

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
Programa Integrado de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais

ASPECTOS ANATÔMICOS E ETNOFARMACOLÓGICOS DO CAULE
E RAIZ DE *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex Reissek
(CELASTRACEAE)

RESSILIANE RIBEIRO PRATA

Manaus - Amazonas
Junho 2007

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
Programa Integrado de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais

ASPECTOS ANATÔMICOS E ETNOFARMACOLÓGICOS DO CAULE
E RAIZ DE *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex Reissek
(CELASTRACEAE)

RESSILIANE RIBEIRO PRATA

Orientadora: Dra. Maria Silvia de Mendonça

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em BOTÂNICA.

Manaus - Amazonas
Junho 2007

P 912 Prata, Ressiliane Ribeiro
Aspectos anatômicos e etnofarmacológicos do caule e raiz de
Maytenus guyanensis Klotzsch ex Reissek (Celastraceae) / Ressiliane
Ribeiro Prata . --- Manaus : [s.n.], 2007.
75 p.

Dissertação (mestrado)-- INPA/UFAM, Manaus, 2007
Orientador : Mendonça, Maria Sílvia de
Área de concentração : Botânica

1. Plantas medicinais. 2. *Maytenus guyanensis*. 3. Chichuá. 4.
Anatomia vegetal. 5. Etnofarmacologia. I. Título.

CDD 581.634

Sinopse:

O trabalho descreve a anatomia do caule e raiz de *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex Reissek, enfatizando a localização dos princípios ativos e fornecendo dados relativos ao uso e venda da espécie medicinal pela população de Manaus, AM.

Palavras chave: chichuá, anatomia vegetal, plantas medicinais, etnofarmacologia.

Aos meus pais, **Niles Celso Prata** e **Ambrosina Ribeiro Campos** e minhas irmãs **Regina, Tânia, Kátia e Heloísa**, pelo incentivo fornecido durante toda minha vida.

À **Deus**, cuja sua força e luz me impulsionam todos os dias.

DEDICO.

Agradecimentos

A Deus, por todos os acontecimentos de minha vida e fortalecimento diário.

Aos meus queridos pais Niles Celso Prata e Ambrosina Ribeiro Campos, em especial à minha irmã Regina Prata, pelo apoio e palavras de otimismo.

Ao programa de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do Convênio INPA/UFAM, pela realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela concessão da Bolsa de estudo.

À Prof. Dra. Maria Sílvia de Mendonça, pelo apoio, orientação e principalmente pela confiança em meus trabalhos.

A todos os funcionários e professores do Curso de Mestrado em Botânica, por todo auxílio.

À MSc. Rogério Añez pela amizade e apoio literário.

À minha eterna amiga Eva Stadtler, pela amizade e sinceridade com quem venho contando durante todo o curso.

A meu querido amigo Robson Rodrigues, pela amizade, confiança, paciência e cooperação ao longo destes dois anos.

À minha querida companheira de lar, Welma, obrigada por ser tão paciente e sincera.

Às minhas queridas amigas Lili e Bebel pelos domingos de almoço e amizade.

Aos demais amigos do mestrado e doutorado da turma de 2005 e 2006.

Aos Prof. Drs. Germano Guarim Neto (UFMT), Maria Gracimar Pacheco Araújo (UNINORTE), Maria Rosa Lozano Borrás (UFAM) e Débora Teixeira Ohana (UFAM), pelas valiosas sugestões e avaliação na Aula de Qualificação.

À Prof. Dra. Renata Maria Strozi Alves Meira (UFV), pelo apoio e sugestões para a realização do trabalho e recepção no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

Aos professores Oscar e Duncan do Laboratório de Citologia do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Amazonas por disponibilizar tempo e paciência para realização das fotos do trabalho.

Aos técnicos Manoel, do Laboratório de Botânica Agroflorestral (LABAF) da Universidade Federal do Amazonas e Vânia, do Laboratório Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

A querida Andréa Barroncas e sua mãe Socorro pelo apoio quando eu cheguei à Manaus.

ASPECTOS ANATÔMICOS E ETNOFARMACOLÓGICOS DO CAULE E RAIZ DE *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex Reissek (CELASTRACEAE)

Por

Ressiliane Ribeiro Prata

Resumo

Maytenus guyanensis, conhecida popularmente por chichuá, possui ações analgésicas, antiinflamatórias, afrodisíacas e antireumáticas. Sendo assim foram estudados seus aspectos anatômicos e etnofarmacológicos a fim de se localizar sítios ou locais de produção da droga através dos testes microquímicos e traçar o perfil dos usuários e feirantes de produtos naturais nas feiras e mercados de Manaus-AM. Para análise anatômica do material coletado na Reserva Florestal Adolpho Ducke, foram selecionados 3 indivíduos e de cada um deles foram retirados fragmentos do caule e raiz de 1cm³. Fragmentos do caule foram incluídos em resina metacrilato para obtenção de cortes em micrótomo rotativo, os quais foram corados com azul de toluidina e montados em resina sintética. Seções do caule em crescimento secundário e da raiz foram obtidas com o auxílio de micrótomo de deslize e coradas com azul de astra e safranina. Os cortes histológicos do caule e raiz foram submetidos a testes microquímicos visando identificar a natureza química das substâncias secretadas. A investigação etnobotânica nas feiras e mercados foi realizada através de entrevistas, usando questionários com perguntas abertas e semi-estruturadas. A análise estrutural do caule e da raiz revelou-se de acordo com o registrado pela literatura para o gênero *Maytenus*. A periderme do caule origina-se na subepiderme, lenticelas estão presentes. A casca do caule secundário apresenta periderme desenvolvida constituída por felema espesso, seqüencialmente são observados o felogênio e feloderme. Córtex internamente rodeado por dois anéis esclerenquimáticos, sempre contínuo e composto por fibras e inúmeras células pétreas. Cilindro vascular com floema externo ao xilema, tecido floemático e xilemático entremeado com inúmeras fibras. O xilema secundário da raiz e do caule apresenta parênquima axial apotraqueal, raios multisseriados, heterogêneos, vasos solitários, de distribuição difusa, uniforme, seção circular, com parede delgada, pontoações intervasculares alternas e areoladas. O sistema floemático percorrido por grupos de células pétreas, células em processo de esclerificação, fibras e raios parenquimáticos. Medula homogênea formada de células parenquimáticas isodiamétricas e células pétreas. As estruturas do caule e da raiz apresentaram inúmeras células-pétreas e células em processo de esclerificação as quais possuem um lúmen denso que reagiu ao teste de alcalóides. Os testes microquímicos também revelaram a presença de amido, pectina e proteínas (somente no caule). Monocristais prismáticos estão presentes no parênquima radial da raiz e do caule. A pesquisa permitiu avaliar o perfil dos feirantes e usuários de plantas medicinais de Manaus-AM demonstrando que o comércio de fitoterápicos tem crescido nos últimos 10 anos através do aumento da procura de plantas medicinais. A abordagem etnofarmacológica realizada revelou que a espécie *M. guyanensis* não é comercializada e utilizada pelos feirantes, e sim uma outra espécie com o mesmo nome vulgar de chichuá, *Salacia impressifolia*. Contudo os informantes que conhecem as duas espécies afirmam que elas apresentam o mesmo uso terapêutico (relaxante muscular, reumatismo, impotência sexual e frigidez). O presente estudo vem enfatizar a importância da anatomia e da etnofarmacologia para o conhecimento das plantas medicinais.

