



Caracterização Farmacobotânica de *Peumus boldus* (Monimiaceae) e Avaliação de Atividades Biológicas do Alcalóide Boldina

Melissa SCHWANZ ¹, Eliana NUNES ², Eduardo L. KONRATH ¹, Giovana S. VENDRUSCOLO ³, Márcia VIGNOLI-SILVA ³, Amélia T. HENRIQUES ¹ & Lilian A. MENTZ ^{3*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

² Faculdade de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia.

³ Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av Ipiranga 2752, 90610-000 Porto Alegre RS, Brazil

RESUMO. *Peumus boldus* Molina (família Monimiaceae) é conhecido no Brasil como “boldo” ou “boldo-do-chile”, sendo suas folhas empregadas como remédio em afecções do sistema digestivo e hepatobiliar. Foi realizado um estudo botânico macro e microscópico das folhas e do pó, ilustrando e complementando a monografia da Farmacopéia Brasileira, quarta edição. Características como bordo revoluto, tricomas estrelados, células secretoras visíveis, coloração e textura, são macroscopicamente úteis; lâmina hipoestomática, estômatos anomocíticos e cristais, microscopicamente identificam a espécie. Ensaio autobiográfico verificaram um potente efeito antioxidante e uma inédita atividade anticolinesterásica para a boldina, alcalóide majoritário desta espécie.

SUMMARY. “Pharmacobotanical Characterization of *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) and Evaluation of the Pharmacological Activities of Alkaloid Boldine”. *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) is a medicinal plant known in Brazil as “boldo” or “boldo-do-chile”, and its leaves are popularly used in digestive and hepatic diseases. A pharmacobotanical study was carried out, macro and microscopically features were illustrated and described, in an attempt to complement the fourth edition of the Brazilian Pharmacopoea monograph. Some special characters can be used to identify this drug: revolute margined leaves, typical color and texture, covering stellate trichomes, secretory cells, hypoestomatic mesophyll, anomocytic stomata, and crystals. Boldine, the major alkaloid found in this species, exhibited potent antioxidant activity and an unprecedented anticholinesterasic effect, both demonstrated through autobiographic assays.

INTRODUÇÃO

Peumus boldus Molina (Monimiaceae) é originário de regiões montanhosas do Chile ¹⁻², sendo conhecido no Brasil como “boldo” ou “boldo-do-Chile”. É um arbusto ou arvoreta, dióico ², de folhas opostas, inteiras, curtamente pecioladas, flores unissexuais, pistiladas e estaminadas e frutos do tipo drupa ³⁻¹⁴. Preparações farmacêuticas contendo extratos de folhas de boldo têm sido tradicionalmente empregadas para o tratamento de uma variedade de sintomas e doenças como reumatismo, dores de cabeça, distúrbios menstruais, inflamações do trato urinário e dispepsia, além de sedativo ¹⁵⁻¹⁶.

Atualmente é popularmente empregado devido a suas propriedades digestivas ¹⁷. As seguintes atividades farmacológicas lhe são atribuídas: (a) estimulante de secreções gástricas, facilitando a digestão ^{2,4,7,9-10,18-21}; (b) antidiarréico ^{20,22,23}; (c) colerético e colagogo ^{3,5,7,9,10,18,21,22,24,25}; (d) anti-espasmódico ²²; (e) associado a drogas como a alcaçofra, é utilizado em ardores esofágicos e epigástricos, e associações com cáscara-sagrada são usadas na constipação ^{23,25}; (f) tratamento de cálculos biliares, cistite e colelitíase acompanhada de dor ^{4,10,24}; (g) diurético ^{3,10,18,24}. Segundo a ESCOP ²⁶, as indicações terapêuticas devem estar relacionadas a disfunções hepatobilia-

PALAVRAS-CHAVE: Boldina, Boldo, Farmacobotânica, Monimiaceae, *Peumus boldus*, Planta medicinal.

KEY WORDS: Boldine, Boldo, Medicinal plant, Monimiaceae, *Peumus boldus*, Pharmacobotany.

* Autor a quem dirigir correspondência. E-mail: gmentz@elonet.com.br

res menores, tratamento sintomático de distúrbios digestivos leves e como adjuvante na constipação.

A boldina é o alcalóide majoritário encontrado tanto nas folhas como nas cascas do boldo^{15,16}, sendo a concentração nas folhas em torno de 0,14%, e nas cascas de até 6 %²⁷⁻²⁹. Variadas atividades farmacológicas têm sido atribuídas ao alcalóide puro, como efeito imunomodulador *in vitro* para células isoladas de pacientes com leucemia linfocítica crônica³⁰, relaxante da musculatura lisa intestinal³¹ e atividade tripanossomícida *in vitro*³². Além disso, devido a sua semelhança estrutural com a apomorfina, um agonista dopaminérgico, a boldina também possui descritas atividades neurolépticas *in vivo*, como efeito anticonvulsivante e antinociceptivo, o que pode ser provavelmente mediado via bloqueio de receptores dopaminérgicos D2³³. No entanto, este alcalóide tem sido atualmente explorado devido à sua potente atividade antioxidante, previamente verificada por meio de modelos experimentais amplamente descritos na literatura. Atividades farmacológicas atribuídas à boldina, tais como antitumoral, citoprotetora, antiinflamatória e antipirética estão associadas às propriedades seqüestradoras de radicais livres desta molécula, particularmente aos grupamentos fenóis nela presentes¹⁶. O efeito da boldina foi verificado na inibição à lipoperoxidação induzida por Fe²⁺/cisteína e por NADPH/Fe³⁺-ATP em membranas microssomais hepáticas, pela medida de TBA-RS^{34,35} e sua capacidade em proteger a deoxirribose contra a degradação induzida por Fe³⁺-EDTA na presença de peróxido de hidrogênio³⁶. Sua presença também promoveu a inibição da produção de óxido nítrico em mitocôndrias³⁷, resultados estes que estabelecem o mecanismo de ação antioxidante da molécula de boldina como um potente seqüestrador de radicais hidroxilas.

