



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
MESTRADO EM SAÚDE E AMBIENTE

GIZELLI SANTOS LOURENÇO COUTINHO

BIOPROSPECÇÃO DAS FOLHAS, CASCA E LÁTEX DA ESPÉCIE VEGETAL
Himatanthus drasticus (JANAÚBA)

São Luís
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
MESTRADO EM SAÚDE E AMBIENTE

GIZELLI SANTOS LOURENÇO COUTINHO

BIOPROSPECÇÃO DAS FOLHAS, CASCA E LÁTEX DA ESPÉCIE VEGETAL
Himatanthus drasticus (JANAÚBA)

São Luís
2013

GIZELLI SANTOS LOURENÇO COUTINHO

BIOPROSPECÇÃO DAS FOLHAS, CASCA E LÁTEX DA ESPÉCIE VEGETAL

Himatanthus drasticus (JANAÚBA)

Dissertação de mestrado apresentado ao Mestrado em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Saúde e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Sigfrido Gallegos Olea

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Marilene Oliveira da Rocha Borges

São Luís

2013

GIZELLI SANTOS LOURENÇO COUTINHO

BIOPROSPECÇÃO DAS FOLHAS, CASCA E LÁTEX DA ESPÉCIE VEGETAL

Himatanthus drasticus (JANAÚBA)

Dissertação de mestrado apresentado ao Mestrado em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Saúde e Ambiente.

BANCA EXAMINADORA

Aprovada em ____/____/____

Prof. Dr. Roberto Sigfrido Gallegos Olea (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Marilene Oliveira da Rocha Borges (Co-orientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Patrícia de Maria Silva Figueiredo
Universidade CEUMA

Prof. Dr. Antônio Carlos Romão Borges
Universidade Federal do Maranhão

Dedico esta dissertação ao meu grande amor Rodrigo Coutinho, aos meus familiares (Em especial a minha mãe Euzani Santos), ao meu querido orientador Roberto Sigfrido e à minha já tão amada filha, Yasmim.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus, pela vida e pela sua presença em todas as conquistas alcançadas.

Ao meu orientador, Roberto Sigfrido Gallegos Olea, pelo apoio, incentivo, paciência e por ter acreditado em mim, sempre.

À Coordenadora do Programa de Mestrado em Saúde e Ambiente, Márita Ribeiro, por me ter atendido sempre com muito carinho e atenção.

A professora e co-orientadora Marilene Borges, por me ter aberto as portas, mesmo que no final tudo tenha sido diferente. Obrigada pela dedicação na leitura da dissertação, pelas dicas e pela paciência.

A professora Patrícia Figueiredo, por ter me acolhido em um momento tão delicado.

Ao professor Romão Borges, por ter aceito o convite para participar da nossa banca.

A professora Marisa Aranha, por ter me ajudado com a atividade antioxidante.

Aos colegas, Marcos Bispo (LPN) e Andreia Meneses (CEUMA) pela ajuda.

A Universidade Federal do Maranhão, pela oportunidade.

Ao Instituto Florence de Ensino Superior e UniCEUMA, pelo apoio.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

Himatanthus drasticus (janaúba) é uma árvore com folhagem densa nas extremidades dos ramos, folhas obovais, subcoriáceas, brilhantes, glabras, verde escuro, com ápice arredondado a obtuso, pecíolos curtos e casca rugosa que exsuda um látex branco bastante utilizado na medicina popular no tratamento de tumores, verminoses, gastrites, artrites, infertilidade e também contra o câncer. Portanto, este trabalho tem como objetivo fazer um levantamento etnofarmacológico da utilização da espécie vegetal pela população ludovicense, determinar a composição fitoquímica e de metais, além de avaliar a atividade antioxidante e microbiológica do extrato hidroalcoólico das folhas, casca e látex da espécie vegetal *H. drasticus*. Realizaram-se testes qualitativos para detecção de metabólitos secundários e a detecção de minerais foi realizada por absorção atômica (técnica ICP-OES). Em relação à atividade antioxidante utilizou-se o método *in vitro* com DPPH e para a atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão (ATCC) de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacticus*), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) e leveduras do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) através de testes em difusão no meio sólido e difusão em ágar, determinando-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e citotoxicidade. Em relação ao uso popular no Maranhão *H. drasticus* é indicada para: inflamação, inflamação do útero, gastrite, úlceras, depurativo do sangue, próstata, câncer, fortificante e contra infertilidade. Foram encontrados nas folhas de *Himatanthus drasticus* flavonoides, taninos condensados, alcaloides, esteroides livre, triterpenos, saponinas, resinas, cumarinas. Nas cascas, encontrou-se resultados fortemente positivo para antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Tanto na casca quanto no látex foram detectados a presença de esteroides e triterpenóides. Foi encontrado ainda na casca um percentual bastante acentuado de cálcio, potássio e magnésio, no látex se observou maior percentual de cálcio, magnésio e nas folhas a predominância de minerais do tipo cálcio, potássio, fósforo e magnésio. O extrato hidroalcoólico das cascas e folhas de *H. drasticus* apresentou significativa atividade antioxidante com CE_{50%} 27,8848 µg/mL e CE₅₀ de 31,62 µg/mL, respectivamente. No teste *in vitro* foi observada a inibição de crescimento das cepas testadas com extrato hidroalcoólico das cascas e folhas de *H. drasticus*, porém o látex não apresentou atividade. Apenas o látex causou morte celular no título 1:16 na célula de carcinoma de laringe (HEP-2) e 1:8 na célula de carcinoma uterino (Hela). Por isso, novos estudos devem ser realizados para melhor conhecimento científico da espécie *H. drasticus*.

Palavras chave: *Himatanthus drasticus*; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana, perfil fitoquímico; detecção de minerais.

ABSTRACT

Himatanthus drasticus (janaúba) is a tree with dense foliage at the ends of branches, oblique and ovals leaves, subcoriaceous, shiny, glabrous, dark green, with apex rounded to obtuse, short petioles and rough bark that exudes a white latex widely used in popular medicine in treatment of tumors, worms, gastritis, arthritis, infertility and also cancer. Therefore, this study aims to do an ethnopharmacological survey, determine the phytochemical and metal compositions, and to evaluate the antioxidant and microbiological activity of the hydroalcoholic extract from the leaves, bark and latex of the plant species *Himatanthus drasticus*. Qualitative tests were conducted for detection of secondary metabolites, and mineral detection was performed by atomic absorption (ICP-OES technique). In relation to the antioxidant activity was used in vitro method with DPPH and for antimicrobial activity have been used standard strains (ATCC) of gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacicus*), gram-negative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) and yeasts of *Candida* gender (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) through tests in diffusion in the solid and in agar diffusion, determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Regarding the popular use in Maranhão is indicated for: inflammation, inflammation on uterus, gastritis, ulcers, blood cleanser, prostate, cancer, as restorative and against infertility. Were found in the leaves of *Himatanthus drasticus* flavonoides, condensed tannins, alkaloids, steroid free, triterpenes, saponins, resins, coumarins. In barks, were found strongly positive results for anthocyanins, flavonoids and anthocyanidins. In the bark and latex were detected the presence of steroids and triterpenoids. Still in the bark was found a great percentage of calcium, potassium and magnesium, in the latex was observed higher percentage of calcium, magnesium and in the leaves the predominance of minerals like calcium, potassium, phosphorus and magnesium. The hydroalcoholic extract of the bark and leaves of *H. drasticus* showed significant antioxidant activity with EC50% 27.8848 µg / mL and CE50 of 31.62 µg / mL, respectively. In vitro testing was observed inhibition of growth of the tested strains with hydroalcoholic extract from the bark and leaves of *H. drasticus*, but the latex was inactive. Only the latex has caused cell death in the title 1:16 in carcinoma larynx cell (HEP-2) and 1:8 in uterine carcinoma cell (Hela). Therefore, further studies should be conducted to better scientific understanding of the species *H. drasticus*.

Keywords: *Himatanthus drasticus*; antioxidant activity, antimicrobial activity, phytochemical profile, detection of minerals.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a.C.	Antes de Cristo
AcOEt	Acetato de etila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CHCl ₃	Clorofórmio
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
EBH	Extrato bruto hidroalcoólico
<i>H. drasticus</i>	<i>Himatanthus drasticus</i>
HCl	Ácido clorídrico
IFN- γ	Intérferon gama
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado
KOH	Hidróxido de potássio
MAO	Monoamino-oxidase
HNO ₃	Ácido nítrico
MeOH	Metanol
NaOH	Hidróxido de sódio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
NH ₄ OH	Hidróxido de amônio
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
P.A.	Absoluto
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
PSF	Programa Saúde da Família
PACS	Programa Agentes Comunitários de Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido

UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
U.V.	Ultravioleta
ZCIT	Zona de convergência intertropical
EBHJ	Extrato Bruto Hidroalcoólico de Janaúba
CE ₅₀	Concentração efetiva 50%

SUMÁRIO

	p.
1	
INTRODUÇÃO.....	11
2	
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1	
O uso das plantas medicinais.....	16
2.2	
O uso de plantas medicinais no Brasil.....	17
2.3	
Segurança no uso de plantas medicinais	19
2.4	
Estudos etnobotânicos.....	21
2.5	
Estudos com plantas medicinais: Seleções de espécies vegetais.....	23
2.6	
Estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais.....	25
2.7	
Cuidados e dificuldades no estudo com plantas medicinais.....	27
2.8	
A espécie vegetal <i>Himatanthus drasticus</i>.....	28
2.8.1	
<i>Descrição botânica</i>.....	28
2.8.2	
<i>Família Apocynaceae</i>.....	29
2.8.3	
<i>Gênero Himatanthus</i>.....	30
2.8.4	
<i>Espécie vegetal Himatanthus drasticus</i>.....	32
3	
OBJETIVOS.....	34
3.1	
Objetivo geral.....	34
3.2	
Objetivos específicos.....	34
REFERENCIAS.....	35
4. ARTIGOS.....	48
APÊNDICES.....	103
ANEXO.....	115

1 INTRODUÇÃO

A natureza tem sido provedora do homem desde o início dos tempos. Dela a humanidade tem se servido para suprir as necessidades básicas de alimentação, vestimenta, abrigo e transporte (LIMA, 2008), além do tratamento de enfermidades. A terapia através do uso de plantas medicinais baseou-se, por muito tempo, em descobertas empíricas de centenas e milhares de anos como as escritas em blocos de argila na Mesopotâmia que datam de aproximadamente 2600 a.C. (GURIB-FAKIM, 2006 apud LIMA, 2008).

Nos dias atuais, as populações humanas que ocupam as florestas tropicais e convivem com grande diversidade de fauna e flora, desenvolvem formas de exploração para sua sobrevivência (PINTO et al., 2006), dentre elas, a utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças. No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65 a 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993).

Mesmo com grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, os obstáculos básicos na sua utilização pelas populações carentes ainda existem e vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares até a obtenção de exames e medicamentos. Esses motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (JUNIOR et al., 2005). Em outros casos, o conhecimento sobre plantas medicinais simboliza o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos.

De uma forma geral, esse conhecimento é oriundo das observações populares que divulgam o uso e eficácia de plantas medicinais contribuindo de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, utilizados e prescritos com frequência pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de, muitas vezes, não terem seus constituintes químicos conhecidos (LIMA, 2008). Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm em voga a prática

do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MARCIEL et al., 2002).

De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial (MARCIEL et al., 2002) e, por isso, ainda hoje quer seja nas regiões mais pobres do país ou até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (AMOROZO & GELY, 1988; PRANCE, 1992).

Porém, as práticas relacionadas ao uso popular de plantas medicinais tem sua continuidade ameaçada pela interferência de fatores externos à dinâmica social do grupo (AMOROZO, 2002).

Em relação aos fatores externos, Amorozo & Gely (1988) ressaltaram há mais de vinte anos atrás que a degradação ambiental, novos elementos culturais contemporâneos, desagregação dos modos de vida tradicionais, além da fragilidade da perpetuação das informações por meio da tradição oral ameaçam o acervo de conhecimentos empíricos e o valioso patrimônio genético a ser transmitido para as futuras gerações.

Assim, estudos que resgatam do uso popular das plantas que são utilizadas como medicamento permite não só o registro deste conhecimento como também a avaliação da eficácia e segurança do seu uso mediante validação científica das suas propriedades terapêuticas. Além disso, quando adequadamente utilizadas, beneficiam as pessoas com mais uma alternativa de tratamento e manutenção da saúde (FONTES et al., 2007).

E a partir desse conhecimento consagrado pelo uso contínuo por intermédio das gerações, a pesquisa etnobotânica fornece muitas informações que podem ser utilizadas em estudos farmacológicos, fitoquímicos e agrônômicos sobre estas plantas. Sendo assim, quanto mais detalhadas e completas forem as informações coletadas, maiores serão as chances de a pesquisa trazer subsídios de interesse, inclusive para fundamentar estratégias de manejo e conservação das espécies a longo prazo (AMOROZO, 2002).

Outro fator relevante é que grande parte da comercialização de plantas medicinais atualmente é feita em farmácias e lojas de produtos naturais, onde preparações vegetais são comercializadas com rotulagem industrializada. Em geral, essas preparações são produzidas a partir de plantas cultivadas, o que descaracteriza a medicina tradicional que utiliza, quase sempre, plantas da flora nativa (JUNIOR et al., 2005).

A OMS define planta medicinal como sendo:

“Todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos” (OMS, 1998).

O estudo do uso das plantas medicinais na cura de doenças e a correta identificação das plantas e seus princípios ativos tem possibilitado a validação do uso de medicamentos fitoterápicos, embasada no conhecimento científico. Nesse sentido, a Portaria Interministerial 2.960/2008 instituiu o Programa Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico (PNPMF) (BRASIL, 2006) visando:

“Garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2006).

E considerando:

“Imprescindível promover o resgate, o reconhecimento e a valorização das práticas tradicionais e populares de uso de plantas medicinais, fitoterápicos e remédios caseiros, como elementos para a promoção da saúde, conforme preconiza a Organização Mundial de Saúde” (BRASIL, 2007).

Entre os diversos exemplos de substâncias oriundas de plantas e de sua importância podemos mencionar a forskolina, obtida de *Coleus barbatus*, que tem efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores (SOUSA, 1993); a artemisinina, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica (KAMCHONWONGPAISON & MESHNICK, 1996), e o diterpeno anticancerígeno taxol, isolado de plantas do gênero *Taxus*, que após sua síntese em

escala industrial, já se encontra disponível no mercado farmacêutico, constituindo-se numa grande esperança para pessoas portadoras de câncer nos ovários e pulmões (KINGSTON, 1991; HORWITZ, 1994).

Outros estudos visando a cura de alguns tipos de câncer e de outras enfermidades com deficiente profilaxia têm avançado significativamente tanto em termos de produtos sintéticos como naturais. Sob este aspecto, é importante ressaltar que o sucesso das investigações na área de princípios ativos naturais depende, principalmente, do grau de interação entre a botânica, a química e a farmacologia (CORREA, 1995).

E assim, para contribuir com informações a respeito da espécie vegetal utilizada pela população ludovicense, *Himatanthus drasticus* (*H. drasticus*), o presente trabalho teve como objetivo fazer o levantamento etnofarmacológico, determinar a fitoquímica e as atividades antioxidante e microbiológica contribuindo com estudos sobre a espécie vegetal.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Algumas características desejáveis das plantas medicinais são sua eficácia, baixo risco de uso, assim como reprodutibilidade e constância de sua qualidade (NAKAZAWA, 1999).

Os vegetais podem originar recursos terapêuticos em várias instâncias, podendo ser utilizados de diversas maneiras, com diferentes propósitos (RATES, 2001):

- ✓ Natural, com partes inteiras ou sob a forma rasurada para preparação de chás e/ou outras preparações caseiras, destinadas ao uso doméstico ou a rituais religiosos ou espirituais de cura e transcendência sob a forma de drogas pulverizadas, extratos brutos ou frações enriquecidas, extratos padronizados, tinturas, extratos fluidos, pós, comprimidos, cápsulas, etc.;
- ✓ Podem ser submetidos a sucessivos processos de extração e purificação, para isolamento das substâncias de interesse. As substâncias isoladas podem ser ativas e diretamente utilizadas como fármacos (ex.: quinina, digoxina, ergotamina), podendo, então, ser denominadas fitofármacos e empregadas como precursores (ex.: diosgenina para a síntese de hormônios esteroidais) em processos de síntese de fármacos;
- ✓ Como modelos para síntese total ou estudos de relação estrutura x atividade para a obtenção de fármacos com um perfil farmacoterapêutico mais adequado, configurando, então, os protótipos.

Para a OMS, plantas medicinais são todas aquelas, silvestres ou cultivadas, que se utilizam como recurso para prevenir, aliviar, curar ou modificar um processo fisiológico normal ou patológico, ou como fonte de fármacos e de seus precursores (ARIAS, 1999), enquanto que fitoterápicos são produtos medicinais

acabados e etiquetados, cujos ingredientes ativos são formados por partes aéreas ou subterrâneas de plantas, ou outro material vegetal, ou combinações destes, em estado bruto ou em formas de preparações vegetais. Por material vegetal se entendem sucos, resinas, óleos fixos, óleos voláteis e qualquer outro de natureza semelhante (BRASIL, 2000).

Os fitoterápicos podem conter excipientes, além dos ingredientes ativos. Se o material vegetal está associado a substâncias ativas, definidas do ponto de vista químico, sintéticas ou isoladas de plantas, o produto final não é considerado um fitoterápico (OMS, 1991).

2.1 O uso das plantas medicinais

A referência mais antiga que se tem conhecimento do uso das plantas data de mais de sessenta mil anos. As primeiras descobertas foram feitas por estudos arqueológicos em ruínas do Irã. Também na China, em 3.000 a.C., já existiam farmacopeias que compilavam as ervas e as suas indicações terapêuticas. Por isso, a utilização das plantas medicinais faz parte da história da humanidade, tendo grande importância tanto no que se refere aos aspectos medicinais, como culturais (GURIB-FAKIM, 2006 apud LIMA, 2008).

Essa utilização se difundiu no mundo todo, independente das classes sociais (BARBOSA et al., 2007). Na América Latina, em especial nas regiões tropicais, existem diversas espécies de plantas medicinais de uso local, com possibilidade de geração de uma relação custo-benefício bem menor para a população, promovendo saúde a partir de plantas produzidas localmente (NOGUEIRA, 1983).

Além disso, os apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais aumentam a cada dia. Os ervanários prometem saúde e vida longa, com base no argumento de que plantas usadas há milênios são seguras para a população (JUNIOR et al., 2005).

Entretanto, as informações técnicas ainda são insuficientes para a maioria das plantas medicinais, de modo a garantir qualidade, eficácia e segurança de uso das mesmas. Calixto, em 2000, já afirmava que a domesticação, a produção, os estudos biotecnológicos e o melhoramento genético de plantas medicinais podem oferecer vantagens, uma vez que torna possível obter uniformidade e material de qualidade que são fundamentais para a eficácia e segurança.

Por isso, Accorsi (2000) declarou que devido a necessidade da população, a ciência deve buscar a unificação do progresso com aquilo que a natureza oferece, respeitando a cultura do povo em torno do uso de produtos ou ervas medicinais para curar os males.

2.2 O uso de plantas medicinais no Brasil

No Brasil, a utilização dos produtos originados do conhecimento tradicional na medicina popular é datada desde muito antes da colonização. Os índios usavam tais produtos para a cura de doenças ou para fazer misturas que ajudavam a manter o espírito purificado (COSTA, 2006).

Com a colonização brasileira e o período de escravidão dos povos africanos a miscigenação cultural existente no Brasil entre brancos, índios e negros, tornou-se fator determinante para a formação do acervo cultural de nosso povo. Muitas informações acerca de curas caseiras foram repassadas e trocadas entre as comunidades e hoje somos detentores de um legado extremamente rico, mas que pode se perder ao longo do tempo, por não conseguir sobreviver frente à indústria de medicamentos e novas tecnologias (COSTA, 2006).

Nos últimos anos, políticas nacionais foram criadas na tentativa de padronizar e regulamentar a produção de fitoterápicos no Brasil, a fim de garantir que estes produtos tenham qualidade adequada e que possam ser utilizados pela população que não possui acesso a tratamentos de saúde convencionais, como é o caso da Resolução nº 48, de 16 de março de 2004, que dispõe sobre o registro de fitoterápicos, e o decreto nº 5813, de 22 de junho de 2006, que aprova o Programa

Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2006). Essa Política incentiva o fomento à pesquisa, desenvolvimento tecnológico e inovação com base na biodiversidade brasileira, abrangendo espécies vegetais nativas e exóticas adaptadas, priorizando as necessidades epidemiológicas da população. Também apoia a promoção e o reconhecimento das práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros, visando o uso seguro e sustentável de plantas medicinais, a identificação e implantação de mecanismos de validação/reconhecimento que levem em conta os diferentes sistemas de conhecimento (tradicional/popular *versus* técnico-científico) e também a transmissão do conhecimento entre gerações (BARATTO, 2010).

Em um trabalho de Ethur et al. (2011) que visaram realizar um diagnóstico sobre os consumidores de plantas medicinais e fitoterápicos no município de Itaqui (RS), foram encontrados resultados interessantes. A maioria dos entrevistados (71%) tinha faixa etária de 21 a 60 anos, a grande maioria apresenta renda mensal de até três salários mínimos; 82% afirmavam terem obtido eficiência no tratamento e em caso de problemas de saúde; 47% procuravam pelas plantas; 55% às cultivavam em suas residências. Na segunda etapa do estudo realizada em farmácias, observaram ainda que a compra de fitoterápicos e plantas medicinais era realizada praticamente por mulheres, das quais 75% eram adultas e 25% idosas e que os chás mais vendidos eram principalmente os emagrecedores e digestivos.

