

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são de livre acesso a população, pois quase toda família tem uma planta medicinal no quintal de casa e a utiliza para fins terapêuticos. *Morus nigra* é uma espécie vegetal que tem sua origem na Ásia, onde frutifica com maior intensidade e abundância, mas é plenamente aclimatizada no Brasil (CRUZ, 1979 apud ALVES-DA-SILVA et al., 2010).

Amplamente utilizada pela população para regulação hormonal, como expectorante, para tratamentos respiratórios, infecções, inflamações, dentre outras aplicações (NADERI; ASGARY et al., 2004; MINCU et al., 1989; QUER, 1995 apud FRANZOTTI, 2006; OLIVEIRA et al., 2013; ERCISLI; ORHAN, 2007; ÖZGEN et al., 2009; HU et al., 2011; NOMURA, 1999 apud PIEKARSKI, 2013), a amora vem sendo comercializada sem que muitos desses efeitos tenham sido comprovados cientificamente e sem que os parâmetros de qualidade tenham sido estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira.

Quando se faz a ingestão de uma planta medicinal, espera-se um efeito e este por sua vez nem sempre é um efeito benéfico, podendo ser tóxico e até mesmo ineficaz. Grande parte dos problemas do consumo de plantas medicinais estão relacionados à ausência de qualidade e diversos estudos confirmam esse problema. Em avaliação da qualidade de amostras comerciais de camomila (*Matricaria recutita*) foi constatado que 96% não apresentavam padronização e qualidade (BRANDÃO; FREIRE; SOARES, 1998). Resultados semelhantes foram encontrados com amostras de boldo (*Peumus boldus*), pata de vaca (*Bauhinia ssp.*) e ginko (*Ginkgo biloba*) em que todas as amostras de boldo, cinco de pata de vaca e uma de ginko foram reprovadas na verificação de impurezas, confirmando que os fornecedores não seguem rigorosamente os princípios de qualidade requeridos (MELO et al., 2004).

Considerando a importância medicinal da amora e o seu uso popular, tem-se então a necessidade de investigar se as amostras comerciais estão em condições adequadas para serem consumidas pela população, através do controle de qualidade. O controle de qualidade de drogas vegetais permite verificar se estas, não foram adulteradas ou falsificadas, através de metodologias descritas pela Farmacopeia Brasileira e outras bibliografias relacionadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a qualidade de amostras de *Morus nigra* comercializadas para fins medicinais em Palmas-TO.

2.2 *Objetivos específicos*

- Realizar testes físico-químicos pertencentes ao controle de qualidade de drogas vegetais;
- Verificar se os teores encontrados atenderam limites gerais para drogas vegetais;
- Identificar as classes químicas presentes nas amostras através da triagem fitoquímica;
- Verificar se as informações necessárias para a avaliação da qualidade das amostras estão presentes nos laudos emitidos pelos fornecedores;
- Comparar as informações contidas nos laudos com os resultados obtidos no controle de qualidade;
- Analisar as informações contidas nas embalagens das amostras seguindo diretrizes da RDC nº 10 de 09 de março de 2010.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Morus nigra* L. Moraceae

A família Moraceae é comum nas regiões tropicais e subtropicais e subdivide-se em cerca de sessenta gêneros que abrangem em torno de mil e quatrocentas espécies. Segundo Nomura, 1988 citados por Oliveira e colaboradores (2013) algumas espécies do gênero *Morus* são amplamente cultivadas na China e no Japão devido suas folhas servirem como alimento para o bicho-da-seda, tais como a amoreira branca (*Morus alba* L.), amoreira preta (*Morus nigra* L.) e amora vermelha (*Morus rubra* L.) (TALINI, 2014). Dentre as espécies do gênero *Morus* destaca-se a *Morus nigra* não só pelos valores nutricionais do fruto como também por conter vários compostos com ação terapêutica, tanto nos frutos, quanto em outros órgãos da planta (FRANZOTTI, 2006).

Morus nigra é uma árvore com cerca de 5 a 20 m de altura, tendo suas folhas bastante grossas, simples e alternas, cordiformes, e simétricas na base de cor verde escura, com pecíolos curtos, ásperas, estípulas longas, membranosas e felpudas, como pode ser visualizado na Figura 1 (MORGAM 1982, apud ALVES-DA-SILVA et al., 2010).

Figura 1. Aspecto macroscópico da espécie *Morus nigra* L.

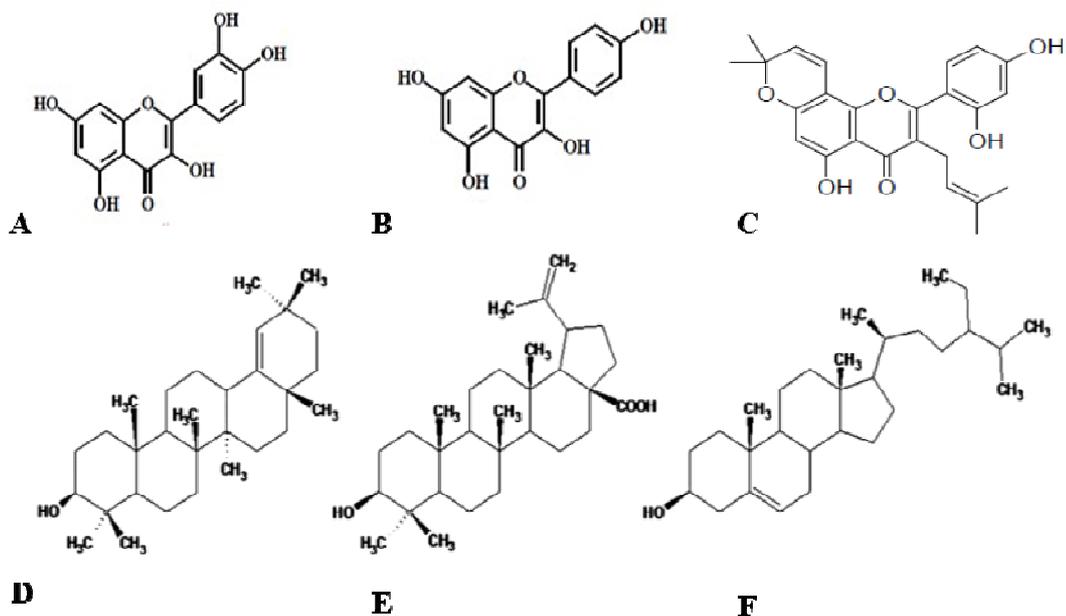


Fonte: www.ruhr-uni-bochum.de;2-www.mistelten.dk;3-www.wsl.ch apud FRANZOTTI, (2006).

Essa espécie, apesar de frutificar com maior intensidade e abundância na Ásia Menor está plenamente aclimatizada no Brasil (CRUZ, 1979 apud ALVES-DA-SILVA et al., 2010; FRANZOTI, 2006). A *Morus nigra* foi trazida para o Brasil, na região do Vale do São Francisco, por imigrantes japoneses, não se tem um ano ou data específico o que se sabe é que a espécie adaptou-se tão bem ao clima e solo da região, que nos dias atuais é vista com frequência, em vários quintais ou pomares de seus apreciadores por várias regiões do Brasil.

O gênero *Morus* é conhecido por conter uma variedade de compostos fenólicos incluindo flavonoides isoprenilados, cumarinas, cromonas e xantonas e fitoalexinas (NOMURA, 1988; NOMURA; HANO, 1994 apud PIEKARSKI, 2013). Na espécie *Morus nigra* os estudos indicam a presença de compostos diferentes de acordo com o órgão vegetal, nos frutos são encontrados os flavonoides quercetina-3-O-rutnósídeo, o canferol-3-O-rutinosídeo, quercetina-3-glicosídeo e as antocianinas cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-O-rutinosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo e pelargonidina-3-O-rutinosídeo (PAWLOWSKA et al., 2008 apud PIEKARSKI, 2013), nas raízes também foram identificados o prenilflavonoide morusina (WANG et al., 2009 apud PIEKARSKI, 2013), além do triterpeno esteroidal oxiresveratrol, (ZHENG et al., 2010 apud PIEKARSKI, 2013) e nas folhas os flavonoides quercetina, canferol e morusina (TALINNI, 2014), triterpeno pentacíclico (germanicol) e triterpenos esteroidais (β -sitosterol e ácido betulínico) e taninos (ácido elágico) (ANTUNES et al., 2000 apud PADILHA, 2009) (Figura 2).

