

Análise morfo-anatômica de *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae)

Gilberto Dolejal Zanetti; Melânia Palermo Manfron & Solange Cristina Silva Hoelzel

Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, prédio 26, Santa Maria, RS, Brasil. zanettigd@ibest.com.br

RESUMO – Foram determinados parâmetros morfo-anatômicos de *Tropaeolum majus* L., objetivando sua diagnose como insumo farmacêutico, pois é uma planta de reconhecida ação antimicrobiana. A forma orbicular-peltada da folha, venação actinódroma, tipo xerofítico dos estômatos, feixes vasculares com esclerênquima, parênquima medular com campos de pontoação primária e a presença de óleos e tio-glicosídeos nas formações parenquimáticas são características significativas no controle botânico de qualidade desta espécie para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: *Tropaeolum majus* L., Tropaeolaceae, farmacobotânica, morfo-anatomia.

ABSTRACT – **Morpho-anatomical analysis of *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae).** Morpho-anatomical parameters of *Tropaeolum majus* L were determined aiming at its diagnosis as a pharmaceutical drug, for it is a plant of recognized antimicrobial action. The shape orbicular-peltate shape of the leaves, the actinodroma venation, the xerophytic type of the stomata, the vascular sheaves with sclerenchyma, medullar parenchyma with primary spot fields and the presence of oil and thiocyanates glycosides in the parenchymatic formations are significant characteristics in the quality control of the species to the pharmaceutical industry.

Key words: *Tropaeolum majus* L., Tropaeolaceae, Pharmacobotanics, morpho-anatomy.

INTRODUÇÃO

Parâmetros morfo-anatômicos possibilitam o controle botânico de qualidade de insumos farmacêuticos auxiliando a autenticidade de drogas e seus adulterantes, identificando e separando uma determinada espécie vegetal de outras. Di Stasi (1996) assinala a importância da análise morfo-anatômica para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal na indústria farmacêutica, justificando que esta análise fornece subsídios que contribuem na padronização dos insumos, permitindo a diferenciação inclusiva entre espécies botanicamente próximas. Dentre os ensaios anatômicos destacam-se os referentes a histoquímica, pois auxiliam na caracterização de drogas e no monitoramento de análises fitoquímicas, bem como no aproveitamento racional da droga vegetal.

A indústria farmacêutica tem dado ênfase na obtenção de padrões macro e microscópico de drogas vegetais, devido o baixo custo e o tempo reduzido dos ensaios, que apresentam alto grau de reprodutibilidade. Esta prática contempla as resolu-

ções que instituíram e normatizaram, desde a década de 90 (Marques, 1999), estes procedimentos no controle de qualidade das drogas utilizadas para a produção de fitoterápicos.

Tropaeolum majus L., planta conhecida popularmente por capuchinha, é amplamente utilizada como medicinal pela população. Kjaer *et al.* (1978), constatou em *T. majus* a presença de isotiocianato de benzila, metabólito relacionado a atividade antiviral, antimicrobiana e antitumoral. A atividade para herpes simplex I e II, bem como a atividade antibacteriana e antifúngica, foram demonstradas experimentalmente por Vichanova *et al.* (1972), Santa Cruz (1991) e Pintão & Pais (1994), enquanto que a atividade antitumoral foi pesquisada por Pintão (1995). Outro metabólito destacado para *T. majus* é o ácido erúico que, conforme Bailey *et al.* (1993), apresenta ação antimicrobiana. O ácido erúico se popularizou durante a década de 80 tornando-se conhecida por óleo de Lorenzo, pela ação que apresenta frente a adrenoleucodistrofia, uma desordem genética que implica na degeneração progressiva do

sistema nervoso e afeta geralmente crianças entre 5-10 anos de idade.

Com a finalidade de colaborar para a geração de fitoterápicos com qualidade em sua matéria prima, este trabalho teve por objetivo determinar parâmetros morfo-anatômicos visando o controle de qualidade de *T. majus* como insumo farmacêutico.

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas e caules de *Tropaeolum majus* L., foram coletados em Santa Maria/RS, com exsicata, HDFI 144, do Herbário do Departamento de Farmácia Industrial da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

A análise morfológica foi efetuada através de estereomicroscópio e a folha foi diafanizada para a análise da venação, conforme Gattuso & Gattuso (1999) e Hickey (1974).

