decocção em água, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1998). O rendimento encontrado foi de 15,43%, porém esta porcentagem pode variar de acordo com a parte da planta ou líquido extrator.

A determinação de perda por dessecação do pó da folha apresentou um valor de 7,00% quando ocorreu o processo de estabilização. Esse resultado está em acordo com literaturas pesquisadas, que permitem um valor de umidade de até 14% (Simões et al, 2007). A baixa umidade também indica que houve eficiência durante o processo de secagem e que o material é estável.

O controle microbiológico teve como função determinar o número total de micro-organismos presentes em preparações não estéreis, cosméticos e drogas vegetais, além de visar à identificação dos micro-organismos patogênicos, tais como *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Candida albicans* e bactérias Gram negativas bile tolerantes que não devem estar presentes ou em quantidades limitadas (Simões et al., 2007; Farmacopeia Brasileira, 2010). Esta análise visa assegurar o consumo de produtos de boa qualidade, ou seja, garantindo a ausência ou controle de patógenos, assegurando a qualidade da droga vegetal (Michelin, 2008).

Em geral, os materiais vegetais contêm fungos e bactérias pertencentes em sua microbiota natural ou que são introduzidos durante a manipulação, e esta contaminação pode ser intensificada com o tempo e não comprometer somente o material, como também o usuário (Migliato et al., 2007).

Os resultados do controle microbiológico demonstrou que as amostras estavam de acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira da 5ª edição, mesmo com o crescimento de bactérias mesófilas e fungos e leveduras, porém dentro dos limites das especificações. Quanto aos patógenos, não houve crescimento em nenhum dos ensaios realizados.

As metodologias empregadas foram adequadas para avaliar a qualidade da droga vegetal em estudo. Todas as análises realizadas no presente estudo são importantes e devem ser recomendadas para o controle de qualidade do pó da folha de *M. nigra* L.

ABSTRACT

Quality control and phytochemical analysis Morus nigra L. (MORACEAE) drug leaves

A rigorous quality control analysis is one of the steps in the production of herbal medicines. Due to lack of studies on *Morus nigra* L. (Moraceae), better known as mulberry, this study had as objective the quality control of mulberry leaves, including a preliminary Phytochemical analysis of physical-chemical and microbiological quality control methodologies, using pharmacopoeic and non pharmacopoeic. Phytochemicals tests revealed the presence of isoflavones, hydrolysable tannins and alkaloids. The results of the physic-chemical and microbiological control shown in accordance with the specifications. This shows the importance of establishing standards for quality control for plants, to be used as herbal medicines.

Keywords: Quality control. vegetal drug. Phytochemistry. *Morus nigra*.

REFERÊNCIAS

- Agarez FV, Cézio P; Cecília MR. Botânica: Taxonomia, morfologia e reprodução das angiospermas. 2 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural; 1994.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília; 2010.
- Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). Braz J Biol Res. 2000;33(2):179-89.
- Couto RO, Valgas AB, Bara, MTF, Paula JR. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae). Rev Eletronica Farm. 2009;6(3):59-69
- Cruz GL. Dicionário de plantas úteis no Brasil. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira; 1979.