Figura 2. Estruturas químicas dos principais flavonoides e triterpenos presentes nas folhas da espécie *Morus nigra* (PADILHA, 2009; PIEKARSKI, 2013; TALINNI, 2014).



A: quercetina; B: canferol; C: morusina; D: germanicol; E: β -sitosterol e F: ácido betulínico.

Segundo a medicina popular, a amoreira pode ser utilizada para redução do colesterol, problemas cardiovasculares, obesidade, gota, como repositor hormonal durante a menopausa e também para aliviar seus sintomas (principalmente os fogachos), além de amenizar os sintomas de cefaleia e irritação que ocorrem no período pré-menstrual. Os frutos são usados como laxativos, vermífugos, expectorantes, eméticos e hipoglicêmicos e antiinflamatório, a raiz no tratamento da bronquite, anemia, artrite, reumatismo, hipertensão e diabetes e para estancar sangramentos, além da ação expectorante e diurética, as cascas para dores dentárias e as folhas como antídoto para envenenamento decorrente de picadas de animais peçonhentos, no tratamento da pneumonia e diarreia. (MINCU et al., 1989; NADERI; ASGARY et al., 2004; QUER, 1995 apud FRANZOTTI, 2006; OLIVEIRA et al., 2013; ERCISLI; ORHAN, 2007; HU et al., 2011; NOMURA,1999; ÖZGEN et al.,2009 apud PIEKARSKI,2013).

Considerando o amplo uso popular da amora diversos estudos estão sendo realizados para comprovar os efeitos medicinais da espécie e sua segurança. Wang e colaboradores (2010) isolaram da casca da amora, três esteroides (mornigrol D, moracina M e albafurano C), um flavonol (dihidrocanferol) e cinco flavonas (mornigrol G, mornigrol H, norartocarpetina, albanina A e albanina E) verificaram que esses compostos apresentaram atividade antiinflamatória e antioxidante. A atividade antioxidante dos frutos também foi verificada nos extratos aquosos e metanólicos por conter compostos fenólicos, dentre eles o ácido clorogênico (GUNDOGDU et al., 2011; KUTLU et al., 2011; SIMAL-GANDARA et al., 2011).

Giusti-Paiva e colaboradores (2010) verificaram que o extrato hidroetanólico à 50% (m/v) das folhas de amora nas doses de 100-300 mg/Kg administrada em camundongos por via oral apresentou efeito antiinflamatórios por diminuição do edema de pata induzido por carragenina. Segundo os autores o efeito anti-inflamatório foi promovido pelo triterpenos esteroidais (ácido betulínico e β -sitosterol) triterpenos pentacíclicos (germanicol), isolados do extrato.

Almeida e colaboradores (2011) constaram que o extrato bruto etanólico das folhas nas doses de 200 e 400 mg/Kg não possui efeito hipoglicemiante quando comparado com a metformina, que é um hipoglicemiante oral. Resultados semelhantes foram encontrados por Damasceno e colaboradores (2011) ao testar o extrato aquoso da folha na dosagem de 40 mg/Kg em ratas Wistar, após administração do 1º ao 20º dia de gestação. Após o tratamento com o com o extrato de *Morus nigra*, os ratos não-diabéticos e diabéticos não apresentaram

alterações glicêmicas mas os fetos de ratos diabéticos tratados com o extrato tiveram redução na incidência de anomalias internas na prole das ratas diabéticas ocasionado pelo efeito antioxidante da espécie.

Já El-Mawla, Mohamed e Mostafa (2011) conseguiram evidenciar a eficácia hipoglicemiante do extrato etanólico na dosagem de 500 mg/kg/dia durante 10 dias administrado por via oral a ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. O extrato das folhas reduziu a concentração de glicose a partir de $370 \pm 7,31$ mg/dl (controle) para $154 \pm 6,27$ mg/dl e um aumento significativo no nível de insulina de $11,3 \pm 0,31$ mU /ml (controle) para $14,6 \pm 0,43$ mU/ml. Segundo os autores os efeitos obtidos estão relacionados a presença de rutina, quercetina e morusina no extrato testado.

Como os extratos testados foram obtidos a partir de solventes polares os resultados contraditórios dos estudos podem ser justificados pelas concentrações testadas e não necessariamente pelo perfil químico.

Wang e colaboradores (2011) verificaram que alguns flavonoides extraídos dos galhos da amora aumentar a captação de glicose em células animais e aumentaram a expressão da uma enzima GLUT-4 responsável pela homeostase da glicose e que é um alvo na pesquisa de novos fármacos para o tratamento diabetes tipo 2.

Para avaliar a ação analgésica da amora Padilha e colaboradores (2009) avaliaram o extrato diclorometano das folhas na concentração de 100 e 300 mg/Kg em ratos e verificaram que a ação antinoceptiva foi mais forte que a da indometacina (5 mg/Kg) e morfina (10 mg/Kg) o que respalda o uso popular da espécie. Souza e colaboradores (2000) citados por Vanoni (2006) também encontraram ação analgésica com potência similar àquela dos fármacos geralmente usados como referência para o tratamento antinociceptivo no extrato das raízes de *Morus nigra* L. quando administrados em camundongos e relacionou a atividade á presença do flavonoide morusina.

Quanto ao efeito estrogênico, Vanoni (2006) testou o extrato hidroalcoólico à 50% (v/v) e a infusão das folhas de *Morus nigra* administrados via oral diariamente nas doses de 615,3 mg/kg e 27,0 mg/kg, respectivamente, comparados com o estradiol (0,4 mg/kg), como controle positivo diariamente em ratas Wistar e observou que os extratos não interferiram significativamente no desenvolvimento ponderal e massa relativa dos órgãos avaliados, bem como nas variáveis referentes ao ciclo estral das fêmeas, descartando, desta forma, a atividade fitoestrogênica.

Resultados semelhantes foram encontrados por Queiroz e colaboradores (2012) ao avaliarem o efeito estrogênico da amora no sistema reprodutivo e no desenvolvimento embrionário de ratas Wistar quando tratadas por via oral com extrato hidroalcoólico de *Morus nigra* nas doses de 25, 50, 75, 350 e 700 mg/kg de peso corporal durante 15 dias, do acasalamento até o 14º dia de gestação. Os resultados mostraram que os extratos não apresentaram atividade estrogênica significativa e nem exerceram efeito tóxico sobre o sistema reprodutor feminino e no desenvolvimento embrionário dos ratos (QUEIROZ et al., 2012).

Em relação á toxicidade, Almeida e colaboradores (2011) demonstraram que extrato bruto etanólico de folhas não apresenta toxicidade aguda em ratos Wistar na dose 2,0 g/Kg por via intraperitoneal e 5,0 g/Kg via oral após análise dos parâmetros bioquímicos e hematológicos. Oliveira e colaboradores (2013), após administração de 500 mL diários do decocto preparado com 12g das folhas em 1000 mL de água de *Morus nigra*, durante o período de 30 dias por via oral, concluíram que a amora pode ser considerada de baixa toxicidade, pois não produziu mortes nem sinais de toxicidade nos animais, além disso, não provocou alteração nos parâmetros bioquímicos e hematológicos analisados.

Alguns estudos indicam a atividade antimicrobiana dos frutos da amora contra *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli* e *S. marcescens* (KRISCH et al., 2008) e das cascas da amora contra o *E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus* (LACERDA, 2011) e *S. aureus* resistente à metilicina (TOSHIO et al., 2005 apud LACERDA, 2011) e segundo os pesquisadores a amora pode fazer parte do arsenal de plantas terapêuticas na odontologia o que indica que a utilização popular para a dores dentárias pode estar relacionada a ação antimicrobiana evidenciada neste estudo.