ASPECTS ANATOMICAL AND ETHNOPHARMACOLOGICAL OF STEM
AND ROOT OF *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex Reissek
(CELASTRACEAE)

By

Ressiliane Ribeiro Prata

Abstract

Maytenus guyanensis, known popularly for chichuá, possess analgesic, anti-inflammatory, aphrodisiac and anti-rheumatic actions. Here, its anatomical and ethnopharmacological aspects had been studied through the microchemical tests in order to locate the small farms where the drug is produced, and to trace the profile of the users and traders of natural products in the fairs and markets in Manaus-AM. Anatomical analysis of the material collected in the Forest Reserve Adolpho Ducke where conducted for 3 selected individuals, from which fragments of stem and root of 1cm³ had been removed. Fragments from stems were embedded in methacrylate resin for sectioning in a rotating microtome, stained with toluidine blue and mounted with synthetic resin. Sections from the stem in secondary growth and root were cut with slide microtome, and stained with astra blue and safranina. The histological cuts of stem and root were submitted to microchemical tests aiming the identification of the chemical properties of the secreted substances. The ethnobotanical aspects were studied through interviews carried in the fairs and markets of Manaus-AM, based on questionnaires with open and semi-structuralized questions. The structural analysis of stems and roots were in accordance with those showed in the literature available for the *Maytenus* genus. Periderm of stem arising in the sub-epidermis, lenticels is gifts. The bark of stem presented periderm developed constituted by a thick phellem, and subsequently to which the phellogen and phelloderm were observed. Vascular cylinder with phloem external to xylem, weaved phloematic and xylematic larded with innumerable staple fibres. The secondary xylem of the root and stem presented parenchyma axial apotracheal, multiseriates, heterogeneous rays, solitary vessels, of diffuse distribution, uniform, circular section, with thin wall, bordered and alternate intervascular pits. Cortex internally bounded by two sclerenchymatic rings, almost continuous and composed of fibers and innumerable stone cells. The phloem system has a group of stone cells, cells in process of sclerification, fibers and parenchyma rays. Homogeneous pith formed of isodiametric parenchyma cells and stone cells. Staple fibers and rays of the structures in stems and the root presented innumerable stone cells and cells in sclerification process, possessing a dense lumen reactive to alkaloids test. The microchemical tests also disclosed presence of starch, pectin and proteins (only in stem). Prismatic monocrystals were present in the radial parenchyma of roots and stems. The research on the profile of traders and users of medicinal plants in Manaus-AM revealed that the commerce of phytotherapics has grown in last the 10 years because of increasing search of medicinal plants. *M. guyanensis* is neither commercialized nor used for the traders, but instead another species bearing the same vulgar name of chichuá, *Salacia impressifolia*. Nevertheless, informers knowing both species affirmed that they are used in similar therapeutical treatments use (rheumatism, sexual impotence and frigidity). The present research emphasizes the importance of anatomical and ethnopharmacological aspects for the knowledge of medicinal plants.

Lista de Figuras

Figura 1 – <i>Maytenus guyanensis</i> em seu habita natural	14
Figura 2 – Mapa da Reserva Florestal Adolpho Ducke	15
Figura 3 – Exsicata de <i>Maytenus guyanensis</i>	16
Figura 4 – Seções da raiz de <i>Maytenus guyanensis</i>	22
Figura 5 – Seções transversais do caule de <i>Maytenus guyanensis</i>	24
Figura 6 – Estrutura do caule de <i>Maytenus guyanensis</i>	26
Figura 7 – Estrutura do caule de <i>Maytenus guyanensis</i>	27
Figura 8 – Estrutura do caule de <i>Maytenus guyanensis</i> em luz polarizada	28
Figura 9 – Seções transversais do floema de <i>Maytenus guyanensis</i>	29
Figura 10 – Seções transversais do floema de <i>Maytenus guyanensis</i>	30
Figura 11 – Estrutura do caule de <i>Maytenus guyanensis</i>	33
Figura 12 – Estrutura do caule de <i>Maytenus guyanensis</i>	35
Figura 13 – Seções transversais do caule de <i>Maytenus guyanensis</i> submetidos ao teste de vermelho de rutênio	37
Figura 14 – Seção transversal do floema de <i>Maytenus guyanensis</i>	39
Figura 15 – Faixa etária e sexo dos feirantes	41
Figura 16 – Comerciante de plantas medicinais	41
Figura 17 – Comerciante de plantas medicinais assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	42
Figura 18 – Tempo que os feirantes trabalham nas feiras	43
Figura 19 - Tempo que os feirantes trabalham com plantas medicinais	44
Figura 20 – Plantas medicinais mais vendidas pelos feirantes	46
Figura 21 – Origem dos produtos comercializados	46
Figura 22 – Perfil dos usuários de plantas medicinais	47
Figura 23 – Faixa etária dos usuários de plantas medicinais segundo os feirantes	47
Figura 24 – Classificação dos informantes por sexo e faixa etária	48
Figura 25 – Tempo que os informantes utilizam plantas medicinais	49
Figura 26 – Uso terapico de chichuá	50

Figura 27– Casca de *Maytenus guyanensis* e caule de *Salacia impressifolia* 51

Figura 28 – Embalagem de xixuá (*Salacia impressifolia*) comercializada em uma 52
das feiras

Sumário

AGRADECIMENTOS	V
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 GERAL	3
2.2 ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 AS PLANTAS MEDICINAIS E A ETNOBOTÂNICA	4
3.2 FAMÍLIA CELASTRACEAE	6
3.2.1 <i>Descrição botânica</i>	6
3.2.2 <i>Estudos anatômicos da família Celastraceae</i>	7
3.2.3 <i>Maytenus</i>	8
3.2.4 <i>Maytenus guyanensis Klotzsch ex. Reissek</i>	10
3.3 SUBSTÂNCIAS ERGÁSTICAS E ESTRUTURAS SECRETORAS ENCONTRADAS NAS ESPÉCIES VEGETAIS	11
4. MATERIAIS E MÉTODOS	14
4.1 ÁREA DE COLETA	14
4.2 IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL	15
4.3 ESTUDO LABORATORIAL	16
4.3.1 <i>Técnicas microscópicas</i>	16
4.3.2 <i>Montagem de lâminas semi-permanentes de macerado do caule</i>	17
4.3.4 <i>Testes microquímicos</i>	17
4.3.5 <i>Fotomicrografias e medições</i>	18
4.4 ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO	18
4.4.1 <i>Seleção da Área de estudo</i>	18
4.4.2 <i>Escolha dos informantes</i>	19
4.4.3 <i>Metodologia Qualitativa</i>	19
4.4.4 <i>Metodologia Quantitativa</i>	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
I. DESCRIÇÃO ANATÔMICA	21
1. <i>Estrutura da raiz de crescimento secundário</i>	21
2. <i>Estrutura do caule</i>	23
II. ASPECTOS FARMACOGNÓSTICOS DE <i>M. GUYANENSIS</i>	33
III. ASPECTOS ETNOFARMACOLÓGICOS	39
1. <i>Perfil do comércio e comerciantes de plantas medicinais</i>	39
2. <i>Perfil do usuário do chichuá</i>	48