Em contrapartida, Brandão et al. (1998) que avaliaram a qualidade quanto aos contaminantes de amostras de camomila (*Matricaria recutita*) obtidas em farmácias, ervarias e mercados, verificaram que somente cerca de metade das amostras apresentaram os constituintes dos óleos essenciais, necessários à atividade anti-inflamatória da planta.

Esses resultados indicam a precariedade com que as plantas medicinais e os fitoterápicos vêm sendo comercializados e confirmam a necessidade urgente de vigilância destes produtos no Brasil (BRANDÃO et al., 1998).

2.3 Segurança no uso de plantas medicinais

O surgimento do conceito “natural” em muito contribuiu para o aumento do uso das plantas medicinais nas últimas décadas. Para muitas pessoas essa designação significa a “ausência de produtos químicos”, que são aqueles que podem causar algum dano ou, de outra forma, representam sinônimo de produtos saudáveis, seguros e benéficos. Esse conceito é extremamente equivocado, já que as plantas foram e são as fornecedoras dos grandes venenos da história da humanidade. Muitas plantas contêm substâncias capazes de exercer ação tóxica sobre organismos vivos (MENGUE et al., 2001; TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

Essas são produzidas com diversas funções, tais quais defesa, competição por espaço, atração de polinizadores, dentre outras e por esse motivo muitas plantas acumulam substâncias de elevada toxicidade (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

Rodrigues et al. (2011) relatam que o uso milenar de plantas medicinais também mostrou ao longo dos anos, que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas. Do ponto de vista científico, algumas pesquisas mostraram que muitas dessas plantas possuem substâncias agressivas e por essa razão devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos. Os efeitos mais preocupantes do uso indiscriminado de plantas medicinais são embriotóxico, teratogênico e abortivo, uma vez, que os constituintes da planta podem atravessar a placenta, chegar ao feto e gerar um desses efeitos. Em seu estudo encontraram que plantas como Arnica (*Arnica montana*), Artemísia (*Artemisia vulgaris*), Arruda (*Ruta chalepensis/Ruta graveolens*), Barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum*), Boldo (*Vernonia condensata*) dentre outras, podem vir a gerar um desses efeitos.

Plantas causadoras de acidentes domésticos, assim como suas consequências, são estudadas no Centro de Assistência Toxicológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A principal causa das intoxicações é a presença de alcaloides, cardiotônicos, glicosídeos

cianogênios, proteínas tóxicas, glicosídeos e furanocumarinas, oriundos de algumas espécies de plantas ornamentais (CORTEZ, 2000).

Muitas pessoas usam indevidamente as plantas, como exemplo se tem as que possuem atividade psicoativa e exercem importantes efeitos sobre a consciência, as emoções e a cognição e, devido a isso, têm sido utilizadas há bastante tempo com finalidades terapêuticas e ritualísticas. Porém o consumo de substâncias psicoativas não está necessariamente relacionado com esses propósitos (PASSOS et al., 2009), algumas vezes a população tem feito o uso por mera curiosidade, estímulos diversos, fugas, moda, rebeldia e uso recreativo (MCKEENA, 1996), pois o ser humano descobriu há muito tempo que certas plantas e substâncias tinham a capacidade de alterar estados de consciência ao serem ingeridas, aplicadas ou fumadas (NEWALL et al., 1996).

Entretanto, devido a essas plantas com atividade psicoativa exercerem efeitos sobre a cognição, consciência e emoções, elas não devem ser utilizadas de forma deliberada e irresponsável. Os estudos apontam que *Salvia divinorum* causa efeitos psicoativos diferenciados de outras substâncias conhecidas. A salvinatorina A, seu princípio ativo é um diterpeno que produz efeito analgésico, no entanto, até o momento, não há nenhum relato na literatura científica sobre o uso dessa planta para fins medicinais. Já *Cannabis sativa*, que também tem atividades psicotrópicas é utilizada em alguns estados norte-americanos, no tratamento de câncer, AIDS, esclerose múltipla e síndrome de *Tourette*. É válido citar que legisladores de dezesseis estados americanos visam criar um projeto de lei que proíba não só o uso, mas também a comercialização e o tráfego de *Salvia divinorum* (SANTOS et al., 2011).

Outro fator que deve ser levado em consideração é no caso da comercialização popular de plantas medicinais. Muitos cuidados (válidos até mesmo para plantas de uso milenar) são relevantes, tais como identificação errônea da planta (pelo comerciante e pelo fornecedor), possibilidades de adulteração (em extratos, cápsulas com o pó da espécie vegetal, pó da planta comercializado em saquinhos e garrafadas), interações entre plantas medicinais e medicamentos alopáticos (que possam estar sendo ingeridos pelo usuário da planta) efeitos de superdosagens, reações alérgicas ou tóxicas (JUNIOR et al., 2005).

Sendo um assunto de Saúde Pública, caberia aos profissionais de saúde e aos programas nacionais de saúde (Programa Saúde da Família - PSF e Programa Agentes Comunitários de Saúde - PACS) esclarecer dúvidas da população, orientando a utilização correta de plantas medicinais nas Unidades de Saúde e nas visitas domiciliares (ARMOUS et al., 2005).

O aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada parte a ser usada, grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, existe forma de preparo e uso mais adequados. Em geral, os efeitos colaterais são poucos na utilização dos fitoterápicos, desde que utilizados na dosagem correta. Além disso, a maioria dos efeitos colaterais conhecidos, registrados para plantas medicinais, são extrínsecos à preparação e estão relacionados a diversos problemas de processamento, tais como identificação incorreta das plantas, necessidade de padronização, prática deficiente de processamento, contaminação, substituição e adulteração de plantas, preparação e/ou dosagem incorretas (CALIXTO, 2000).

2.4 Estudos etnobotânicos

Quando se procura obter substâncias ativas de plantas, um dos principais aspectos que deve ser observado consiste nas informações sobre o uso tradicional da planta. Dados da literatura revelam que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo seu uso tradicional do que em plantas escolhidas ao acaso (MONTELLANO, 1975; FARNSWORTH & KAAS, 1981; UNANDER et al., 1995; VIZZOTTO & JÚNIOR, 1996).

Cerca de 75% dos compostos puros naturais empregados na indústria farmacêutica hoje foram isolados seguindo recomendações da medicina tradicional (SANTOS et al., 2011). O termo etnobotânica foi empregado pela primeira vez em 1895 por Harshberger, que embora não o tenha definido, apontou maneiras pelas quais poderia ser útil à investigação científica (SCHULTES, 1962).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, contando com uma rica flora, despertando interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional destes recursos (SOUZA & FELFILI, 2006). Sendo assim é através da etnobotânica que se busca o conhecimento e o resgate do saber botânico tradicional, particularmente relacionado ao uso dos recursos da flora (AMOROZO, 1996).

Segundo Marodin & Baptista (2002), a etnobotânica compreende o estudo e a interpretação do conhecimento, significação cultural, manejo e os usos tradicionais dos elementos da flora. Amorozo (1996) engloba a maneira como um grupo social classifica as plantas e as utiliza. Para Caballero (1979), os estudos etnobotânicos vão além do que pode pretender a investigação botânica, uma vez que suas metas se concentram em torno de um ponto fundamental que é a significação ou o valor cultural das plantas em determinada comunidade humana.

Várias definições podem ser encontradas para etnobotânica. Dentre essas se destacam:

“Disciplina que se ocupa do estudo e conceituações desenvolvidas por qualquer sociedade a respeito do mundo vegetal – engloba a maneira como um grupo social classifica as plantas e a utilidade que dá a elas” (POSEY et al., 1986).

“Verdadeira botânica científica voltada para o hábitat e uso de uma etnia específica - sendo realizada por alguém treinado em botânica científica, que efetuará correspondências entre a classificação científica ocidental e local” (CARDONA, 1985).

“Ciência botânica que possui uma etnia específica - vê a cultura de uma sociedade como tudo aquilo que alguém tem que saber ou crer, a fim de operar de forma aceitável para seus membros” (CARDONA, 1985).

A etnobotânica aplicada ao estudo de plantas medicinais trabalha em estreita cumplicidade com a etnofarmacologia, que consiste na exploração científica interdisciplinar de agentes biologicamente ativos, tradicionalmente empregados ou observados por determinado agrupamento humano (PRANCE, 1992). Um dos pioneiros em estudos etnobotânicos, Richard Evans Schultes, dedicado à pesquisa

da flora da América tropical, relata inúmeras espécies vegetais brasileiras usadas por caboclos e indígenas da Amazônia (SCHULTES, 1979).

A etnobotânica é citada na literatura como sendo um dos caminhos alternativos que mais evoluiu nos últimos anos para a descoberta de produtos naturais bioativos (PRANCE, 1992; KING et al., 1994). Esta área de pesquisa enfoca dois fatores fundamentais: coleta e utilização medicinal da planta. O primeiro fator implica na região, época e estágio de desenvolvimento preferido para coleta, envolve também, procedimentos especiais como preparação de exsiccatas.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é uma autarquia subordinada ao Ministério da Saúde, encarregada da regulação e regulamentação de fitoterápicos, dentre outros produtos, em 2006, publicou as duas importantes políticas para a área de plantas medicinais e fitoterápicos, que foram a Política Nacional de Práticas Integrativas (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), fazendo com que a ANVISA tivesse que atualizar seus regulamentos (CARVALHO, 2011).

Apesar dessas normas, Carvalho (2011) observou em seu estudo que poucas espécies vegetais medicinais nativas possuem registro como medicamentos fitoterápicos, sendo necessárias ações urgentes para modificar essa situação.

2.5 Estudos com plantas medicinais: Seleções de espécies vegetais

Várias abordagens para a seleções de espécies vegetais têm sido apresentadas na literatura (ELISABETSKY et al., 1988; CORDELL, 1993) dentre elas, três tipos são alvo de maiores investigações:

- a) Abordagem randômica - escolha da planta sem qualquer critério, tendo como fator determinante a disponibilidade da planta;
- b) Abordagem quimiotaxonômica ou filogenética - seleção da espécie correlacionada com a ocorrência de uma dada classe química de substâncias em um gênero ou família;

c) Abordagem etnofarmacológica - seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um determinado grupo étnico.

As probabilidades de novas descobertas de substâncias inéditas, bioativas ou não é, sem dúvida, maior na seleção randômica. A seleção etnofarmacológica favorece com maior probabilidade a descoberta de novas substâncias bioativas. A descrição do histórico da planta como um recurso terapêutico eficaz para o tratamento e cura de doenças de determinado grupo étnico, se traduz na economia de tempo e dinheiro, dois dos fatores mais perseguidos pelas economias ocidentais (MARCIEL et al., 2002).

Uma vez definida a espécie vegetal a ser estudada, define-se também o local da coleta. Nesta fase inicial do trabalho científico, o pesquisador deve estar completamente inteirado da literatura sobre a planta escolhida, porque muitas vezes, plantas medicinais são investigadas parcialmente, validando, portanto, o interesse em novas investigações científicas. Por exemplo (MARCIEL et al., 2002):

- ✓ Se a espécie escolhida é encontrada em regiões diferentes no país, torna-se importante avaliar as modificações químicas que possam ocorrer em decorrência de fatores ambientais variáveis, tais como: fertilidade do solo, umidade, radiação solar, vento, temperatura, herbivoria, poluição atmosférica e poluição do solo.
- ✓ Outros fatores como idade da planta e época de coleta, também poderão causar modificações nos teores dos constituintes químicos de espécies vegetais;
- ✓ Se a espécie vegetal medicinal estudada sofreu apenas investigação fitoquímica, deixando de lado a abordagem farmacológica, são válidos estudos que interliguem áreas multidisciplinares como etnobotânica, química e farmacologia, buscando resultados que possam validar ou não o uso da planta como medicinal.

Em quaisquer circunstâncias, a pesquisa bibliográfica da planta alvo deve ser realizada obedecendo-se os seguintes fatores: gênero, família e classes de substâncias predominantes (CORDELL, 1993).

A planta escolhida deve ser seguramente identificada. Para atender esta exigência, depende-se de outro especialista: um botânico ou um técnico

especializado. A falta de identificação científica (ou uma identificação errônea) anulará todo o trabalho, tornando-o impublicável e praticamente inútil. A coleta, portanto, deve constar de duas etapas: coleta prévia para a identificação botânica da espécie e a coleta definitiva quando se tratar de grandes quantidades de material, destinada para estudos fitoquímicos e/ou farmacológicos (OLIVEIRA & AKISUE, 1991).

2.6 Estudo químico e farmacológico de plantas medicinais

Nos últimos anos se tem verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, tanto em congressos como em periódicos nacionais e internacionais, além do surgimento de novos periódicos específicos sobre produtos naturais ativos, como *Phytomedicine*, *Phytochemical Analysis*, *Natural Product Letter*, etc (CECHINEL & YUNES, 1998).

Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido elucidar rapidamente estruturas moleculares complexas de constituintes naturais, até há pouco tempo difíceis de serem identificados. A cada momento são relatadas na literatura novas moléculas, algumas de relevante ação farmacológica. Neste contexto é importante mencionar que as plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos para a obtenção de vários fármacos, até hoje amplamente utilizados na clínica (FARNSWORTH, 1980; CORDELL, 1995; TESKE & TRENTINI, 1995; MATOS, 2009). Como exemplo, podemos citar a morfina, a emetina, a vincristina, a colchichina, a rutina, etc.

Cabe mencionar que dados da literatura indicaram que, em 1980, os consumidores dos Estados Unidos pagaram mais de 8 bilhões de dólares em prescrições com produtos naturais ativos. Em relação ao mercado mundial, cerca de 80% das pessoas utilizam plantas para curar suas enfermidades (AKERELE, 1992).

A investigação preliminar de constituintes químicos representa, muitas vezes, um estímulo motivador da curiosidade, já que possibilita o conhecimento prévio dos extratos e indica a natureza das substâncias presentes, facilitando a escolha de técnicas de fracionamento cromatográfico. As principais classes de constituintes químicos de plantas que podem ser detectadas com a aplicação de testes analíticos padrões são: ácidos graxos; terpenoides; esteroides; fenóis; alcaloides; cumarinas e flavonoides (MARCIEL et al., 2002).

Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica clássica. A análise de substâncias ativas é muito mais complexa e longa, já que geralmente os compostos presentes em menor proporção na planta são os que apresentam melhores efeitos biológicos. Por isto a necessidade de um trabalho em colaboração mais ampla entre químicos e farmacólogos para a análise de extratos, onde se obtém extratos semi-puros, frações e finalmente, os compostos puros. Neste sentido, torna-se indispensável a análise da potência das frações e das substâncias puras em relação à sua concentração. Esta avaliação permite predizer se o principal componente químico responsável pela atividade biológica foi realmente determinado. Desta forma, para se obter substâncias puras dotadas de efeitos biológicos, são requeridos, além da dedicação e da determinação dos pesquisadores, uma ampla colaboração multidisciplinar (GEBHARDT, 2000).

A avaliação farmacológica de extratos brutos, frações e substâncias isoladas devem seguir rigorosamente as indicações terapêuticas empíricas divulgadas por estudos etnobotânicos. A seleção correta de testes biológicos específicos permitirá uma avaliação do uso terapêutico da espécie vegetal, fornecendo também, informações sobre a toxicidade da planta (MACIEL et al., 2002).

A elucidação dos componentes ativos presentes nas plantas, bem como seus mecanismos de ação, vem sendo um dos maiores desafios para a química farmacêutica, bioquímica e a farmacologia. As plantas contêm inúmeros constituintes e seus extratos, quando testados podem apresentar efeitos sinérgicos entre os diferentes princípios ativos devido a presença de compostos de classes ou

estruturas diferentes contribuindo para a mesma atividade. No estudo da atividade biológica de extratos vegetais é importante a seleção de bioensaios para a detecção do efeito específico. Os sistemas de ensaio devem ser simples, sensíveis e reprodutíveis (GEBHARDT, 2000).

2.7 Cuidados e dificuldades no estudo com plantas medicinais

Um dos fatores importantes no estudo de plantas consiste na experiência dos pesquisadores envolvidos. Muitas vezes, a falta de experiência leva a erros que podem tanto comprometer os resultados experimentais como dispendiar maior tempo e recursos e não atingir os objetivos almejados. Assim, podem-se enumerar alguns cuidados que devem ser tomados em laboratório quando se busca obter compostos bioativos (MATOS, 2009):

- a) Seleção do material vegetal: Um dos cuidados que deve ser levado em consideração envolve informações sobre possíveis efeitos tóxicos da planta a ser selecionada. Plantas que tenham o nome popular de mata-boi, mata-cavalo, por exemplo, devem ser vistas com restrições, já que a presença de constituintes tóxicos pode comprometer todo o estudo realizado.

A planta a ser investigada deve ser classificada com segurança e a coleta deve ser feita com muito cuidado para não serem agregadas outras espécies diferentes. Também deve ser levada em consideração a quantidade de planta que viceja no local de coleta, para que os estudos não fiquem prejudicados.

A secagem, em estufa (40°C) ou à sombra à temperatura ambiente deve ser procedida logo após a coleta para evitar a proliferação de fungos. Caso se deseje armazenar o material vegetal, o mesmo pode ser acondicionado em freezer. Na preparação dos extratos, a planta deve estar completamente fresca ou totalmente seca para definir com melhor exatidão o rendimento tanto da massa bruta como dos constituintes químicos.

- b) Solvente: A escolha do solvente é de fundamental importância tanto para a obtenção de extratos como para utilizá-lo como eluente em cromatografia em

coluna. Impurezas, como ftalatos, usados como estabilizantes de plásticos, podem ser transferidas para o extrato e também dificultar o isolamento dos constituintes naturais. Outro aspecto que deve ser verificado é a presença de água, que influencia significativamente nas separações cromatográficas.

A formação de artefatos na preparação de extratos é muito comum. Isto ocorre, geralmente, quando se aquece demais determinado extrato ou se usa um solvente inadequado para extração. Por exemplo, o clorofórmio, que geralmente contém HCl, quando usado para extração, pode fornecer produtos não naturais formados pela ação do ácido. A acetona também deve ser usada com restrição, já que pode reagir com alguns compostos que contém o grupo amino.

c) Testes biológicos: A avaliação dos efeitos biológicos tanto “*in vitro*” como “*in vivo*” depende de vários fatores, tanto estruturais quanto experimentais. É essencial que a Instituição de pesquisa possua um bom biotério e um laboratório exclusivo para a realização dos experimentos, e a escolha dos modelos deve ser de maneira que possam ser reproduzidos corretamente e evitados os resultados falso-positivos. Os experimentos devem ser repetidos várias vezes para se obter dados estatísticos que comprovem a eficácia do material testado.

2.8 A espécie vegetal *Himatanthus drasticus*

2.8.1 Descrição Botânica

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ Divisão: Magnoliophyta
- ✓ Classe: Magnoliopsida
- ✓ Ordem: Gentianales
- ✓ Família: Apocynaceae
- ✓ Gênero: *Himatanthus*
- ✓ Espécie: *Himatanthus drasticus*

2.8.2 Família Apocynaceae

Existem várias famílias botânicas que são consideradas de importância medicinal, entre elas encontra-se a Apocynaceae (KRENTKOWSKI, 2011). Essa família tem mais de 500 gêneros e 5.000 espécies, conquistando o título de “família numerosa”, estando entre as 10 famílias de angiospermas mais numerosas atualmente. Apocynaceae pode ser erva, árvore ou trepadeira. Sem estípulas, as folhas normalmente são opostas, com nervura penínervia. As inflorescências são cimeiras, quase nunca serão flores solitárias. São flores bissexuais, quase sempre hipóginas, com sépalas que seguem livres até bem próximo da base. Os estames se encontram livres e em alguns casos podem estar adnatos entre si e com o gineceu. Os grãos de pólen podem ser mônades, tétrades ou formar políades, vai depender da subfamília. O gineceu é apocárpico com carpelos totalmente livres em nível de ovário e unidos no ápice, compondo uma cabeça clavícula. Placentação pode ser parietal ou axilar. Os discos nectaríferos estão na base da corola em torno do ovário (ENDRESS & BRUYN, 2000).

Os frutos desta família são comumente dois folicários, onde quase sempre um deles é abortado. As Apocynaceae dificilmente terão frutos do tipo cápsulas, bagas ou drupas. Sempre com muitas sementes, dificilmente são aladas. Seus agentes polinizadores são com frequência abelhas, moscas, mariposas, vespas e borboletas. Todos atraídos pela aparência e odor floríferos, uns em busca de néctar, outros em busca de um lugar seguro para depositar seus ovos, como é o caso das moscas atraídas por umas espécies florais que exalam um cheiro pútrido imitando animais em decomposição. Esta grande família tem importância econômica expressiva graças às espécies conhecidas como “peroba”, utilizadas exaustivamente em movelarias e na construção civil. Outras espécies são usadas na medicina como componentes bioativos no tratamento de câncer. Tem ainda as espécies comestíveis, como a mangaba, utilizada na culinária para fazer geleias, doces, sorvetes e sucos. Sem deixar de lembrar as espécies ornamentais muito aproveitadas para projetos urbanísticos (BEZERRA, 2011).