3.2 Controle de qualidade de drogas vegetais

Os parâmetros para o controle de qualidade são um conjunto de critérios que caracterizam a matéria- prima para o uso a qual se destina. A qualidade das matérias- prima vegetal não garante por si, a sua eficácia e segurança e a qualidade do produto final e determinante inicial da qualidade do fitoterápico (IHRIG; BLUEME, 1992; GAEDCKE; STEINHOFF, 2000 apud GIL, 2007; FARIAS, 2010).

Os cuidados a serem tomados com o uso de drogas vegetais são os mesmos destinados a qualquer produto utilizado para fins medicinais, devem-se buscar informações com os profissionais de saúde informar ao médico, principalmente as gestantes, lactantes, crianças e idosos. Deve-se adquirir esses produtos preferencialmente em farmácias e drogarias autorizadas pela Vigilância Sanitária e seguir as orientações da bula e embalagem; observar a data de validade, nunca utilizar caso estejam vencidos; e ter o cuidado ao associar com medicamentos, pois pode promover a diminuição dos efeitos ou provocar e ações indesejadas (CARVALHO et al., 2007).

A segurança e a eficácia das plantas medicinais, de forma geral, devem ser asseguradas e garantidas constitucionalmente, pois conforme o Art. 196 da Constituição da República Federativa do Brasil “A saúde é direito de todos e dever do Estado, faz-se importante a existência de normatização a ser cumprida com a finalidade de garantir a qualidade destes medicamentos de forma a possibilitar uma de quando tratamento das enfermidades” (BRASIL,

201
2).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Material vegetal

Três amostras da espécie *Morus nigra* foram adquiridas em agosto de 2014, sendo amostras, A B e C, no caso da amostra A está foi a única, espécie adquirida em farmácia de manipulação, já as amostras B e amostra C, foram adquiridas em ervanárias, sendo estes os únicos lugares localizados no município de Palmas-TO que comercializavam a espécie. Após a aquisição as amostras foram armazenadas em suas embalagens originais no laboratório de Bromatologia, situado no Complexo Laboratorial, do Ceulp/Ulbra, até o momento das análises.

4.1.2 Laudo

Os laudos foram solicitados nas empresas no momento da aquisição, mas somente a empresa, farmácia de manipulação forneceu o laudo.

4.2 Métodos

Todas as análises foram realizadas nos meses de agosto e setembro de 2014, no Laboratório de Farmacognosia, localizado no Complexo Laboratorial do Centro Universitário Luterano de Palmas.

4.2.1 Determinação de elementos estranhos

A determinação de elementos estranhos foi realizada a olho nu a partir de 100 g de cada amostra, pesados em balança analítica e foram considerados materiais estranhos: pedras, órgão vegetal não relacionado a atividade medicinal da planta, insetos, areia, dentre outros.

Os elementos encontrados foram pesados e com isso foi calculado o percentual deste nas amostras. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

4.2.2 Preparo do material vegetal

Após a separação dos elementos estranhos, as amostras foram pulverizada em moinho de facas e armazenada em frasco âmbar, protegidas do calor e umidade excessiva até o início dos testes.

4.2.3 Ensaios quantitativos gerais

Os testes aqui realizados seguiram a metodologias propostas por Mello e Petrovick (2000) e pela Farmacopéia Brasileira (2010).

4.2.3.1 Determinação do teor de cinzas totais

O primeiro passo consistiu em colocar os cadinhos na mufla durante trinta minutos a 200°C, para que estes passassem pelo processo de calcinação. Após este processo, os cadinhos foram armazenados em dessecador e com o resfriamento dos mesmos, suas massas foram determinadas em balança analítica. Posteriormente, realizou-se o processo de quarteamento, para obtenção de 3 gramas da espécie que foram pesados em balança analítica. A massa foi depositada nos cadinhos e estes foram levados a mufla, onde a temperatura foi elevada gradativamente; nos primeiros trinta minutos, a mufla estava á 200°C, á 400°C por sessenta minutos e á 600°C por noventa minutos. Após está etapa, os cadinhos foram retirados da mufla e armazenados em dessecador até atingir temperatura ambiente, posteriormente foram pesados. Após a pesagem, os cadinhos foram colocados novamente na mufla á 600°C mais uma hora e este processo foi repetido até que amassa se tornasse constante (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Os resultados obtidos foram expressos em percentual de massa de cinza na droga vegetal (% , m/m) e corresponde à média de três determinações.

4.2.3.2 Perda por dessecação em estufa

Béqueres foram dessecados em estufa a 105°C durante 30 minutos, em seguida foram levados ao dessecador até alcançarem a temperatura ambiente, sendo suas massas determinadas em balança analítica. Foram pesados em balança analítica 3,5 g da droga vegetal das três amostras pulverizadas e obtidas, através do processo de quarteamento, em seguida os béqueres foram colocados e transferidos para a estufa por 2 horas a 105°C. Em seguida os béqueres foram retirados da estufa, levados ao dessecador e posteriormente pesados e colocados, novamente na estufa a 105°C por mais 1 hora. Este mesmo processo foi realizado até que a droga vegetal obter-se massas constantes (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). Os resultados obtidos foram expressos em perda de massa percentual através da média de três determinações.

4.2.3.3 Determinação da densidade aparente não compactada.

Para este procedimento utilizou-se uma proveta graduada de 100 ml, a mesma foi preenchida com a droga vegetal pulverizada, assim a massa necessária para completar o volume foi utilizada para calcular através da diferença entre a massa da proveta completa e a vazia. A densidade foi calculada através da razão entre massa e o volume, e o resultado foram expressos em g/mL correspondente à média de três determinações (MELLO; PETROVICK, 2000).

4.2.3.4 Determinação do pH

Para determinação do pH foi preparada uma solução por decocção de 1g de cada amostra, obtida por quarteamento, em 100g de água destilada. Após resfriamento, verificou-se o pH da solução como auxílio de um pHmetro e para comparação também foi verificado o pH da água utilizada no processo extrativo. O resultado corresponde á média de três amostras, pois o processo foi realizado em triplicata (MELLO; PETROVICK, 2000)

4.2.3.5 Determinação do teor de extrativos

Para determinar o de teor extrativo, foi pesado 1 g da droga vegetal em balança analítica e esta foi submetida a decocção com 100 g de água destilada por um período de 10 minutos. Após o resfriamento, para compensar o volume de água que evaporou, foi adicionado a quantidade necessária para voltar ao volume original. A solução resultante foi filtrada com o auxílio de algodão em funil, sendo desprezados os primeiros 20 ml. O restante da solução foi dividida em alíquotas de 20g pesadas separadamente em béqueres previamente tarados, e em seguida esta solução foi levada á chapa aquecedora até a secura, e o resíduo obtido foi levado a estufa á 105°C durante uma hora até massas se tornassem constante, para que toda a umidade do extrato fosse retirada pó completo (MELLO;PETROVICK,2000).O teor de extrativos foi calculado em massa percentual,de acordo com a equação1,apresentada a seguir pela média das três amostras .

Equação1

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

Em que:

TE = teor de extrativos (%,
m/m)

g = massa do resíduo seco (g)

m = massa da amostra

(g) FD = fator de
diluição (5)

4.2.4 Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica foi realizada segundo a metodologia proposta por Costa (2002), sendo utilizadas espécies controle, ou seja, plantas medicinais que possuem alto teor das classes químicas em estudo de acordo com a literatura. Para alcalóides foram utilizada as folhas da espécie *Peumus boldus* (boldo do Chile), lote 051983 e validade março de 2016, para antraquinonas o folículo da espécie *Cassia angustifolia* (sene), lote 052195 e validade dezembro de 2015, para flavonoides, as partes áreas da espécie *Passiflora edulis* (maracujá),

lote 052270 e validade maio 2018, para saponinas as raízes da espécie *Glicyrrhiza glabra* (alcaçuz), lote 052201 validade novembro de 2017, e para taninos a espécie *Hamamelis virginiana* (hamamelis) foram utilizadas as folhas, com o lote 044113 e validade maio de 2017. Todos os controles foram adquiridos do fornecedor Florien®.