A avaliação toxicológica do extrato hidroalcolólico de folhas secas de *Peumus boldus* e boldina em ratos, demonstrou que ratas prenhas tratadas oralmente com 800 mg/kg do extrato e de boldina tiveram alterações anatômicas no feto. Também foram observados incidentes de ação blastocistotóxica/antizigótica e poucos casos de atividade abortiva, além de alterações histológicas no fígado dos ratos, o que sugere moderação e cuidado na administração do boldo, especialmente em uso contínuo e nos primeiros três meses de gestação³⁸.

Embora existam numerosos grupos de pesquisa em química e farmacologia de produtos

naturais, os produtos fitofarmacêuticos existentes no mercado primam pela baixa qualidade e pela inexistência de dados que atestem, se não a eficácia terapêutica, ao menos, a ausência de toxicidade^{39,40}. No Brasil, a regulamentação para a comercialização de fitoterápicos é regida por legislação específica, como a RDC nº 48⁴¹, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) encontram-se no mercado brasileiro⁵⁶ apresentações de fitoterápicos de *Peumus boldus* registrados até o presente⁴².

O objetivo deste trabalho é o de complementar a monografia publicada na Farmacopéia Brasileira, Quarta Edição¹², descrevendo e ilustrando os detalhes macro e microscópicos não constantes previamente na literatura, além de apresentar ensaios de atividade anticolinesterásica e antioxidante para a boldina, alcalóide majoritário da espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Análise botânica

O material vegetal foi adquirido entre os anos de 2004 e 2005, em duas indústrias farmacêuticas de Porto Alegre (Rio Grande do Sul), em um ervanário de Manaus (Amazonas) e em três estabelecimentos comerciais de Porto Alegre, totalizando seis amostras. Todas foram comparadas entre si e com amostra padrão do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e com a literatura disponível. Foram realizadas análises macroscópicas ao microscópio estereoscópico e ilustrações com câmara clara acoplada a este. Para a análise microscópica foi feita reidratação, recomendada para matéria-prima dessecada e cortes paradérmicos, tangenciais e transversais à mão livre, montados em lâminas semi-permanentes e observados ao microscópio óptico. O pó de três amostras foi analisado, utilizando hidrato de cloral R. A identificação do padrão de nervação^{43,44} e testes histoquímicos para detectar lipídios⁴⁵, amido⁴⁶, celulose⁴⁷, lignina⁴⁸, compostos fenólicos⁴⁹, cristais⁵⁰, seguiram metodologias previamente sugeridas^{40,51-54}. Para os esquemas foi adotada a simbologia de Metcalfe & Chalk⁴³ modificada e nas legendas das representações foram utilizadas as seguintes abreviaturas: *ab*: face abaxial; *ad*: face adaxial; *afa*: ápice foliar assimétrico; *afc*: ápice foliar acuminado; *afm*: ápice foliar mucronado; *afr*: ápice foliar arredondado; *bfa*: base foliar assimétrica; *bor*: bordo; *bt*: base do

tricoma; *cf*: célula fundamental da epiderme; *ccf*: célula com compostos fenólicos; *clo*: cloroplastídio; *co*: colênquima; *cpp*: campo primário de pontoação; *cse*: célula secretora; *cu*: cutícula; *eb*: elemento de vaso com espessamento helicoidal; *ei*: espaço intercelular; *end*: endoderme; *ep*: epiderme; *es*: estômato; *f*: floema; *fb*: fibras; *fv*: feixe vascular; *fx*: fibras do xilema; *ga*: grão de amido; *gl*: gota lipídica; *b*: hipoderme; *ic*: idioblasto cristalífero; *l*: lâmina; *np*: nervura principal; *ns*: nervura secundária; *p*: parênquima; *pbt*: porção basal de células do tricoma estrelado; *pe*: pecíolo; *pj*: parênquima esponjoso; *pp*: parênquima paliçádico; *prc*: procâmbio; *pre*: proeminência formada pela região basal do tricoma estrelado; *pto*: pontoação; *tes*: tricoma estrelado; *x*: xilema.

Análise biológica

Foram determinadas as atividades anticolinesterásica e antioxidante através de ensaios *in vitro* para o alcalóide boldina. A atividade anticolinesterásica foi testada através de metodologia descrita por Marston *et al.*⁵⁵. Este teste autobiográfico baseia-se na clivagem do acetato de 1-naftila pela acetilcolinesterase para formar 1-naftol que, por sua vez, reage com o sal *fast blue B* resultando na coloração púrpura do diazônio. A placa de CCD permanece coberta por uma coloração púrpura e a inibição da enzima resulta em manchas incolores. Foram aplicados sobre uma cromatoplaça 2,5 µl das concentrações de 1 mM, 0.1 mM e 0.01 mM de boldina, sendo empregada como referência o alcalóide galantamina⁵⁶. A boldina foi testada também quanto a sua atividade antioxidante frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), sendo utilizado como referência o flavonóide quercetina. Este radical possui absorção na região do ultravioleta, mas quando reage com um antioxidante ou com outra espécie reativa, sua absorção característica desaparece⁵⁷. Neste ensaio, também foram empregadas as concentrações de 1 mM, 0.1 mM e 0.01 mM sendo aplicados 15 µl de cada amostra sobre cromatoplaça. Após secagem, a placa foi revelada com uma solução metanólica de DPPH 0,2%. A atividade antioxidante pode ser observada pela presença de manchas amarelas contra a coloração púrpura de fundo⁵⁸⁻⁵⁹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Descrição macroscópica