Os gêneros mais importantes dessa família são *Alstonia*, *Aspidosperma*, *Vinca*, *Tabernaemontana*, *Mandevilla*, *Hancornia*, *Nerium*, *Strophantus*, *Catharanthus*, *Allamanda*, *Thevetia*, *Wrightia*, *Plumeria*, *Himatanthus* e *Rauvolfia*. Várias substâncias têm sido isoladas a partir desses gêneros, sendo que muitas delas representam protótipo de classes farmacológicas distintas, como por exemplo, os alcalóides de *Rauvolfia* (reserpina, ajmalicina, ajmalina, ajmalinina, serpentina e serpentinina), utilizados em casos de hipertensão e arritmias cardíacas; os glicosídeos cardiotônicos de *Strophantus* (ouabaína, estrofantinidina e cumarina) e os alcalóides antitumorais de *Catharanthus* (vimblastina e vincristina) (DI STASI; HIMURA-LIMA, 2002 apud BARATTO, 2010).

Considerando a importância da família Apocynaceae como fonte de compostos com atividade farmacológica, verifica-se a potencialidade dessas espécies e consequente necessidade de estudos voltados para uma melhor descrição química e biológica, especialmente do grupo dos alcaloides e glicosídeos (DI STASI; HIMURA-LIMA, 2002 apud BARATTO, 2010).

2.8.3 Gênero *Himatanthus*

O gênero *Himatanthus*, exclusivo da América do Sul e pertencente à família Apocynaceae, destaca-se por incluir espécies popularmente utilizadas como plantas medicinais e que possuem grande diversidade de compostos farmacologicamente ativos, entre eles alcaloides indólicos, iridóides e ésteres triterpênicos (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002 apud BARATTO et al., 2010).

Estudos com o gênero *Himatanthus* revelaram a presença de depsídeos, terpenos e iridóides. Dentre os iridóides, foram encontrados a fulvoplumierina, isoplumericina e plumericina, de comprovada ação antineoplásica, antiflogística e antimicrobiana. Estudos fitoquímicos do extrato hexânico das cascas do caule de espécie do mesmo gênero apresentaram atividade fungicida. Esse extrato é constituído basicamente de ésteres triterpênicos, correspondendo a

aproximadamente 7% do peso do extrato. Estes ésteres já foram descritos em outras espécies de *Himatanthus* (SILVA et al., 1998 apud COLARES et al., 2008).

Em relação às atividades farmacológicas, espécies do gênero *Himatanthus* possuem diversas indicações populares para o tratamento de várias enfermidades, porém foram pouco estudadas cientificamente a fim de comprovar tais efeitos terapêuticos. As atividades farmacológicas ou indicações populares relatadas em literaturas científicas sobre o gênero *Himatanthus* são apresentadas no quadro 1.

Quadro 1 - Atividades farmacológicas e indicações populares de espécies do gênero *Himatanthus*.

ESPÉCIE VEGETAL	PARTE UTILIZADA	AÇÃO FARMACOLÓGICA OU INDICAÇÃO POPULAR	REFERÊNCIAS
<i>H. attenuatus</i>	Folhas	Citotoxicidade contra células tumorais de leucemia promielocítica aguda.	Sufredini et al., 2002
		Inibição da glucose-6-fosfatase em microsossomos; Diminuição da pressão arterial sem alteração da frequência cardíaca; Letalidade significativa contra larvas de <i>Artemia salina</i> ;	Jiménez et al., 2002
<i>H. bracteatus</i>	Folhas	Indicação indígena como antipirético;	Castillo el al., 2003
<i>H. drasticus</i>	Látex	Indicação popular para o tratamento de casos inoperáveis de câncer de pulmão e câncer linfático, vermes intestinais, febre, menstruação irregular, infertilidade feminina e úlceras gástricas;	Lorenzi; Matos, 2000
<i>H. obovatus</i>	Raízes	Leishmanicida contra promastigotas de <i>Leishmania donovani</i> ;	Mesquita et al., 2005
	Folhas e caules	Inibição da replicação de células sanguíneas mononucleares periféricas;	Souza-Fagundes et al., 2002
<i>H. sucuuba</i>	Casca do caule	Indicação popular para tratamento de gastrites, hemorroidas e anemia;	Endo et al., 1996,1998
		Tratamento de feridas externas; Antibacteriana contra cepas de <i>Clostridium histolyticum</i> e <i>Bacterioides fragilis</i> ;	Neto et al., 2002

<i>H. sucuuba</i>	Cascas do caule	Aumento da permeabilidade capilar;	Vilegas et al., 1997
		Citotóxica contra linhagens de células tumorais;	Wood et al., 2001
		Inibição da MAO;	Endo et al., 1996; 2006
	Látex	Anti-inflamatória, redução da formação de edema;	Miranda et al., 2000
	Cascas da raiz	Inibição da produção de óxido nítrico (NO) em macrófagos e de IFN- γ	Souza et al., 2006

2.8.4 Espécie vegetal *Himatanthus drasticus*

H. drasticus (Apêndices 1 e 2) é uma Apocynaceae da subfamília Plumeriodeae, distribuída geograficamente desde o Sudeste do Brasil até a Guiana Francesa, Suriname e Guiana. No Brasil, ocorre nos Estados de Minas Gerais, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba, Piauí, Maranhão, Pará e Roraima. Além de designada, popularmente, como janaguba no Ceará, é conhecida como tiborna, jasmim-manga e raivosa em Minas Gerais e Bahia, pau-de-leite no Piauí, joanaguba no Rio Grande do Norte, sucuba na Amazônia (PLUMEL, 1991 apud AMARO et al., 2006) e janaúba no Maranhão (MACHADO, 2010).

Lorenzi & Matos (2002) e Plumel (1991), destacam que a janaúba é uma espécie arbórea que pode atingir sete metros de altura, com folhagem densa nas extremidades dos ramos (Apêndice 3), folhas obovais, subcoriáceas, brilhantes, glabras, verde escuro, com ápice arredondado a obtuso e pecíolos curtos. Possuem flores brancas, aromáticas, fruto tipo folículo, em forma de chifre, medindo entre 15 e 20 cm de comprimento por 2,5 cm de largura e sementes com alas concêntricas (Apêndices 4, 5). A casca é rugosa e exsuda um látex branco (Apêndice 6) bastante utilizado pela população, principalmente pelos habitantes da região de ocorrência (AMARO et al., 2006).

Essas pesquisas decorrem do grande uso dessa casca, por meio de infusão, pela medicina popular para o tratamento de tumores, gastrites, artrites e hemorroidas. Utiliza-se ainda compressas de folhas, frescas, esmagadas contra herpes, impinges, e verrugas. Existem ainda algumas indicações sobre o uso na forma de chás (infusão ou decocção) contra irritação na uretra e inflamação no útero, dores e constipação (COLARES et al., 2008; DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2005; LORENZI & MATOS, 2002).

O látex, assim como a casca, é usado no tratamento de tumores, verminoses, gastrites, artrites, distúrbios menstruais, infertilidade feminina, afecções da pele e também contra o câncer (COLARES et al., 2008; DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2005; LORENZI, & MATOS, 2002).

Das cascas de *H. drasticus* foram isolados os iridóides já conhecidos plumierídeo, isoplumierídeo, protoplumericina A, cafeoilplumierídeo e o iridóide inédito ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo, além dos triterpenos acetato e cinamato de lupeol e a β -amirina. Das folhas de *H. drasticus* foi isolado o flavonoide rutina (MORAGAS, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Bioprospecção do extrato hidroalcoólico das folhas, cascas e látex de *Himatanthus drasticus*.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar os metabólitos secundários presentes no extrato hidroalcoólico da casca, folha e látex;
- ✓ Determinar o perfil cromatográfico dos extratos hidroalcoólicos da casca, folhas e látex;
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas e cascas;
- ✓ Realizar testes microbiológicos com extrato hidroalcoólico das folhas, cascas e látex;
- ✓ Realizar testes de citotoxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas e cascas.

REFERÊNCIAS

ACCORSI, W. R. **Medicina natural, um novo conceito**. A fórmula: guia de negócios, 2000.

AKERELE, O. *WHO guidelines for the assessment of herbal medicines*. Fitoterapia, 1992.

AKERELE, O. *Medicinal plants: their role in health and biodiversity*. Philadelphia; *Herbal Gram*, 1993.

AMARO, M. S.; FILHO, S. M.; GUIMARÃES, R. M.; TEÓFILO, E. M. **Influência da temperatura e regime de luz na germinação de sementes de janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart. Plumel.)**. Ciência e Agrotecnologia. Lavras, v. 30, n. 3, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542006000300010&script=sci_arttext.

AMOROZO M. C. M. **Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil**. Acta Botânica Brasilica, v.16, p.189-203, 2002.

AMOROZO, M. C. M. **Abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar**. Editora UNESP. São Paulo, p. 47-68, 1996.

AMOROZO, M. C. M.; GELY, A. **Uso de Plantas Medicinais por Caboclos do Baixo Amazonas; Barcarena: PA**. Museu Paraense Emílio Goeldi, p. 47, 1988.

ARIAS, T. D. **Glossário de medicamentos: desarrollo, evaluación y uso**. Washington: *Organización Panamericana de La Salud/Organización Mundial de La Salud*, 1999.

ARMOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. **Plantas medicinais de uso caseiro: conhecimento popular e interesse por cultivo.** Revista Espaço para a Saúde. Londrina, v.6, n. 2, p.1-6, jun. 2005.

BARATTO, L. C. **Estudo químico-analítico e morfoanatômico de espécies medicinais brasileiras da família Apocynaceae: *Himatanthus lancifolius* (MULL. ARG.) Woodson e *Rauvolfia sellowii* MULL. ARG.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br>.

BARBOSA, A. da S.; SOUSA, E. G.; SILVA, M. A.; OLIVEIRA, H. S. M. C.; MEDEIROS, M. B. **Plantas medicinais: aspecto do uso de fitoterápicos na melhoria da qualidade de vida humana.** X Encontro de Iniciação à Docência. Universidade Federal da Paraíba, 2007. Disponível em: <http://www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/documentos/anais>.

BEZERRA, L. M. **Apocynaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil.** Dissertação de mestrado. USP. São Paulo, 2011.

BRANDÃO, M. G. L.; FREIRE, N, V. S. **Fiscalização de fitoterápicos no estado de Minas Gerais. Avaliação de qualidade de amostras comerciais de camomila.** Caderno Saúde Pública, 1998; 14(3):613-6.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17 de 24.2.2000: Aprova regulamento técnico, normatizando o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária.** Diário Oficial da União, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico: Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006.** Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília, 2007.

CABALLERO J. *La etnobotánica: três puntos de vista y uma perspectiva*. Editora INREB, Xalapa, p. 27-30, 1979.

CALIXTO, J. B. *Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents)*. *Brazilian Journal Medicine*, 2000; 33(2):179-89.

CARDONA, G. R. *La foresta di piume: manuale di etnosciencia*. Roma, Laterza. 1985.

CARVALHO, A. C. B. **Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil**. XXVIII, 318 f., il. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília. Brasília, 2011.

CASTILLO C., HERNANDEZ J., LOPEZ ALONSO M., MIRANDA M., BENEDITO J.L. *Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows: preliminary observations*. *Archiv für Tierzucht*, 2003; 46, 227-233.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais, conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade**. *Química Nova*, 1998; 21: 99-105.

COLARES, A. V.; CORDEIRO, L. N.; COSTA, J. G. M.; CARDOSO, A. H.; CAMPOS, A. R. **Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus darsticus* (mart.) Plumel (janaguba)**. *Infarma*. Brasília, v. 20, 2008. Disponível em: http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/68/069a116_infarma.pdf.

CORDELL, G. A. *Changing strategies in natural products chemistry*. *Phytochemistry*, 1995; 40: 1585-1612.

CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R.; BEECHER, C. W.; KINGHORN, A. D.; PEZZUTO, J. M.; WALL, M. E.; WANI, M. C.; BROWN, D. M.; HARRIS, T. J. R.; LEWIS, J. A.; O'NEILL, M. J.; TAIT, R. M. *Comparison of recreation use values among alternative reservoir water level management scenarios. American Chemical Society Symposium Series*; Kinghorn, A. D.; Balandrin, M. F.; Washington: DC, p. 191, 1993.

CORRÊA, A. G. **Taxol: da descoberta ao uso terapêutico**. Química Nova, 1995.

CORTEZ, L. E. R.; CORTEZ, D. A. G. **Plantas tóxicas**. Revista Racine, 2000; 10 (55):48-53.

COSTA, B. J. S. **Atividade antimicrobiana de extratos de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood. (sucuba)**. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006. Disponível em: http://www.btdt.ufrr.br/tde_arquivos/1/TDE-2008-05-16T154317Z-6/Publico/dissertacao_Bianca.pdf.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, A.C. **“Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Editora Unesp, 2002 apud BARATTO, L. C. **Estudo químico-analítico e morfoanatômico de espécies medicinais brasileiras da família Apocynaceae: *Himatanthus lancifolius* (MULL. ARG.) Woodson e *Rauvolfia sellowii* MULL. ARG.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

ELISABETSKY, E.; MORAES, J. A. R. *The First International Congress of Ethnobiology*. Belém: Brasil, p. 111, 1988.

ENDO, A.; KAWASHIMA, Y.; NEGISHI, H.; HIGO, Y.; OYAMA, T.; TSUCHIKO, I. *Pharmacologically active extracts from Sasa bamboo and their production*. Jpn Patent 036,731; Chemical Abstract, 2006; 144: 198751.

ENDO, Y., SATO, T., MATSUSHITA, M., FUJITA, T. *Exon structure of the gene encoding the human mannose-binding protein-associated serine proteases light chain: comparison with complement C1r and C1s genes.* International Immunology, 1996.

ENDO, Y., TAKAHASHI, M., NAKAO, M., SAIGA, H., SEKINE, H., MATSUSHITA, M. *Two lineages of mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP) in vertebrates.* Journal Immunology 1998.

ENDRESS, M. E; BRUYN, P. V. *Interpreting Botanical Progress A revised classification of the Apocynaceae.* The Botanical Review, v. 66, n. 1, 2000, 1-56.

ETHUR, L. Z; JOBIM, J. C; RITTER, J. G; OLIVEIRA, G; TRINDADE, B. S. **Comércio formal e perfil de consumidores de plantas medicinais e fitoterápicos no município de Itaqui – RS.** Revista brasileira plantas medicinais, 2011; 13(2):121-128.

Farmacologia veterinária. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, p. 558- 575, 2002.

Farmacopeia Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FARNSWORTH, N.R.; KAAS, C. J. *J. Ethnopharmacology* 1981, 3, 85.

FARNWORTH, N. R.; *J. Ethnopharmacology.* 1980, 2, 173.

FONTES, D. J.; COELHO, V. A. T.; GOMES, F. T. **Uso de Plantas Medicinais pelos Moradores da Comunidade de Conceição de Ibitipoca, MG.** Revista Brasileira de Biociências. Porto Alegre. v. 5, n. 1, p. 237-239, 2007.

GEBHARDT, R. *Planta Medicinal.* **2000**, 66, 99.

HORWITZ, S. B. *Nature.* Instituto de Química, 1994.

JIMÉNEZ, G.; HASEGAWA, M.; RODRIGUEZ, M.; ESTRADA, O.; MÉNDEZ, J. , Rio de Janeiro – RJ. *Química Nova*, v. 25, n. 3, 2002.

JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. **Plantas medicinais: cura segura?** *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

KAMCHONWNGPAISON, S.; MESHNICK, S. R. *Gen. Pharmac.* 1996, 27, 587.

KING, S. R.; TEMPESTA, M. S. *Ciba Foundation Symposium*; Wiley: Chichester, 154, p. 197, 1994.

KINGSTON, D. G. I. *Pharmac. Ther.* 1991, 52, 1.

LIMA, M. P. **Influência dos extratos de *Casearia sylvestris*, *Bauhinia microstachya*, *Rauvolfia sellowii* e *Himatanthus lancifolius* sobre o comportamento de células HL-60, K- 562, DAUDI e REH.** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008. Disponível em: <http://www.farmaceuticas.ufpr.br>.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **“Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas”**. Instituto Plantarum, São Paulo, 2000.

MACHADO, K. R. G. **“Contribuições para o conhecimento químico e biológico da espécie vegetal *Himatanthus drasticus* Mart. (Apocynaceae), janaúba.”** Trabalho de monografia apresentado ao curso de Química Bacharelado da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do grau de Bacharel em Química. Orientador: Prof. Dr. Roberto Sigfrido Gallegos Olea, 2010.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; Valdir F. VEIGA, V. F. J. **Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares.** *Química Nova*, v. 25, n. 3, 429-438, 2002.

MARODIN, S. M.; BAPTISTA, L. R. M. Plantas medicinais do Município de Dom Pedro de Alcântara, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil: espécies, famílias e usos em três grupos da população humana. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2002 **5**(1): 1-9.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3 ed. Fortaleza: Editora UFC, 2009.

MCKEENA, D. *Plant hallucinogens: springboards for psychotherapeutic drug discovery. Behav Brain*. 1996, 73: 109-115.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. **Uso de plantas medicinais na gravidez**. 2001.

MIRANDA, A. L.; SILVA, J. R.; REZENDE, C. M.; NEVES, J. S.; PARRINI, S.C.; PINHEIRO, M. L.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; PINTO, A. C. *Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from Himatanthus sucuuba*. *Planta Medicinal*, 2000; 66: 284-286.

MONTELLANO, O. B. *Science* 1975, 188, 215.

MORAGAS, C. J. **Estudo do gênero *Himatanthus*: anatomia vegetal, fitoquímica, farmacologia e biotransformação**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

NAKAZAWA, T. A. **Particularidades de formulações para fitoterápicos**. *Revista Racine*, 1999; 9(53):38-41.

NETO, J. P; ALMEIDA, R. T. **Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. Farmacologia veterinária**. Rio de Janeiro, 2002.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Plantas medicinais: guia para profissional de saúde**. São Paulo: Premier, p. 296, 1996.

NOGUEIRA, M. J. C. **Fitoterapia popular e enfermagem comunitária**. Revista Esc Enfermagem, USP, 1983; 17(3):275.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 1991.

OMS/ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Pautas para la evaluación de Medicamentos Herbarios*. Ginebra, 1991.

PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; POSERR, G. L. **Terpenoides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC)**. 2009.

PINTO, E. P. P.; AMOROZO, M. C. M.; FURLAN, A. **Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré, BA**. Brasil. Acta Botânica Brasilica. V.20, n.4, p.751-762, 2006.

POSEY, A.F., KATAYAMA, R.W. & BURLEIGH, J.G. *The abundance and daily visitation patterns of bees (Hymenoptera: Apoidea) on oilseed sunflower, Helianthus annuus L., in southeastern Arkansas. Journal of the Kansas Entomological Society*, 1986; 59, 494–499.

PRANCE, G. T. *Out of the Amazon*; HMSO: London, 1992, p. 83.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-613, 2001.

RODRIGUES, H. G; MEIRELES, C. G; LIMA, J. T. S; TOLEDO, G. P; CARDOSO, J. L; GOMES, S. L. **Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais**. Revista brasileira plantas medicinais, 2011; 13(3):359-366.

SANTOS, M. P.; SANTOS C. C.; SANTOS, M. P. C. *Cannabis sativa e Salvia divinorum – Uso irresponsável de plantas medicinais com atividades psicoativas*. M.P. UNIVERSO, Curso Farmácia, 2011.

SCHULTES, R. E.; LOYDIA, L. **Instituto de Química**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, CT, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, 1962.

SCHULTES, R. E; *Lloydia* 1963, 2, 67.

SCHULTES R. E. *De plantis Toxicariis e mundo novo tropicale Commentationes*. XXI. *Interesting native uses of the Humiriaceae in the northwest Amazon*. *J Ethnopharmacology*, 1979; 1(1):89-94.

PRANCE, G. T.; *Out of the Amazon*; HMSO: London, p. 83, 1992.

SILVA, J. R A.; AMARAL, A. C. F.; SIANI, A. C.; REZENDE, C. M.; FELCMAN, J.; PINTO A.C. *Contribution to the study of Himatanthus sucuúba: latex macromolecule, microelements and carbohydrates*. *Acta Amazônica*, 2003; 33(1): 105-110.

SILVA, J. R. A.; PESSONI, R. A. B.; VIEIRA, C. C. J.; REZENDE, C. M.; MIRANDA, A. L. P.; PINTO, A.C. **Composição e atividade antiinflamatória e analgésica do látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson (Apocynaceae)**. *XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*. Águas de Lindóia, Brasil, 1998 apud COLARES, A. V.; CORDEIRO, L. N.; COSTA, J. G. M.; CARDOSO, A. H.; CAMPOS, A. R. **Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus darsticus* (mart.) Plumel (janaguba)**. *Infarma*. Brasília, v. 20, 2008.

SOUSA, N. J. *J. Ethnopharmacol.* **1993**, 38,177.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. **Uso das plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO**. Brasil. *Acta Botânica Brasilica*. v. 20, p.135-142, 2006.

SUFFREDINI, I. B., BACCHI, E. M., SAKUDA, T. M. K., OHARA, M. T., YOUNES, R. N., VARELLA, A. D. *Antibacterial activity of Apocynaceae extracts and MIC of Tabernaemontana angulata stem organic extract*. Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas, 2002; 38: 89-94.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. *Compêndio de Fitoterapia*, 2 ed, Herbarium Lab. Botânico, Curitiba, Paraná, 1995.

TUROLLA, M. S. dos R.; NASCIMENTO, E. de S. **Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

UNANDER, D. W.; WEBSTER, G. L.; BLUMBERG, B. S. J. *Ethnopharmacology*, 1995.

VEIGA, V. F. J.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. **Plantas medicinais: cura segura?** Química Nova, São Paulo, v. 28, n. 3, 2005. Disponível em; http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422005000300026&script=sci_arttext.

VILLEGAS, L.F., FERNANDEZ, I.D., MALDONADO, H., TORRES, R., ZAVALETA, A., VAISBERG, A.J., HAMMOND, G.B. *Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru*. *Journal Ethnopharmacology*, 1997. 55: 193-200.