4.2.4.1 Alcalóides

A extração para obter alcalóides foi realizada com 2 g da droga vegetal pulverizada, tanto o controle quanto as amostras de amora, com 15 ml de HCl a 2% (v/v) em banho-maria por 5 minutos. Posteriormente foi extraída a mesma amostra com 30 ml de HCl 0,1 N por 5 minutos em banho-maria. As soluções extrativas foram filtradas para um funil de separação e em seguida realizou-se o processo de purificação, através da adição de 1,5 ml de hidróxido de amônio para alcalinizar o pH da solução extrativa. No funil de separação, foram adicionados 30 ml de clorofórmio, divididos em duas vezes de 15 mL. A separação foi realizada através da agitação do funil de separação com posterior recolhimento da fase clorofórmica (inferior) em um béquer. Para concentrar os alcalóides presentes na solução, foram evaporados 15 ml da fração clorofórmica em cápsula de porcelana na chapa aquecedora. O extrato obtido foi resuspenso na capela, e dissolvido com 12 ml de HCl 2% e a solução obtida foi dividida em 4 tubos de ensaio, para a realização das reações de caracterização utilizando os reagentes específicos: Wagner, Dragendorff, Mayer. A formação de precipitado após a adição dos reagentes indica a positividade para alcalóides nessa reação.

4.2.4.2 Antraquinonas

Foram realizados testes para detectar a presença de antraquinonas livres e heterosídicas.

4.2.4.2.1 Antraquinonas livres

Para realizar a triagem de antraquinonas utilizou-se 1g da droga vegetal em pó acrescido de 10, ml de éter etílico em um tubo de ensaio. Em seguida foi adicionado 1ml de amônia á 10 % (v/v), agitando com cuidado. A presença de antraquinonas livres é confirmada quando a camada aquosa adquire coloração rósea.

4.2.4.2.2 Heterosídeos antraquinônicos

Para este teste foi utilizada 1 g de droga vegetal em pó com 5,000 ml de amônia á 10% (v/v) seguido de agitação em tubo de ensaio. O aparecimento da coloração rósea na camada aquosa da solução indicará a presença de heterosídeos antraquinônicos.

4.2.4.3 Flavonóides

4.2.4.3.1 Reação de Shinoda ou Cianidina

Para a realização da triagem para flavonoides foram pesados 5g da droga vegetal em pó em seguida foi realizada a digestão com 50 ml de solução hidroalcoólica á 70% (v/v) em banho-maria por 5 minutos. Da solução extrativa obtida, foi retirada uma alíquota de 8ml que foi evaporada em cápsula de porcelana. O resíduo obtido foi lavado com éter etílico e dissolvido com 3 ml de metanol e a solução obtida foi transferida para um tubo de ensaio e com posterior adição de 100 mg de magnésio em pó seguido de 1mL de HCl concentrado. Para confirmar a positividade da amostra nesse teste colorimétrico, os resultados de coloração alaranjada confirmam a positividade para flavonas e a coloração avermelhada confirma a positividade para flavonol.

4.2.4.4 Saponinas

Foi realizada a extração por decocção com 2g da droga vegetal em pó e 100 ml de água destilada para obter as soluções extrativas necessárias para a pesquisa de saponinas.

4.2.4.4.1 Teste de espuma

Foi transferido 1mL da solução extrativa para tubos de ensaio, e adicionados 10mL de água destilada e em seguida agitou-se verticalmente e vigorosamente por 20 segundos. Logo foi adicionado 1mL de HCl2N. A persistência da espuma por, no mínimo, vinte minutos indica positivo para saponinas.

4.2.4.4.1 Reação de Salkowski

Em uma cápsula de porcelana foram adicionados 10mL da solução e esta foi evaporada até a secura. O resíduo que foi obtido foi ressuspendido com 5 mL de metanol, e a solução obtida foi transferida para um tubo de ensaio e evaporada totalmente em banho-Maria . Ao novo resíduo Foi adicionado 1 mL de H₂SO₄ pelas paredes do tubo. A coloração castanho-escuro-avermelhada, após a adição do ácido sulfúrico indica a presença de núcleo esteroidal.

4.2.4.5 Taninos

Os decoctos foram preparados com 5 g da droga vegetal em pó e 100ml de água destilada, levados ao banho-maria por 10 minutos. A solução extrativa foi então dividida em 3 tubos de ensaio contendo 2, 2 e 5 mL para a realização da reação de gelatina, sais de ferro e acetato de chumbo, respectivamente.

4.2.4.5.1 Reação de gelatina

Para esta reação foram adicionadas 2 gotas de HCl 0,1N e 5 gotas de solução de gelatina a 2,5% (v/v) ao tubo de ensaio contendo 2,000 ml da solução extrativa. A formação de precipitado indica a presença de taninos.

4.2.4.3.2 Reação de sais de ferro

Para esta reação foram adicionados 10 ml de água destilada no tubo de ensaio e 2 ml de cloreto férrico 2% em metanol. Caso a solução apresente coloração azul é um indicativo da presença de taninos hidrolisáveis e se a coloração for verde, indicará a presença de taninos condensados.

4.2.4.5.3 Reação de acetato de chumbo

Para esta reação foram adicionados 10 ml de ácido acético no tubo de ensaio contendo, 5 ml da solução extrativa e em seguida 5 ml de acetato de chumbo. Se na amostra houver a presença de taninos hidrolisáveis será indicada pela formação de precipitado esbranquiçado.

4.2.5 *Análise de embalagens*

Para realizar a análise das embalagens foram utilizados alguns dos itens obrigatórios descritos no Anexo I da RDC 10/10 (BRASIL, 2010), como sugestão para o uso seguro da espécie *Morus nigra*, pois não está presente nesta Resolução. Os itens analisados foram: nome científico, nome popular, órgão vegetal, nome do fabricante, número do Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC), lote, validade, forma de preparo, posologia e via de administração.

4.2.6 *Análise dos laudos*

Os itens que foram analisados incluem as informações indispensáveis para a garantia da qualidade de drogas vegetais, conforme descrito por Cardoso (2009). São eles: identificação do fornecedor e ou do fabricante, nome do produto, parte utilizada, número do lote, data de validade, número da nota fiscal, nome científico (família espécie e gênero), características sensoriais ou organolépticas, identificação química dos ativos ou marcadores (genérica ou por cromatografia em camada delgada), quantificação do princípio ativo, análise microbiológica, ensaio limite para metais pesados, análise agrotóxicos e pesticidas, caracterização morfológica e anatômica, matérias estranhas, umidade e cinzas totais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de elementos estranhos

Como a espécie *Morus nigra* ainda não foi descrita em nenhuma Farmacopeia, nem pela Organização Mundial de Saúde e os estudos indicam que todos os órgãos são utilizados popularmente e são ativos medicinalmente, na avaliação de elementos estranhos foram considerados apenas fragmentos de outras plantas, insetos e pedras em excesso indicativas de falsificação ou adulteração. Considerando os limites gerais para elementos estranhos descritos por Farias (2010) que é de 2% nenhuma amostra ultrapassou o limite, mas na amostra B foram encontrados além de pedras e insetos um pedaço de corda, o que não é um material esperado para uma amostra de droga vegetal para consumo, os elementos estranhos conforme apresentados na Figura 3.

Figura 3. Elementos estranhos encontrados na amostra B de *Morus nigra* comercializada das no município de Palmas–TO.