3. <i>Chichuá não Chichuá</i>	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
7. ANEXOS	60

1. Introdução

A utilização das plantas como medicamento talvez seja tão antiga quanto o próprio homem, tornando-se difícil delimitar com exatidão as numerosas etapas que marcaram a evolução do uso destas plantas, já que a medicina esteve, por anos, associada às práticas mágicas, místicas e ritualísticas (Martins, *et al.*, 1995).

Silva (1995) afirma que hoje a flora mundial conta com milhares de espécies com uso terapêutico, sendo o Brasil um dos maiores fornecedores dessa matéria prima.

Considerada uma das maiores florestas tropicais do planeta, a Amazônia está associada a uma rica e múltipla tradição folclórica no uso das plantas medicinais (Silva, 1995).

A ocupação crescente da floresta amazônica tem um efeito direto sobre o que hoje se denomina de mudanças globais, evidenciadas pelas alterações climáticas e perda da biodiversidade. Mas a colonização por povos culturalmente estranhos à floresta dizimou inúmeros grupos étnicos. Com isto, perdeu-se o conhecimento adquirido ao longo do processo de ocupação do espaço amazônico com significativa diminuição da diversidade cultural da humanidade e perda irrecuperável do saber tradicional (Salati *et al.*, 1998).

Desta forma assegurar a conservação e evolução do saber tradicional é um princípio ético. E no centro do processo de desenvolvimento futuro da humanidade está o direito de sobrevivência e liberdade de estilo de vida às comunidades locais (Salati *et al.*, 1998).

A riqueza do conhecimento popular acerca do uso medicinal das plantas se origina tanto da necessidade de uma terapêutica alternativa pelo baixo poder aquisitivo e pelo difícil acesso à assistência médica como pela grande influência das comunidades indígenas da região (Di Stasi & Hiruma-Lima, 2002).

No estado da Amazonas o isolamento do caboclo no interior e o sistema de saúde que não atende a população, principalmente de baixa renda, favorecem o surgimento da prática do uso das plantas medicinais (Borrás, 2003).

A medicina popular, consagrada pelo uso e costumes, continua resistindo às pressões dos produtos das poderosas indústrias químicas farmacêuticas. A resistência da medicina popular predomina nas localidades mais distantes dos centros urbanos, onde o progresso da

ciência e da tecnologia ainda não alcançou a intensa penetração verificada nas grandes cidades dos países desenvolvidos e dos periféricos (Silva, 1995).

A carência de estudos sobre a vegetação brasileira leva a necessidade de se pesquisar as espécies vegetais da Amazônia dando enfoque ao estudo das plantas medicinais, sua importância, composição química, utilização e preservação.

Produtos originários de plantas medicinais estão ocupando um lugar cada vez maior na terapêutica, uma vez que os efeitos colaterais são minimizados e estes possuem a mesma eficácia que drogas sintéticas. No entanto, o uso desenfreado pode levar a graves consequências, como a utilização de uma espécie que não possua o princípio ativo necessário ou que não tenha valor terapêutico preconizado, mas que possui o mesmo nome popular, havendo a necessidade de uma identificação segura das plantas, feita por botânicos morfologistas, sistematistas ou taxonomistas (Correa Júnior *et al.*, 1994).

A indústria farmacêutica tem aproveitado bastante da etnociência dos índios em relação às propriedades farmacológicas das plantas amazônicas. A descoberta de princípios ativos, base para o desenvolvimento de novos medicamentos, advém de enquetes e pesquisas feitas com indivíduos que conhecem o poder curativo da flora regional (Salati *et al.*, 1998).

Como contribuição aos estudos farmacognósticos e anatômicos realizados com plantas medicinais na região Amazônica se fez necessária a pesquisa com *Maytenus guyanensis* já que trabalhos nesta área se restringem a estudos anatomia de forma geral com o gênero em trabalhos realizados por Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1957), Duarte & Debur (2005); Gomes *et al.* (2005) e Joffily & Vieira (2005). O trabalho serve como subsídio às pesquisas fitoquímicas já realizadas com a casca de *M. guyanensis* já que pode-se localizar, através da anatomia vegetal, o local de produção da droga.

Tendo em vista fornecer um melhor entendimento acerca da importância do estudo das plantas medicinais e para um maior conhecimento da utilização e comércio dessas plantas nos Mercados e Feiras de Manaus-AM, realizou-se o estudo anatômico do caule e raiz de *M. guyanensis*, destacando a localização do princípio ativo e suas propriedades terapêuticas.

2. Objetivos

2.1 Geral

- Descrever aspectos anatômicos do caule e raiz de *M. guyanensis* Klotzsch ex Reissek (CELASTRACEAE) e identificar seu uso terapêutico na cidade de Manaus-AM.

2.2 Específicos

- Caracterização anatômica e localização dos constituintes fitoquímicos através dos testes microquímicos;
- Listar os usos mais comuns de *M. guyanensis* associado aos dados farmacológicos obtidos na literatura;
- Descrever o perfil dos feirantes e usuários de *M. guyanensis* em Manaus-AM;
- Analisar o comércio de *M. guyanensis* nos mercados e feiras de Manaus-AM em relação aos seus aspectos sócio-econômicos e culturais.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 As Plantas Medicinais e a Etnobotânica

Toda sociedade humana acumula um acervo de informações sobre o ambiente que a cerca, possibilitando interagir com ele para prover suas necessidades de sobrevivência. Neste acervo, inscreve-se o conhecimento relativo ao mundo vegetal com o qual estas sociedades estão em contato (Amorozo, 1996).

A flora medicinal constitui um arsenal terapêutico de enorme importância. Já há vários séculos as plantas vêm sendo consideradas fontes medicamentosas, empregadas tanto em preparações tradicionais (chás, sucos, xapores, cataplasmas, tinturas, unguentos) quanto, mais recentemente, na forma de princípios ativos puros (Corrêa *et al.*, 1998).

De acordo com Borrás (2003) o povo da Amazônia manteve viva a tradição do uso das plantas medicinais. A medicina tradicional é considerada em muitas regiões como a única forma de atendimento, sendo importante que este conhecimento difuso não se perca, mantendo assim a herança cultural adquirida através de métodos de “ensaio-e-erro”.