VIZZOTTO, V.; JUNIOR, A. A. S. *Agrop. Catarinense* **1996**, 9, 5.

WOOD, R. D.; MITCHELL, M. S; Sgouros, J.; LINDAH, T. *Human DNA Repair Genes*. *Science*, v. 291, n. 5507, 2001.

ARTIGOS

4 ARTIGO 1 – Revista Scientia Plena. Área interdisciplinar (Qualis B3, 2012)

Bioprospecção das folhas da espécie vegetal *Himatanthus drasticus* (janaúba)

Bioprospection the leaves of plant species Himatanthus drasticus (janaúba)

G.S. L. Coutinho¹; M.O.R. Borges²; C. R. Borges²; P.M.S. Figueiredo³; M.C.A. Batista⁴;
L.M.S. Silveira⁴; A.; R.S.G. Olea^{1,5}

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente (Mestrado), UFMA, CEP 65080-805, São Luís (MA),
Brasil

² Departamento de Ciências Fisiológicas, UFMA, CEP 65080-805, São Luís (MA), Brasil

³ Departamento de Microbiologia, UniCEUMA, CEP 65075-120, São Luís (MA), Brasil

⁴ Departamento de Farmácia, UFMA, CEP 65080-805, São Luís (MA), Brasil

⁵ Departamento de Química, UFMA, CEP 65080-805, São Luís (MA), Brasil

gizellisantos@hotmail.com

(Recebido em dia de mês de ano; aceito em dia de mês de ano)

No Maranhão o extrativismo de *Himatanthus drasticus* (janaúba) tem adquirindo importância como uma alternativa de renda para a população, porém poucos estudos são achados na literatura sobre as folhas desta espécie. Portanto, este trabalho tem como objetivo determinar a composição fitoquímica e de metais, além de avaliar a atividade antioxidante e microbiológica do extrato hidroalcoólico das folhas da espécie vegetal *Himatanthus drasticus*. Realizaram-se testes qualitativos para detecção de metabólitos secundários e a detecção de minerais foi realizada por absorção atômica (técnica ICP-OES). Em relação à atividade antioxidante utilizou-se o método *in vitro* com DPPH e para a atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão (ATCC) de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacticus*), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) e leveduras do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) através de testes em difusão no meio sólido e difusão em ágar, determinando-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Foram encontrados nas folhas de *Himatanthus drasticus* flavonoides, taninos condensados, alcaloides, esteroides livre, triterpenos, saponinas, resinas, cumarinas e predominância de minerais do tipo cálcio, potássio, fósforo e magnésio. A atividade antioxidante apresentou CE₅₀ de 31,62 µg/mL e, na atividade antimicrobiana, houve inibição de todas as cepas testadas a uma CIM de 15% pela técnica de diluição em ágar. Esses resultados apresentam dados preliminares, a respeito da espécie *Himatanthus drasticus*, contudo novos estudos devem ser realizados para melhor esclarecimento sobre a utilização desta espécie pela população maranhense.

Palavras chave: *Himatanthus drasticus*; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana, perfil fitoquímico; detecção de minerais.

In Maranhão, the extraction of Himatanthus drasticus (janaúba) is gaining importance as an alternative source of income for the population, but few studies are found in the literature on the leaves of this species. Therefore, this study aims to determine the phytochemical and metal compositions, and to evaluate the antioxidant and microbiological activity of the hydroalcoholic extract from the leaves of the plant species Himatanthus drasticus. Qualitative tests were conducted for detection of secondary metabolites, and mineral detection was performed by atomic absorption (ICP-OES technique). In relation to the antioxidant activity was used in vitro method with DPPH and for antimicrobial activity have been used standard strains (ATCC) of gram-positive bacteria (Staphylococcus aureus, Streptococcus agalacicus), gram-negative (Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis) and yeasts of Candida gender (C. albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis, C. glabrata) through tests in diffusion in the solid and in agar diffusion, determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) . Were found in the leaves of Himatanthus drasticus flavonoides, condensed tannins, alkaloids, steroid free, triterpenes, saponins, resins, coumarins and predominance of minerals like calcium, potassium, phosphorus and magnesium. The antioxidant activity showed EC₅₀ of 31.62 µg/mL and, in antimicrobial activity, there was inhibition of all tested strains at a MIC of 15%. These results provide preliminary data, regarding the species Himatanthus drasticus, however further studies should be conducted to better clarification on the use of this species so used by the population of Maranhão.

Keywords: Himatanthus drasticus; antioxidant activity, antimicrobial activity, phytochemical profile, detection of minerals.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade nas mais diversas culturas, há relatos do uso de plantas, quer seja na arquitetura, alimentação, purificação de água, ou ainda no processo de tratamento e cura de enfermidades [1].

O Brasil possui quase um terço da flora mundial, onde se destaca a flora Amazônica, pela biodiversidade que apresenta sendo o maior bioma do Brasil, ocupando quase metade do território nacional com numerosas espécies vegetais, muitas ainda não estudadas [2].

Essa variedade de biomas reflete a riqueza da flora e da fauna brasileira com mais de 20% do número total de espécies do globo, sendo que algumas espécies são exclusivamente nacionais. Contudo, pouco tem sido realizado para que esse potencial seja transformado em vantagem competitiva, em produtos patenteados, principalmente se considerarmos o desenvolvimento como forma de inserção social e de proteção e manutenção desses ecossistemas [3].

Em meados do século vinte, quando se iniciou o uso de medicamentos sintéticos e industrializados, houve uma diminuição no uso de plantas medicinais, porém, nos últimos anos tem aumentado o número de pesquisas nesta área em grande parte nas Universidades públicas, inclusive com depósito e publicação de patentes [4].

No Maranhão (Brasil) a proporção de pessoas pobres e em situação de extrema pobreza é expressiva, em comparação às demais regiões do País [5], por isso se torna interessante incentivar a utilização da flora nativa, como forma de alternativa sustentável [5,6]. Linhares [7] relata que o nome janaúba é a denominação popular mais conhecida das espécies pertencentes ao gênero *Himatanthus* de ocorrência no Estado do Maranhão, sendo a janaúba vermelha o nome popularmente atribuído à espécie *Himatanthus drasticus* (*H. drasticus*) neste estado.

O extrativismo do gênero *Himatanthus* no município de Alcântara e em São Luís vem adquirindo importância como uma alternativa de renda. Utiliza-se compressas de folhas, frescas, esmagadas contra herpes, impinges, e verrugas. Existem ainda algumas indicações sobre o uso na forma de chás (infusão ou decocção) contra irritação na uretra e inflamação no útero [7]. Por tanto, estudos que viabilizem a sua utilização, em seu ambiente natural, são de suma importância.

Essa espécie pode chegar a sete metros de altura, apresentando densa folhagem nas extremidades dos galhos, suas folhas são obovais, subcoriáceas, brilhantes, glabras, verde escuro, com ápice arredondado a obtuso e pecíolos curtos. Possuem ainda flores brancas, aromáticas, fruto tipo folículo, com formato de chifre, apresentando medidas entre quinze a vinte centímetros de comprimento por dois centímetros e meio de largura e sementes com alas concêntricas [8]. Ganha destaque popular, por apresentar amplo espectro de usos que vai desde o tratamento de inflamações uterinas, infertilidade feminina, gastrite, uso veterinário, uso em emplastos, fortificante, suplemento alimentar e no tratamento de câncer. O gênero *Himatanthus* possui grande diversidade de compostos farmacologicamente ativos, entre eles alcaloides indólicos, iridóides e ésteres triterpênicos [9,10].

Devido à espécie vegetal já ser utilizada pela população maranhense no tratamento de várias enfermidades, torna-se importante conhecer os constituintes químicos presentes nas folhas desta espécie, bem como realizar estudos para avaliar as atividades farmacológicas para confirmação do uso popular e ainda para a contribuição na elaboração de planos de estudo, exploração e manejo sustentáveis. Por isso, esse estudo tem como objetivo determinar

a composição fitoquímica e de metais, além de avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *H. drasticus* (Mart.) Plumel (janaúba).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta da amostra vegetal

As folhas da espécie vegetal *H. drasticus* foram coletadas em um sítio localizado na zona rural (Timbuba) do município de São José de Ribamar (MA). Uma exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário Rosa Mochel/UEMA sob o número 3872.

2.2 Preparo do extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus*

O material vegetal foi moído e pesado obtendo-se 996,48 g do material seco em pó, em seguida foi submetido à maceração com álcool a 70%, por 03 dias, com agitação ocasional, filtrado a vácuo e concentrado em evaporador rotativo para obtenção do extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* com rendimento de 25,59%. Esse procedimento foi repetido por 03 vezes.

2.3 Prospecção dos constituintes fitoquímicos do extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus*

O extrato hidroalcoólico das folhas foi submetido a testes fitoquímicos qualitativos com a finalidade de detectar a presença de classes de metabólitos secundários segundo a metodologia de Matos [10].

2.4 Avaliação da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus*

A atividade antioxidante das folhas de *H. drausticus* (janaúba) foi avaliada pelo método fotolorimétrico *in vitro* utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, Sigma), adaptado de Brand-Willians et al. [11]. As amostras foram diluídas em

diferentes concentrações em etanol PA (5 a 100 µg/mL), em seguida adicionou a solução metanólica de DPPH (40 µg/mL). Após 30 min de reação em temperatura ambiente ao abrigo da luz, a absorbância de cada solução foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (Lambda 35, *PerkinElmer*) a 517 nm.

A percentagem de inibição foi obtida com a seguinte equação: Atividade antioxidante (%) = $[(A_{DPPH} - A_{amostra}) / A_{DPPH}] \times 100$. Onde A_{DPPH} é a absorbância do DPPH (controle negativo) e $A_{amostra}$ é a absorbância do radical na presença dos extratos ou dos padrões.

A atividade antioxidante das amostras foi expressa como CE_{50} , concentração efetiva 50%, ou seja, concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH.

2.5 Análises cromatográficas através da cromatografia de camada delgada analítica (CCDA)

A metodologia consistiu em aplicar 5 µL do extrato hidroalcoólico em uma placa de vidro contendo uma fina camada de sílica gel 60 GF_{254 + 366} onde a amostra foi colocada acerca de um centímetro da base da placa. Após a evaporação do solvente, a placa foi colocada em contato com a fase móvel que continha acetato de etila e metanol (AcOEt:MeOH) 5:5 em uma cuba cromatográfica. A cromatografia se desenvolve com a fase móvel migrando através da fase estacionária por ação da capilaridade obtendo-se assim um cromatograma do extrato hidroalcoólico das folhas de janaúba. As placas cromatográficas foram visualizadas em lâmpada UV (254 e 366nm) e reveladas com iodo resublimado [12].

2.6 Determinação de metais das folhas de *Himatanthus drasticus* (ICP-OES)

2.6.1 Digestão da amostra

A digestão empregada foi a sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghof é uma metodologia atualmente bem estabelecida para o tratamento de amostras visando à determinação de metais. Esta técnica de digestão, assim como os procedimentos convencionais, requer, na grande maioria dos casos, o uso de ácidos concentrados. Na determinação de metais em amostras sólidas, os processos de digestão ácida

são comumente empregados a fim de converter o analito em uma forma adequada - solúvel para a medida [13]. Este procedimento pode ser realizado em frascos fechados (sob pressão) ou abertos, dependendo da natureza da matriz da amostra e das concentrações de analito esperadas.

Em uma balança analítica pesou-se 0,25 g da casca da janaúba e acrescentou-se 3 mL de HNO₃ e colocou-se no sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghof (bomba de digestão). Logo em seguida colocou-se a mesma em uma estufa a uma temperatura de 180°C a 200°C por um período de 01h00min, 01h30min e 02h00min, para que ocorresse a digestão. Após esse período a amostra foi armazenada em um balão volumétrico de 25 mL e acrescentou-se água deionizada para preparo da solução.

2.6.2 Caracterização dos compostos químicos por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)

As análises para identificação de metais foram realizadas na Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, no Laboratório de Solo, utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo Vista-pró, simultâneo e com configuração axial (Varian 720-ES).

A técnica de ICP-OES utiliza o plasma como fonte de excitação. O plasma normalmente é formado pela ionização parcial de um gás, geralmente o argônio, em um campo magnético oscilante produzido e mantido por uma fonte de radiofrequência. Este estado parcial de ionização, induzido pelo campo magnético, ocasiona um aquecimento ôhmico proporcionando temperaturas de até 1000°C. A alta temperatura e a atmosfera inerte do argônio no plasma minimizam as interferências não espectrais, melhorando a sensibilidade, precisão e a exatidão da técnica [14].

2.7 Avaliação da atividade microbiológica

2.7.1 Microorganismos utilizados

Foram utilizadas cepas padrão (ATCC) de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacicus*), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia*

coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) e isolado clínico de leveduras do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*).

2.7.2 Preparo das suspensões microbianas

Os microrganismos foram inicialmente reativados a partir das suas culturas originais e mantidos em meio líquido BHI (*Brain Heart Infusion*) a 37°C por 24h. Posteriormente as amostras foram cultivadas em placas de Ágar Nutriente a 37°C por 18-24h. Colônias isoladas foram então ressuspensas em 5mL de solução fisiológica (NaCl 0,89%) estéril até atingir uma turbidez equivalente na escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bact/mL) [15].

2.7.3 Teste de difusão em meio sólido

O potencial antimicrobiano do extrato hidroalcoólico foi inicialmente avaliado pela técnica da difusão em meio *Muller Hinton* por disco-difusão [16]. Os discos foram embebidos com os extratos brutos e colocados na placa de meio de cultura inoculado com 100 mL das suspensões bacterianas. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após incubação, foi medido o diâmetro do halo de inibição do crescimento quando presente.

2.7.4 Técnica de diluição em ágar

Foram realizadas concentrações finais dos extratos hidroalcoólicos a partir do estoque a 50%, 25%, 15%. Estas foram individualmente diluídas em meio de cultura ágar *Muller-Hinton* (Merck) [15]. O inóculo foi preparado através de suspensão direta de colônias com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland em 5,0 ml de solução salina a 0,85%. 1 µl de cada inóculo foi distribuído na superfície do ágar, sendo que a concentração final do inóculo foi de aproximadamente 10^4 UFC. Uma placa contendo somente meio de cultura e os inóculos bacterianos foi utilizada como controle. Todas as placas foram incubadas a 35° C por 20h. A CIM foi determinada a partir da placa em que não houve crescimento bacteriano.

2.7.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada pela técnica de diluição em caldo em microplacas testando-se os extratos vegetais em diluições seriadas [17]. A CIM foi considerada como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano na placa, detectada pela ausência de turbidez [18].

2.8 Citotoxicidade

2.8.1 Pesquisa da atividade hemolítica

Foi utilizado o método descrito por Badi et al. [19], com algumas modificações. Alíquotas de 100µL dos extratos brutos foram diluídas na razão 2, em PBS com ph 7,4 em microplacas de 96 wells. Uma alíquota de 100 µL de suspensão a 1% de hemácias de carneiro, previamente lavadas três vezes em PBS com ph 7,4, foi adicionada a cada orifício contendo os extratos e depois incubado em banho de água a 37°C por uma hora para posterior análise visual.

2.8.2 Teste de citotoxicidade em linhagens tumorais e não tumorais

As placas de cultura de linhagem de célula Vero (rim de macaco verde africano), HUVEC (célula endotelial humana), HEp-2 (carcinoma epidermóide de laringe) e HeLa (carcinoma uterino) foram utilizadas para detecção de atividade citotóxica nos extratos brutos. Alíquotas de 100µL dos extratos foram adicionadas em duplicata, em diluições seriadas na razão dois. As placas foram incubadas em estufa a 37° C em atmosfera de 5% de CO₂ e a leitura dos resultados será feita em 18h, 24h e 72h após a incubação, com auxílio de um microscópio invertido (Axiovert – Zeiss). Foi utilizado como controle positivo (*Eschericia coli* P46 com morte celular pela ação de hemolisina e MR 48 com necrose celular), controle de células e dos sobrenadantes dos meios de cultura utilizados. A viabilidade celular será realizado segundo a metodologia descrita por Borenfreund et al., [20].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Prospecção fitoquímica

Os resultados obtidos na prospecção fitoquímica realizada nas folhas de *H. drasticus* são mostrados no quadro 1.

Quadro 1- Resultados da prospecção fitoquímica das amostras de Himatanthus drasticus [10]. São Luís (MA), 2012.

TESTE	METABÓLITO	RESULTADO
Teste com cloreto férrico (Fenóis e taninos)	Taninos hidrolisáveis	-
	Taninos condensáveis	+++
Teste de mudanças de pH (pH 3; 8,5 e 11) (Antocianinas, antocianidinas e flavonoides)	Flavonas, flavonóis e xantonas	+++
	Flavanonóis	+++
Teste de mudanças de pH (pH 3; 8,5 e 11) (Leucoantocianidinas, catequinas e flavononas)	Leucocianidinas	-
	Catequinas	-
	Flavononas	-
Teste de Libermann-Buchard (Esteróides e triterpenóides)	Esteróides livres	++
	Triterpenóides	+
Teste de Espuma (Saponinas)	Heterósides saponínicos	+++
Teste do Resíduo (Resinas)	Resinas	+
Teste com Dragendorff, Mayer e Hager (Alcaloides)	Alcaloides	++
Teste de Fluorescência (Cumarinas)	Cumarinas	+

Nota: +++ fortemente positivo, ++ moderadamente positivo, + positivo, - ausente.

As análises fitoquímicas fornecem informações relevantes à cerca da presença de metabólitos secundários nas plantas, para que assim possa chegar ao isolamento de princípios ativos importantes na produção de novos fitoterápicos.

A triagem fitoquímica mostrou ausência de taninos hidrolisáveis, leucocianidinas, catequinas e flavonas e presença de taninos condensáveis, flavonas, flavonóis, flavanonóis esteroides livres, triterpenóides, saponinas resinas alcaloides e cumarinas, coincidindo em parte com o estudo feito por Lima [21], o qual detectou a presença de compostos nitrogenados, glicosídeos e fenólicos pertencentes às classes de alcaloides, saponinas, taninos, flavonoides, triterpenos, esteroides e cumarinas. Análises realizadas por Silva et al. [22] em amostras de casca e folhas, da mesma espécie (*H. drasticus*) oriunda do cerrado caxiense, revelaram a presença de alcaloides, flavonoides, esteroides, terpenos, taninos e saponinas. Ainda no mesmo ano, Sousa et al. [23] identificaram taninos, flavonoides e terpenos no extrato metanólico obtido a partir das folhas e látex de *H. drasticus*, corroborando assim com os resultados encontrados neste estudo.

Os taninos, fortemente positivos nesse estudo, são polifenóis geralmente divididos em dois tipos: hidrolisáveis e condensados [10]. Os taninos condensados (protoantocianidinas) são polímeros de 2 a 50 (ou até mais) unidades flavonoides ligadas por ligações carbono-carbono, as quais não são susceptíveis de serem rompidas por hidrólise. Apesar de muitos serem hidrossolúveis, alguns de grande dimensão são insolúveis na água. Devido às suas características (complexação com íons metálicos, atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres, complexação com macromoléculas) têm aplicações farmacológicas como antídotos em intoxicações por metais pesados e alcaloides, adstringentes, cicatrizantes, hemostáticos, protetores e reepitelizantes, antidiarreicos, antissépticos e antioxidantes [24].

Resultado fortemente positivo também foi encontrado para flavonoides. Das folhas de *H. drasticus* foi isolado o flavonoide rutina [25]. Os flavonoides constituem uma a estrutura química C6-C3-C6. São separados em diversas classes: chalconas, flavonóis, flavonas, dihidroflavonóides (flavanonas e flavanonóis, antocianidinas, isoflavonóides, entre outros). Possuem ainda ação anti-inflamatória, hormonal, anti-hemorrágica, antialérgica e anticâncer. São ainda responsáveis pelo aumento da resistência capilar e também denominados de fator P, auxiliando na absorção da vitamina C. Entretanto, o efeito mais importante é a propriedade antioxidante [23].

As saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura, que possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificante. Estudos comprovam a ação das saponinas nas atividades anti-inflamatórias, anti-helmínticas e antivirais [23].

A presença de alcaloides foi observada de maneira significativa, pois houve a formação de precipitados. Porém, os resultados tornaram-se positivos após 12h.

Muitas vezes a mesma espécie botânica ocorre em diferentes regiões e sua composição química também pode apresentar diferenças. As discrepâncias nos resultados das comparações qualitativas e até quantitativas dos metabólitos deve-se a aspectos relacionados o solo, clima, coleta de material, temperatura, reagentes químicos, dentre outros [10].

As reações para pesquisa de esteroides e triterpenos também apresentaram resultados interessantes, com reações positivas para esteroides. Isso nos leva a pensar na utilização popular da espécie contra a infertilidade feminina. Por isso, sugere-se que estudos farmacológicos sejam realizados para verificação desta atividade.

3.2 Caracterização dos elementos químicos metálicos por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)

A análise do EBHJ pela técnica ICP-OES, utilizada para determinar a presença de metais, revelou uma alta concentração de micronutrientes conforme dados na figura 1, tabela 1 e 2.

Em relação aos micronutrientes o ferro ganhou destaque, seguido dos metais manganês e boro. Dentre os doze metais analisados no ENHJ, o cobalto apresentou emissão mais baixa. Em relação ao tempo de digestão da amostra não ocorreram diferenças significantes em relação a 01h30min e 2h, para o cálcio e ferro, entretanto cobre, que

apresentou resultado menor em 01h30min.