Amaral e colaboradores (2003), em São Luiz Maranhão, também encontraram insetos vivos e/ou mortos em amostras de favas de jucá (*Caesalpinia férrea* Mart.) e concluiu que o resultado indicava condições impróprias de acondicionamento do material vegetal. Nascimento e colaboradores (2005) em Recife PE, observaram que das 32 amostras de diferentes espécies de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.) comercializadas em Recife – PE, 21 apresentaram percentual de material estranho acima do

permitido. Esses elementos eram constituídos por pequenos pedaços de madeira, areia e frutos de coentro (*Coriandrum sativum*).

5.2 Ensaio quantitativos gerais

Os resultados encontrados na determinação de umidade, cinzas totais, densidade aparente, teor de extrativos e pH encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises físico-químicas das amostras de *Morus nigra* adquiridas no município de Palmas-TO.

Testes	A	B	C	Laudo da amostra A	Limites gerais (FARIAS, 2010)
Perda por dessecação	8,160 ± 0,166	8,125 ± 0,146	8,597 ± 0,520	De 3 a 14 %	8 a 14%
Teor de cinzas totais	4,531 ± 0,313	9,903 ± 0,318	5,087 ± 0,354	De 1 a 10%	2%
Densidade aparente não compactada (g/mL)	0,260 ± 0,007	0,297 ± 0,018	0,263 ± 0,011	NC	NC
Teor de extrativos (%)	0,466 ± 0,163	0,805 ± 0,055	0,532 ± 0,102	NC	NC
pH	6,43 ± 0,05	5,90 ± 0,41	5,32 ± 0,27	NC	NC

NC: não consta

O teor de umidade da droga vegetal é determinado pelo processo de perda por dessecação. De acordo com Farias (2010), o teor de úmida de geral para drogas vegetais é de no máximo 8-14 %, quando a espécie não se encontra descrita na Farmacopeia. Como a umidade detectada na amostra A foi de 8,160% ± 0,166, na amostra B foi 8,125 ± 0,146 e na amostra C 8,597 ± 0,520, as três amostras atendem a esse parâmetro. Segundo o laudo da amostra A, a umidade estaria entre 3 e 14 % o que pode ser considerado compatível com o resultado obtido para a amostra, mas vale a pena ressaltar que o limite inferior descrito é considerado baixo para drogas vegetais, pois valores inferiores a 8%, geralmente indica secagem

excessiva o que pode ocasionar evaporação e/ou degradação dos ativos (BRANDÃO, 2002; FARIAS 2010).

O teor de cinzas totais é um teste que determina a presença de matéria inorgânica, como areia, terra ou pedra, os quais, mesmo expostos à alta temperatura permanecem inalterados. Assim, quantidades de matéria inorgânica superiores ao permitido pela literatura, indicam presença de adulteração do material vegetal. As três amostras analisadas apresentaram teores superiores ao limite geral preconizados (FARIAS, 2010), que é de 2%, pois os teores obtidos foram de $4,531 \% \pm 0,313$ (amostra A), $9,903\% \pm 0,318$ (amostra B) e $5,087 \% \pm 0,354$ (amostra C), indicando excesso de impurezas. Resultados semelhantes foram encontrados em todas as amostras de boldo analisadas por Melo e colaboradores (2004) comercializadas em farmácias de Recife-PE. Ao compararmos o resultado da amostra A com o laudo fornecido, fica claro o excesso de impurezas encontrados, indicando um possível padrão de adulteração de plantas medicinais

A densidade aparente não compactada é um teste que avalia de forma indireta, o tamanho das partículas da droga vegetal pulverizada, através da massa da droga vegetal que ocupa um volume fixo. Esse valor é importante, para que seja correlacionado com o teor de extrativos, pois o tamanho de partícula normalmente está inversamente relacionado ao rendimento. Segundo Costa (2002) partículas menores têm maior superfície de contato com o líquido extrator, porém partículas muito pequenas facilitam a compactação e conseqüentemente podem diminuir o rendimento da extração, além de prejudicar o processo de filtração.

A densidade aparente não compactada das amostras A,B,C foram respectivamente, $0,260 \text{ g/mL} \pm 0,007$, $0,297 \text{ g/mL} \pm 0,018$ e C $0,263 \text{ g/ml} \pm 0,011$ indicando que as amostras A e C apresentavam características semelhantes antes da pulverização, o que gera partículas de tamanhos semelhantes após a pulverização, já que todas foram pulverizadas no mesmo moinho de facas. A amostra B, por apresentar maior densidade, significa que no volume definido foi possível comportar uma maior massa de planta, o que indica menor tamanho de partícula, o que pode colaborar para um maior rendimento.

Os resultados para teor de extrativos comprovam a suposição de que a amostra B Teria um maior rendimento, pois os rendimentos foram $0,466 \pm 0,163$ para a amostra A, $0,805 \pm 0,055$ para amostra B e $0,532 \pm 0,102$ para a amostra C o que nos permite concluir que o tamanho da partícula influenciou positivamente no rendimento, mas o rendimento também depende das características químicas resultantes do metabolismo vegetal. Resultados

semelhantes, ao teor de extrativos e ao tamanho das partículas foram encontrados por Silva (2013) ao estudar amostras de ruibarbo adquiridas em Palmas–TO.

O pH é fundamental para a determinação da qualidade da droga vegetal, pois o mesmo pode influenciar no crescimento de microrganismos que podem causar deterioração da droga vegetal ou até mesmo o crescimento de agentes patógenos. O pH das amostras foi de $6,43 \pm 0,05$ (amostra A), $5,90 \pm 0,41$ (amostra B) e $5,32 \pm 0,27$ (amostra C), resultados esses que indicam que todas as amostras estão menos susceptíveis a contaminação, pois quanto mais básico o pH maior a chance de contaminação por leveduras e bolores, e quanto menor o pH menor a chance de contaminação (HOFFMANN, 2001). Além disso, podemos afirmar que as moléculas extraíveis por água três amostras apresentam característica ácida.

5.3 Triagem fitoquímica

Dentre os metabólitos secundários que estão relacionados com as atividades farmacológicas da amora destacam-se os compostos fenólicos especialmente da classe dos flavonoides e triterpenos (ANTUNES et al., 2000 apud PADILHA, 2009; PAWLOWSKA et al., 2008; WANG et al., 2009; ZHENG et al., 2010 apud PIEKARSKI, 2013; TALINNI, 2014).

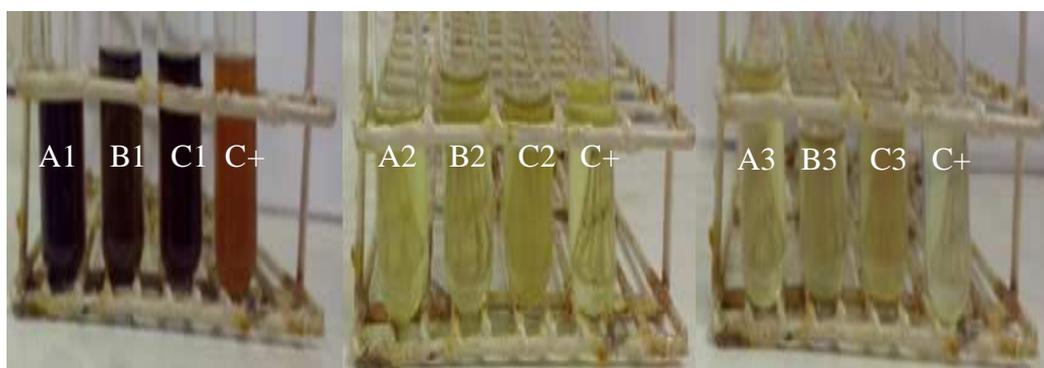
A triagem fitoquímica tem o objetivo de identificar a presença das classes químicas esperadas para a espécie, e a partir de seu resultado pode-se suspeitar de falsificação e/ou adulteração. A triagem pode também indicar a ausência da ação terapêutica da droga vegetal, que por influência de vários fatores como sazonalidade, ritmo circadiano, temperatura, altitude, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, índice pluviométrico, idade macronutrientes e micronutrientes, a planta pode deixar de produzir os princípios ativos esperados (LOPES; GOBBO-NETO, 2007) ou ainda em decorrência de armazenamento e transporte inadequado. Portanto, a triagem fitoquímica é uma análise imprescindível para o controle de qualidade de drogas vegetais. Os resultados obtidos nessa análise estão apresentados na Tabela 2 e ilustrados nas Figuras 4 a 8.