A utilização ponderada e racional das plantas medicinais como suporte terapêutico pode ser considerada uma forma simples, de baixo custo e bastante eficaz de promover a saúde. Indubitavelmente, estes três fatores devem ser prioridade em qualquer sistema de saúde. Assim, as ervas têm extrema importância no contexto terapêutico mundial, mas especialmente em países com poucos recursos econômicos como o Brasil (Corrêa *et al.*, 1998)

A falta de acesso e, algumas vezes, de confiança em uma medicina curativa eficaz e a alta taxa de toxicidade dos medicamentos alopáticos, associadas ao alto custo dos mesmos, faz com que as pessoas, independente de renda ou classe social, voltem para o uso de “receitas” à base de plantas recebidas de gerações anteriores, muitas vezes com o auxílio de curandeiros, sem que as mesmas tenham sido testadas de forma científica (Jorge & Morais, 2003).

A inter-relação direta entre pessoas de culturas viventes e as plantas do seu meio é estudada por uma disciplina denominada etnobotânica (Albuquerque, 2002).

Harshberger (1896) *apud* Albuquerque (2002) considera que a etnobotânica pode auxiliar na elucidação da posição cultural das tribos que usam plantas para alimentação,

abrigo ou vestuário, e que tais investigações podem aclarar o problema da distribuição de plantas no passado.

Amorozo (1996) define a etnobotânica como sendo o estudo do conhecimento e das conceituações desenvolvidas por qualquer sociedade a respeito do mundo vegetal, englobando tanto a maneira como o grupo social classifica as plantas, como os usos que dá a elas.

Segundo Albuquerque (2002), a etnobotânica inicialmente era entendida como o uso de plantas por aborígenes e implicava numa complexidade e diversidade de pesquisas. A partir de meados do século XX a etnobotânica começou a ser compreendida como o estudo das inter-relações entre povos primitivos e plantas, envolvendo o fator cultural e sua interpretação (Jorge & Morais, 2003).

Atualmente, com base nos trabalhos já realizados, pode-se entender a etnobotânica como sendo o estudo das inter-relações (materiais ou simbólicas) entre o ser humano e as plantas, devendo-se somar os fatores ambientais e culturais, bem como a relação das plantas e dos usos que se faz delas (Jorge & Morais, 2003).

Nesse contexto o entendimento atual ampliou a definição da etnobotânica estendendo seu campo tanto para o estudo das populações tradicionais quanto das sociedades industriais, no relacionamento expresso na inter-relação populações humanas/ambiente botânico (Albuquerque, 2002).

Albuquerque (2002) afirma que um dos grandes objetivos da etnobotânica é investigar e estudar o uso das plantas com finalidades medicinais com o firme propósito de oferecer elementos práticos para outros investigadores nas áreas de fitoquímica e farmacologia, favorecendo a descoberta de novos medicamentos.

A etnobotânica aplicada ao estudo de plantas medicinais, como vem sendo praticada modernamente, trabalha em estreita cumplicidade com outras disciplinas correlatas, como, por exemplo, a etnofarmacologia (Amorozo, 1996).

Berlin (1992) *apud* Elisabetsky & Souza (2004) afirma que a etnofarmacologia está inserida no contexto da etnobiologia, e esta é entendida como uma disciplina devotada ao estudo, no mais amplo dos sentidos, do complexo conjunto de relações de plantas e animais com sociedades humanas do presente e do passado. Mais especificamente, a etnofarmacologia é o ramo que trata de práticas médicas, especialmente remédios, usados em sistemas tradicionais de medicina.

De acordo com Elisabetsky & Shanley (1994), distingui-se investigações etnofarmacológicas de estudos etnobotânicos pelo grau e profundidade o qual as plantas medicinais são estudadas. Estudos etnobotânicos são tratados como esses que incluem plantas

medicinais somente como um parte do amplo foco de pesquisas em plantas econômicas em geral (fibras, frutos, madeiras, óleos). Investigações etnofarmacológicas focam especificamente o uso das plantas medicinais e trazem com elas o desafio de vencer e unir a extensa corporação de campos divergentes tais como botânica, química, farmacologia e antropologia.

No Brasil 84% de todas as drogas são importadas. Além disso, 60% de todas as drogas processadas são consumidas por 23% da população, deixando a maioria do povo brasileiro com remédios caseiros baseados em plantas como a principal fonte de medicina (Elisabetsky & Shanley, 1994). As autoras afirmam ainda que esta figura inoportuna não é única no Brasil, pois 80% da população mundial conta diretamente com as plantas da natureza como sua principal fonte de cuidados com a saúde.

Segundo Elisabetsky & Shanley (1994), a pressão evolutiva tem selecionado plantas com caminhos metabólicos que geram compostos com valor adaptativo. Esses compostos podem proteger as plantas de fungos, vírus, insetos e herbívoros predadores, ou ajudá-las a se reproduzirem pela atração dos polinizadores. A diversidade de espécies de plantas neste contexto pode ser vista como uma inestimável reposição de compostos químicos incomuns, dando metabólitos secundários, que são como impressão digital química das espécies. Esta é a base científica que explica a presença de compostos bioativos em plantas, eventualmente terapêuticos.

Como estratégia para investigação de plantas medicinais, a abordagem etnofarmacológica consiste em combinar informações adquiridas junto a comunidades que fazem uso da flora medicinal com estudos químico-farmacológicos realizados em laboratórios especializados (Elisabetsky & Souza, 2004).

3.2 Família Celastraceae

3.2.1 Descrição botânica

A ordem Celastrales inclui oito famílias botânicas, e apenas uma delas, a família Celastraceae, representa importante fonte de espécies medicinais, com inúmeras atividades farmacológicas já descritas (Di Stasi & Hiruma-Lima, 2002).

A família Celastraceae compreende 55 gêneros e aproximadamente 855 espécies (Judd *et al.*, 2002). Predominantemente tropical e subtropical dos dois hemisférios e pouco

representada nas zonas temperadas (Ribeiro *et al.* 1999, Judd *et al.*, 2002). Sendo muito bem representada na América Central e Antilhas da América do Sul, exceto para o grande gênero *Maytenus* (Gentry, 1993).

As folhas de muitas plantas de Celastraceae são usadas na medicina tradicional como analgésico, antiinflamatório e antiulcerogênico dentre outras utilizações (Corrêa, 1984).

Segundo Judd *et al.* (2002), *Maytenus*, *Euonymus*, *Salacia* e *Hippocratea* são considerados os maiores gêneros. Contendo, respectivamente 200, 200, 170 e 100 espécies.

Os principais gêneros dessa família, que possuem espécies medicinais, são *Celastrus* e *Trypterygium*, ambos contendo espécies amplamente estudadas, com atividade antifertilidade masculina; *Salacia* e *Cassine* são também muito usadas; *Austroplenkia*, que inclui uma importante espécie vegetal do cerrado brasileiro, e *Maytenus*, gênero de grande valor medicinal (Di Stasi & Hiruma-Lima, 2002).