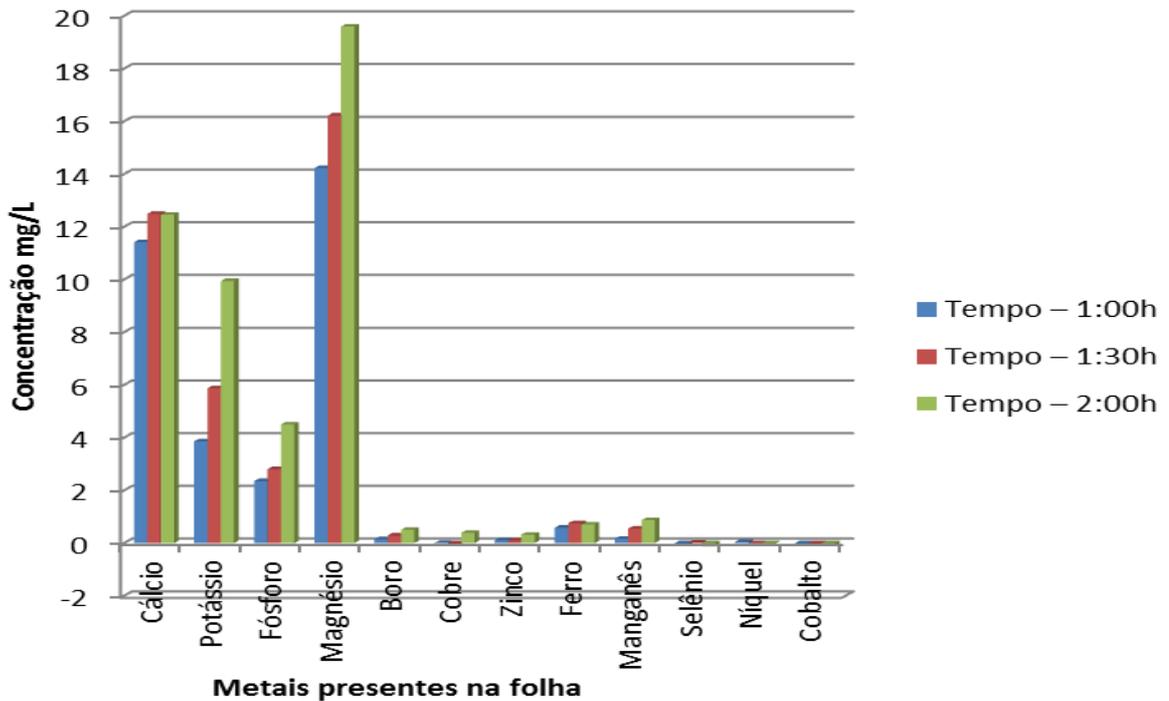


Figura 1 - Análise de metais por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

Tabela 1 – Valores percentuais da concentração de metais determinados por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

Metais	Resultados em %		
	1h	1:30h	2h
Cálcio	34,86	32,04	25,40
Potássio	11,79	15,07	20,28
Fósforo	7,20	7,19	9,18
Magnésio	43,46	41,61	39,95
Boro	0,45	0,74	1,04
Cobre	0,02	-0,08	0,79

Zinco	0,34	0,25	0,65
Ferro	1,79	1,94	1,45
Manganês	0,51	1,42	1,78
Selênio	-0,28	0,05	-0,27
Níquel	0,15	-0,03	-0,05
Cobalto	-0,28	-0,22	-0,20

Tabela 2 – Concentração de metais determinados por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no extrato hidroalcoólico das folhas de Himatanthus drasticus. São Luís (MA), 2012.

Metais	Concentração (mg/L)		
	Tempo – 1:00h	Tempo – 1:30h	Tempo – 2:00h
Cálcio	11,41334	12,4895	12,45758
Potássio	3,859972	5,875326	9,945825
Fósforo	2,356804	2,804275	4,500522
Magnésio	14,22791	16,21824	19,59274
Boro	0,14596	0,289776	0,508059
Cobre	0,006773	-0,02927	0,385637
Zinco	0,110296	0,099275	0,320561
Ferro	0,585539	0,756003	0,709872
Manganês	0,168084	0,552333	0,872128
Selênio	-0,0927	0,020643	-0,13267
Níquel	0,048744	-0,01172	-0,02363
Cobalto	-0,09014	-0,0846	-0,09608

As plantas são ricas em metais que podem ser benéficos ou não para a saúde. Estão presentes no tecido das plantas fazendo parte da composição mineral ou serem inseridos na cadeia alimentar por contaminação dos solos e águas pelo uso de fertilizantes, pesticidas, combustão de carvão e óleo, emissões veiculares, mineração, fundição, refinamento e incineração de resíduos urbanos e industriais [26, 27].

Alguns metais estão presentes em baixas concentrações como Cu, Fe, Ni e Zn, e são avaliados nutricionalmente como essenciais para a saúde humana. Estes elementos em

concentrações geralmente abaixo de 100mg/dia, são considerados como micronutrientes. Entretanto, podem ser tóxicos a altas concentrações no corpo humano. Alguns elementos, como Na, Ca, Mg e K, são macronutrientes que são indispensáveis em altas concentrações (aproximadamente 100000µg/dia dependendo do metal) [28].

3.3 Perfil cromatográfico

Através do resultado obtido (Apêndice 8), foi possível confirmar a fitoquímica apresentada no quadro 1, para os metabólitos secundários presentes em *H. drasticus*. Por cromatografia, foi revelada a presença de compostos com médio grau de polaridade em função do solvente orgânico testado (acetato de etila e metanol), possivelmente devido à maioria dos compostos identificados, neste estudo, apresentarem média e alta polaridade. Segundo Lima [21] os compostos da classe dos esteroides e triterpenóides, detectados nesse estudo podem ser classificados como de baixa a média polaridade. Taninos, cumarinas e heterosídeos flavônicos apresentaram reação de média para alta polaridade, enquanto as saponinas são de polaridade relativa alta. Silva et al. [22] realizou análise de Cromatografia de Camada Delgada, em folhas de *H. obouvatus*, pertencente a mesma família Apocynacea, tendo registrado a presença de metabólitos secundários para as classes de alcaloides, flavonoides, terpenos, esteroides, taninos e saponinas nas folhas.

3.4 Atividade antioxidante

O extrato hidroalcoólico das folhas de *H. drasticus* apresentou significativa atividade antioxidante com CE₅₀ de 31,62 µg/mL representado na tabela 3 e figura 3. O radical DPPH é estável, porém na presença de substâncias antioxidantes o mesmo sofre redução. De acordo com os dados obtidos em testes realizados sobre a atividade antioxidante *in vitro* com extrato bruto hidroalcoólico de *H. drasticus*, foi possível observar que em todas as concentrações empregadas houve atividade antioxidante.

Tabela 3 - Dados para elaboração da curva analítica com DPPH na presença do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

Concentrações da amostra	5	10	25	50	100
Média das absorbâncias	1,016333	0,921333	0,760333	0,470333	0,050333
% Inibição	17,7058	21,05113	37,83047	61,82359	95,65718

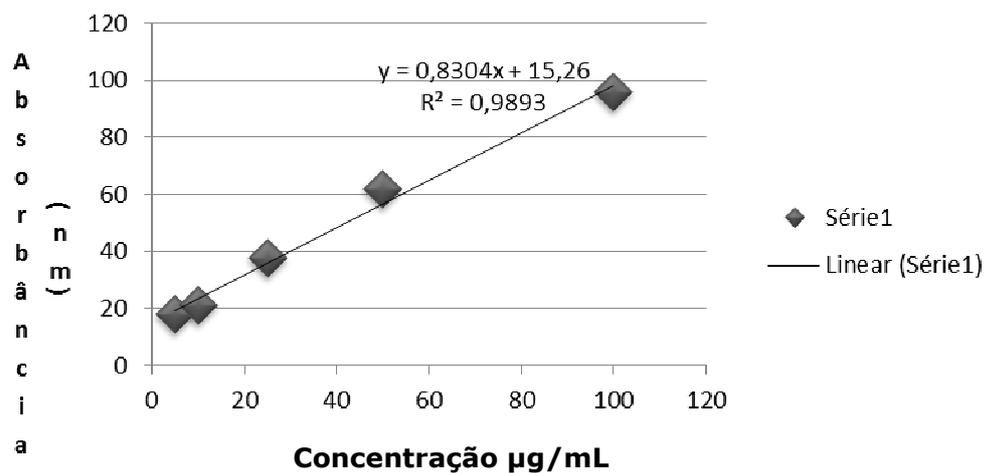


Figura 3 – Curva analítica obtida a partir de diluições seriadas com o padrão DPPH, CE 31,62 µg/mL para avaliação da atividade antioxidante de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

Muitos processos bioquímicos geram substâncias que são denominadas radicais livres como superóxidos (O_2^-) e hidroxilas (HO^-) que podem induzir danos oxidativos a proteínas e DNA, acelerando o envelhecimento, favorecendo o aparecimento de câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas [29,30].

Um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devidos à oxidação (como rancificação e formação de *off-flavors* em alimentos) [31]. Os compostos fenólicos como flavonóides, taninos e outras substâncias são substâncias amplamente distribuídas na Natureza e fazem parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e

produtos industrializados. Agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios [32].

Estudos realizados com os compostos fenólicos demonstram sua capacidade antioxidante, assim como seu possível efeito na prevenção de diversas enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas [33, 34, 35]. De maneira geral, a ação benéfica dos compostos fenólicos na saúde humana vem sendo relacionada com a sua atividade anti-inflamatória e com a atividade que impede, não só a aglomeração das plaquetas sanguíneas, mas também a ação de radicais livres no organismo, uma vez que protegem moléculas como o DNA, podem vir a abortar alguns processos carcinogênicos [36].

3.5 Atividade microbiológica e citotóxica

No teste *in vitro* foi observada a inibição de crescimento das cepas testadas com extrato hidroalcoólico das folhas de *H. drasticus* (Tabela 4, 5). Estes resultados concordam com trabalhos que demonstram os efeitos antimicrobianos de extratos na espécie *H. sucuuba* [37].

Tabela 4 - Concentração Inibitória Mínima *in vitro* do extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus* (0,0123g/mL) pelo método de diluição em ágar. São Luís (MA), 2013.

MICROORGANISMO	FOLHAS
1- <i>P. aeruginosa</i> 27883	15%
2- <i>E.coli</i> 042	15%
3- <i>K. pneumoniae</i> 700603	15%
4- <i>P. mirabilis</i> 7001	15%
5- <i>S. aureus</i> 25923	15%
6- <i>S. agalacicus</i> 13813	15%
7- <i>C.parapsilosis</i>	15%
8- <i>C.glabrata</i>	15%
9- <i>C. tropicalis</i>	15%
10- <i>C. albicans</i>	15%

Tabela 5 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) *in vitro* do extrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus* no teste de microdiluição. São Luís (MA), 2013.

Microrganismo	Extrato^a g/mL	Título	CN^b
<i>P. aeruginosa</i> 27883	0,0015g	1:8	0
<i>E.coli</i> 042	0,0015g	1:8	0
<i>K. pneumoniae</i> 700603	0,0015g	1:8	0
<i>P. mirabilis</i> 7001	0,0015g	1:8	0
<i>S. aureus</i> 25923	0,0007g	1:16	0
<i>S. agalacicus</i> 13813	0,0007g	1:16	0
<i>C.parapsilosis</i>	0,0007g	1:16	0
<i>C.glabrata</i>	0,0007g	1:16	0
<i>C. tropicalis</i>	0,0007g	1:16	0
<i>C.albicans</i>	0,0007g	1:16	0

^aExtrato hidroalcoólico das folhas de *Himatanthus drasticus* – 0,0123 g/mL)

^b Controle negativo = solvente

Os alcaloides indólicos dos representantes do gênero apresentam diversas atividades farmacológicas, entre elas antimicrobiana [37, 38] e podem ser apontado como possíveis responsáveis para atividade antimicrobiana no estudo.

O extrato hidroalcoólico das folhas não causou lise nas hemácias de carneiro (ou seja, não rompeu a membrana nem formou poro na mesma) e também não apresentou atividade citotóxica em nenhuma linhagem avaliada, sugerindo que seu consumo seja seguro na espécie humana.

4. CONCLUSÃO

Nesse estudo, as folhas de janaúba classificada botanicamente como *H. drasticus* (Mart.) Plumel apresentou atividade antioxidante. Na triagem fitoquímica, diversos grupos de metabólitos secundários (fenóis, taninos, alcaloides, esteroides e triterpenóides, cumarinas e heterosídeos flavônicos) de interesse farmacológico foram encontrados, além da presença de micronutrientes como potássio, cálcio e magnésio. Em relação a atividade microbiológica todas as cepas restadas tiveram o crescimento inibido. Entretanto novos estudos devem ser realizados, para melhor conhecimento científico da espécie *H. drasticus*.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UFMA, UniCEUMA e Instituto Florence pelo apoio.

REFERÊNCIAS

1. MAIGA, A. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 6, p. 2316-2321, 2005.
2. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Biomas brasileiros, 2012. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/sobre/meio-ambiente/geografia/biomas-brasileiros>. Acesso em: 02/08/2012.
3. BEZERRA, F.D.; CARVALHO, J.S., BARRETO, A.F.; ROCHA, A.M.M.R. Indicadores Socioeconômicos do Nordeste Análise Comparativa Regional, 2011. Disponível em: http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/ analis_e_comparativa_2011.pdf. Acesso em: 12/07/2012.
4. MELO, A. Plantas medicinais: Memória da ciência no Brasil, 2012. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm>. Acesso em: 10/07/2012.
5. VILLAS BOAS, G.K.; GADELHA, C.A.G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 6, 2007.
6. BÔAS, G.K.V.; GADELHA, C.A.G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csp/v23n6/20.pdf>. Acesso em: 09/08/2012.
7. LINHARES J.F.P.; PINHEIRO, C.U.B; MING, L.C.; RODRIGUES, M.I.A; FERREIRA, A.B. Ambientes de Ocorrência e Flora Acompanhante do Gênero *Himatanthus* em Alcântara, Maranhão, Brasil. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.13, especial, p.550-558, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>. Acesso em: 19/08/2012.
8. AMARO, S.; FILHO, S.M.; GUIMARÃES, R.M.; TEÓFILO, E.M. Morfologia de frutos, sementes e de plântulas de janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. – Apocynaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 28, nº 1, p.63-71, 2006.

9. DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. Plantas Medicinaias na Amazônia e na Mata Atlântica. São Paulo. Ed. UNESP, 2002. Disponível em: <http://permacoletivo.files.wordpress.com/2008/05/medicinaias-da-amazonia-e-mata-atlantica.pdf>. Acesso em: 10/08/2012.
10. MATOS, F.J.A. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza: EUFC, 148 p., 3ª Ed, 2009.
11. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERST, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens Wissen Technol*, n. 28, p. 25-30, 1995.
12. COLLINS, C.; BRAGA, G.; BONATO, P. Introdução aos métodos cromatográficos. 7ed. Campinas: ed. Unicamp, 279 p., 1997.
13. MATUSIEWICZ, H. Wet digestion methods. In: MESTER, Z.; STURGEON, R. Comprehensive Analytical Chemistry. Vol XLI, *Elsevier*, Amisterdam, 2003
14. MORAES, D.P.; MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; PANIZ, J.N.G; DRESSLER, V.L.; KAPP, G.; FLORES, E.M.M. Application of microwave induced combustion in closed vessels for carbon balck-containing elastomesrs decomposition. *Spectrochim Acta Part B62*, 2007.
15. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
16. CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: *Antibiotics in Laboratory Medicine*, ed. 3, edited by V. LORIAN, Willians & Wilkins, Baltimore, ch. 21. 1991.
17. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007.
18. KOO, H.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A. Effect of a new variety of *Apis mellifera* propolis on mutans streptococci. *Curr Microbiol*, v.41, n.3, p.192-196, 2000.
19. BALDI, G.; BELLOTTI, R.; GHIONNA, V.; JAMIOLKOWSKI, M.; PASQUALINI, E. Interpretations of CPT's and CPTU's, 2nd part: Drained penetration of sands. 4th International conference on field instrumentation and in-situ measurements, Singapore, 143-156, 1986.
20. BORENFREUND, E.; BABICH, H.; MARTIN-ALGUACIL, N. Comparisons of two in vitro cytotoxic assays: the neutral red (NR) and tetrazolium MTT tests. *Toxic in vitro* 2: 1-6, 1988.

21. LIMA, F.C. Janaúba (*Himatanthus willd. Ex. Schult.*) - Apocynaceae no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos. Tese de doutorado, Jaboticabal – São Paulo – Brasil, Dezembro, 2011. Disponível em: <http://www.acervodigital.unesp.br/handle/123456789/46578>. Acesso em: 21/08/2012.
22. SILVA, N.L.A.; MIRANDA, F.A.A; CONCEIÇÃO, G.M. Triagem fitoquímica de plantas do Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. *Scientia Plena*, Itabaiana, Sergipe, v. 6, n. 2, p. 1-17, 2010.
23. SIMÕES, C. M. de O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROCICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Edirota da UFSC, 1999 821p.
24. MORAGAS, C. J. Estudo do gênero *Himatanthus*: anatomia vegetal, fitoquímica, farmacologia e biotransformação. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.
25. ERNST, E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 23, p. 136-139, 2002.
26. HAN, W. Y. Arsenic, cadmium, chromium, cobalt, and copper in different types of Chinese tea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 75, p. 272-277, 2005.
27. GONZÁLVEZ, A. Elemental composition of seasoning products. *Talanta*, v. 74, p. 1085-1095, 2008.
28. STADTMAN, E.R. Protein oxidation and aging. *Science*, 1992, 257:1220-4.
29. SUN, Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med.*, 1990, 8:583-99.
30. SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010
31. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
32. HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, New York, v. 52, n. 6, p. 481- 504, 2000.
33. SÁNCHEZ-MORENO, C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science Technology International*, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

34. SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; ANCOS, B.; CANO, M. P. Nutritional characterisation of commercial traditional pasteurised tomato juices: carotenoids, vitamin C and radical-scavenging capacity. *Food Chemistry*, London, v. 98, p. 749-756, 2006.
35. SOUSA, E.L.; GRANJEIRO, A.R.S.; BASTOS, I.V.G.A.; RODRIGUES, G.C.R.; SILVA M.J.; ANJOS, F.B.R.; SOUZA, I.A.; DE SOUSA, C.E.L. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (janaguba) in the treatment of sarcoma 180 tumor. *Brazilian Journal Pharmaceutical Science*, São Paulo, v. 46, n. 2, p.199-2003, 2010.
36. SILVA, J.R.A.; REZENDE, C.M.; PINTO, A.C.; PINHEIRO, M.L.B.; CORDEIR, M.C., TAMBORINI, E.; YOUNG, C.M.; BOLZANI, V.D. Ésteres triterpênicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. *Quim Nova* 21: 702-704. 1998.
37. NETO, C.C.; OWENS, C.W.; LANGFIELD, R.D.; COMEAU, A.B.; ONGE, J.S.; VAISBER, A.J.; HAMMOND, G.B. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. *J Ethnopharmacol* 79: 133-138. 2002.
38. MOREL, A.F.; GRAEBNER, I.B.; PORTO, C. Study on the antimicrobial activity of *Himatanthus sucuuba*. *Fitoterapia* 77: 50-53. 2006.

ARTIGO 2 – *Journal of Ethnopharmacology*. Área: química (Qualis B1, 2012).

Bioprospecção das cascas e látex da espécie vegetal *Himatanthus drasticus* (Janaúba)

Gizelli Santos Lourenço Coutinho^{a,*}, Marilene Oliveira da Rocha Borges^b;
Antônio Carlos Romão Borges^b; Patrícia de Maria Silva Figueiredo^c;
Marisa Cristina Aranha^d; Roberto Sigfrido Gallegos Olea^{a,e}

^a Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente (Mestrado), UFMA, São Luís (MA), Brasil

^b Laboratório de Farmacologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, UFMA, São Luís (MA), Brasil

^c Laboratório de Microbiologia, Departamento de Microbiologia, UniCEUMA, São Luís (MA), Brasil

^d Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, UFMA, São Luís (MA), Brasil

^e Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Química, UFMA, São Luís (MA), Brasil

Resumo

Himatanthus drasticus (janaúba) é uma árvore com casca rugosa que exsuda um látex branco bastante utilizado na medicina popular no tratamento de tumores, verminoses, gastrites, artrites, infertilidade e também contra o câncer. Portanto, este trabalho tem como objetivo fazer um levantamento etnofarmacológico da utilização tradicional pela população maranhense, determinar a composição fitoquímica e de metais, além de avaliar a atividade antioxidante e microbiológica do extrato hidroalcoólico das cascas e látex da espécie vegetal *Himatanthus drasticus*. Realizaram-se testes qualitativos para detecção de metabólitos secundários e, a detecção de minerais foi realizada por absorção atômica (técnica ICP-OES). Em relação à atividade antioxidante utilizou-se o método *in vitro* com DPPH e para a atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão (ATCC) de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacticus*), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) e leveduras do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) através de testes em difusão no meio sólido e difusão em ágar, determinando-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Em relação ao uso

popular no Maranhão é indicada para: inflamação, inflamação do útero, gastrite, úlceras, depurativo do sangue, próstata, câncer, fortificante e contra infertilidade. Nas cascas, encontraram-se resultados fortemente positivo para antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Tanto na casca quanto no látex foram detectados a presença de esteroides e triterpenóides. Foi encontrado na casca um percentual bastante acentuado para cálcio, potássio e magnésio e no látex se observou maior percentual de cálcio, magnésio. O extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus* apresentou significativa atividade antioxidante com $CE_{50\%}$ 27,8848 $\mu\text{g/mL}$. No teste *in vitro* foi observada a inibição de crescimento das cepas testadas com extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus*, porém o látex não apresentou atividade. Apenas o látex causou morte celular no título 1:16 na célula de carcinoma de laringe (HEP-2) e 1:8 na célula de carcinoma uterino (Hela). Por isso, novos estudos devem ser realizados para melhor conhecimento científico da espécie *H. drasticus*.