- De Bruyne T, Pieters L, Deelstra H, Vlietinck AJ. Condensed vegetables tannins: biodiversity in structures and biological activities. *Biochem Systemat Ecol.* 1999;27(4): 445-59.
- Dufrense CJ, Farnworth ER. A review of latest research findings on health promotion properties of tea. *J Nutr Biochem.* 2001;12(7):404-21.
- Falkenberg MB, Santos RI, Simões CMO. Introdução à análise fitoquímica. In Simões CMO (org), Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento.* Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/UFRGS; 2007. p. 229-46.
- Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. Parte 1-2. São Paulo: Atheneu Editora; 1988-2000.
- Farmacopeia Brasileira. 5ª ed. v.1: métodos gerais. Brasília: ANVISA; Fundação Oswaldo Cruz; 2010.
- Franzotti EM. Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatus* Codd., *Ipomoea cairica* (L.) Sweet e *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. [Tese] Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; 2006.
- Harbone JB. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis.* 3rd. ed. London: Chapman and Hill; 1988.
- Haslam E. Natural polyphenols (vegetables tannins) as drugs and medicine: possible modes of action. *J Nat Prod.* 1996;59(2):205-15.
- Kraus JE, Arduin M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal.* Rio de Janeiro: EDUR; 1997.
- Leite JPV. *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas.* São Paulo: Atheneu; 2009.
- Lorenzi H, Bacher L, Lacerda M, Sartori S. *Frutas brasileiras e exóticas cultivadas.* Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2006.
- Lorenzi H, Matos FJA. *Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas.* 2ª ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da flora; 2008.
- Martins AB, Sacramento LVS. Análise microscópica e física para controle de qualidade primária de matéria prima vegetal pulverizada. In: 16º Congresso de Iniciação Científica UNESP, Ilha Solteira, Brasil; 2004.
- Mello JCP, Petrovick PR. Quality control of *Baccharis trimera* (Less) DC (*Asteraceae*) hydroalcoholic extracts. *Acta Farm Bonaer.* 2000;19(3):211-5.
- Hungiber SZ, Salgado HRN, Moreira RRD. Controle físico, físico-químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 2009;19:690-6.
- Michelin DC. Estudo Químico-farmacológico de *Operculina macrocarpa* (L.) Urb. (Convolvulaceae) [Tese] Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2008.
- Michelin DC, Finati SCG, Sacramento LVS, Vilegas W, Salgado HRN. Controle de Qualidade da raiz de *Operculina macrocarpa* (Linn) Urb., Convolvulaceae. *Rev Bras Farmacogn.* 2010;20(1):18-22.
- Migliato KF, Moreira RD, Mello JCP, Sacramento LVS, Salgado HRN. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Rev Bras Farmacogn.* 2007;17(1):94-101.
- Morgan R. *Enciclopédia das ervas e Plantas Medicinais.* São Paulo: Hemus Editora, 1982.
- Navarro FF. *Cissus gongylodes: caracterização farmacognóstica e investigação de aspectos preliminares da seguridade da utilização de extratos aquosos das folhas e caules* [Dissertação]. Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2009.
- Nomura T. Phenolic compounds of the mulberry tree and related plants. In: Herz W, Grisebach H, Kiurby GW, Tamm Ch, eds. *Progress in the chemistry of organic natural products* 53. Vienna: Springer Publishing; 1988. p. 87.
- Notelovitz M. Estrogen replacement therapy indications, contraindications and agent selection. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(2):8-17.
- Navarro FF. *Cissus gongylodes: caracterização farmacognóstica e investigação de aspectos preliminares da seguridade da utilização de extratos aquosos das folhas e caules* [Dissertação]. Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2009.
- Padilha MM. *Estudo Farmacognóstico, Fitoquímico e Farmacológico das Folhas de Morus nigra L. (amoreira-preta).* [Dissertação] Alfenas: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNIFAL; 2009.
- Peixoto Jr MM, Santos AFJ, Santos CA, Caetite EJ. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em Feira de Santana-BA. *Rev Pharm Bras.* 2005; 16(13):69-73.
- Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil* [por] Rodolpho Dias da Silva. Oficializada pelo Governo Federal pelo Decreto n. 17.509 de 4 de novembro de 1926. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929.
- Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu; 2010.
- Sengul M, Ertugay MF, Sengul M. Rheological, physical and chemical characteristics of mulberry pekmez. *Food Control.* 2005;16(1):73-6.
- Sonaglio D, Ortega GG, Petrovick PR, Bassani VL. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: Simões CMO, (org). *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/ UFRGS; 2007. p. 289-327.

Toshio F, Kiyoshi K, Sumio T. Antimicrobial activity of 2-arylbenzofurans from *Morus* species against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fitoterapia*. 2005;76(7): 708-11,

WHO – World Human Organization. Quality Control methods for medicinal plants materials. Geneva; 1998.

Zaroni M, Pontarolo R, Abrahão WSM, Fávero MLD, Correa Junior C, Stremel DP 2004. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. *Rev Bras Farmacog*. 2004;14(1):29-39.

Zuanazzi JAS, Montanha JA. Flavonóides 2007. In: Simões CMO, (org). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Florianópolis/Porto Alegre: Editora da UFSC/ UFRGS; 2007. p. 577-614.

Recebido em 8 de maio de 2013

Aceito em 25 de novembro de 2013