Os representantes da família são árvores, arbusto ou lianas (Judd *et al.*, 2002). Na América Central muitas Celastraceae tem folhas opostas, mas na América do Sul quase todas são alternas, simples, com estípulas caducas (Gentry, 1993; Ribeiro *et al.*, 1999).

A inflorescência é terminal ou axilar, geralmente cimosa, também racemosa, raro flores solitárias. As flores são hermafroditas, esverdeadas ou brancas, com 4-5 sépalas imbricadas ou raramente valvadas, livres ou conadas na base ou acima do meio; com 4-5 pétalas livres, imbricadas, raramente convolutas ou valvadas. Têm 4-5 estames, usualmente em séries, alternos com as pétalas, comumente presos no disco nectarífero ou abaixo da margem dele. O ovário é súpero ou quase ínfero, com 2-5 carpelos unidos; com estilete curto, espesso ou não, e estigma inteiro ou 2-5 lobulado. Tem um ou mais óvulos. O fruto é capsular, drupáceo, samaróide ou bacáceo. A semente é, em geral, com arilo de colorido vivo, com ou sem endosperma carnosos (Ribeiro *et al.*, 1999; Judd *et al.*, 2002).

3.2.2 Estudos anatômicos da família Celastraceae

Trabalhos anatômicos de Celastraceae e para o gênero *Maytenus* se restringem aos estudos realizados por Solereder (1908), Metcalfe & Chalk (1957), Duarte & Debur (2005), Gomes *et al.* (2005) e Joffily & Vieira (2005).

É importante salientar, nos trabalhos dos autores supracitados, a ocorrência de sacos secretores ou canais preenchidos com material granular, que é afirmado parecer-se com

borracha, no floema do caule assim como nos feixes vasculares das nervuras da folha em certos gêneros característicos.

No caule jovem o córtex frequentemente aparece contendo células taniníferas, notavelmente em espécies de *Cassine*, *Catha*, *Celastrus*, *Elaeodendron*, *Gymnosporia*, *Microtropis*. Células solitárias estão presentes no córtex de espécies de *Cassine*, *Elaeodendron*, *Maytenus*, *Microtropis* (Metcalf & Chalk, 1957).

Medula geralmente homogênea, mas frequentemente heterogênea em *Gymnosporia*, *Lophopetalum*, *Microtropis*, *Perrottetia*, *Polycardia* e *Pterocelastrus*, às vezes contêm células pétreas em *Kokkona* e *Maytenus*; células taniníferas em espécies de *Cassine*, *Catha*, *Celastrus*, *Elaeodendron*, *Microtropis*, e *Tripterygium*. Células secretoras alongadas às vezes ocorrem no floema de espécies de *Catha*, *Celastrus*, *Elaeodendron* e *Microtropis* (Solereider, 1908; Metcalf & Chalk, 1957).

Nos raios do caule adulto ocorrem cristais solitários nas células comuns na maioria das espécies e grandes cristais ocorrem em *Siphonodon celastrineus* Griff.; depósitos escuros também estão presentes no caule de algumas espécies (Metcalf & Chalk, 1957).

Apesar dos dados anatômicos das espécies de *Maytenus* se restringirem aos trabalhos de Solereider (1908) e Metcalf & Chalk (1957), Duarte & Debur (2005) realizaram um recente trabalho morfoanatômico com a folha e caule de *M. ilicifolia*. Destaca-se neste trabalho a presença de amiloplastos e compostos fenólicos no parênquima cortical, células pétreas presentes no anel esclerenquimático na camada interna do córtex. Nos raios medulares parenquimáticos podem aparecer amiloplastos e compostos fenólicos. Cristais prismáticos de oxalato de cálcio são vistos no córtex e na medula.

Segundo Duarte & Debur (2005), a morfoanatomia do caule de *M. ilicifolia* em crescimento secundário corresponde ao modelo caulinar relatado para a família e o gênero *Maytenus* por Metcalf & Chalk (1957).

3.2.3 *Maytenus*

O gênero *Maytenus* Molina consiste de árvores e arbustos (Joly, 1993), frequentemente utilizado na medicina tradicional e investigado principalmente por propósitos fitoquímicos e farmacológicos (Duarte & Debur, 2005).

Usualmente apresenta folhas alternas coriáceas e com a base do pecíolo mais ou menos decorrente e ângulo-estriado. Enormes folhagens das espécies de planalto com folhas

inteiras tendem a ter a nervura secundária inconspícua (Gentry, 1993; Ribeiro *et al.*, 1999). O tronco tem aspecto cilíndrico e base acanalada (Ribeiro *et al.*, 1999). A inflorescência é axilar ou ramificada abaixo das folhas, usualmente fasciculadas, mas às vezes um pouco ramificada. O fruto tipicamente obovóide e quando separado pela metade, mostra a semente vermelho-arilada (Gentry, 1993).

O gênero *Maytenus* apresenta alcalóides espermidínicos e sesquiterpênicos, auronas, chalconas, cumarinas, ácidos fixos, catequinas, fenóis simples, saponinas, quinonas e triterpenos (Revilla, 2000; Revilla, 2002b).

González *et al.* (2001) apontaram em seu trabalho a existência de inúmeros compostos químicos nas espécies de *Maytenus* acentuando a presença de três novos dímeros triterpênicos que foram analisados para atividades antimicrobiana e citotóxica.

Chávez *et al.* (1997) conseguiram isolar os primeiros modelos de triterpenos dammarano em *M. macrocarpa*. A atividade biológica destes dammarano tem ainda que ser avaliada, mas outros triterpenos semelhantes mostraram atividade fitohormonal e citotóxica. Chávez *et al.* (1998), em um trabalho posterior, isolaram outros triterpenóides friedelano de exsudato da casca de *M. macrocarpa*.

As atividades dos compostos de *M. aquifolium* não são ainda conhecidas, contudo a presença de flavonóides, triterpenos e taninos pode ser estimada como uma possível atividade dos compostos sobre lesões gástricas pelo aumento de fatores protetores ou atividade antioxidante. Estes dados suportam o uso e a comercialização desta planta como antiulcerogênica e analgésica (Gonzalez *et al.*, 2001).

Pullen *et al.* (2003) em suas análises químicas com três espécies de *Maytenus* não detectaram a presença de maitenosídeos, contudo outros trabalhos já teriam confirmado sua presença em espécies do gênero, como *M. ilicifolia*. Muitos maitenisoides são altamente citotóxicos e têm sido usados em experiências clínicas assim como em sistemas experimentais designados a explorar sua potente atividade antitumoral.

Em suas análises, Nuñez *et al.* (2005) identificaram cinco novos lupanos triterpênicos em *M. cuzcoina* e *M. chiapensis*, que mostraram atividade antimicrobiana e citotóxica.