Folha simples, inteira, elíptica, elíptico-ovalada, elíptico-obovada ou obovada, coriácea, que-

bradiça, curtamente peciolada, de 1,2-7,0 cm de comprimento e 0,6-5,0 cm de largura, verde-acinzentada a cinzento-prateada; ápice obtuso, retuso ou agudo e base arredondada, obtusa ou cuneada; ápice e base simétricos ou assimétricos; bordo ligeiramente revoluto (Fig. 1.A-1.C). Lâmina pilosa, com tricomas estrelados visíveis com lente, comumente caducos na face adaxial, sendo esta áspera ao tato devido às proeminências da base dos tricomas (Fig. 1.E); face abaxial com nervuras salientes (Fig. 1.C-1.D), menor número de tricomas estrelados, base dos tricomas menores e estômatos proeminentes (Fig. 1.F). Venação camptódroma-broquidródoma (Fig. 1.C-1.D). Pecíolo curto (Fig. 1.A-1.C), piloso, normalmente curvo, medindo 0,1-0,5 cm de comprimento e 0,1-0,2 cm de largura, côncavo na face adaxial, com duas pequenas costelas laterais e convexo na face abaxial (Fig. 4.C), geralmente com a mesma coloração que a lâmina e com tricomas abundantes.

Descrição microscópica

Lâmina foliar com simetria heterogênea dorsoventral (Fig. 2.G-2.J, 3.A-3.F) e hipostomática (Fig. 3.F). O mesofilo, em vista frontal, mostra epiderme na face adaxial com células poligonais de paredes espessas, pouco sinuosas e campos primários de pontoação (Fig. 1.G) e na face abaxial células de diferentes formas, com paredes sinuosas espessas e campos primários de pontoação evidentes (Fig. 1.H). Os estômatos são anomocíticos, proeminentes, acompanhados por quatro a oito células (Fig. 1.H). Na nervura principal, as células fundamentais na face adaxial apresentam diferentes formas, tamanho homogêneo e paredes retilíneas, enquanto que as voltadas para a face abaxial são mais alongadas, de diferentes tamanhos e também paredes retilíneas (Fig. 2.A, 2.C). No mesofilo, por transparência, são visíveis células secretoras (Fig. 2.B). Os tricomas são estrelados, com várias células alongadas, de paredes espessas e mais frequentes na face adaxial (Fig. 2.E-2.F). A epiderme e a hipoderme comumente mostram proeminência ao redor da base de cada tricoma (Fig. 2.D e 2.F), com células epidérmicas basais, de disposição radial (Fig. 2.C).

Em secção transversal, na região mediana da lâmina, a cutícula é lisa e mais espessa na face adaxial (Fig. 3.C, 3.E-3.F). A epiderme é uniestratificada, com células alongadas, de paredes espessas (Fig. 3.C, 3.E e 2.F). A hipoderme possui células de diferentes formas, de paredes espessas, é uniestratificada ou raro biestratificada,

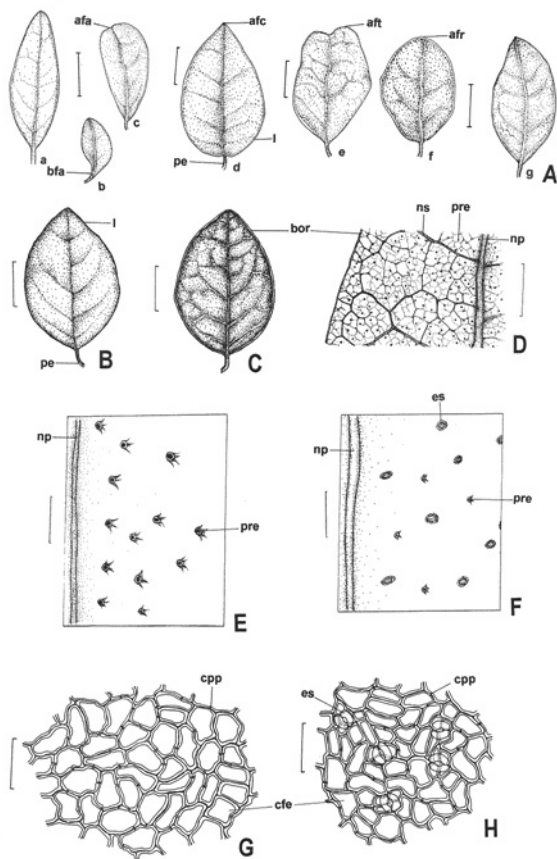


Figura 1. *Peumus boldus* Molina – **A-H.** lâmina foliar; **A.** aspecto geral de folhas; **B.** aspecto da face adaxial; **C.** aspecto da face abaxial; **D.** detalhe da nervação na face abaxial; **E.** esquema parcial da face adaxial, com proeminência de tricomas; **F.** esquema parcial da face abaxial, com estômatos e proeminência de tricomas; **G.** porção da epiderme na face adaxial em vista frontal; **H.** porção da epiderme na face abaxial em vista frontal. As escalas correspondem: A (a-c, e-g). 10 mm, A (d). 15 mm, B-C. 14 mm, D. 5 mm, E-F. 1 mm, G-H. 100 μ .

contínua junto à face adaxial, ocorrendo no bordo e na face abaxial junto à nervura principal (Fig. 3.C-3.F). O parênquima paliádico é formado por uma a duas camadas, a primeira mais compacta, com células mais alongadas e maior densidade de cloroplastídios e a segunda com células de menores dimensões e maior concentração de grãos de amido. O parênquima esponjoso possui várias camadas de células de diferentes formas, grandes espaços intercelulares e poucos cloroplastídios (Fig. 3.C-3.F). Estes tecidos são interrompidos na nervura principal, em ambas as faces (Fig. 3.A-3.C). No mesofilo distribuem-se feixes colaterais, podendo ter bainha completa ou não de fibras ou endoderme (Fig.