Palavras chave: *Himatanthus drasticus*; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana, perfil fitoquímico; detecção de minerais.

* Gizelli Santos Lourenço Coutinho: Rua Rio Branco, n. 216 – Centro. CEP 6504-270. São Luís, MA.
Telefone: (98) 3878-2120
E-mail: gizellisantos@hotmail.com

1. Introdução

A natureza tem sido provedora do homem desde o início dos tempos. Dela a humanidade tem se servido para suprir as necessidades básicas de alimentação, vestimenta, abrigo e transporte (Lima, 2008).

Desde a declaração de Alma-ata, em 1978, a organização mundial da saúde (OMS) tem expressado a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário, tendo em conta que 80% da população mundial utilizam essas plantas ou preparações destas no que se refere à atenção primária de saúde (Akerlele, 1993; Lorenzi & Matos, 2002).

Entre as principais espécies empregadas são observados com grande destaque relatos sobre a aplicabilidade do látex e cascas das espécies do gênero *Himatanthus* pertencente à família Apocynaceae (Modesto, 1997).

Botanicamente, *Himatanthus drasticus* (*H. drasticus*) é uma árvore latescente, apresentando folhas pecioladas, glabras, carnosas e muito grandes. Suas flores são campanuladas, grandes, brancas, dispostas em cimas terminais. Seus frutos são curvados como chifres e possuem numerosas sementes aladas, disseminadas pelo vento (Matos, 2009).

A casca é rugosa e exsuda um látex branco bastante utilizado na medicina popular, principalmente pelos habitantes da região de ocorrência (Plumel, 1991). O látex é usado no tratamento de tumores, verminoses, gastrites, artrites, infertilidade e também contra o câncer (Sousa, 2012).

Espécies do gênero *Himatanthus* são fontes de compostos com atividade farmacológica e observa-se a potencialidade dessas espécies com conseqüente necessidade de estudos voltados para uma melhor descrição química e biológica. Por isso, o presente trabalho visa contribuir com o uso racional deste vegetal pela população e proporcionar futuros estudos científicos desta planta como fitoterápico, buscando maiores conhecimentos sobre a etnofarmacologia, composição química, atividade antioxidante e microbiológica das cascas e látex de *H. drasticus*.

2. Material e métodos

2.1 Estudo etnofarmacológico

2.1.1 Delineamento do estudo e instrumento de coleta de dados

Foi realizado um estudo do tipo observacional, descritivo, transversal e analítico de base populacional com uma amostra dos vendedores de leite de Janaúba em pontos de venda de produtos naturais, no município de São Luís (MA), entre os meses de fevereiro e março de 2012.

Para coleta de dados se aplicou um questionário semiestruturado elaborado pelos autores que visou analisar as variáveis como: aspectos socioeconômicos (idade, sexo, procedência), experiência do entrevistado com produtos naturais e dados sobre o uso tradicional (indicação, parte utilizada, forma de preparo e via de administração) (Apêndice 6,7).

2.1.2 População e amostra do estudo

A população em estudo foi composta por todos os indivíduos que possuíam bancas de produtos naturais nas feiras do estudo e que continham leite e/ou casca de janaúba entre esses produtos. A feira do João Paulo possui 04 pontos de vendas de produtos naturais; a do Reviver 04 pontos e o Mercado Central 08 pontos de venda de produtos naturais que atendiam os critérios da pesquisa.

Os critérios de inclusão foram:

- a) Ser maior de 18 anos;
- b) Concordar em participar da pesquisa, mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE);
- c) Possuir, no ato da entrevista, condições cognitivas para responder o questionário;
- d) Possuir, leite e/ou casca de Janaúba como produto (s) de venda.

Os critérios para exclusão foram:

- a) Não estar presente no estabelecimento no horário da entrevista;
- b) Se negar a participar da pesquisa.

2.1.3 Análise dos dados

Todos os dados foram organizados em um banco de dados criados no programa *Microsoft Excel*[®], versão 2010, expressos na forma de porcentagem e analisados de forma descritiva por meio de tabelas.

2.1.4 Aspectos éticos

O estudo foi submetido à apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa do UniCEUMA e se iniciou após aprovação com número de parecer 104/11 em 04 de março de 2011, conforme as diretrizes descritas na Resolução de nº 196/96.

2.2 Coleta da espécie vegetal

As cascas e o látex da espécie vegetal *H. drasticus* foram coletados em um sítio localizado na zona rural (Timbuba), às 7h, em janeiro de 2013, no município de São José de Ribamar – MA. Uma exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário Rosa Mochel da Universidade Federal do Maranhão sob o número 3872.

Para coleta do látex se cortou a casca do caule e se retirou o látex com uma espátula de inox. Após coleta, o látex foi armazenado em uma caixa de isopor com gelo e mantido, sob refrigeração, até a realização dos testes.

2.3 Preparo do extrato hidroalcoólico das cascas de *Himatanthus drasticus*

O material vegetal foi moído e pesado obtendo-se 125,58 g do material seco em pó, em seguida foi submetido à maceração com álcool a 70%, por 03 dias com

agitação ocasional, filtrado a vácuo e concentrado em evaporador rotativo para obtenção do extrato hidroalcoólico de *H. drasticus* com rendimento de 31,85%. Esse procedimento foi repetido por 03 vezes.

2.4 Prospecção dos constituintes fitoquímicos do extrato hidroalcoólico das cascas e látex de *Himatanthus drasticus*

O extrato hidroalcoólico das cascas e o látex foram submetidos a testes fitoquímicos qualitativos com a finalidade de detectar a presença de classes de metabólitos secundários segundo a metodologia de Matos (2009).

2.5 Análises cromatográficas através da cromatografia de camada delgada analítica (CCDA)

A metodologia consistiu em aplicar 5 µL do extrato hidroalcoólico em uma placa de vidro contendo uma fina camada de sílica gel 60 GF_{254 + 366} onde a amostra foi colocada acerca de um centímetro da base da placa (Neto et al., 2003).

Após a evaporação do solvente, as placas foram colocadas em contato com as fases móveis que continham acetato de etila e metanol (AcOEt:MeOH) 5:5 em uma cuba cromatográfica (Apêndices 9, 10). A cromatografia se desenvolveu com a fase móvel migrando através da fase estacionária por ação da capilaridade obtendo-se assim um cromatograma do extrato hidroalcoólico das cascas e látex de janaúba.

As placas cromatográficas foram visualizadas em lâmpada UV (254 e 366nm) e reveladas com iodo resublimado (Colins, 1997).

2.6 Determinação de metais e minerais das cascas e látex de *Himatanthus drasticus* (ICP-OES)

2.6.1 Digestão da amostra

A digestão empregada foi a sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghof é uma metodologia atualmente bem estabelecida

para o tratamento de amostras visando à determinação de metais. Esta técnica de digestão, assim como os procedimentos convencionais, requer, na grande maioria dos casos, o uso de ácidos concentrados. Na determinação de metais em amostras sólidas, os processos de digestão ácida são comumente empregados a fim de converter o analito em uma forma adequada, solúvel para a medida (Matusiewicz, 2003). Este procedimento pode ser realizado em frascos fechados (sob pressão) ou abertos, dependendo da natureza da matriz da amostra e das concentrações de analito esperadas.

Em uma balança analítica pesou-se 0,25 g da casca e látex de *H. drasticus*, acrescentou 3 mL de HNO₃ e colocou no sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghof (bomba de digestão). Logo em seguida colocou-se a mesma em uma estufa a uma temperatura de 180°C a 200°C por um período de 01h00min, 01h30min e 02h00min, para que ocorresse a digestão. Após esse período a amostra foi armazenada em um balão volumétrico de 25 mL e acrescentou-se água deionizada para preparo da solução.

2.6.2 Caracterização dos compostos químicos por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)

As análises para identificação de metais foram realizadas na Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), no Laboratório de Solo, utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo Vista-pró, simultâneo e com configuração axial (Varian 720-ES).

A técnica de ICP-OES utiliza o plasma como fonte de excitação, sendo que este é formado pela ionização parcial de um gás, geralmente o argônio, em um campo magnético oscilante produzido e mantido por uma fonte de radiofrequência. Este estado parcial de ionização, induzido pelo campo magnético, ocasiona um aquecimento ôhmico proporcionando temperaturas de até 1000°C. A alta temperatura e a atmosfera inerte do argônio no plasma minimizam as interferências não espectrais, melhorando a sensibilidade, precisão e a exatidão da técnica (Moraes et al., 2007).

2.7 Avaliação da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das cascas e látex de *Himatanthus drasticus*

A atividade antioxidante das cascas e látex de *H. drausticus* (janaúba) foi avaliada pelo método fotolorimétrico *in vitro* utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, Sigma), adaptado de Brand-Willians et al.(1995). As amostras foram diluídas em diferentes concentrações em etanol PA (5 a 100 µg/mL), em seguida adicionou a solução metanólica de DPPH (40 µg/mL). Após 30 min de reação em temperatura ambiente ao abrigo da luz, a absorbância de cada solução foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (Lambda 35, *PerkinElmer*) a 517 nm.

A percentagem de inibição foi obtida com a seguinte equação: Atividade antioxidante (%) = $[(A_{DPPH} - A_{amostra}) / A_{DPPH}] \times 100$. Onde A_{DPPH} é a absorbância do DPPH (controle negativo) e $A_{amostra}$ é a absorbância do radical na presença dos extratos ou dos padrões.

A atividade antioxidante das amostras foi expressa como CE₅₀ (concentração efetiva 50%), ou seja, concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais DPPH.

2.8 Avaliação da atividade microbiológica

2.8.1 Microorganismos utilizados

Foram utilizadas cepas padrão (ATCC) de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacicus*), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) e isolado clinico de leveduras do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C.glabrata*).

2.8.2 Preparo das suspensões microbianas

Os microrganismos foram inicialmente reativados a partir das suas culturas originais e mantidos em meio líquido BHI (*Brain Heart Infusion*) a 370°C por

24h. Posteriormente as amostras foram cultivadas em placas de Ágar Nutriente a 37°C por 18-24h. Colônias isoladas foram então ressuspensas em 5mL de solução fisiológica (NaCl 0,89%) estéril até atingir uma turbidez equivalente na escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bact/mL) (CLSI, 2005).

2.8.3 Teste de difusão em meio sólido

O potencial antimicrobiano do extrato hidroalcoólico da casca e látex foram inicialmente avaliados pela técnica da difusão em meio *Muller Hinton* por disco-difusão (CLEELAND; SQUIRES, 1991). Os discos foram embebidos com os extratos brutos e colocados na placa de meio de cultura inoculado com 100 mL das suspensões bacterianas. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após incubação, foi medido o diâmetro do halo de inibição do crescimento quando presente.

2.8.4 Técnica de diluição em ágar

Foram realizadas concentrações finais dos extratos hidroalcoólicos da casca e látex a partir do estoque a 50%, 25%, 15%. Estas foram individualmente diluídas em meio de cultura ágar *Muller-Hinton* (Merck) (CLSI, 2005). O inóculo foi preparado através de suspensão direta de colônias com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland em 5,0 ml de solução salina a 0,85%. 1 µl de cada inóculo foi distribuído na superfície do ágar, sendo que a concentração final do inóculo foi de aproximadamente 10^4 UFC. Uma placa contendo somente meio de cultura e os inóculos bacterianos foi utilizada como controle. Todas as placas foram incubadas a 35° C por 20h. A CIM foi determinada a partir da placa em que não houve crescimento bacteriano.

2.8.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada pela técnica de diluição em caldo em microplacas testando-se os extratos vegetais em diluições seriadas (KOO *et al.*, 2000). A CIM foi

considerada como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano na placa, detectada pela ausência de turbidez (CLSI, 2007).

2.9 Citotoxicidade

2.9.1 Pesquisa da atividade hemolítica

Foi utilizado o método descrito por Bhakdi et al. (1986), com algumas modificações. Alíquotas de 100µL dos extratos brutos foram diluídas na razão 2, em PBS com ph 7,4 em microplacas de 96 wells. Uma alíquota de 100 µL de suspensão a 1% de hemácias de carneiro, previamente lavadas três vezes em PBS com ph 7,4, foi adicionada a cada orifício contendo os extratos e depois incubado em banho de água a 37°C por uma hora para posterior análise visual.

2.9.2 Teste de citotoxicidade em linhagens tumorais e não tumorais

As placas de cultura de linhagem de célula Vero (rim de macaco verde africano), HUVEC (célula endotelial humana), HEP-2 (carcinoma epidermóide de laringe) e HeLa (carcinoma uterino) foram utilizadas para detecção de atividade citotóxica nos extratos brutos. Alíquotas de 100µL dos extratos foram adicionados em duplicata, em diluições seriadas na razão dois. As placas foram incubadas em estufa a 37° C em atmosfera de 5% de CO₂ e a leitura dos resultados será feita em 18h, 24h e 72h após a incubação, com auxílio de um microscópio invertido (Axiovert – Zeiss). Foi utilizado como controle positivo (*Eschericia coli* P46 com morte celular pela ação de hemolisina e MR 48 com necrose celular), controle de células e dos sobrenadantes dos meios de cultura utilizados. A viabilidade celular foi realizada segundo a metodologia descrita por Borenfreund *et al.*, (1988).

3 Resultados e discussão

3.1 Análise exploratória e inferencial do estudo etnofarmacológico

Em relação ao estudo etnofarmacológico foram visitados 3 pontos de venda de produtos naturais em São Luís (MA) os quais foram: Mercado Central, Mercado do Reviver e feira do João Paulo. O Mercado Central possui 8 pontos de vendas de produtos naturais e em 8 (100%) foram realizados a aplicação do questionário. Apenas 01 vendedor não assinou o TCLE, pois era analfabeto. Em relação ao mercado do Reviver, 04 pontos de vendas foram identificados, porém, apenas 03 (75%) foram entrevistados, pois 01 (25%) ponto de venda não estava aberto no dia da aplicação do questionário. Na feira do João Paulo havia 04 pontos de vendas de produtos naturais e 03 (75%) foram entrevistados. Apenas 01 (25%) não aceitou participar do estudo.

Sendo assim, nas 3 localidades do estudo, obteve-se um total de 12 (85,71%) entrevistados com duas (14,29%) perdas.

Em relação a faixa etária a maioria possuía entre 56 a 66 (33,33%) anos e eram do sexo masculino, 7 (58,33%). Todos os entrevistados declararam que estavam trabalhando e 7 (58,33%) afirmaram possuir renda mensal de 01 a 02 salários mínimos (Tabela 1).

Tabela 1

Caracterização sócio demográfica dos indivíduos entrevistados nas feiras do João Paulo, Mercado Central e Mercado do Reviver. São Luís (MA). Abril (2012).

VARIÁVEIS	N	%
Faixa etária		
18 a 25	1	8,33
26 a 35	2	16,67
36 a 45	2	16,67
46 a 55	2	16,67
56 a 66	4	33,33
Não respondeu	1	8,33
Sexo		
Feminino	5	41,67
Masculino	7	58,33
Situação Profissional		
Trabalhando	12	100
Desempregado	0	0
Aposentado por tempo de serviço	0	0
Aposentado por invalidez	0	0
Do lar	0	0
Estudante	0	0
Não respondeu	0	0
Renda Familiar		
Abaixo de um salário mínimo	1	8,33
De um a dois salários mínimos	7	58,33
De três a quatro salários mínimos	2	16,67
De cinco a seis salários mínimos	0	0
Acima de seis salários mínimos	1	8,33
Não respondeu	1	8,33
Grau de Escolaridade		
Analfabeto	1	8,33
Ensino fundamental	8	66,67
Ensino médio	3	25,00
Nível superior incompleto	0	0
Nível superior completo	0	0
Não respondeu	0	0
Tempo de trabalho com produtos naturais		
01 a 05 anos	1	8,33
06 a 10 anos	3	25,00
11 a 15 anos	3	25,00
16 a 20 anos	1	8,33
21 a 25 anos	4	33,34
26 ou mais	0	0
Não respondeu	0	0

Quando questionados a respeito da escolaridade, 08 (66,67%) participantes da pesquisa afirmaram possuir apenas o ensino fundamental. E 4 (33,34%) confirmaram que trabalham com produtos naturais a mais de vinte anos.

A maioria, 4 (33,44%), dos vendedores adquiriram conhecimento sobre produtos naturais com os pais, os demais, 6 (50%), relataram que obtiveram conhecimento através de outras pessoas, as quais destacaram: parentes, avó, esposa e vendedores de produtos e/ou através de livros. Apenas um (8,33%) não respondeu esta questão.

Pinto & Maduro (2010) em seu estudo relataram que a maioria dos comerciantes de produtos da medicina popular (raizeiros) em Boa Vista é do sexo masculino (40 a 67 anos) e os conhecimentos adquiridos por eles foram passados através de parentes próximos, principalmente pais e avós.

Quando questionados a respeito de como obtém os produtos vendidos, 11 (91,67%) confirmaram que obtém de terceiros e apenas 1 (8,33%) relatou que manipula seus próprios produtos.

Isso nos leva a refletir sobre como está o comércio de produtos naturais na cidade de São Luís (MA). Por se tratar de uma capital, onde a maioria da população não tem grandes quintais para plantar e a vegetação nativa já está comprometida, os vendedores estão buscando a alternativa de comprar os produtos das mãos de distribuidores, que passam semanalmente nas bancas coletando pedidos. Porém, a procedência desses produtos é desconhecida, além do mais, não existe controle de qualidade para confirmar autenticidade, integridade e pureza da espécie vegetal. Fato preocupante, mas uma realidade nas grandes cidades que precisa ser debatida por profissionais e órgãos fiscalizadores, para que consumidores de produtos naturais tenham maior segurança ao comprarem esses produtos.

Nas feiras que abrangeram o estudo, as partes de janaúba vendidas são: látex e casca. Foi relatado ainda por parte dos vendedores que o leite de janaúba é produzido a partir do "leite" (látex) do caule e misturado a água. Não existe uma proporção definida, apenas vasilhas, esponjas, facão e água são levadas ao local para a realização da coleta. Que possui as seguintes etapas:

1. Fazem-se cortes transversais e/ou horizontais no caule com um facão (logo começa a sair um líquido de cor leitosa, viscoso e pegajoso que é o látex);
2. Molha-se a esponja ou algodão na água e se passa no caule onde foi realizado o corte;
3. A esponja é umedecida e, volta-se a vasilha cheia de água para retirar o material da mesma. Repete-se esse procedimento várias vezes.

Ainda, de acordo com relatos: “Quanto mais grosso o leite, melhor”. Dos vendedores entrevistados, dois ainda afirmaram que nas garrafadas que vendiam, um dos produtos é a Janaúba (outros produtos que fazem parte da constituição da garrafada são aroeira, coité, copaíba, barbatimão, enxuga, etc).

Em relação ao uso popular, de acordo com os vendedores, a espécie em estudo é indicada para: inflamação, inflamação do útero, gastrite, úlceras, depurativo do sangue, próstata, câncer, fortificante e contra infertilidade. Destes, a população mais procura para combater gastrite, inflamação e infertilidade.

Esses dados confirma em parte o estudo de Colares et al. (2008), onde encontrou que o látex e casca são usados no tratamento de tumores, verminoses, gastrites, artrites e também contra o câncer.

Para Pinto & Maduro (2010) individualmente, o usuário do sexo feminino procura produtos ligados à cura de inflamações uterinas, vaginais ou ovarianas que, na linguagem popular do comerciante são denominadas “inflamação de mulher”. Os homens procuram com mais frequência os produtos (garrafadas) indicados para tratamento de impotência sexual que, na linguagem dos comerciantes é conhecido como “fraqueza” ou “fraqueza nos nervos”. Para o usuário de pouca idade (crianças), os produtos mais procurados são para o tratamento de problemas no aparelho respiratório.

Outra espécie do gênero *Himathantus* bastante parecida e confundida até por especialistas com a espécie vegetal do estudo é a *H. succuba*, também encontrada na região maranhense.

Silva et al. (2003) encontrou que entre as 42 espécies indicadas pelos caboclos do parque nacional para problemas analgésicos e/ou inflamatórios, 50% apresentou estudos farmacológicos na literatura científica, comprovando aqueles

usos e no levantamento etnofarmacológico, a *H. sucuuba* foi indicada para os casos de dor nas costas (extrato do látex), pancada (tintura da casca), dor de dente (decocto da casca) e inflamação (decocto das folhas).

Verificou-se ainda nos pontos de venda que, em relação a cor, o látex de janaúba variavam do branco leitoso ao marrom claro. Sugerindo que existe uma oxidação após coleta do material.

Em relação à mudança de cor, alguns vendedores atribuíram a mudança da coloração a diferentes espécies vegetais, para eles existem duas espécies: uma possui o “leite” branco e a outra o “leite” amarelo. Outros afirmaram que todos os “leites” mudam de cor com o passar do tempo e quando ficam “branquinhos” por dois dias ou mais é porque foi adicionado massa de tapioca.

A posologia indicada pelos vendedores é de 2 a 3 vezes ao dia, antes das refeições, um cálice, um copo de café ou “dois dedinhos no copo”.

Todos os vendedores confirmaram que devem armazenar o leite em geladeira, mas que mesmo assim, ele mudará de cor.