Jorge *et al.* (2004) salientaram de acordo com outros trabalhos que a presença de metabólitos fenólicos, assim como taninos condensados, flavonóides e triterpenos, podem justificar o uso de algumas espécies de *Maytenus* como remédios antiinflamatórios e antiulcerogênicos.

Sousa *et al.* (1986) isolaram um novo alcalóide sesquiterpeno, nomeado de maiteína na raiz de *M. guyanensis*. Um mesmo composto encontrado por Sousa *et al.* (1986) foi

detectado por Macari *et al.* (2004) isolado do tronco e da raiz de *M. guyanensis*, o flavonóide 4-metilepigalocatequina.

E ainda determinou-se na espécie *M. guyanensis* a presença de maitenina (inibidor de tumores), evoniato (isoflavonoides que tem atividades hormonais) e ácido tilendiamino tetra-acético (Revilla, 2000; Revilla, 2002a).

Borrás (2003) afirma que a presença de fenoldienonas, uma catequina e proantocianidinas na espécie estudada, corroboram as atividades biológicas atribuídas aos extratos da planta, principalmente como antiinflamatório.

3.2.4 *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex. Reissek

A espécie é originada da Amazônia e é conhecida como Chichuá, Xixuá, Chuchahuasi, Chuchhu Huashu, Chuchuasi, Chuchasha e Tonipulmon (Ducke & Vasquez, 1994; Revilla, 2000; Revilla, 2002a; Revilla, 2002b; Borrás, 2003). Seus representantes são árvores de altura média (20-30 m), de terra firme (Revilla, 2000; Revilla, 2002a; Revilla, 2002b; Borrás, 2003).

As folhas são oblongas lanceoladas ou elípticas, inteiras, acuminadas, coriáceas e lustrosas na face superior, de 10 a 20 cm de comprimento, 3 a 4 cm de largura, cartácea, veia central proeminente em ambas as faces, secundárias inconspícuas; ápice acuminado a cuspidado com pecíolo de 4 mm de largura, inflorescência axilar, flores numerosas, pentâmeras, diminutas, cálice colorido com dentes decíduos e pétalas obovadas de cor branca, o fruto é em forma de cápsula ovóide, sementes oblongas com arilo branco (Revilla, 2000; Revilla, 2002a; Revilla, 2002b). O tronco é cilíndrico com base acanalada. Ritidoma sulcado marrom-amarelado; desprendimento em placas papiráceas. (Ribeiro *et al.*, 1999).

M. guyanensis é utilizada como analgésico, antiinflamatório, afrodisíaco, para artrite, impotência, reumatismo e tumores (pele) (Borrás, 2003). Também é utilizada como relaxante muscular, contra resfriado, no pós-parto, antidiarréica, e para gripe, bronquite, hemorróidas, verminoses, lumbago, úlceras externas e usos ginecológicos. Como cosmético é utilizado contra erupções cutâneas e previne o câncer de pele (Revilla, 2002a).

Na forma de tintura utiliza-se como relaxante muscular, para artrite e reumatismo; em decocção usa-se uma parte da casca de cerca de 5 cm em 2 litros de água. Para artrite e reumatismo, foi documentado o uso de uma xícara (café) 3 vezes ao dia, por uma semana (Borrás, 2003). A decocção dos galhos é considerada segundo Ducke & Vasquez (1994) como estimulante e tônico.

3.3 Substâncias ergásticas e estruturas secretoras encontradas nas espécies vegetais

Substâncias ergásticas são produtos do metabolismo das plantas. Estas substâncias podem aparecer e desaparecer em diferentes tempos na vida da célula. Elas são reservas ou produtos resultantes das atividades celulares e são usualmente mais simples em estrutura que o corpo protoplasmático. Algumas das mais conhecidas substâncias ergásticas são carboidratos, celulose e amido; corpos protéicos; gorduras; e materiais minerais em forma de cristais. Elas incluem também muitas outras substâncias orgânicas, tal como taninos, resinas, gomas, borracha, e alcalóides, cuja natureza ou função ou ambos são imperfeitamente conhecidos. Substâncias ergásticas ocorrem nos vacúolos e nas paredes das células, e podem ser associadas com componentes protoplasmáticos das células (Esau, 1965).

Carboidratos. O amido é uma substância de reserva constituída por moléculas de glicose, para formar um polímero linear com baixo grau de ramificação (amilose) ou de configuração helicoidal formando amilopectina, altamente ramificada (Poser, 2004).

A celulose é encontrada ligada fortemente a outros constituintes da parede celular, sendo o principal constituinte das plantas (Mello & Filho, 2000; Bruneton, 1993 *apud* Poser, 2004). É a mais importante matéria prima farmacêutica, sendo empregada desde a confecção de compressas até derivados quimicamente modificados, como adjuvante na obtenção das mais variadas formas farmacêuticas. Pode ser ingerida através das frutas e verduras, sendo usada como laxante (Mello & Filho, 2000).

Gomas são substâncias constituídas dos polissacarídeos heterogêneos que formam, com a água, soluções viscosas. Estão presentes em muitas plantas e é preciso perfurar partes da planta para que o produto exsude. São usadas como emulsificantes e estabilizantes (Mello & Filho, 2000).

As mucilagens são polissacarídeos acídicos. São substâncias amorfas que colocadas na água dão soluções com alto teor de viscosidade. A ação terapêutica mais importante das mucilagens é a antiinflamatória das mucosas. São também emolientes e têm ação laxativa (Mello & Filho, 2000).

Pectinas são macromoléculas glicídicas, constituintes da lamela média das paredes celulares do vegetal. São utilizadas especialmente como reguladoras de sistema gastrointestinal e, na indústria alimentícia, como estabilizante e gelificante, além de demonstrar eficácia no controle de glicemia, colesterolemia e na prevenção de doenças cardiovasculares (Poser, 2004).

Estudos de Poser (2004), em relação a outros trabalhos, afirmam que os polissacarídeos de origem vegetal emergiram como uma importante classe de produtos naturais bioativos nas últimas décadas. Atividades antitumoral, imunoestimulante, anticomplemento, antiinflamatória, anticoagulante, antiviral, hipoglicêmica e hipocolesterolemiantes têm sido relatadas para uma grande variedade de polissacarídeos (Poser, 2004).

Gorduras e substâncias relacionadas. Gorduras e óleos são extremamente distribuídos no corpo da planta, e eles provavelmente ocorrem em pequenas quantidades em todas as células das plantas (Esau, 1965).

Mono e sesquiterpenos são as principais substâncias que compõem as misturas chamadas de óleos voláteis. Os triterpenos originam-se da ciclização do esqualeno, enquanto os esteróides podem ser considerados metabólicos dos triterpenos, uma vez que originam-se do cicloarteno, com a perda de três grupos metila. Dentre os triterpenos e esteróides de origem vegetal de importância estão as saponinas (Santos, 2004).