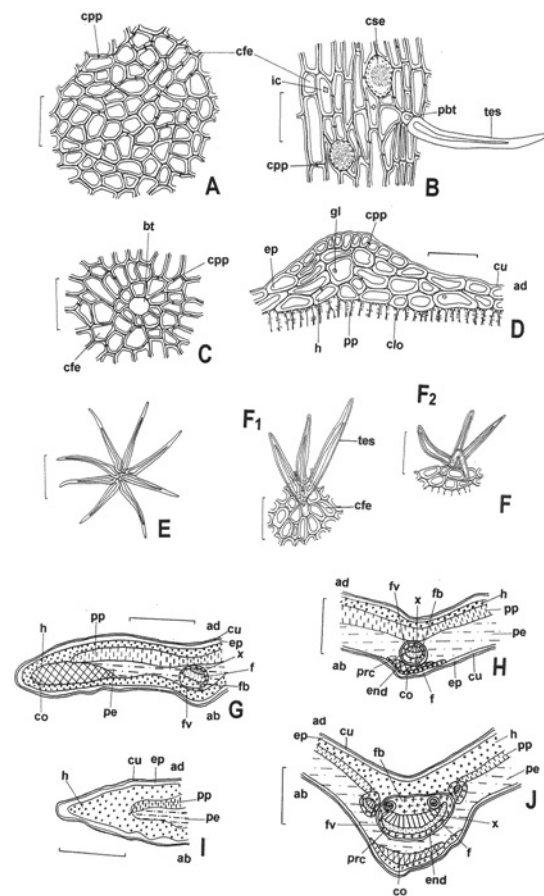


Figura 2. *Peumus boldus* Molina – **A-B.** porção da epiderme sobre a nervura principal em vista frontal; **A.** face adaxial, **B.** face abaxial; **C.** porção da epiderme na face adaxial, em vista frontal, com inserção do tricoma; **D.** porção da lâmina em secção transversal, na face adaxial, com proeminência de tricoma; **E.** tricoma em vista frontal; **F.** tricomas em vista lateral; **F1.** face abaxial; **F2.** face adaxial; **G-H.** esquemas parciais do ápice distal em secção transversal; **G.** bordo; **H.** nervura principal; **I-J.** esquemas parciais da base proximal em secção transversal; **I.** bordo; **J.** nervura principal. As escalas correspondem: A-F. 100 μ m, G-J. 400 μ m.

3.E), ou agrupamentos xilemáticos envolvidos por endoderme (Fig. 3.F).

Na nervura principal, na região mediana da lâmina, as células epidérmicas são pequenas e a hipoderme geralmente apresenta duas camadas (Fig. 3.C). O colênquima angular é distribuído em ambas as faces, mais desenvolvido na abaxial e o parênquima possui células geralmente poligonais, de paredes espessas (Fig. 3.C). O sistema vascular está representado por um único feixe colateral, envolto por endoderme e bainha de fibras (Fig. 3.A e 3.C). Outros dois feixes menores podem ocorrer, junto à face adaxial, sendo o conjunto igualmente envolto por bainha de fibras (Fig. 3.B). Na região apical distal o fei-

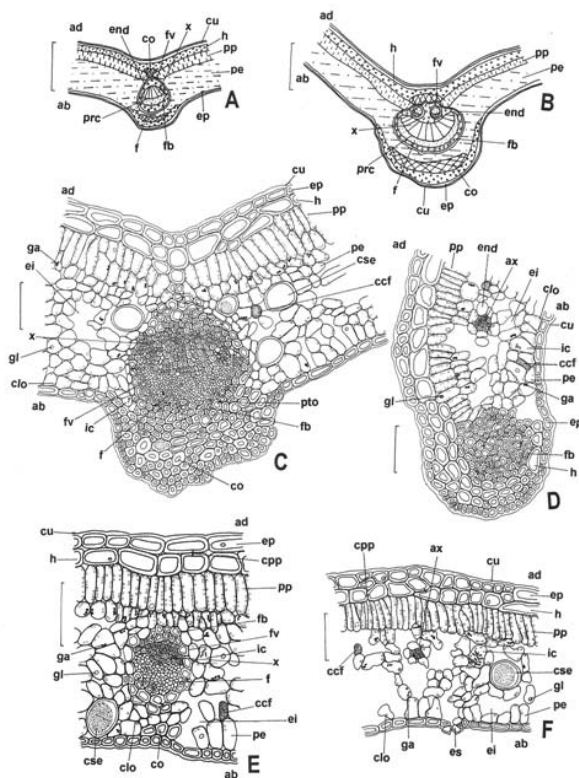


Figura 3. *Peumus boldus* Molina – **A-B.** esquemas parciais, na região da nervura principal em secção transversal; **A.** um feixe vascular; **B.** três feixes vasculares; **C-D.** porções da lâmina em secção transversal; **C.** nervura principal; **D.** bordo; **E-F.** porções da lâmina, no mesofilo, em secção transversal. As escalas correspondem: A-B. 400 μ m, C-F. 100 μ m.

xe é pouco desenvolvido e envolto por bainha de fibras (Fig. 2.H). Na região basal é semelhante ao da região mediana, acompanhado por um ou dois feixes menores, laterais, além de dois ou mais feixes, ainda menores, voltados para a face adaxial e junto ao xilema (Fig. 2.J).