A análise anatômica constou de secções paradermicas de folhas e transversais de folhas e caules. As secções paradermicas foram realizadas em lâminas temporárias, com material fresco, seccionado a mão livre, coradas com azul de metileno 1%, e o índice de estômatos foi determinado conforme Gattuso & Gattuso (1999). Para a análise da secção transversal, o material botânico foi retirado a partir do quinto entre-nó do caule e da região mediana da folha, fixado diretamente em etanol 70%, desidratado em série alcoólica-etílica ascendente de 70 a 96° GL e incluídos em blocos de hidroxietilmetacrilato. No micrótono rotativo fez-se secções de 4 mm, que foram levadas a banho histológico e repassadas para lâmina. Corou-se com azul de toluidina 1%, conforme Gerlach (1977) e fixou-se a lâmina com bálsamo sintético "entellan".

Para a análise histoquímica montou-se lâminas semipermanentes com secções transversais de caules dos exemplares mantidos a fresco, tratando-se com reagentes indicativos de compostos específicos, nitrato de prata amoniacal para isotiocianatos e Sudan III para óleos voláteis e fixos, conforme Costa (1982) e Gattuso & Gattuso (1999).

Todas as secções foram analisadas conforme Dickson (2000) e Paoli *et al.* (2003) e fotografadas em microscópio com câmara digital (Nikon eclipse E 400), e as lâminas permanentes foram depositadas no laminário do Departamento de Farmácia Industrial, UFSM.

RESULTADOS

Análise morfológica

As folhas são alternas, de limbo simples, discolor, membranáceo, liso e pouco ceroso. Possui forma orbicular-peltada e grande número de pontoações translúcidas na face superior. Na face inferior ocorre esparsa pilosidade esbranquiçada. Em média atinge 4,5 × 4,0 cm, e pode chegar a 17,5 × 15,5 cm. A margem é inteira, com reentrâncias pouco pronunciadas junto às nervuras de grande porte. A venação é actinódroma. Ocorre de 9-11 nervuras de grande porte, de cor mais clara que o limbo. Cada uma dessas nervuras termina em um idatódio. As nervuras de pequeno porte são reticuladas, as aréolas são poligonais imperfeitas e a última marginal é fimbriada.

O pecíolo é afilado para o ápice, atinge em média 9 cm × 0,5 cm na base e 0,2 cm no ápice, possui superfície estriada, inserção central e é circular em secção transversal.

O caule é arredondado e apresenta-se caracteristicamente em zig-zag decorrente das cicatrizes foliares, formando ângulos de 120-135°. Atinge em média 1 cm de diâmetro, e chega a 5 m de comprimento; não é esfoliativo e apresenta cor verde-clara com base pintalgada em vermelho-salmão na região central que se dispersa em tons róseos claros.

Análise anatômica da folha

A epiderme é uniestratificada e anfiestomática (Fig. 1A, B). As células epidérmicas apresentam paredes anticlinais sinuosas (Fig. 1C-D). Na epiderme abaxial (Fig. 1C) as células são menores, a sinuosidade é mais acentuada e ocorrem pêlos tectores unisseriados com 3-6 células e pontas afiladas (Fig. 1C). Os estômatos anomo e anisocíticos são xerofíticos, com câmara subestomática maior na epiderme adaxial (Fig. 1B). Na epiderme adaxial as células guarda apresentam tamanho aproximadamente igual, enquanto que na epiderme abaxial, normalmente uma é menor que a outra (Fig. 1D). O índice de estômatos é de 17,142% na epiderme adaxial e de 25,53% na epiderme abaxial.

O mesofilo é dorsi-ventral (Fig. 1B), com parênquima paliádico uniestratificado e parênquima esponjoso formado por 5-6 camadas de células arredondadas com espaço em lacunas. As nervuras de grande porte (Fig. 1A) apresentam-se rodeadas de parênquima lacunoso, e junto à epiderme abaxial ocorre até três camadas de colênquima do tipo an-

gular. Os feixes são do tipo colateral e se apresentam no formato côncavo-convexo. Na região inferior ocorre 1-3 camadas de esclerênquima. Nas nervuras de pequeno porte evidencia-se com mais clareza a bainha vascular (Fig. 1B).