Saponinas são substâncias orgânicas vegetais, de natureza glicosídica, com característica de ter forte ação tensoativa. Com a água, formam soluções espumógenas e diminuem a tensão superficial da água. As ações terapêuticas são de expectorante e facilitação da absorção de outras substâncias ativas, pelo organismo (Mello & Filho, 2000). Esse grupo de substâncias sempre tem sido de interesse farmacêutico, seja como adjuvante em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou ainda, como matéria-prima para a síntese de esteróides (Schenkel *et al.*, 2004). Possuem ação flavorizante, estomacal, carminativa anti-séptica, analgésica, antireumática, antiinflamatória (Mello & Filho, 2000).

Os óleos voláteis são líquidos oleosos, voláteis, que dão aroma característico às plantas, distinguindo-se dos óleos fixos por sua volatilidade e por serem solúveis no álcool (Almeida, 1993). De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (Simões & Spitzer, 2004).

Taninos. Os taninos são substâncias de origem vegetal, não nitrogenadas, solúveis em água e álcool, e que formam precipitados com sais metálicos, proteínas e alcalóides. Quimicamente são derivados fenólicos unidos em geral a uma glicose, mas não podem ser considerados estritamente glicosídeos, pois a união entre o açúcar e o derivado fenólico tem a natureza de éster e não de um éter (Almeida, 1993). Segundo Mello & Filho (2000), os taninos possuem ações adstringentes, antiinflamatórias e hemostáticas.

Cristais. Os depósitos inorgânicos nas plantas consistem principalmente de sais de cálcio e de anidridos de sílica. Entre os sais de cálcio o mais comum é o oxalato de cálcio, que

é encontrado na maioria das plantas. Oxalato de cálcio ocorre como sais mono- e trihidratado em muitas formas cristalinas. A ocorrência dos chamados cristais de areia resultam na formação de muitos pequenos cristais em uma célula (Esau, 1965).

Alcalóides. São compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente nas angiospermas (Henriques *et al.* 2004). Pelletier (1988) *apud* Henriques *et al.* (2004) define alcalóide como sendo uma substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos. São compostos que produzem intensa atividade fisiológica e, em dosagens terapêuticas, agem sobre o sistema nervoso central ou periférico (Mello & Filho, 2000).

As células da plantas produzem muitas substâncias que parecem ser produtos não utilizáveis do metabolismo e que se tornam mais ou menos isolados do protoplasma vivo ou são totalmente removidas do corpo da planta. Exemplos de algumas substâncias são terpenos e compostos relacionados, taninos, e diferentes tipos de cristais. Representantes dos terpenos – hidrocarbonatos de vários graus de polimerização são os terpenos inferiores, como os óleos essenciais, e os terpenos superiores, os carotenóides, saponinas, e borracha (Esau, 1965).

Estruturas secretoras externas. As substâncias secretadas podem permanecer no interior de células, cavidades internas ou canais; ou ainda, emergir das células secretoras superficiais à parte externa da planta. As estruturas secretoras externas apresentam vários formatos. Parte da própria epiderme é, às vezes, secretora ou existem apêndices secretores epidérmicos de vários graus de complexidade, ou ainda esses apêndices podem ser derivados tanto da epiderme, quanto das camadas epidérmicas. As estruturas secretoras relativamente diferenciadas formadas de muitas células são denominadas glândulas (Esau, 1976).

Estruturas secretoras internas. As células secretoras são mais ou menos bem diferenciadas das células do parênquima fundamental e contém uma variedade de substâncias: bálsamos, resinas, óleos, taninos, mucilagens, gomas, cristais. Elas são chamadas de idioblastos secretores quando se diferenciam conspicuamente das células vizinhas no meio que eles estão dispersos (Esau, 1965). As células secretoras internas possuem grande variedade de conteúdos. As células secretoras, bem como canais e cavidades secretores, são úteis para fins de diagnóstico nos estudos taxonômicos (Esau, 1976).

4. Materiais e Métodos

4.1 Área de coleta

Foram coletadas aleatoriamente amostras do caule adulto e raízes de 3 indivíduos de *M. guyanensis* (Figura 1) na Reserva Florestal Adolpho Ducke, localizada no km 26 da Estrada Manaus-Itacoatiara (AM-010) coordenadas 02° 53' S e 59° 58' W (Figura 2).



Figura 1– *Maytenus guyanensis* em seu hábitat natural.



Figura 2 – Localização da Reserva Florestal Adolpho Ducke, na proximidade da cidade de Manaus-AM.

4.2 Identificação do material

O material coletado foi identificado por comparação no acervo do Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

A exsicata de *M. guyanensis*, número 3739 identificada por S. Barrier, foi consultada no Herbário Parisiense do Museu Nacional de História Natural, em Paris-França (Figura 3).



Figura 3 – Exsicata de *Maytenus guyanensis*.

4.3 Estudo Laboratorial

4.3.1 Técnicas microscópicas

Amostras do caule e raiz foram fixadas em formaldeído-ácido acético-álcool etílico 50% (FAA₅₀) por 24 horas e estocadas em etanol 70% (Johansen, 1940). Posteriormente as amostras foram colocadas em solução de etilenodiamina a 10% por 15 dias para amolecimento. Partes de fragmentos mais amolecidos do caule foram desidratadas em etanol 85 % e 95% (2 horas em cada solução).

As amostras foram submetidas a uma solução de pré-infiltração (etanol 95% e resina pura; 1v:1v), por um período de 4 horas, utilizando-se bomba de vácuo (Feder & O'Brien, 1968). A infiltração do material foi feita em resina pura por mais ou menos 4 horas ou *overnight*, também com auxílio de uma bomba de vácuo. A infiltração ficou completa quando o material apresentou-se levemente translúcido e afundou dentro da solução (Feder & O'Brien, 1968). De acordo com o fabricante a resina foi misturada com um polimerizador e as amostras foram emblocadas em fôrmas plásticas. Foram obtidos cortes de 5-8 µm de espessura feitos

em micrótomo rotativo Leica RM2145, com navalha descartável. Em seguida os cortes em lâminas foram estendidas em chapa pré-aquecida a 20 °C, corados com azul de toluidina por 10 minutos (Vidal, 1977) e montados em Permount.

Das amostras do caule e raiz foram retirados corpos de prova com dimensão de 2 cm³, devidamente orientados, retirados de discos de diferentes tamanhos. Os corpos de prova, amolecidos por 15 dias em etilenodiamina 30%, foram submetidos a cortes em micrótomo de deslizamento, variando em espessura de 18 a 25 µm. Os cortes foram clarificados, desidratados em série etflica, corados com safranina e azul de astra (somente seções da raiz) para a montagem de lâminas permanentes.

4.3.2 Montagem de lâminas semi-permanentes de macerado do caule

Partes da casca e fragmentos do caule foram submetidas ao processo de maceração pelo método de Jeffrey a base de ácido crômico 10% e ácido nítrico 10% (1:1). Os fragmentos obtidos foram imersos na solução até as células se soltarem facilmente uma das outras, ao serem manipuladas com um pincel ou estilete. Os fragmentos foram então lavados com água destilada até que cessassem de liberar a solução de Jeffrey (Johansen, 1940).