O bordo da lâmina mostra cutícula muito espessa e células epidérmicas pequenas, de paredes engrossadas (3.D). A hipoderme na região apical distal é uniestratificada ou biestratificada e possui células pequenas e achatadas tangencialmente, com paredes espessas (Fig. 2.G), e na região mediana e basal proximal possui maior número de camadas em ambas as faces (Fig. 3.D). O colênquima na região apical distal é biestratificado (Fig. 2.G), na região mediana é bem compacto (Fig. 3.D) e na basal proximal é ausente (Fig. 2.I). Os parênquimas paliçádico e esponjoso são frouxos, com células secretoras e gotas lipídicas e maior desenvolvimento no ápice. Agrupamentos de fibras ocorrem na região

mediana (Fig. 3.D). O sistema vascular na região apical é pouco desenvolvido (Fig. 2.G), na região mediana está representado por feixes ou agrupamento xilemático envolto por endoderme (Fig. 3.D) e na região basal é ausente.

Em toda a lâmina, células contendo compostos fenólicos ocorrem na hipoderme, colênquima e parênquimas (Fig. 3.C-3.F). Neste último tecido há maior concentração de grãos de amido e são frequentes as células secretoras esféricas, unicelulares, de grande volume e de paredes suberizadas (Fig. 3.C, 3.E-3.F). Cristais de oxalato de cálcio, geralmente na forma de monocristais ou cristais prismáticos, são encontrados na epiderme e, agrupados, muito pequenos, finos, sob a forma de bastonete, nos parênquimas. Gotas lipídicas ocorrem em todos os tecidos (Fig. 3.C-3.F).

O pecíolo, em vista frontal, apresenta cutícula espessa e levemente ondulada. A epiderme é constituída por células fundamentais pequenas, quadrangulares e de paredes espessas, algumas contendo compostos fenólicos, e por tricomas estrelados, iguais aos da lâmina (Fig. 4.A-4.B). Células secretoras iguais às da lâmina são visíveis por transparência (Fig. 4.A). Em secção transversal, possui duas costelas, voltadas para a face adaxial (Fig. 4.C). A cutícula é espessa e levemente ondulada (Fig. 4.D) e as células epidérmicas são pequenas e de diferentes formas (Fig. 4.D). Os tricomas são mais comuns na face abaxial e sua inserção pode chegar até o parênquima cortical (Fig. 4.B-4.C). A hipoderme é geralmente uniestratificada, com células pequenas, de variadas formas e de paredes espessadas (Fig. 4.D). O colênquima angular é pouco desenvolvido. O parênquima cortical é formado por células poligonais, de diferentes tamanhos, de paredes espessas, com campos primários de pontuação visíveis, reduzidos espaços intercelulares (Fig. 4.D), poucos cloroplastídios, pequenos cristais de oxalato de cálcio e gotas lipídicas (Fig. 4.D). Células secretoras de grande volume e de paredes suberizadas ocorrem no córtex (Fig. 4.D). A endoderme é contínua, evidente e com muitos grãos de amido (Fig. 4.C-4.D). O sistema vascular possui um feixe aberto e central, com floema em arco, com ou sem calota de fibras ou estas esparsas, isoladas ou agrupadas (Fig. 4.C). O procâmbio possui duas a três camadas de células e muitos grãos de amido (Fig. 4.C-4.D). O xilema tem distribuição em raios e pode apresentar fibras isoladas ou em pequenos grupos (Fig. 4.D).

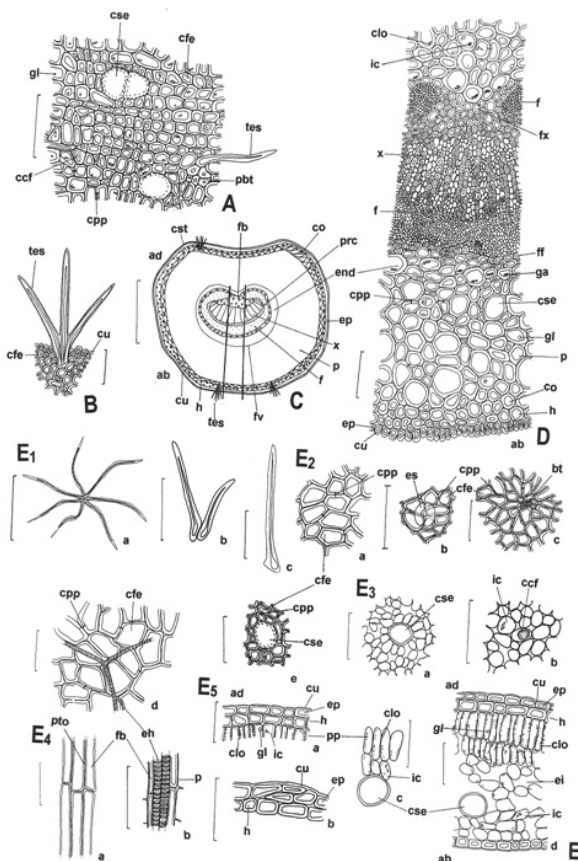


Figura 4. *Peumus boldus* Molina – **A-D.** pecíolo; **A.** porção da epiderme em vista frontal; **B.** porção da epiderme em vista lateral; **C.** esquema em secção transversal; **D.** porção do pecíolo em secção transversal, conforme C; **E.** detalhes do pó; **E1.** tricomas; a. vista frontal; b. vista lateral; c. célula isolada em vista lateral; **E2.** detalhes da epiderme em vista frontal; a. região do mesofilo; b. estômato; c. base de tricoma; d. fragmento com porção de nervura; e. porção no pecíolo; **E3.** mesofilo em secção transversal; a. célula secretora; b. células contendo compostos fenólicos e cristais; **E4.** porções do sistema vascular em secção longitudinal; a. fibras; b. porções de fibras, elementos traqueais e parênquima; **E5.** lâmina em secção transversal; a. porção de epiderme, hipoderme e parênquima paliçádico; b. epiderme e hipoderme; c. parênquima paliçádico; d. fragmento. As escalas correspondem: A, B, D, E (E2-E5). 100 µm, C. 400 µm, E (E1). 400 µm.