Análise anatômica do caule

Ocorre cutícula espessa, formações epicuticulares e as células epidérmicas tendem a ser retangulares quando em secção transversal (Fig. 2 B). O colênquima, do tipo angular, é formado por duas camadas de células, subjacentes à epiderme (Fig. 2A, B). Segue 5-7 camadas de células parenquimáticas (Fig. 2A). O sistema vascular tem organização tipo

sifonostelo. O câmbio interfascicular apresenta-se com células pequenas e achatadas, separando os feixes vasculares de disposição colateral. O xilema, de maturação endarca, possui células parenquimáticas (Fig. 2A, C). A medula constitui a maior parte do caule, sendo formada por células parenquimáticas que exibem campos de pontoação primária em suas paredes (Fig. 2A).

Análise histoquímica

Pela análise histoquímica verificou-se que tanto as substâncias oleaginosas como o isotiocianato ocorrem nas formações parenquimáticas, conforme Figuras 3 e 4.

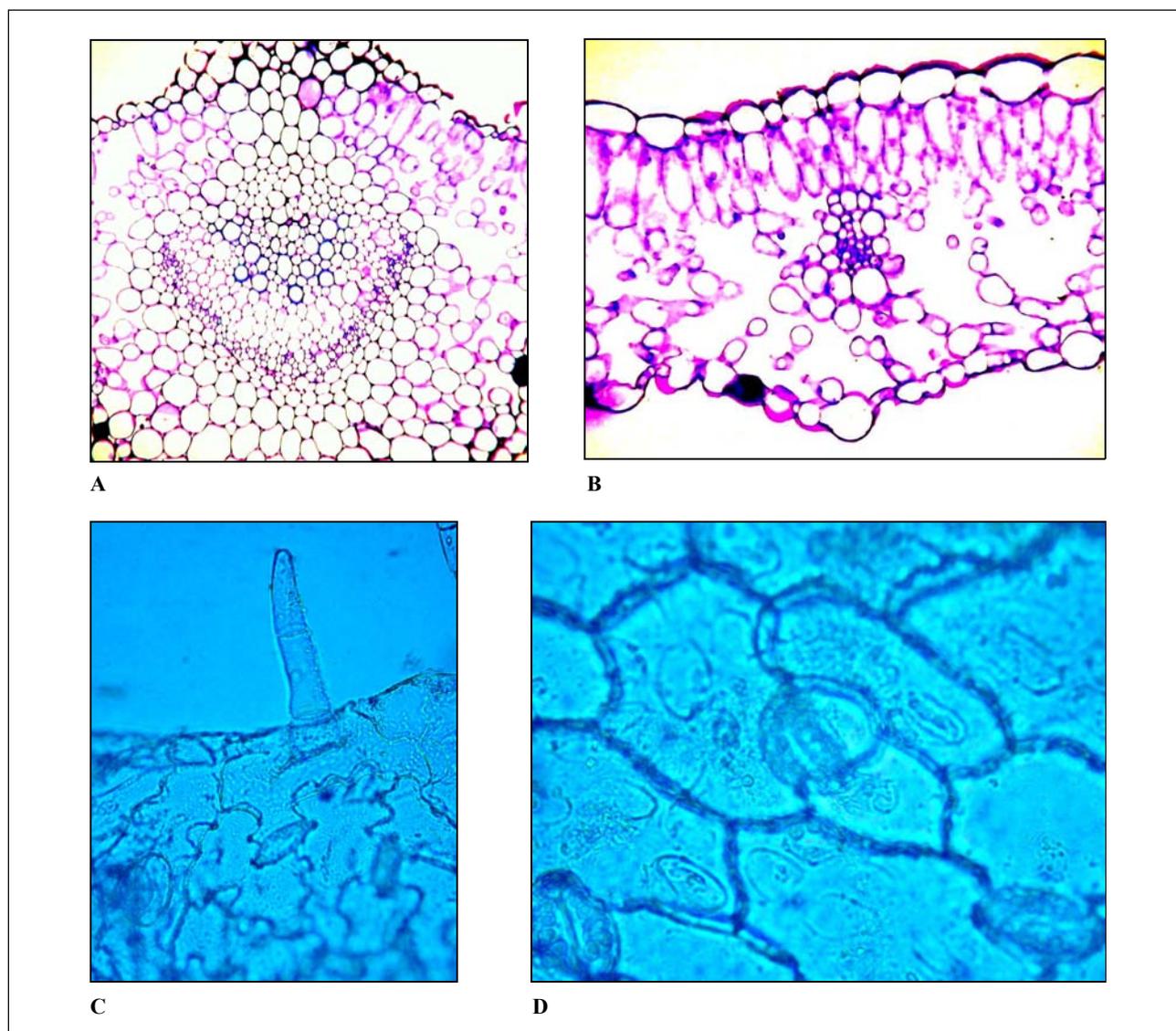


Fig. 1. Secção transversal (A e B) e paradérmico (C e D) das folhas de *Tropaeolum majus* L. (400×). **A.** Região com nervura de grande porte; **B.** Região do limbo com nervura de médio porte; **C.** Epiderme abaxial; **D.** Epiderme adaxial.

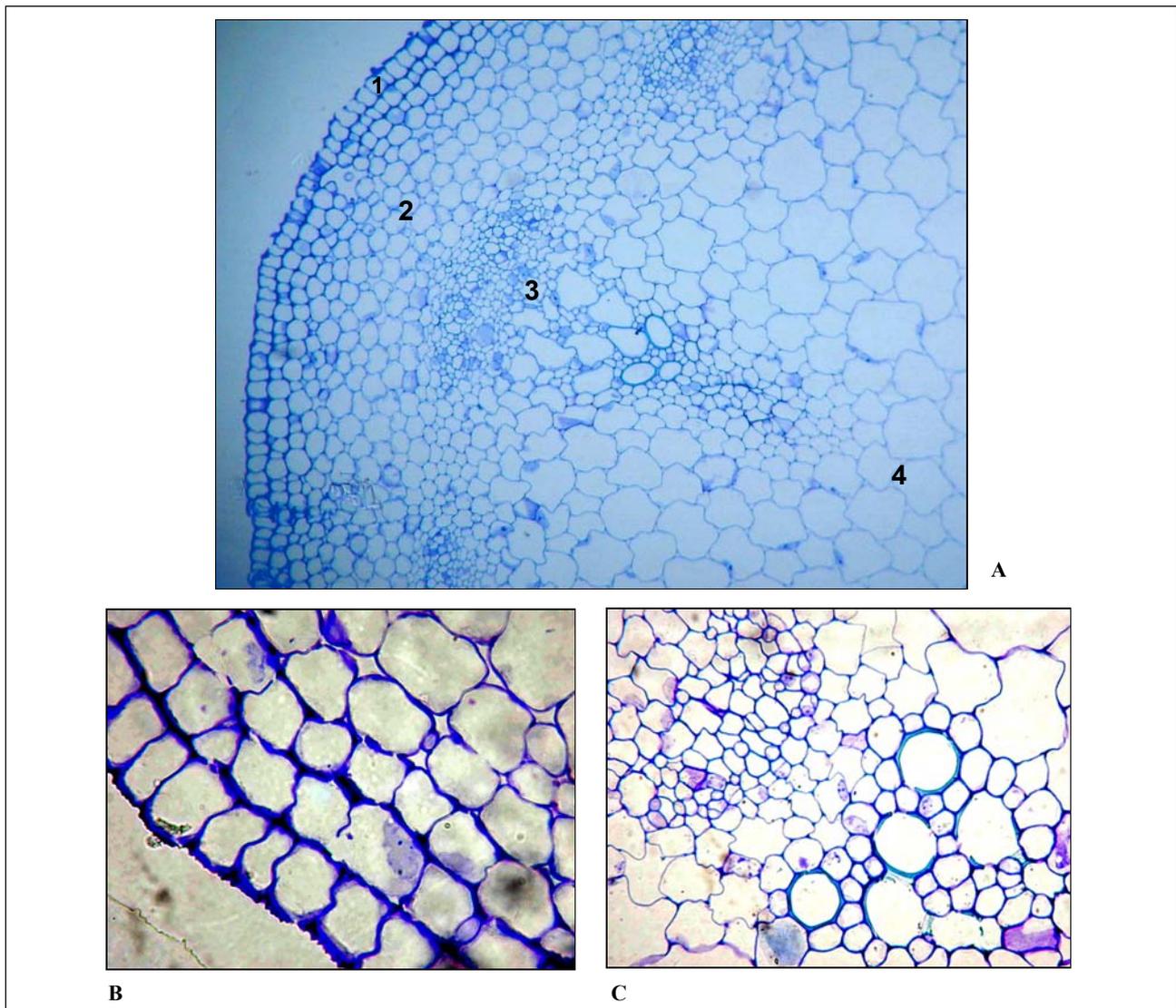
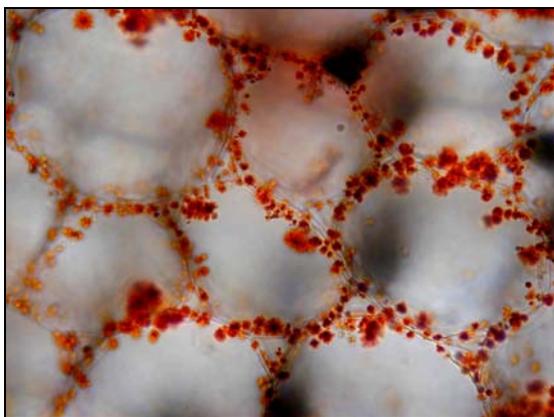