O brasileiro vem absorvendo diferentes culturas humanas e uma variedade de conhecimentos e costumes adquiridos da sua relação com o ambiente em que vivem. Estes conhecimentos vão evoluindo com o passar do tempo e são incorporados aos padrões de cada grupo populacional através de gerações, desempenha um papel fundamental para a manutenção da diversidade biológica e assegurando a utilização racional dos recursos naturais. Estudos científicos podem ser realizados para dar segurança a população, neste sentido, a investigação farmacológica e fitoquímica das plantas presentes nos biomas brasileiros pode ser uma alternativa.

No Brasil, o etnobotânico William Milliken e colaboradores levantaram a utilização de árvores pelos índios Waimiri-Atroari, habitantes do baixo Rio Negro e descobriram que cerca de 15% das espécies de árvores acima de 10 centímetros de diâmetro encontradas em um hectare eram usadas como plantas medicinais (SUFFREDINI & DALY, 1998).

No Maranhão, estudos etnobotânicos ainda se mostram em plena incipiência e têm focado, em sua maioria, conhecimentos associados às etnias indígenas. Dentre os estudos realizados em território maranhense, destacam-se

Balée (1986) e Berg (1991) em abordagens gerais e Pinheiro et al. (1996), Pinheiro (2002; 2004) em estudos localizados em algumas espécies de interesse.

Alguns estudos confirmam a utilização popular de outras espécies do gênero *Himathantus*. Pinto & Maduro (2010), em estudo que identificou produtos e subprodutos de origem animal e vegetal utilizados na medicina popular comercializados na cidade de Boa Vista (RO) encontraram como produtos vegetais de maior destaque o Jatobá (*Hymenaea courbaril*), o Barbatimão (*Stryphnodendron adstrinfens*), a Sucuba (*Himatanthus articulatus*), o Xixuá (*Maytenus guianensis*), a Copaíba (*Copaifera officinalis*) e a Pata-de-vaca (*Bauhinia unguolata*), onde a maioria dos produtos identificados são originários da região Nordeste do Brasil.

Diante disso, vários programas de pesquisa de novas drogas têm sido organizados no mundo, inclusive no Brasil, onde as florestas são muito pouco conhecidas do ponto de vista químico e farmacológico. A Organização das Nações Unidas (ONU) recomenda que pesquisas sobre aproveitamento de produtos naturais façam parte das políticas de saúde e de educação dos países sediados em regiões tropicais, para o combate a doenças endêmicas, como malária, doença de Chagas e leishmaniose, entre outras (SUFFREDINI & DALY, 1998).

3.2 Prospecção fitoquímica

Pelo fato de haver poucos estudos realizados com o gênero *Himatanthus*, foi realizada uma triagem fitoquímica com o objetivo de rastrear todos os possíveis grupos de compostos com algum tipo de princípio ativo. As análises fitoquímicas fornecem informações relevantes à cerca da presença de metabólitos secundários nas plantas, para que assim possa chegar ao isolamento de princípios ativos importantes na produção de novos fitoterápicos.

Os resultados foram considerados positivos pela formação de precipitados e surgimento de coloração e espuma, sendo classificados em fracamente positivo, moderadamente positivo e fortemente positivo, pela a intensificação destes e negativo pela a ausência dos mesmos (Matos, 2009).

O extrato bruto hidroalcoólico das cascas e látex de *H. drasticus* apresentaram resultados conforme quadro 1.

Quadro 1

Prospecção fitoquímica do extrato bruto hidroalcoólico de caule e látex da espécie vegetal *Himatanthus drasticus* (Matos, 2009). São Luís (MA). Janeiro (2013).

TESTE	METABÓLITO	RESULTADO CASCA	RESULTADO LÁTEX
Teste com cloreto férrico (Fenóis e taninos)	Taninos hidrolisáveis	-	-
	Taninos condensáveis	+	-
	Fenóis	+	-
Teste de mudanças de pH (pH 3; 8,5 e 11) (Antocianinas, antocianidinas e flavonoides)	Flavonas, flavonóis e xantonas	+++	-
	Flavanonóis	+++	-
Teste de mudanças de pH (pH 3; 8,5 e 11) (Leucoantocianidinas, catequinas e flavononas)	Leucocianidinas	-	-
	Catequinas	-	-
	Flavononas	-	-
Teste de Libermann-Buchard (Esteróides e triterpenóides)	Esteróides livres	+	+++
	Triterpenóides	+++	+
Teste de Espuma (Saponinas)	Heterósides saponínicos	+++	-
Teste do Resíduo (Resinas)	Resinas	-	++
Teste com Dragendorff, Mayer e Hager (Alcaloides)	Alcaloides	++	++
Teste de Fluorescência (Cumarinas)	Cumarinas	+++	-

Nota: +++ fortemente positivo, ++ moderadamente positivo, + positivo, - ausente.

Em relação as cascas, encontrou-se resultados fortemente positivo para antocianinas, antocianidinas e flavonoides, diferenciando dos resultados encontrados por Sousa (2012) na mesma espécie estudada.

Segundo Matos (1997), muitas vezes na mesma espécie botânica a sua composição química pode apresentar diferenças. As discrepâncias nos resultados das comparações qualitativas e até quantitativas dos metabólitos deve-se a aspectos relacionados o solo, clima, coleta de material, temperatura, reagentes químicos, dentre outros.

Das cascas de *H. drasticus* já foram isolados os iridóides já conhecidos plumierídeo, isoplumierídeo, protoplumericina A, cafeoilplumierídeo e o iridóide inédito ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo, além dos triterpenos acetato e cinamato de lupeol e a β -amirina (MORAGAS, 2006) e Amaral et al. (2007) descrevem a presença de flavonol, ácidos cinâmicos e iridóides em *H. sucuuba*.

Tanto na casca quanto no látex foram detectados a presença de esteroides e triterpenóides. Silva et al. (1998) detectou iridóides, flavonoides e taninos na espécie estudada e em estudos por Minho (2006) e Costa (2004) foram observados presença moderada de taninos condensados (TC), corroborando com nossos resultados.

Os taninos são usados tradicionalmente contra moléstias do tipo diarreia, hipertensão, reumatismo, hemorragias e em processos inflamatórios, possuem atividades comprovadas tais como: bactericida, fungicida, antiviral, moluscicida e antitumoral (SIMÕES et al., 2000).

As reações para pesquisa de esteroides e triterpenos apresentaram resultados interessantes, com reações fortemente positivas para esteroides no látex. Isso nos leva a pensar na utilização popular da espécie contra a infertilidade feminina. Por isso, sugere-se que estudos farmacológicos sejam realizados para verificação desta atividade. O bisabolol e o chamazuleno são anti-inflamatórios, sendo o primeiro também antibacteriano e protetor de úlceras gástricas. Os terpenos de peso molecular mais alto aparecem nas plantas e animais, e muitos deles desempenham papéis biológicos importantes. O triterpeno lanosterol, por exemplo, é precursor dos hormônios esteroides.

Trabalhos preliminares sustentam o potencial antitumoral destes triterpenos e, neste contexto, podemos citar as inibições do crescimento tumoral *in vivo* em camundongos com tumores implantados (Vechia et al., 2009). As três principais atividades farmacológicas que estão relacionadas ao mecanismo antitumoral destes triterpenos são a citotóxica, anti-inflamatória e antioxidante (Dewick, 2002; Simões et al., 2003; Passos et al., 2009).

Os terpenos são originados da via do acetato-mevalonato a partir de uma unidade isopreno. A classificação dos terpenos é feita de acordo com a quantidade de unidades isopreno em hemiterpenóides, C₅; monoterpenóides, C₁₀;

sesquiterpenóides, C15; diterpenóides, C20; triterpenóides, C30; e carotenóides, C40. Os monoterpenos são constituintes dos óleos voláteis, atuando na atração de polinizadores. Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos e bactérias, enquanto muitos diterpenóides dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenóides e seus derivados, os esteroides, apresentam uma gama de funções (Vickery & Vickery, 1981; Harbone & Baxter, 1995).

Encontrou-se ainda um resultado fortemente positivo para saponinas nas cascas. Saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura, que possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergente e emulsificante.

São também substâncias de elevada massa molecular (600 a 2000) e, de modo geral, ocorrem em misturas complexas devido à presença concomitante de estruturas com um número variado de açúcares ou ainda devido à presença de diversas agliconas. A cadeia de açúcares pode ser linear ou ramificada e uma das dificuldades na elucidação estrutural desses compostos está justamente em determinar os carbonos das ligações interglicosídicas. Por essas razões, o isolamento de saponinas, bem como a sua elucidação estrutural, podem ser muito difíceis. É por isso, também, que o conhecimento sobre a química e propriedades biológicas de saponinas desenvolveu-se, paralelo à evolução das técnicas cromatográficas e espectroscópicas (BRUNETON, 1993).

Apesar dessas dificuldades, ao longo do tempo, 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 esteroides. Em solução aquosa formam espuma persistente e abundante. Essa atividade provém como nos outros detergentes, do fato de apresentarem na sua estrutura, como já referido, uma parte lipofílica, denominada aglicona ou sapogenina e uma parte hidrofílica constituída por um ou mais açúcares. A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos, diferenciando-a daquela dos sabões comuns (BRUNETON, 1993).

Neste estudo foi detectada ainda a presença de cumarinas, assim como Machado et al. (2010) encontrou resultados satisfatórios, do ponto de vista da

forte evidência da presença desses metabólitos, pois em seu estudo houve o desenvolvimento de fluorescência azulada forte.

Quanto aos resultados para alcaloides foi constatado no presente estudo resultado moderadamente positivo, porém em estudos de Lima (2008) com *H. obovatus* não foram encontrados alcaloides.

3.3 Caracterização dos elementos químicos metálicos por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)

Em relação a identificação de metais presentes na casca de *H. drasticus* houve um percentual bastante acentuado para cálcio, potássio e magnésio, os quais pertencem aos micronutrientes, o cálcio ganhou destaque, seguido dos metais ferro e o fósforo. Dentre os doze metais analisados no extrato bruto hidroalcoólico, o manganês apresentou emissão mais baixa, conforme o quadro 2 e figura 1. Em relação ao tempo de digestão da amostra não ocorreram diferenças significantes em relação à 01h30min e 2h, para o cálcio e potássio, entretanto zinco, selênio, cobalto, cobre o boro, apresentou resultado menor em 01h30min.

Quadro 2

Valores percentuais da concentração de metais determinados por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no extrato hidroalcoólico da casca de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

TEMPO DIGESTÃO	%											
	Zn	Se	B	Ca	Co	Cu	P	Fe	Ni	Mg	Mn	K
Casca 1h	9	-2	11	1254	-8	-5	243	11	5	801	12	890
Casca 01h30min	7	10	11	1252	-9	-1	253	454	36	736	23	1150
Casca 2h	10	-7	9	1249	-7	-5	107	10	7	785	3	658

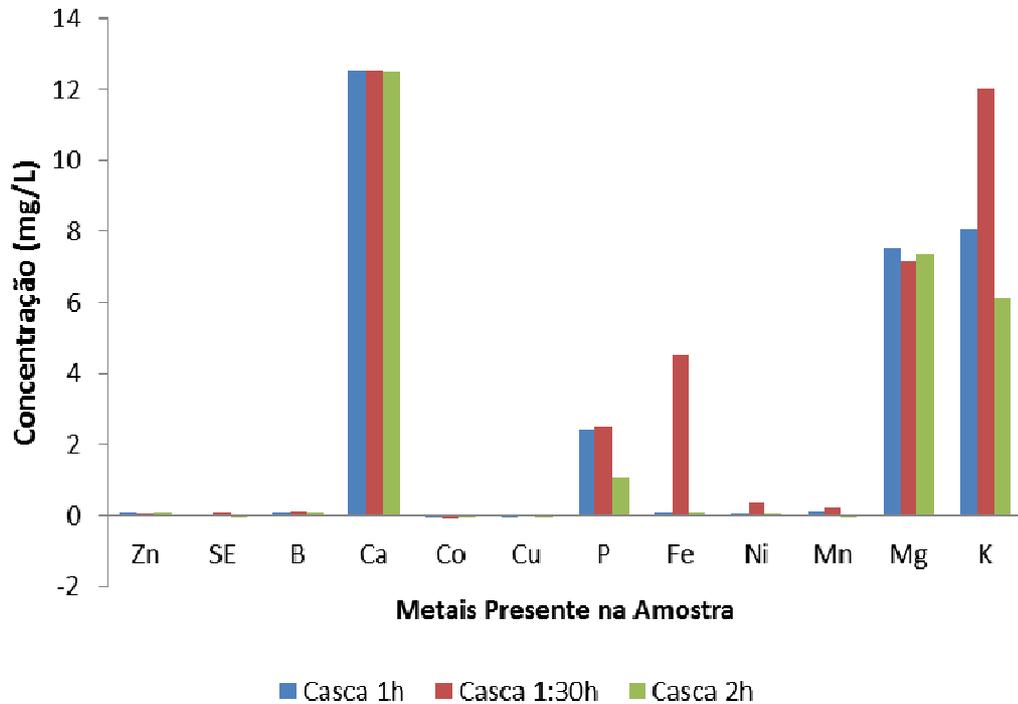


Figura 1

Análise de metais por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no extrato hidroalcoólico da casca de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

Em relação aos metais na amostra do látex de *H. drasticus* (Quadro 3 e Figura 2), observou-se que se teve uma variação em cálcio, magnésio e potássio em função da temperatura.

Quadro 3

Valores percentuais da concentração de metais determinados por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no látex de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

TEMPO DIGESTÃO	%											
	Zn	Se	B	Ca	Co	Cu	K	Fe	P	Mg	Ni	Mn
Látex 1h	0,86	-0,36	0,72	40,28	-0,25	-5	17,57	1,01	1,87	37,46	0,09	0,11
Látex 01h30min	0,27	-0,48	0,61	43,04	-0,30	-1	16,44	0,61	1,94	38,07	-0,13	0,05
Látex 2h	2,36	-0,23	0,49	38,98	-0,24	-5	17,28	0,95	1,80	31,50	0,15	0,05

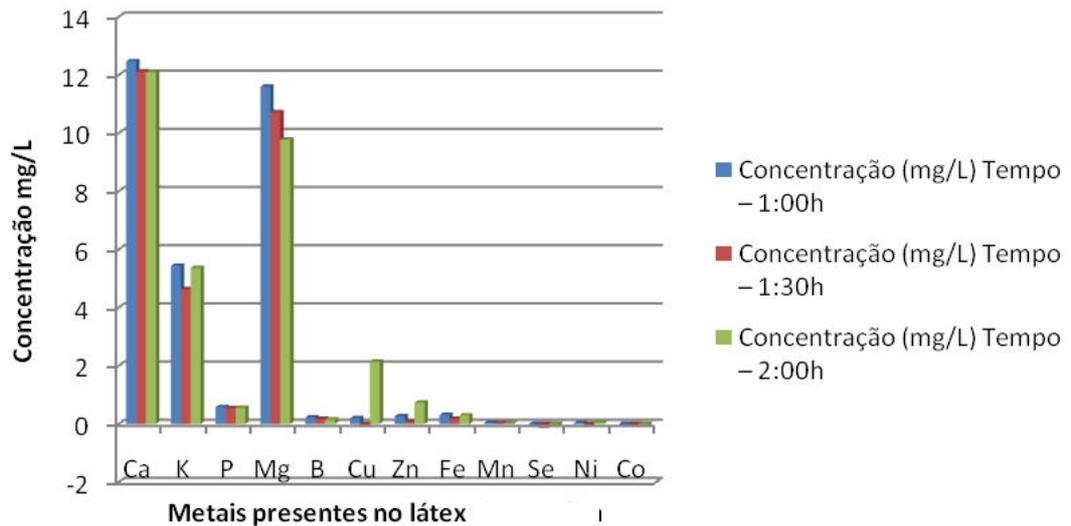


Figura 2

Análise de metais por Espectrometria de Emissão Óptica com plasma indutivamente acoplado no látex de *Himatanthus drasticus*. São Luís (MA), 2012.

Os resultados apresentaram concentrações mais elevadas para cálcio, magnésio e potássio. O magnésio sofreu alterações bruscas em função do tempo, em 60 e 90 minutos obtivemos um valor de 14, 22 mg.L⁻¹, enquanto que para 120 minutos encontramos um valor de 9,77 mg.L⁻¹.

O que pode explicar esse decaimento é a influencia da matriz sobre as emissões iônicas e atômica no analito e que algumas referencias da literatura comenta sobre a possível interferências entre os analitos contendo F, Ca, Mg, P, Na, Fe e Mn em concentrações similares as encontradas na solução de amostra de plantas.

A falta ou mesmo o excesso de qualquer um dos micronutrientes provoca, dependendo da sua função, anomalias no crescimento e desenvolvimento da planta, ocorrendo muitas vezes no limbo das folhas a presença de cloroses, que são zonas claras, ou necroses, que se tratam de zonas escuras. No entanto, algumas plantas

desenvolvem mecanismos que permitem fixar certos nutrientes presentes na atmosfera através da sua associação com bactérias ou fungos, evitando assim a ocorrência de anomalias no seu crescimento.

3.4 Perfil cromatográfico

Através do resultado obtido em CCDC, foi possível constatar a presença de compostos com médio grau de polaridade em função do solvente orgânico testado, possivelmente devido à maioria dos compostos identificados nos testes fitoquímicos apresentarem baixa e média polaridade.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é a mais simples e a mais econômica das técnicas cromatográficas quando se pretende separação rápida e identificação visual. É também um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e fase estacionária (Collins, 1997). O perfil cromatográfico das amostras sugere a presença de metabólitos de diferentes polaridades, com predomínio de substâncias polares.

A triagem fitoquímica é coerente com o perfil cromatográfico avaliado em termos de uma maior presença relativa de componentes com maior polaridade, ressaltando que compostos como esteroides e triterpenos podem ser considerados como de baixa a média polaridade, compostos como os taninos e heterosídeos flavônicos de média para alta polaridade, e que as saponinas são de polaridade relativa alta.

3.5 Atividade antioxidante da casca de *Himatanhus drasticus*

O extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus* apresentou significativa atividade antioxidante com CE_{50%} 27,8848 µg/mL. Porém, não foi possível avaliar a atividade antioxidante pelo método fotolorimétrico in vitro com DPPH, devido a alta polaridade das substâncias presentes e a amostra não diluiu em etanol PA.

O radical DPPH é estável, de coloração púrpura, porém quando reduzido passa a ter coloração amarela. Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H^+ sendo então reduzido. Pode ser facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região visível. O ensaio é iniciado pela adição do DPPH a amostra, em solução. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Então a porcentagem de DPPH restante é proporcional à concentração de antioxidante.

Em estudos de França & Brown (2000), os ensaios de atividade antioxidante das cascas de *Himatanthus lancifolius* foram realizados utilizando os métodos de redução do complexo fosfomolibdênico e o da redução do radical livre DPPH. Os resultados demonstraram uma atividade antioxidante de $59,3 \pm 0,8\%$ para a fração alcaloídica, enquanto que, no presente estudo, esse efeito foi de 27,8848 e o extrato conseguiu atingir 50% de inibição, o que significou um excelente resultado para o antioxidante.

A atividade do extrato está relacionada com a presença de constituintes químicos verificados na prospecção fitoquímica, principalmente os fenóis, flavonas, flavonóis e xantonas compostos bem relatados na literatura com atividade antioxidante (HARBORNE, 1992).

3.6 Atividade microbiológica e citotóxica

No teste *in vitro* foi observada a inibição de crescimento das cepas testadas com extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus* (Tabela 2, 3). Estes resultados concordam com trabalhos que demonstram os efeitos antimicrobianos de extratos na espécie *H. succuba* (Neto et al., 2002).

O látex não apresentou atividade.

Tabela 2

Concentração Inibitória Mínima *in vitro* do extrato hidroalcoólico das cascas e látex de *Himatanthus drasticus* (0,0123g/mL) pelo método de diluição em ágar. São Luís (MA), 2013.

Microrganismo	Casca	Látex
1- <i>P. aeruginosa</i> 27883	15%	N*
2- <i>E.coli</i> 042	15%	N
3- <i>K. pneumoniae</i> 700603	15%	N
4- <i>P. mirabilis</i> 7001	15%	N
5- <i>S. aureus</i> 25923	15%	N
6- <i>S. agalacicus</i> 13813	15%	N
7- <i>C.parapsilosis</i>	15%	N
8- <i>C.glabrata</i>	15%	N
9- <i>C. tropicalis</i>	15%	N
10- <i>C.albicans</i>	15%	N

Tabela 3

Concentração Inibitória Mínima (CIM) *in vitro* do extrato hidroalcoólico das cascas de *Himatanthus drasticus* no teste de microdiluição. São Luís (MA), 2013.

Microrganismo	EBH ^a g/mL	Título	CN ^b
<i>P. aeruginosa</i> 27883	0,0027	1:8	0
<i>E.coli</i> 042	0,0027	1:8	0
<i>K. pneumoniae</i> 700603	0,0027	1:8	0
<i>P. mirabilis</i> 7001	0,0027	1:8	0
<i>S. aureus</i> 25923	0,0013	1:16	0
<i>S. agalacicus</i> 13813	0,0013	1:16	0
<i>C.parapsilosis</i>	0,0013	1:16	0
<i>C.glabrata</i>	0,0013	1:16	0
<i>C. tropicalis</i>	0,0013	1:16	0
<i>C.albicans</i>	0,0013	1:16	0

^aExtrato hidroalcoólico das cascas de *Himatanthus drasticus* – (0,0216 g/mL)

^b Controle negativo = solvente

Os alcaloides indólicos dos representantes do gênero apresentam diversas atividades farmacológicas, entre elas antimicrobiana (Neto et al., 2002; Morel et al., 2006) e podem ser apontado como possíveis responsáveis para atividade antimicrobiana no estudo.