Descrição microscópica do pó

São características do pó: coloração amarelo-esverdeada a amarelo-pardacenta; tricomas estrelados íntegros e isolados ou parte destes (Fig. 4.E1a-c); porções de epiderme no mesofilo (Fig. 4.E2a-c); porções de epiderme com estômatos (Fig. 4.E2b); porções de epiderme com células de paredes espessas (Fig. 4.E2c); fragmentos de

epiderme com porções de nervuras (Fig. 4.E2d); porções da epiderme do pecíolo (Fig. 4.E2e); porções do mesofilo com células secretoras (Fig. 4.E3a); porções do mesofilo (Fig. 4.E3b); agrupamentos de fibras (Fig. 4.E4a); fragmentos do sistema vascular (Fig. 4.E4b); fragmentos da lâmina (Fig. 4.E5a); fragmentos de epiderme e hipoderme (Fig. 4.E5b); porções de parênquima paliçádico (Fig. 4.E5c); fragmentos da lâmina, em secção transversal (Fig. 4.E5d).

Comentários sobre a análise farmacobotânica

Características morfológicas foliares são relevantes, expressando valor diagnóstico, tais como pilosidade, tipologia dos tricomas, proeminência na base dos tricomas, aparência do bordo, tipologia e características da nervação; coloração e consistência. Algumas das descrições sobre a forma da lâmina, consistência, pilosidade e coloração concordam com a literatura 3-6,8-14. Não foi encontrada referência para a forma obovada da lâmina, bem como as formas obtusa e oblonga, descritas por Brun 4 e por Brandt *et al.* 5, respectivamente. As medidas de comprimento e largura mostraram-se divergentes (na maior e menor medida do intervalo) das informadas 3-4,6-14. As formas de ápice concordam com a Farmacopéia Brasileira 4 ed. 12, Oliveira *et al.* 11, Youngken 8 e Coimbra *et al.* 9. Ápice mucronado 8,13-14 não foi observado, e referências para o ápice retuso e assimétrico não foram encontradas. Alguns autores informam que a base pode ser arredondada e simétrica 8,11-12,14, entretanto foi constatada assimetria. Bordo revoluto 3,5-10,12,14, aspereza da lâmina 4,6,9,11-13 e proeminências na face adaxial 5,8-14,18, são relatados. Tricomas estrelados expressam sua importância na identificação da espécie 3-4,6,8-14,18. Relatos da ocorrência de tricomas simples 3,9,11-12, se devem, provavelmente, pela observação de raios parcial ou totalmente caducos. Menor pilosidade da face abaxial também foi observada 3,10,13-14. A proeminência das nervuras na face abaxial é importante 3,5-12,14, assim como o arranjo das nervuras 4,7,11. e a depressão na face adaxial 13-14. O pecíolo curto concorda com a bibliografia 3-8,10-14, e as únicas informações sobre medidas são fornecidas por Youngken 6,8, que refere maior comprimento.

As observações permitem indicar caracteres anatômicos como de valor taxonômico, corroborando com algumas referências: cutícula mais espessa na face adaxial 4-8,11,12,18, epiderme de paredes espessas 3,5-8,12,18; estômatos anomocíti-

cos e folha hipoestomática ^{3,6,8,11,12}; presença de hipoderme com paredes espessas ^{12,18}; hipoderme biestratificada ^{3,5-8,10}; presença de células secretoras nos parênquimas ^{3-8,10,12,18,60}; ocorrência de cristais ^{12,60}; parênquima paliçádico biestratificado ^{4-8,12}; parênquima esponjoso frouxo e com várias camadas ^{5-6,8,12}; sistema vascular com bainha de fibras envolvendo o feixe, fibras nos tecidos de condução e ocorrência de dois feixes menores ^{4,7,10,12}. Outras características encontram apoio: maior pilosidade na face adaxial ^{6,12}, tricomas de paredes espessas ⁶, caducos ¹², estrelados ^{11,12}, proeminência epidérmica na inserção dos tricomas ^{4-8,11,12,18}, tipologia de cristais ⁶⁰ e ainda, a não ocorrência de feixes vasculares menores no ápice foliar ⁷, entre outras. Maior sinuosidade das células fundamentais da epiderme na face abaxial ^{5,12} e hipoderme exclusivamente uniestratificada ^{4,7} não foram verificadas. Características do pó como coloração, tricomas estrelados, fragmentos da epiderme, da hipoderme, do mesofilo e do sistema vascular, concordam com o relatado ^{13,14}.

Atividades biológicas *in vitro* para o alcalóide boldina

Após a revelação da placa com os reagentes, foi evidenciada intensa propriedade anticolinesterásica para a boldina nas concentrações mais elevadas, de 1 e de 0,1 mM, quando comparadas ao alcalóide galantamina nas mesmas doses. Não houve efeito significativo para a concentração de 0,01 mM. Quanto ao ensaio de natureza antioxidante, após a aspersão da placa com o reagente DPPH, pôde-se observar a presença de manchas amarelas contra a coloração púrpura de fundo ^{58,59}, denotando atividade antioxidante para o alcalóide em todas as concentrações testadas. Foi verificada a presença de uma mancha intensa correspondente à concentração de 1 mM para a boldina logo após a revelação da placa, e após 4 h foi evidenciada atividade antioxidante para todas as doses testadas, uma vez que nem todas as substâncias antioxidantes reagem imediatamente com o DPPH ⁵⁷.