Fig. 2. Secção transversal do caule de *Tropaeolum majus* L. (400×). **A.** vista geral; **B.** detalhe da epiderme e córtex; **C.** Detalhe dos feixes libero-lenhosos. Legenda: 1. epiderme; 2. córtex; 3. feixes libero-lenhosos; 4. medula.



Figs. 3. Solubilização de Sudan III evidenciando óleos voláteis e óleos fixos – caule de *Tropaeolum majus* L. (400× zoom parcial);

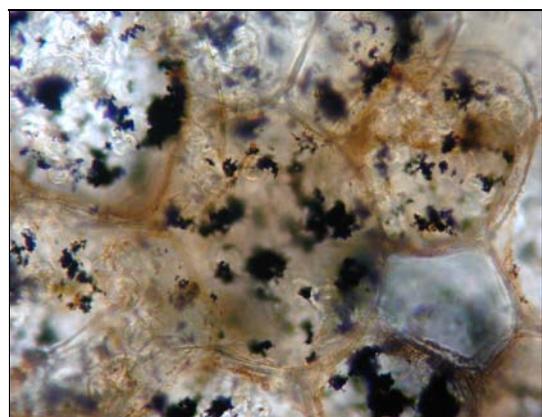


Fig. 4. coloração por reativo de nitrato de prata amoniacal evidenciando isotiocianatos – caule de *Tropaeolum majus* L. (400× zoom parcial).

DISCUSSÃO

A análise da arquitetura foliar, os detalhes e as variações que ocorrem nos tecidos vegetais contribuem para a identificação correta de várias espécies e conseqüentemente no controle de qualidade de drogas vegetais. Amat (1991), estudando os caracteres histofoliar de *Ilex paraguariensis* St. Hil., chegou a conclusões que permitiram a identificação das folhas em pó, e de *Mandigifera indica* L., utilizada para adulterações. Em relação a análise macroscópica de *T. majus* foi verificado que as características morfológicas da folha não destoam do gênero como um todo, mas a forma e a venação do limbo são características que enfatizam a diferença entre espécies semelhantes. Conforme Reitz (1972), as espécies do gênero *Tropaeolum* que ocorrem com mais freqüência, *T. pentaphyllum* Lam., *T. sanctae-catharinae* Sparre e *T. warmingianum* Rohrb., apresentam folhas palmadas. Assim, o fato de as folhas de *T. majus* serem orbiculares, palmadas apenas quando jovens, serve como parâmetro macroscópico relevante na diagnose desta espécie.