Tabela 3. Resultado da análise fitoquímica das amostras de *Morus nigra* adquiridas no município de Palmas-TO.

Classes	Reações	A	B	C
Alcalóides <i>Peumusboldus</i> *	Wagner	+	+	+
	Dragendorff	+	+	+
	Mayer	+	+	+
Antraquinonas <i>Cassia angustifolia</i> *	Livres	-	+	+
	Heterosídeos	-	-	-
	antraquinônicos			
Flavonóides <i>Passifloraedulis</i> *	Shinoda	+	+	+
Saponinas <i>Glicujrhizaglabra</i> *	Teste de espuma	-	-	-
	Salkowski	+	-	+
Taninos <i>Hamamelisvirginiana</i> *	Gelatina	-	-	-
	Sais de ferro	+	+	+
	Acetato de chumbo	-	-	-

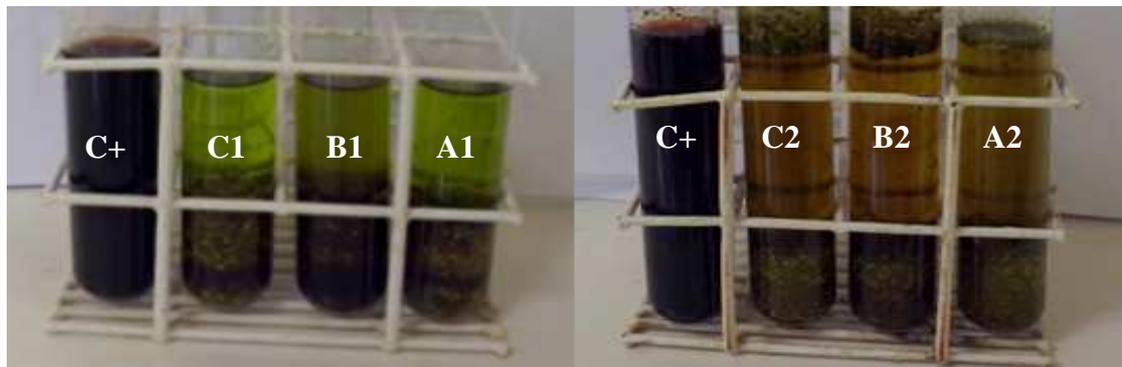
(*) Espécie controle; (+) positivo; (-) negativo.

Figura 4. Resultados do teste de Wagner, Dragendorff e Mayer para a classe de alcaloides de amostras de *Morus nigra* adquiridas no município de Palmas-TO.



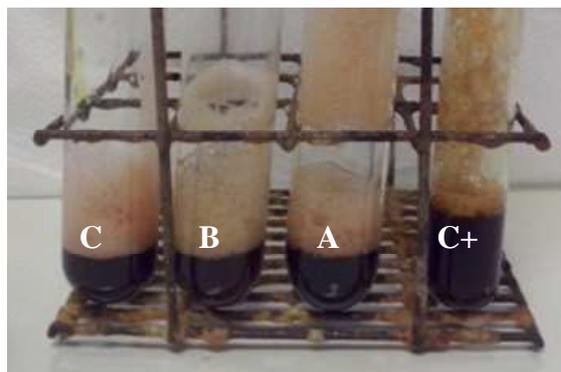
Da esquerda para direita amostras A, B, C e controle positivo; Sendo:(1) Reativo de Wagner; (2) Reativo de Dragendorff e (3) Reativo de Mayer.

Figura 5. Resultados do teste Borntrager para a classe de antraquinonas de amostras de *Morus nigra* adquiridas no município de Palmas-TO.



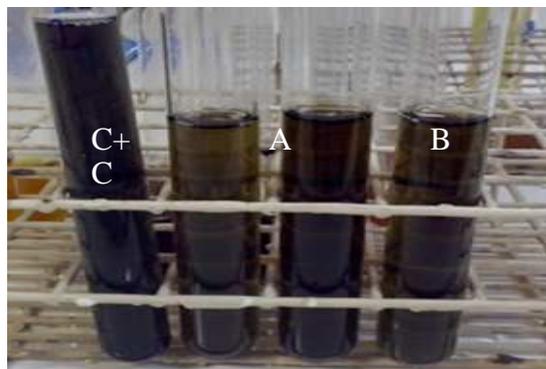
Sendo teste 1: Antraquinonas livres e teste 2: Heterosídeos antraquinônicos. A (amostra A); B (amostra B); C (amostra C) e C+ (controle positivo).

Figura 6. Resultado do teste de Shinoda de amostras de *Morus nigra* adquiridas no município de Palmas-TO.



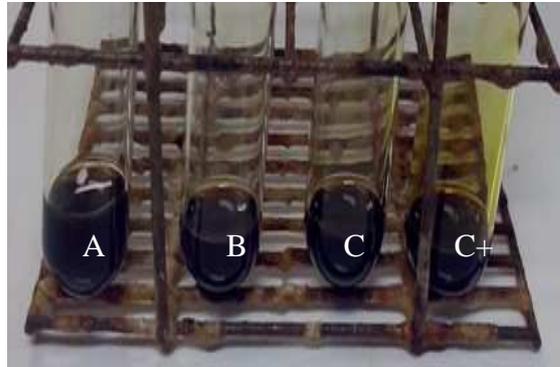
Amostras C, B, A e C+: amostras A, B e C e controle positivo.

Figura 7. Resultado do teste de cloreto férrico de amostras de *Morus nigras* adquirida no município de Palmas-TO.



Amostras C+, A, B e C: amostras A, B e C e controle positivo.

Figura 8. Resultados do teste de Salkowski de amostras de *Morus nigra* adquiridas no município de Palmas-TO.



Amostras C+, A, B e C: amostras A, B e C e controle positivo.

Os testes para alcaloides foram todos positivos para as três amostras no teste do Reativo de Wagner e mesmo os reativos não sendo específicos para as classes de alcaloides esse resultado nos permite afirmar que o perfil dos alcaloides presentes nas amostras foi semelhante, pois as três amostras apresentaram positividade para o mesmo reativo. Faz-se importante ressaltar que os estudos químicos não descreveram a presença dessa classe química na espécie *Morus nigra*.

No teste de antraquinonas foram encontradas antraquinonas livres nas amostras A e B, esse resultado não era esperado, pois os estudos tanto da espécie quanto do gênero não indicam a presença de antraquinonas, apesar da amora ser utilizada como laxante pela população (ERCISLI; ORHAN, 2007; ÖZGEN et al., 2009; HU et al., 2011; NOMURA, 1999 apud PIEKARSKI, 2013).

A presença de alcalóides e antraquinonas podem ser justificadas pela produção desse metabólito em função do local em que as amostras foram cultivadas, tais como nutrientes do solo, clima, dentre outros, mas também pode indicar adulteração com espécies que contenham essa classe química (LOPES; GOBBO NETO, 2007), mas também pode indicar adulteração com outras espécies vegetais.

Na reação de Shinoda, que permite diferenciar a presença de flavona e flavonol através da coloração alaranjada e avermelhada respectivamente, as três amostras de amora e o controle apresentaram coloração avermelhada indicando assim a presença de flavonol.

A reação de cloreto férrico apesar de ter sido realizada na triagem para taninos não detecta apenas essa classe, pois é um teste específico para polifenóis, portanto é capaz de

indicar a presença de taninos (azul ou verde) e flavonoides (verde). Como o resultado encontrado neste teste para as três amostras de amora foi coloração esverdeada e negativo no teste de gelatina, que é específico para taninos, podemos concluir que o polifenol presente pertence a classe dos flavonoides. A presença de flavonóides nas amostras analisadas confirma os dados da literatura em relação á espécie que segundo Antunes e colaboradores, (2000) citados por Padilha, (2009) e Talinni (2014) as folhas possuem os flavonoides quercetina, canferol e morusina.