A busca por metabólitos de plantas com capacidade seqüestradora para espécies reativas tem recebido crescente atenção, uma vez que eles podem ser uma alternativa para o uso de produtos sintéticos, servindo como modelo para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de várias doenças, incluindo a doença de Alzheimer ⁵⁸. Substâncias com atividade colinérgica são rotineiramente utilizadas para melhorar as funções cognitivas dos pacientes

que sofrem da doença de Alzheimer. Sabe-se que essas substâncias, quando administradas juntamente com antioxidantes, tornam muito mais efetivo o tratamento para estes pacientes do que se fosse empregada cada substância isoladamente no tratamento ⁶¹.

CONCLUSÕES

Características morfológicas foliares, como textura, pilosidade, tipologia e proeminência dos tricomas, aparência do bordo, tipologia e características da nervação denotam valor diagnóstico. A anatomia contribui para a identificação da matéria-prima, sendo diagnósticos: células epidérmicas de paredes espessas, estômatos anomocíticos e folha hipoestomática, hipoderme com paredes espessas e raro biestratificada, células secretoras nos parênquimas, cristais, parênquima paliçádico biestratificado, parênquima esponjoso frouxo e desenvolvido, sistema vascular com bainha de fibras, fibras nos tecidos de condução e ocorrência de feixes menores junto à nervura principal.

No presente trabalho, verificamos de forma inédita a atividade anticolinesterásica *in vitro* para o alcalóide boldina, embora menos potente que a referência galantamina em sua concentração mais diluída. Quanto à atividade antioxidante *in vitro*, a boldina também se mostrou eficaz em descolorir a placa em seu ponto de aplicação, corroborando com estudos que verificaram ser o extrato aquoso de *Peumus boldus* capaz de descolorir uma solução metanólica de DPPH ⁶², provavelmente devido à presença deste alcalóide. Entretanto, a boldina não reagiu rapidamente com a 2,2-difenil-1-picrilidrazila, e só mostrou-se antioxidante após 4 h de reação, quando comparado com o padrão quercetina. Substâncias com dupla atividade anticolinesterásica e antioxidante vêm sendo consideradas como uma nova abordagem terapêutica para o tratamento farmacológico da doença de Alzheimer, incentivando a investigação do potencial do alcalóide boldina para o tratamento de doenças neurodegenerativas. A boldina possui tanto atividade inibitória para a enzima AChE, como atividade antioxidante, de maneira que este alcalóide seria um candidato importante para estudos posteriores a fim de se identificarem novas moléculas de possível uso no tratamento da doença de Alzheimer.