A análise microscópica revelou a ocorrência de estômatos do tipo anisocítico, o que não foi encontrado em literatura. Tanto os estômatos anomocíticos como os anisocítico, que também foi observado, estão afundados na epiderme marcando o tipo xerofítico para *T. majus*. Na epiderme deve ser destacada a presença de tricomas tectores dispostos de forma contínua apenas na epiderme abaxial, o que concorda com a descrição de Castellani (1997). Outra característica relevante na anatomia foliar desta espécie, que pode ser útil em sua diagnose como insumo farmacêutico, é a formação de uma camada esclerenquimática junto às nervuras de grande porte. Conforme Paoli (2003) a disposição destas fibras junto aos feixes vasculares funciona como reforço mecânico evitando o murchamento. Para o controle de qualidade botânico de folhas, uma característica relevante na análise de lâminas histológicas é a dorsi-ventralidade com as células do parênquima esponjoso arranjadas frouxamente. Para o caule destacam-se as formações epicuticulares na epiderme, que é constante, o colênquima angular e a grande área ocupada pela medula parenquimática, que conforme Dickson (2000), marca o tipo volúvel deste órgão. A análise microscópica de *T. majus* revelou que as características encontradas correspondem em linhas gerais as características de tropeoláceas descritas por Metcalfe & Chalk (1950) e Castellani (1997).

Em relação a histoquímica, conforme Costa (1982), com a aplicação de técnicas diferenciadas pode-se constatar, pelos ensaios em lâminas histológicas, a presença ou não dos diversos constituintes nos vários órgãos da planta. São reações que, conforme este autor, indicam a presença de metabólitos na planta, geralmente por coloração ou precipitação. As precipitações ocorrem pela formação de sais, por reações ácido/base com a formação de complexos insolúveis, e as formações cromáticas pela obtenção de um complexo entre parte do reagente e o núcleo fundamental de um grupo químico específico (Sharapin, 2000). Um fator importante nesta análise é a localização nos tecidos e/ou nas células de metabólitos relevantes para a indústria farmacêutica. Outro fator importante reside no fato de os ensaios serem realizados tanto com exemplares frescos como desidratados, sem prejuízo dos resultados, sendo que segundo Costa (1982) e Gattuso & Gattuso (1999), os cuidados necessários com as técnicas em histoquímica estão baseados principalmente na polaridade das substâncias utilizadas como substrato para os cortes histológicos.

Em *T. majus* foi caracterizada a presença de óleos pela análise com Sudan III, em todas as formações parenquimáticas, ao contrário de outras espécies, como nas lamiáceas e piperáceas em que os óleos voláteis ocorrem em tricomas glandulares Albuquerque *et al.* (1998) e Silva & Machado (1999). A visualização dos óleos com o reagente empregado Sudan III, conforme Gattuso e Gattuso (1999), ocorre pela solubilização que o mesmo sofre na gordura e não por coloração ou mesmo precipitação. A grande quantidade evidenciada desses óleos poderia explicar o emprego da planta como potente antimicrobiano, uma vez que Zanetti *et al.* (2003) atribui a metabólitos com baixa polaridade a atividade frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas, o que constatou por bioautografia para as frações hexânica e clorofórmica do extrato de *T. majus*.

Nas tropeoláceas, as células de mirosina, citadas por Metcalfe & Chalk (1950), encontram-se carregadas de mirosinase, uma enzima importante na formação de tio-glicosídeos em isotiocianatos, substâncias que caracterizam quimicamente a família, conforme estudos desde a década de 60, Lykkesfeldt & Moller (1993). Assim é que apesar da enzima ser encontrada em sítios diferenciados do precursor do isotiocianato, estas substâncias entram em contato, com o rompimento das membranas celulares, devi-

do a secção feita no órgão para a análise histoquímica, e a utilização do reagente específico acaba proporcionando a hidrólise necessária para a síntese do isotiocianato que foi detectado por coloração, conforme descrito por Costa (1982), em uma quantidade expressiva, o que concorda com os experimentos realizados por Santa Cruz (1991).