A reação de Salkowski, apesar de ser realizada durante a triagem de saponinas, é específica para núcleo esteroidal e, quando a espécie apresenta saponinas, indicada pelo resultado positivo no teste de espuma, se conclui que a planta tem saponina esteroidal. Nas amostras de amora como não foi detectada a presença de saponinas, portanto o resultado positivo na reação de Salkowski indica a presença de moléculas esteroidais, dentre elas os hormônios. Os estudos confirmam a presença de triterpenos esteroidais (β -sitosterol e ácido betulínico) (ANTUNES et al., 2000 apud PADILHA, 2009) na espécie *Morus nigra* e relacionam essas moléculas ao efeito hormonal que faz com que a população utilize a amora na menopausa.

5.2 Análise das embalagens

Apesar da amora não estar descrita na RDC10/10, foram considerados os itens essenciais para segurança do usuário. As embalagens analisadas e os resultados encontram-se apresentados na Figura 9 e Tabela 3, respectivamente.

Figura 9. Embalagens das amostras de *Morus nigra* comercializadas no município de Palmas-TO.



Tabela 3. Resultado da análise das informações contidas nas embalagens de amostras comerciais de *Morus nigra* adquiridas em Palmas – TO.

Informações/embalagens	A	B	C
Nomenclatura científica	Sim	Sim	Não
Nomenclatura popular	Sim	Sim	Sim
Órgão vegetal	Sim	Sim	Não
Nome do fabricante	Sim	Sim	Não
Numero (SAC)	Não	Sim	Não
Lote	Sim	Sim	Não
Validade	Sim	Sim	Não
Forma de preparo	Sim	Sim	Não
Posologia	Sim	Sim	Não
Via de administração	Sim	Sim	Não

Diante desta análise ficou clara a ausência de informações essenciais nas embalagens das amostras comerciais da espécie *Morus nigra*, adquiridas no município de Palmas. Essas informações poderiam favorecer a utilização correta da espécie pelo consumidor, diminuindo assim o risco de danos à saúde, de pacientes que utilizam a espécie. A embalagem da amostra B atendeu aos itens mínimos, já que a amostra não está descrita na RDC 10/10. Na embalagem da amostra A, apesar de conter um número de telefone, este não é do SAC e esse é o único item ausente. Já a embalagem da amostra C a única informação presente na embalagem era o peso, o nome popular e código de barras do preço da embalagem. A forma de preparo, posologia e via de administração são informações muito importantes, pois o uso incorreto coloca em risco a saúde do paciente, uma vez que o mesmo pode ser inexperiente sobre o uso desta planta e pode acabar ingerindo-a de maneira incorreta, causando assim reações indesejáveis.

5.2 Análise de laudos

Cardoso (2009) relata que sempre que for adquirido algum tipo de matéria-prima vegetal a mesma deve estar acompanhada do laudo de análise emitido pelo fabricante e/ou distribuidor, o resultado da análise do laudo da amostra A, encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4. Resultado da análise do laudo da amostra A de *Morus nigra* comercializada em Palmas – TO.

Itens	
Identificação do fornecedor e/ou fabricante	Sim
Nome do produto	Sim
Número do lote	Sim
Data de validade	Sim
Número da nota fiscal	Não
Nome científico (gênero, espécie)	Sim
Nome científico (Família)	Sim
Droga vegetal	Sim
Características sensoriais ou organolépticas	Sim
Identificação química, genérica ou por cromatografia em camada delgada, dos ativos ou marcadores	Sim
Quantificação de ativos	Não
Análise microbiológica	Sim
Ensaio limite para metais pesados	Não
Análise para agrotóxicos e pesticidas	Não
Caracterização morfológica e anatômica	Sim
Umidade ou perda por dessecação	Sim
Materiais estranhos	Sim
Cinzas totais	Não
Bibliografia	Sim

A partir dos resultados obtidos após a análise do laudo, foi possível observar que o mesmo não apresentava todos os itens necessários para fornecer qualidade e segurança aos seus usuários da espécie, pois não constava o número da nota fiscal, que é importante para a rastreabilidade do produto; quantidade de ativo presente, o que pode comprometer a ação terapêutica esperada; e ensaio limite para metais pesados, uma vez que a ingestão estes metais em altas concentrações pode levar o paciente a um quadro de intoxicação (GERALDO; VIRGA; SANTOS, 2007)

Os dados sobre as características anatômicas e morfológicas só relatam sobre o aspecto, macroscópico, de forma resumida, dificultando assim a análise microscópica; a identificação química, genérica ou por cromatografia em camada delgada, dos ativos ou marcadores foi realizada indicando positividade para flavonóide e taninos, mas a quantificação não foi realizada o que pode comprometer a segurança do usuário, pois alguns fatores como coleta, transporte, mau armazenamento e distribuição da planta podem influenciar na quantidade de ativos (FARIAS, 2010).

Algumas informações, apesar de presentes, não são suficientes para a realização do controle de qualidade, tais como: as características sensoriais ou organolépticas, em que o laudo informa que o odor e o sabor da espécie *Morus nigra*, são “característicos” e sem nenhuma definição do que seria característico.

Não existem informações sobre ensaio limite para metais pesados e investigação sobre a presença de agrotóxicos e pesticidas. Carneiro, Siqueira e Moreira (2001) relatam a importância de alguns metais para várias funções fisiológicas nos seres vivos. Sendo os principais ferro, cobre, zinco e manganês, já o cádmio, chumbo e mercúrio não possuem funções biológicas e quando consumidos em excesso podem causar danos à saúde, como lesões gástricas, intoxicação renal, dentre outras.

O laudo do controle de qualidade é de responsabilidade do farmacêutico e os problemas encontrados no laudo, indicam que não foi realizada uma análise minuciosa deste ou ainda que os testes não foram realizados, o que conseqüentemente pode ocasionar problemas ao usuário, pois a qualidade não está garantida e isso nos permite afirmar que não houve qualificação do fornecedor, conforme descrito na RDC 67/07 (BRASIL, 2007).

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através das análises das amostras de *Morus nigra* L. comercializadas no município de Palmas – TO, considerando os limites gerais para drogas vegetais indicaram que as três amostras estudadas apresentavam teor de elementos estranhos e umidade adequados e excesso de cinzas totais o que indica adulteração das amostras.

As amostras apresentaram diferentes teores de extrativos, sendo o maior rendimento observado o teor obtido foi o da amostra B ($0,805 \% \pm 0,055$) e esse resultado provavelmente foi relacionado ao tamanho de partícula, pois a densidade aparente deste amostra foi a maior ($0,297 \text{ g/mL} \pm 0,018$).

O pH das amostras variou de $5,32 \pm 0,27$ a $6,43 \pm 0,05$, portanto todas as amostras são ácidas ou seja são menos susceptíveis a contaminação por microrganismos.

A triagem fitoquímica indicou a presença de flavonoides (flavonol) e alcaloides em todas as amostras, além de antraquinonas livres nas amostras B e C. Das classes químicas descritas na literatura, esperava-se apenas flavonoides e a presença de alcaloides e antraquinonas, pode ser indicativo de variações no metabolismo da espécie ou falsificação da mesma.

A análise das embalagens indicou problemas, principalmente na embalagem da amostra C, que continha apenas o nome popular e a massa, o que pode ocasionar problemas no preparo e consequentemente na segurança do usuário.

Ao analisar o laudo da amostra A, verificou-se tanto a ausências de informações, quanto informações inadequadas em comparação com as especificações exigidas. De forma geral, ficou evidente que a fiscalização por parte da Vigilância Sanitária tem sido insuficiente, pois as drogas vegetais comercializadas no município de Palmas–TO não estão de acordo com o preconizado pela legislação em vigor, o que pode comprometer a saúde dos usuários.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.R.G.; GUIMARAES, A.L.; OLIVEIRA, A.P.; ARAUJO, E.C.C.; SILVA, F.C. NEVES, L.F.; OLIVEIRA, R.A. SA, P.G.S.; QUINTANS-JUNIOR, L.J. Evaluation of Hypoglycemic Potential and Pre-Clinical Toxicology of *Morus nigra* L. (Moraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 30, n. 1, p. 96-100, 2011.