No preparo das lâminas histológicas semi-permanentes os fragmentos do caule tratados com solução de Jeffrey foram corados com safranina e as partes da casca com azul de astra e posteriormente lavados com água destilada. O material corado foi então montado em gelatina glicerinada e procedeu-se a maceração dos fragmentos com um bastão de vidro, depois cobriu-se com lamínula (Johansen, 1940).

4.3.4 Testes microquímicos

Os cortes do caule e da raiz foram submetidos a diferentes métodos de microquímica. Para detecção de radicais aniônicos e metacromasia, os cortes foram submetidos à coloração com azul de toluidina 0,025% de acordo com a metodologia de Vidal (1977). Para detecção de radicais catiônicos protéicos, os cortes foram submetidos à coloração com xylidine ponceau seguindo os métodos propostos por Berlyn & Miksche (1976). Para a detecção de substâncias pécticas, foram submetidos à coloração com vermelho de rutênio por 10 minutos e logo após, lavados em água destilada, desidratados em série etflica/xilólica e montadas em

Permout (Johansen, 1940). O cloreto de ferro III 10% foi utilizado para detecção de compostos fenólicos. Os cortes foram submetidos a este reagente durante 15 a 30 minutos e depois lavados rapidamente em água destilada e em seguida fez-se a montagem das lâminas com glicerina (Johansen, 1940). Para detectar a presença de lipídeo os cortes foram tratados com uma solução de sudam III durante 30 minutos à temperatura ambiente ou a 60°C, depois se procedeu a uma lavagem com etanol 80% e água destilada (Pearse, 1980). O reagente lugol foi aplicado para detectar a presença de amido, com a aplicação do reagente por 5 minutos nas lâminas e lavagem posterior com água destilada (Kraus & Arduin, 1997). Para a detecção de alcalóides foi aplicado o reagente de Wagner diretamente nos cortes histológicos do caule e da raiz, de acordo com a metodologia de Ascensão (2004).

4.3.5 Fotomicrografias e medições

As lâminas obtidas foram fotografadas com o auxílio de microscópio Olympus CX40, e máquina fotográfica digital Lumix, Panasonic, do Laboratório de Citologia, Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). E também com o auxílio do fotomicroscópio Olympus AX70 do Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

As medidas de espessura de parede, diâmetro e comprimento de elemento de vaso foram alcançadas com o auxílio do Programa SigmaScan Image Analysis, Versão 3.0.

4.4 Estudo Etnofarmacológico

4.4.1 Seleção da Área de estudo

Os Mercados e as Feiras de Manaus – AM já foram objetos de estudo de vários trabalhos na área de plantas medicinais (Borrás, 2003; Silva, 2004), desta forma estes locais podem contribuir na pesquisa etnofarmacológica, uma vez que há uso e comércio das plantas pela população local. As áreas existentes na cidade foram selecionadas de acordo com a relevância estabelecidas pela Secretaria Municipal de Abastecimento, Mercados e Feiras, que foram então divididas por Zonas:

- Zona Sul: Feira da Panair, Mercado Municipal Adolpho Lisboa;

- Zona Leste: Feira do Produtor Zona Leste; Feira do Japiim
- Zona Oeste: Mercado Modelo da Compensa;
- Zona Centro-Sul: Feira Parque Dez.

4.4.2 Escolha dos informantes

O estudo constou de dois tipos de informantes: os feirantes que comercializam o chichuá e os usuários da espécie. Os critérios estabelecidos para a escolha desses informantes foram: ter conhecimento de plantas que são utilizadas como recurso medicinal, serem residentes na cidade, terem disponibilidade em participar da pesquisa e ser adulto, segundo pressupostos metodológicos (Amorozo, 1996).

4.4.3 Metodologia Qualitativa

Há vários métodos e técnicas que podem ser utilizadas em uma abordagem qualitativa, sendo importante a utilização de um roteiro, que serve como facilitador e orientador em uma conversa. Pode-se fazer uso de pré-testes, questionários e entrevistas, dependendo do propósito do entrevistador. É importante salientar que o material da investigação qualitativa é a palavra que se expressa na fala, revelando condições históricas, sócio-econômicas e culturais específicas de cada grupo estudado (Jorge & Morais, 2003).

As entrevistas foram realizadas com o uso de roteiros na forma de questionários do tipo semi-estruturados com perguntas abertas e fechadas relativas aos dados pessoais dos informantes e o conhecimento das plantas medicinais, de como usar, quais as partes farmacógenas, que doença se cura com a planta (Anexo 1, 2 e 3) (Martin, 1995; Leitzke, 2003).

As entrevistas abertas são as conversações ocasionais entre o entrevistador e o informante que pode revelar histórias de vida detalhadas. E a entrevista semi-estruturada possui muito mais flexibilidade que a entrevista formal estruturada, e são baseadas em torno de uma lista com tópicos ou questões que o investigador deseja saber (Cotton, 1996). Segundo De La Cruz Mota (1997) na entrevista direta semi-estruturada o entrevistado pode discorrer livremente sobre o tema proposto pelo pesquisador.

A entrevista serve como base de coleta de dados etnobotânicos, além de ser uma ferramenta de investigação (Alexiades, 1996). Para a realização das entrevistas os entrevistados assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 4). Trata-se de documento pelo quais os sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestam a anuência de participação na pesquisa.

Segundo Posey (1987) quanto mais aberta for a pergunta no questionário, maior é a liberdade do informante em responder segundo sua própria lógica e saber.

A entrevista segundo Alexiades (1996) depende do contexto local e habilidades do entrevistador sendo assim deve ser realizada com respeito e sensibilidade. Além disso, um período de tempo deve ser estipulado para que haja uma confiança mútua resultando em melhores e maiores informações. As perguntas deverão ser simples, não muito curtas ou ambíguas.

Conforme as Resoluções da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos (CONEP), do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (CEP-INPA) credenciado pela CONEP.

4.4.4 Metodologia Quantitativa

A abordagem quantitativa de acordo com Minayo & Sanches (1993) *apud* Jorge & Morais (2003) atua em níveis de realidade, abarcando grandes aglomerados de dados, classificando-os e tornando-os inteligíveis através das variáveis. Isto é, avalia e analisa os dados primários recolhidos. No que se refere às plantas medicinais, esta análise tenta aferir o grau de importância que certas plantas têm pela frequência e consistência de seu uso. No presente trabalho a aplicação de técnicas quantitativas permitiu avaliar dados como o perfil desses feirantes, homens/ mulheres, por que e quanto tempo trabalham com plantas medicinais.

Os dados obtidos foram analisados através de frequência absoluta e relativa. As tabelas e gráficos foram produzidas no programa Microsoft Office Excel.