CONCLUSÕES

Vários parâmetros morfo-anatômicos listados neste trabalho são significativos na diagnose de *Tropaeolum majus* como insumo farmacêutico. Como características relevantes no controle botânico de qualidade desta planta destaca-se a forma e a venação da folha, os estômatos xerofíticos, o esclerênquima junto aos feixes vasculares, a medula com células parenquimáticas com pontuação primária e a presença de óleos e tioglicosídeos nas formações parenquimáticas. Sugere-se que a análise farmacognóstica considere o conjunto das diversas estruturas anatômicas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE U. P. de.; SILVA, F. C.; PIERROT L. 1998. Exame diagnóstico da folha de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 1/2, p. 23-25.
- AMAT, A. G. 1991. Caracteres histofoliales diferenciales de *Ilex paraguariensis* St. Hil. ("yerba mate") y su adulterante *Mangifera indica* L. (Mango). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 10, n. 1, p. 9-13.
- BAILEY, A. V.; LUCCA I. I. A.; MOREU, J. P. 1993. Antimicrobial properties of some erucic acid-glycolic acid derivatives. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v. 66, p. 77-85.
- CASTELLANI, D. C. 1997. **Crescimento, anatomia e produção de ácido erúico em *Tropaeolum majus* L.** 108 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- COSTA, A. F. 1982. **Farmacognosia**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. v. 3. 1032 p.
- DICKISON, W. C. 2000. **Integrative Plant Anatomy**. San Diego: Harcourt Academic Press. 533 p.
- DI STASI, L. C. 1996. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: UNESP. 230 p.
- GATTUSO, M. A.; GATTUSO, S. J. 1999. **Manual de procedimentos para análise de drogas em polvo**. Rosário: Universidade Nacional da Rosário. 48 p.
- GERLACH, D. 1977. **Bothanische mikrotechnik**. 2. ed. Stuttgart: Georg-Thieme Verlag. 311 p.
- HICKEY, L. J. 1974. Classification de la arquitetura de las hojas de dicotiledoneas. **Boletín Sociedad Argentina de Botánica**, Buenos Aires, v. 16, n. 1-2, p. 1-26.
- KJAER, A.; OGAARD M. J.; MAEDA Y. 1978. Seed volátiles within the family Tropaeolaceae. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 17, p. 1285-1287.
- LYKKESFELDT, J.; MOLLER, B. L. 1993. Synthesis of benzilglucosinolate in *Tropaeolum majus* L.: isothiocyanates as potent enzyme inhibitors. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 102, n. 2, p. 609-613.
- MARQUES, L. C. 1999. In: SIMÕES, C. *et al.*, **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC. cap. 14. p. 259-289.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. London: Oxford University Press. v. 1. 724 p.
- PAOLI, A. A. S. *et al.* 2003. **Anatomia vegetal**. Viçosa: Editora UFV. 438 p.
- PINTÃO, A. M. 1995. *In vitro* in vivo antitumor activity of benzyl isothiocyanate: a natural product from *Tropaeolum majus*. **Planta Medica**, Nova Iorque, n. 61, p. 233-236.
- PINTÃO, A. M.; PAIS, M. S. S. 1994. Cell suspension cultures from *Tropaeolum majus* L. establishment and growth conditions. **Bioresource Technology**, San Diego, v. 47, p. 143-147.
- REITZ, P. P. 1972. Tropaeolaceae. **Flora Ilustrada catarinense**, Itajaí, 26 p.
- SANTA CRUZ, N. C. 1991. Avances em la investigacion de tioglicosidos em plantas del género *Tropaeolum*, actividad antibacteriana y antifungica. **Boletín de la sociedad química del Perú, Lima**, v. 57, n. 4, p. 235-245.
- SHARAPIN, N. 2000. **Fundamentos de tecnología de productos fitoterápicos**. Bogotá: Ed. Roberto Pinzón S. 248 p.
- SILVA, E. M. J.; MACHADO, S. R. 1999. Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. Var. *regnellii* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, v. 22, n. 2, p. 117-124.
- VICHANOVA, S. A.; ADGINA, V. V.; IZOSIMOVA, S. B. 1972. Essential oil as a source of new antifungal preparations. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 1993-1998.
- ZANETTI, G. D. *et al.* 2003. Toxicidade Aguda e atividade antibacteriana dos extratos de *Tropaeolum majus* L. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 22, n. 2, p. 159-162.