ALVES-DA-SILVA, H.T.A.; MORAIS, F.F. MOREIRA, Q. L. PADILHA, M. M. Estudo farmacobotânico das folhas de amoreira-preta, *Morus nigra* L., Moraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20, n. 4, p. 1-6 , 2010.

AMARAL, F.M.M.; COUTINHO, D.F.; RIBEIRO, M.N.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13, supl., p. 27-30, 2003.

BRANDÃO, M.G.L.; ALVES, A.R.M.S.; MOREIRA, R.A.; OLIVEIRA, P.; VEIRRA, M.T., MOREIRA-CAMPOS, L.M. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 5, n. 1, p. 56-59, 2002.

BRANDÃO, M.G.L.; FREIRE, N.; VIANNA-SOARES, C.D. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. **Caderno de Saúde Pública**. v. 14, n. 3, p. 613-616, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 10, de 09 de março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0010_09_03_2010.html>. Acesso em: 20 de abril de 2014.

BRASIL. Constituição da Republica Federativa do Brasil. 35 edição. Brasília: Câmara dos deputados. Edições Câmara, 2012.

CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral**. São Paulo: Editora Pharmabooks, 2009.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicosarbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 36, n. 12, p. 1443-1452, dez. 2001.

CARVALHO, A.C.B; NUNES, D.S.G.; BARATELLI, T.G; SHUQAIR, N.S.M.S.A.Q. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**. v. 5, n. 11,p. 1-6, 2007.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002. v.3

DAMASCENO, D.C. VOLPATO, G.T.; CALDERON, I.M.P.; SINZATO, S.; CAMPOS, K.E.; RUDGEA, M.V.C. Effect of *Morus nigra* aqueous extract treatment on the maternal–fetal outcome, oxidative stress status and lipid profile of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 138, p. 691–696, 2011.

EL-MAWLA, A.M.A.; MOHAMED, K.M; MOSTAFA, M.A. Induction of Biologically Active Flavonoids in Cell Cultures of *Morus nigra* and Testing their Hypoglycemic Efficacy. **Scientia Pharmaceutica**. v. 79, p. 951–961, 2011.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. v. 1, Brasília, 2010. 545 p.

FARIAS M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis.UFRGS, 2010.

FRANZOTTI, E.M. **Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus ornatos* Codd., *Ipomoeacairica* (L) Sweet e *Pouteria torta* (Mart.) Radlk.** Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências da Saúde - Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade de Brasília para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde. Brasília, 2006.

GIL, E.S. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 2ª ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007.

GIUSTI-PAIVA A.; PADILHA, M.M.; VILELA, F.C.; ROCHA, C.Q.; DIAS, M.J.; SONCINI R.; SANTOS M.H.; ALVES-DA-SILVA, G. Antiinflammatory properties of *Morus nigra* leaves. **Phytotherapy Research**. v. 24, n. 10, p.1496-500, 2010.

GUNDOGDU, M.; MURADOGGLU, F.; SENSOY R.I.G.; YILMAZ, H. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC **Scientia Horticulturae**. v. 132, p. 37-41, 2011

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**. n. 9, p. 23-30, 2001.

KRISCH, J.; GALGÓCZY, L.; MONIKA, T.; PAPP, T.; VAGVOLGYI, C. Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Acta Biologica Szegediensis**. v. 52, n.2, p. 267-270, 2008.

KUTLU, T.; DURMAZ, G.; ATES, B. YILMAZ, I.; ÇETIN, M.S. Antioxidant properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra* L.) **Turk Journal Biology**. v.35, p.103-110, 2011.

LACERDA, S.R.L. **Estudo microbiológico da ação de extratos vegetais hidroalcoólicos sobre microrganismos bucais**. Graduação em Odontologia. Universidade Federal da Paraíba. Campina Grande 2011.

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

MELO, J. G.; NASCIMENTO, V. T.; AMORIM, E. L. C.; ANDRADE LIMA, C. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata-de-vaca (*Bauhinia spp.*) e ginko (*Ginkgo biloba* L.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 14, n. 2, p.111-120, 2004.

MELLO, J. C. P.; PETROVICK, P. R. Quality control of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) hydroalcoholic extracts. **Acta Farmaceutica Bonaerense**. v.19,n.3,p.211-215, 2000.

NASCIMENTO, V.T.; LACERDA, E.U.; MELO, J.G.; LIMA, C.S.A.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.7, n.3, p.56-64, 2005.

OLIVEIRA, A.C.B.; OLIVEIRA, A.P.; GUIMARÃES, A.L.; OLIVEIRA, R.A.; SILVA, F.S.; REIS, S.A.G.B.; RIBEIRO, L.A.A.; ALMEIDA, J.R.G.S. Avaliação toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.15, n. 2, p. 244-249, 2013.

PADILHA, M.M.; VILELA, F.C.; SILVA, M.J.D.; SANTOS, M.H.; ALVES-DA-SILVA, G.; GIUSTI-PAIVA, A. Antinociceptive Effect of the Extract of *Morus nigra* leaves in Mice. **Journal of Medicinal Food**. v. 12, n. 6, p. 1381–1385, 2009.

PADILHA, M.M. **Estudo farmacognóstico, fitoquímico e farmacológico das folhas de *Morus nigra* L. (amoreira-preta)**. Dissertação. Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2009.

PIEKARSKI, P. **Análise nutricional e fitoquímica de frutos da *Morus nigra* L.** Dissertação. Mestrado em Segurança Alimentar e Nutricional, do Curso de Pós-graduação em Segurança Alimentar e Nutricional, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2013.

SILVA, S. C.C. **Controle de qualidade de amostras de *Rheum palmatum* comercializadas no município de Palmas – TO**. Monografia. Graduação em Farmácia. Centro Universitário Luterano de Palmas, 2013.

QUEIROZ, G. T., SANTOS, T. R.; MACEDO, R.; PETERS, V. M.; LEITE, M.N. SA, R.C.S. GUERRA, M.O. Efficacy of *Morus nigra* L. on reproduction in female Wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**. v.50, p. 816–822, 2012.

SIMAL-GANDARA, J.; PEREZ-GREGORIO, M.R. REGUEIRO, J.; ALONSO-GONZALEZ, E.; PASTRANA-CASTRO, L.M. Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.). **Food Science and Technology**. v. 44, p. 1793 – 1801, 2011.

TALLINI, L.R. **Validação de metodologias analíticas para quantificação de quercetina e canferol em extratos hidrolisados de folhas de *Rubus erythrocladus*, *Rubus sidaeus* e *Morus nigra* screening antifúngico destes extratos**. Dissertação. Mestrado em Ciências Farmacêuticas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.

VANONI, A.P.N.B. **Avaliação da atividade fitoestrogênica do extrato hidroalcoólico e da infusão das folhas de *Morus nigra* L.** Dissertação. Mestrado em Ciências Veterinárias na área de Farmacologia. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul Faculdade De Veterinária Programa De Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Porto Alegre, 2006

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Plantas Mediciniais: Cura Segura? **Química Nova**. v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIRGA, R.H.P.; GERALDO, L.P.; SANTOS, F.H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, n.4, p.779-785. 2007.

WANG, H. Y.; HU, C.; WU, J.W. ZHANG, X. D. ZHAO, Q.X.; HUANG J. M.; HOU, A. J. Isoprenylated Flavonoids and Adipogenesis Promoting Constituents from *Morus nigra*. **Journal of Natural Products**. v. 74, p. 816–824, 2011.

WANG, L.; YANG, Y.; LIU, C.; CHEN, R. Y. Three new compounds from *Morus nigra* L. **Journal of Asian Natural Products Research**. v. 12, n. 6, p. 431–437, 2010.