Agradecimentos. Os autores agradecem a CAPES e CNPq pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. San Martín, J. & U. Doll (1998) *Studios Botánicos* **17**: 109-18.
2. Hoffmann, A. (1981) *Oecología Plantarum* **2**(16): 31-9.
3. Hérial, J. (1927) "*Traité de matière médicale – Pharmacographie*", Libr. J. B. Baillière et Fils, Paris.
4. Brun, P. (1936) "*Précis de Matière Médicale*", G. Doin Ed., Paris.
5. Brandt, W., E. Gilg & P.N. Schürhoff (1942) "*Farmacognosia. Materia Farmacéutica vegetal y animal*", 2 ed., Ed. Labor, Barcelona.
6. Youngken, H.W. (1943) "*Textbook of pharmacognosy*", 5 ed., The Blakiston Company, Philadelphia.
7. Planchon, L., P. Bretin & P. Manceau (1946) "*Précis de Matière Médicale*", Tome I, 5 ed., Libr. Maloine, Paris.
8. Youngken, H.W. (1951) "*Tratado de farmacognosia*", 6 ed., Ed. Atlante, Ciudad de Mexico.
9. Coimbra, R. & E.D. Silva (1958) "*Notas de Fitoterapia*", 2 ed., Lab. Clínico Silva Araújo, Rio de Janeiro.
10. Paris, R.R. & H. Moyses (1967) "*Précis de Matière Médicale*", Tome II, Masson Ed., Paris.
11. Oliveira, F., G. Akisue & M.K. Akisue (1991) "*Farmacognosia*", Ed. Atheneu, São Paulo.
12. Farmacopéia Brasileira (1996) 4 ed., Ed. Atheneu, São Paulo.
13. British Pharmacopoeia (2000) BHMA, London.
14. Farmacopoea Portuguesa VII (2002) Ministério da Saúde, Lisboa.
15. Speisky, H. & B.K. Cassels (1994) *Pharmacol. Res.* **29**: 1-11.
16. O'Brien, P., C. Carrasco-Pozo & H. Speisky (2006) *Chem. Biol. Interact.* **159**: 1-17.
17. Jiménez, I. & H. Speisky (2000) *Phyther. Res.* **14**: 254-60.
18. Bisset, N.G. & M. Wichtl (1994) "*Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*", CRC Press, Stuttgart.
19. Gupta, M.P. (1995) "*270 Plantas medicinales Iberoamericanas*", CYTED – SECAB, Santafé de Bogotá.
20. American Botanical Council (1998) *The Complete German Commission E Monographs*, Texas.
21. Duke, J.A. (2000) "*The Green Pharmacy Herbal Handbook*", Rodale Press, New York.
22. PDR for herbal Medicines (2000) 2 ed., Medical Economics Company, New Jersey.
23. Bruneton, J. (2001) "*Farmacognosia*", 2 ed., Ed. Acribia, Zaragoza.
24. Newall, C.A.; L.A. Anderson & J.D. Phillipson (2002) "*Plantas Mediciniais. Guia para o Profissional da Saúde*", Editorial Premier, São Paulo.
25. *The Review of Natural Products* (2002) 2 ed., Facts and Comparisons, St. Louis.
26. ESCOP (1997) MONOGRAPHS on the medicinal uses of plant drugs (European Scientific Cooperative on Phytotherapy – ESCOP).
27. Urzúa, A. & P. Acuña (1983) *Fitoterapia* **54**: 175-7.
28. Gotteland, M., J. Espinoza, B.K. Cassels & H. Speisky (1995) *Ver. Méd. Chile* **123**: 95-60.
29. Quezada, M., M. Asencio, J. Del Valle & B.Aguilera (2004) *J. Food Sci.* **69**: 371-6.
30. González-Cabello, R., H. Speisky, R. Bannach, A. Valenzuela, J. Fehér & P. Gergely (1994) *J. Invest. Allerg. Clin.* **4**: 139-45.
31. Speisky, H. J. Squella & L. Núñez-Vergara (1991) *Planta Med.* **57**: 519-522.
32. Morello, A., I. Lipchenca, B.K. Cassels, H. Speisky, J. Aldunate & Y. Repetto (1994) *Comp. Biochem. Physiol.* **107**: 367-71.
33. Zetler, G. (1988) *Arch. Int. Pharmacod. Ther.* **296**: 255-81.
34. Ríos, J.L., R. Cholbi, A.I. Huguet, A. Mora, S. Mañez, M. Paia & M.J. Alcaraz (1990) *Planta Med.* **56**: 645-6.
35. Kringstein, P. & A. Cederbaum (1995) *Free Rad. Biol. Med.* **18**: 559-63.
36. Ubeda, A., C. Montesinos, M. Paia, & M.J. Alcaraz (1993) *Free Rad. Biol. Med.* **15**: 159-67.
37. Youn, Y., O. Kwon, E. Han, J. Song, Y. Shin & C. Lee (2002) *Biochem. Pharmacol.* **63**: 495-505.
38. Almeida, E., A.M. Melo & H. Xavier (2000) *Phyther. Res.* **14**: 99-102.
39. Sharapin, N. (2000) "*Fundamentos da Tecnologia de Fitoterápicos*". CYTED, Bogotá.
40. Farias, M.R. (2003) "Avaliação da qualidade de matérias primas vegetais", in "*Farmacognosia - da Planta ao Medicamento*", 5 ed., (C.M.O. Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz, P.R. Petrovick, eds.), Ed. UFRGS, Porto Alegre & Ed. UFSC, Florianópolis.
41. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução n. 48, de 16 de março de 2004. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. D.O.U. 18 março 2004.
42. <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto>. [Acessado em 18/abril/2008].
43. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1979) "*Anatomy of the Dicotyledons*", 2ed., v1, Clarendon Press, Oxford.
44. Hickey, L.J. (1973) *Amer. J. Bot.* **60**: 17-33.
45. Gerlach, D. (1984) "*Botanische Microtechnik*", Georg Thieme, Stuttgart.
46. Foster, A.S. (1949) "*Practical plant anatomy*", Van Nostrand, Princeton.

47. O'Brien, T.P. & M.E. McCully (1965) "*The study of structure: principles and selected methods*", Termacarphi Pty., Melbourne.
48. Sass, J.E. (1951) "*Elements of Botanical Microtechnique*", McGraw-Hill, New York.
49. Johansen, D.A. (1940) "*Plant microtechnique*", McGraw-Hill, New York.
50. Chamberlain, C.J. (1932) "*Methods in plant histology*", 5 ed., The University of Chicago Press, Chicago.
51. WHO (1998) "*Quality control methods for medicinal plant materials*", WHO, Geneva.
52. D'Ambrogio, A.A. (1986) "*Manual de Técnicas en Histología Vegetal*", Ed. Hemisfério Sur, Buenos Aires.
53. Kraus, J.E., M. Arduin (1997) "*Manual básico de métodos em morfologia vegetal*", EDUR, Seropédica, Rio de Janeiro.
54. Farmacopéia Brasileira (2000) 4 ed., Ed. Atheneu, São Paulo.
55. Marston, A., J. Kissling & K. Hostettman (2002) *Phytochem. Anal.* **13**: 51-4.
56. Andrade, M., J. Lima, A. Pinto, C. Rezende, M. Carvalho & R. Epifanio (2005) *Bioorgan. Méd. Chem.* **13**: 4092-4095.
57. Brand-Williams, W. M. Cuvelier & C. Berset (1995) *Lebensm. Wiss. Technol.* **28**: 25-30.
58. Cuendet, M., K. Hostettmann, O. Potterat & W. Dyatmiko (1997) *Helv. Chim. Acta* **80**: 1144-52.
59. Cavin, A., O. Potterat, J. Wolfender, K. Hostettmann & W. Dyatmiko (1998) *J. Nat. Prod.* **61**: 1497-501.
60. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1950) "*Anatomy of the Dicotyledons*", v1, Clarendon Press, Oxford. p. 1138-1144.
61. Prasad K., A. Hovland, W. Cole, K. Prasad, P. Nahreini, J. Edwards-Prasad & C. Andreatta (2000) *Clin. Neuropharmacol.* **23**: 2-13.
62. Schmeda-Hirschmann, G., J.A. Rodriguez, C. Theoduloz, S. Astudillo, G. Feresin & A. Tapia (2003) *Free Radical Research* **37**: 447-452.