SCALBERT (2006) afirma ainda que os taninos podem ser responsáveis por esta atividade.

Em relação ao teste de hemólise, nenhuma amostra causou lise nas hemácias de carneiro (ou seja, não romperam membrana nem formaram poro na mesma).

Já para células tumorais, apenas o látex causou morte celular no título 1:16 (0,0013g/mL) na célula de carcinoma de laringe (HEP-2) e 1:8 (0,0027 g/mL) na célula de carcinoma uterino (Hela). Nas células normais não causou nenhum efeito (Vero rim de macaco verde e HUVEC célula endotelial humana). A casca não apresentou atividade citotóxica em nenhuma linhagem avaliada.

Silva et al. (2008) descreveu atividade citotóxica seletiva do látex de *H. sucuuba* e em estudo realizado por Gerra & Peters (1991) a casca de *H. sucuuba* apresentou baixa toxicidade reprodutiva e teratogênica em ratas, indicando que seu consumo é seguro na espécie humana.

4 Conclusão

Conclui-se que:

Nas análises qualitativas realizadas, destacou-se na prospecção fitoquímica extrato hidroalcoólico das cascas a presença de fenóis e flavonoides, que podem ser os responsáveis pela atividade antioxidante e/ou antimicrobiana e triterpenos, que podem estar ligados ao uso tradicional contra problemas menstruais e gastrite.

No caso do látex, a presença de triterpenos pode justificar o uso tradicional da população maranhense do “leite de janaúba” contra a infertilidade feminina.

Neste estudo, encontrou-se ainda um percentual bastante acentuado para cálcio, potássio e magnésio, seguido dos metais ferro e o fósforo.

Todas as cepas testadas apresentaram atividade antimicrobiana para a casca. Mas os resultados foram negativos para o látex. Isso pode ser justificado pela concentração utilizada no estudo.

Por isso, novos estudos devem ser realizados, para melhor conhecimento científico da espécie *H. drasticus*.

REFERÊNCIAS

- AKERELE, O. **Herbal Gram** 1993, 28, 13.
- AMARAL, ACF, Pinheiro MLB, Ferreira JL, Silva JRA 2007. Monograph of *Himatanthus sucuuba*, a plant of Amazonian folk medicine. **Phcog Rev** 1: 305-313.
- BARATTO, L C, HOHLEMWERTGER, S. V. A.; GUEDES, M. L. S.; DUARTE, M. R.; SANTOS, S. A. M. *Himatanthus lancifolius* (Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae: estudo farmacobotânico de uma planta medicinal da Farmacopeia Brasileira 1ª edição. **Revista Brasileira de farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 5, 2010.
- BARREIRO, J.A.; BRITO, O.; HEVIA, P.; PÉREZ, C.; OROZCO, M. 2001. Use of chigo seed (*Campsiandra comosa*, Benth) in human nutrition. I. Antecedents, nutritional potential, and characteristics of the plant and seed]. **Arch Latinoam Nutr** 34: 523-30.
- BARRETO, A S C, M.G.; NERY, I.A.; GONZAGA, L.; KAPLAN, M.A.C. Chemical constituents from *H. articulata*. *J. Braz. Chem. Soc*, v.9, p.430-434. 1998.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERST, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens Wissen Technol*, n. 28, p. 25-30, 1995.
- Coelho-Ferreira M 2009. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). *Ethnopharmacol* 126: 159-175.
- Colares , A V, Cordeiro, L. N.; Costa, J. G. M.; Cardoso, A. H.; Campos, A. R. Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus darsticus* (mart.) Plumel (janaguba). **Infarma**, Brasília, v. 20, 2008
- Colares, A V, Cordeiro, L. N.; Costa, J. G. M.; Cardoso, A. H.; Campos, A. R. Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus darsticus* (mart.) Plumel (janaguba). **Infarma**, Brasília, v. 20, 2008.
- COLLINS C, Braga G, Bonato P. **Introdução aos métodos cromatográficos**. 7ed. Campinas: ed. Unicamp, 279 p., 1997.
- COSTA, Lotufo LV, de Lucena DF, Andrade-Neto M, Bezerra JN, Leal LK, de Sousa FC, Viana GS 2004. Analgesic, antiinflammatory and central depressor effects of the hydroalcoholic extract and fractions from *Aeolanthus suaveolens*. **Biol Pharm Bull** 27: 821-824.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products. A biosynthetic approach. John Wiley & Sons, 2002.

Di Stasi LC, Hiruma-Lima AC. "Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica", 2. ed., UNESP, São Paulo, p. 375-92, 2002.

FRANÇA, O.O.; BROWN, R.T.; Santos CAM 2000. Uleine and demethoxyaspidos permene from the bark of **Plumeria lancifolia**. **Fitoterapia** 71: 208-210.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, New York, v. 52, n. 6, p. 481- 504, 2000.

Jardel Moraes de Sousa, Perfil etnofarmacológico e fitoquímico da espécie vegetal *Himatanthus drasticus* (JANAÚBA).

Lima, V B L, Braga, R. M.; Koch, I. Estudo fitoquímico de *Himatanthus obovatus*. 2003. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos...** São Paulo: Sociedade brasileira de Química, 2000. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0424/>>. Acesso em: 02 jun. 2011.

LIMA, V. B., R. M. Braga, *et al.* **Estudo Fitoquímico de Himatanthus obovatus**. Sociedade Brasileira de Química. Livro de Resumos. Poços de Caldas: Resumo, 2008. PN-121 p.

LORENZI ,H.; MATOS,F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas 2002**. 2.ed., Nova Odessa: Instituto Planttarum, 2008.

MACHADO, J. J.C.; FLORÃO, A.; MATTANA, F.V.R.; ROCHA, F.H.; SANTOS, C.A.M, Weffort-Santos AM 2010. A citometria de fl uxo como instrumento de avaliação da atividade imunomodulatória de extratos e substâncias isoladas de plantas medicinais. **Rev Bras Farmacogn** 16(Su l.):645-655.

Matos FJA. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2. ed.Fortaleza: Edições UFC, 141p, 1998.

Matos, F J A, **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed.Fortaleza: Edições UFC, 141p, 1998.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2 ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MATOS, F.J.A. **Órgãos públicos debatem estratégias para elaboração de políticas para fitoterápicos**, 2009. Disponível em:

<http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=4104&sid=9>. Acesso em 10/10/2012.

Matos, FJA, **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: EUFC, 148 p., 3ª Ed, 2009.

MATUSIEWICZ, H. Wet digestion methods. In: MESTER, Z.; STURGEON, R. *Comprehensive Analytical Chemistry*. Vol XLI, *Elsevier*, Amsterdam, 2003MORAES, D.P.; MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; PANIZ, J.N.G; DRESSLER, V.L.; KAPP, G.; FLORES, E.M.M. Application of microwave induced combustion in closed vessels for carbon black-containing elastomers decomposition. *Spectrochim Acta Part B*62, 2007.

MENSOR, L. L., F. S. Menezes, *et al.* Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res**, v.15, n.2, Mar, p.127-30. 2001.

Milliken W 1997. Traditional anti-malarial medicine in Roraima, Brazil. *Econ Bot* 51: 212-237

MINHO, A. P. **Efeito anti-helmíntico de taninos condensados sobre nematódeos gastrintestinais em ovinos**. 2006. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006 Miranda, A L, SILVA, J. R.; REZENDE, C. M.; NEVES, J. S.; PINHEIRO, M. L.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; PINTO, A. C.; Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuba*. **Planta med**, 66, p. 284-286, 2000.

MODESTO, M. M. L. S. Aspectos ecológicos e sócio-econômicos de *Himatanthus articulata* (Vahl.) Woodson. “janaguba” da Chapada do Araripe. 1997. 55f. **Monografia (Especialização em Botânica)** – Universidade Regional do Cariri, Crato, 1997.

Monografia *articulates* (Vahl) Woodson (common name: *Sucuba*). Mem Inst Oswaldo Cruz 2009;104:659-61, Florence, 2012. Sequeira BJ, Vital MJ, Pohlit AM, Pararols IC, Caúper GS. Antibacterial and antifungal activity of extracts and exudates of the Amazonian medicinal tree *Himatanthus*

MOREL, A.F.; GRAEBNER, I.B.; PORTO, C. Study on the antimicrobial activity of *Himatanthus sucuba*. *Fitoterapia* 77: 50-53. 2006.

- Neto, C C, Owens, C. W.; Langfield, R.D.; Comeau, A. B.; Onge, J. S.; Vaisber, A. J.; Hammond, G. B. Antibacterial Activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. **J. Ethnopharmacol**, 79, p. 133-138, 2002.
- NETO, C. C.; OWENS, C. W.; LANGFIELD, R.D.; COMEAU, A. B.; ONGE, J. S.; VAISBER, A. J.; HAMMOND, G. B. Antibacterial Activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. **J. Ethnopharmacol**, 79, p. 133-138, 2003;
- NETO, C.C.; OWENS, C.W.; LANGFIELD, R.D.; COMEAU, A.B.; ONGE, J.S.; VAISBER, A.J.; HAMMOND, G.B. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. *J Ethnopharmacol* 79: 133-138. 2002.
- PASSOS, C. S.; ARBO, M. D.; RATES, S. M. K.; POSER, G. L. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.1A, p. 140-149, 2009
- PLUMEL, M. M. Le genre *Himatanthus* (Apocynaceae). Révision Taxonomique. **Bradea**, 5, p.1-101, 1991
- REIS, M.S.; MARRIOT, A.; STEENBOCK, w. 2004. **Diversidade e domesticação de plantas medicinais**. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.P.C.; Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS. Edit. D a UFSC, p-45-74.
- ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.76, 1998.
- SANTOS, R.; Fernandez-Ferreira E, Soares RO, Rosas EC, Susunaga GS, Guimarães AC, Zoghbi MG, Henriques MG 1999. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **J. ethnopharmacol** 66: 57-69.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.
- SILVA, J. R.A.; REZENDE, C. M.;PINTO, A. C.; PINHEIRO, M. L. B.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; YOUNG, C. M.; BOLZANI, V. D. **Esteres Triterpênicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce)**. *Química Nova*, 21, p. 702-704, 1998.

SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. *Quim. Nova*, v.26, n.3, p.407-416, 2003.

Silva, S R, Buitrón, x.;Oliveira, I. H.; Martins, M. V. M. M.; Plantas Medicinais do Brasil: Aspectos Gerais sobre Legislação e Comércio. **Relatório**, 2010. Disponível em: <http://fitoscience.com.br/administracao/upload/20100823_101801.pdf> . Acesso em 10/08/2012.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS/UFCS, 2004. p.256.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia da planta ao Medicamento*. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 5a. ed., 2003. 1102 p.

Sousa, E L, Granjeiro, A. R. S.; Bastos, I. V. G. A.; Rodrigues, G. C. R.; Silva, M. J.; Anjos, F. B. R.; Souza, I. A.; Sousa, C. E. L. de. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (Janaguba) in the treatment of sarcoma 180 tumor. **Brazilian Journal Pharmaceutical Science**, São Paulo, v. 46, n. 2, p.199-2003, 2010.

VECHIA, L. D.; GNOATTO, S. C. B.; GOSMANN G. Derivados oleananos e ursanos e sua importância na descoberta de novos fármacos com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. *Quim. Nova*, v. 32, n. 5, p.1245-1252, 2009.

VICKERY, M. L. & VICKERY, B. (1981). **Secondary Plant Metabolism**. The Macmillan Press Ltd., Hong Kong

Wood CA, Lee K, Vaisberg AJ, Kingston DGI, Neto CC, Hammond GB 2001. A bioactive spiro lactone iridoid and triterpenoids from *Himatanthus sucuuba*. *ChemPharm Bull* 49: 1477-147.

APENDICES

Apendice 1 – Foto da espécie vegetal *Himatanthus drasticus* (janaúba). Universidade Federal do Maranhão – Campus do Bacanga. São Luís (MA). Maio, 2012.



Apendice 2 – Foto da espécie *Himatanthus drasticus* (Janaúba). São José de Ribamar (MA). Janeiro, 2012.



Apendice 3 - Foto das folhas e pedúnculo floral de *Himatanthus drasticus* (Janaúba). São José de Ribamar (MA). Janeiro, 2012.



Apêndice 4 – Foto da flor de *Himatanthus drasticus* (Janaúba). São José de Ribamar (MA). Janeiro, 2012.



Apêndice 5 – Foto do fruto de *Himatanthus drasticus* (Janaúba). São José de Ribamar (MA). Janeiro, 2012.



Apêndice 6 – Foto do látex extraído do caule de *Himatanthus drasticus* (Janaúba). São Luís (MA). Janeiro, 2012.



Apêndice 6 – Questionário utilizado na entrevista**QUESTIONÁRIO SEMI-ESTRUTURADO**

Data: ___/___/___

Hora: ___: ___

Local: _____

1) Faixa Etária:

- 18 a 25 26 a 35 36 a 45 46 a 55 56 a 66

2) Sexo:

- Feminino Masculino

3) Situação Profissional:

- Trabalhando Desempregado Aposentado por tempo de serviço
 Aposentado por invalidez Do lar Estudante

4) Renda Familiar:

- Abaixo de um salário mínimo De um a dois salários mínimos
 De três a quatro salários mínimos De cinco a seis salários mínimos
 Acima de seis salários mínimos.

5) Grau de escolaridade:

- Analfabeto Ensino fundamental Ensino médio
 Nível superior incompleto Nível superior completo

6) A quanto tempo trabalha com produtos naturais? _____**7) Como adquiriu conhecimento?** _____**8) Onde obtém os produtos?** _____**9) Quais partes da janaúba são vendidas?** _____**10) Qual parte é a mais procurada pela população?** _____**11) Para que serve o leite de janaúba?** _____**12) E a casca?** _____**13) A população procura mais para qual (is) problema(s)?** _____**14) Como deve ser usado?** _____**15) Como é produzido o leite de janaúba?** _____**16) Quanto tempo é válido?** _____**17) Onde deve ser guardado?** _____**18) Ele muda de cor?** _____**19) Você já utilizou janaúba?** Sim Não**20) Qual parte?** _____**21) Para quê?** _____

Apêndice 7 – Termo de consentimento livre e esclarecido

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFMA
AV. DOS PORTUGUESES, S/N - SÃO LUÍS - MARANHÃO
FONE: (98) 3301-8000

Projeto: Efeito da resina da *Himatanthus drausticus* sobre as taxas de fertilidade em ratas Wistar.

Prezado (a) Senhor (a),

Você está sendo convidado a participar deste estudo que se destina a analisar os efeitos da resina da *Himatanthus drausticus* sobre as taxas de fertilidade em ratas Wistar.

Será realizada uma entrevista aplicando um questionário com 12 perguntas elaboradas pelos pesquisadores para a população que já utilizou o leite de janaúba para tratamento da infertilidade. Após esse processo, serão feitos testes em ratas para verificar se existe a comprovação farmacológica desta atividade.

Durante a avaliação não haverá nenhum dano a sua integridade física e/ou psicológica. Os benefícios que você pode esperar com a sua participação, mesmo que indiretamente é contribuir para a utilização segura dos produtos naturais.

Sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que para isto sofra qualquer penalidade ou prejuízo, ou seja, sem qualquer prejuízo para você.

Será garantido o sigilo quanto a sua identificação e das informações obtidas pela sua participação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto. Você não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Você será indenizado por qualquer despesa que venha a ter com sua participação nesse estudo e, também, por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para essas despesas estão garantidos os recursos.

Participante: _____

Pesquisador Responsável: _____

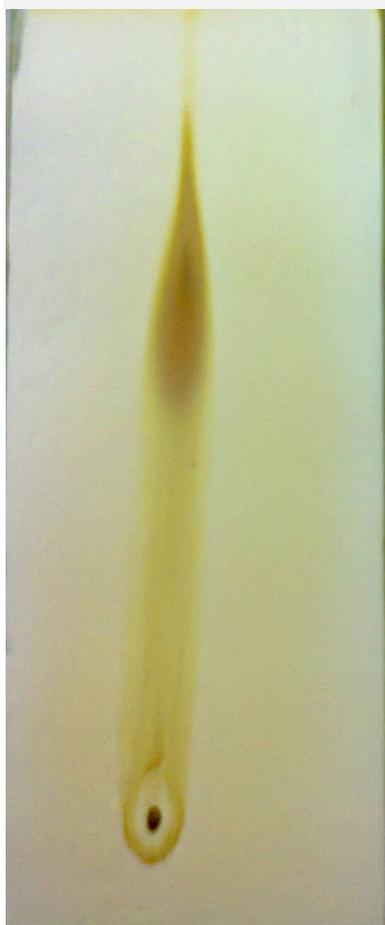
Data do aceite: ____/____/____

Apêndice 8 - Cromatograma do extrato hidroalcoólico das folhas de *H. drasticus*.
Fase móvel = Acetato de etila: Metanol (5:5). São Luís (MA), 2012.



Apêndice 9 - Cromatograma do extrato hidroalcoólico das cascas de *H. drasticus*.
Fase móvel = Acetato de etila: Metanol (5:5). São Luís (MA), 2012.

EBH CASCAS de
H. drasticus



Apêndice 10 - Cromatograma do extrato hidroalcolico das folhas de *H. drasticus*.
Fase móvel = Acetato de etila: Metanol (5:5). São Luís (MA), 2012.



ANEXOS

Anexo 1 - Normas de publicação: Revista Scientia Plena

Título. Colocar um título conciso e utilizar maiúscula apenas na primeira letra da sentença e nas palavras de uso obrigatório

X. X. Sobrenome¹; X. X. Sobrenome¹; X. X. Sobrenome¹; X. X. Sobrenome²

¹Nome do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-ESTADO, País

² Nome do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-ESTADO, País

emaildoautorcorrespondente@xxxx.xxx;

(Recebido em dia de mes de ano; aceito em dia de mes de ano)

Resumo do artigo. Usar Times New Roman 10 e não ultrapassar 250 palavras.

Palavras-chave: colocar 3 palavras-chave.

Título em inglês. Coloque uma versão em língua inglesa para o título do seu trabalho.

Resumo em inglês.

Keywords: 3 keywords.

1. INTRODUÇÃO

Descreva o estado-da-arte do problema. Justifique e apresente os objetivos do seu trabalho.

Em todo texto, use os tamanhos e formatos deste modelo. Para citar as referências, utilize o Estilo Vancouver. Recomendamos o *NLM style guide for authors, editors, and publishers*¹ como guia para o estilo das referências.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Descrever os materiais e métodos do trabalho. A metodologia deve ser descrita com as informações necessárias para permitir a repetição do estudo por outro pesquisador. Deve-se preferir o uso de unidades no Sistema Internacional (SI).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresentar e discutir os resultados. Caso prefira, a seção de Discussão pode ser separada e posterior a seção de Resultados.

As figuras devem ser centradas e com legendas em itálico, como na Figura 1.



Figura 1: Legenda da figura.

As tabelas devem adotar o modelo apresentado na Tabela 1, sem linhas verticais.

Tabela 1: Exemplo de modelo de tabela.

Título			
Título	Coluna 1	Coluna 2	Coluna 3
Linha 1	XXX	XXX	XXX
Linha 2	XXX	XXX	XXX
Linha 3	XXX	XXX	XXX
Linha 4	XXX	XXX	XXX

As figuras e as tabelas devem obrigatoriamente ser chamadas no texto e devem conter legendas autoexplicativas. Deve-se evitar tabelas com poucas informações, que podem ser facilmente substituídas por texto corrido.

4. CONCLUSÃO

Conclusão do trabalho.

5. AGRADECIMENTOS

Apresente os agradecimentos justos. Esta seção não é obrigatória.

Patrias K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers [Internet]. 2nd ed. Wendling DL, technical editor. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2007 - [atualizado em 15 set 2011; citado em 10 jan 2012]. Disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>.

Anexo 2 - Normas de publicação: Revista Scientia Plena

O Jornal de Etnofarmacologia é dedicado à troca de informações e entendimentos sobre o uso das pessoas de plantas, fungos, animais, microorganismos e minerais e seus efeitos biológicos e farmacológicos com base nos princípios estabelecidos através de convenções internacionais. Povos primitivos, confrontados com a doença ea doença, descobriram uma riqueza de agentes terapêuticos úteis nos reinos vegetal e animal. O conhecimento empírico dessas substâncias medicinais e seu potencial tóxico foi transmitida por tradição oral e, por vezes, gravado em ervas e outros textos sobre a matéria médica. Muitas drogas valiosos de hoje (por exemplo, atropina, efedrina, tubocurarina, digoxina, reserpina), entrou em uso através do estudo de remédios indígenas. Chemists continuar a utilizar drogas derivadas de plantas (por exemplo, a morfina, o taxol, a fisostigmina, a quinidina, emetina) como protótipos nas suas tentativas de desenvolver mais eficaz e menos tóxico medicinais.

Por favor, note que as figuras e tabelas devem ser incorporados no texto o mais próximo possível de onde são inicialmente citados. Também é obrigatório fazer upload de arquivos separados gráficos e tabela como estes serão necessários se o seu manuscrito for aceito para publicação.

Classificação de seu papel

Por favor note que ao submeter o seu artigo, você terá que selecionar pelo menos uma classificação e pelo menos três das palavras dadas. Você pode visualizar a lista de classificações e palavras-chave (aqui). Esta informação é necessária pela Editoria para processar mais rapidamente o seu artigo. Além disso, você pode enviar palavras-chave livres como descrito abaixo em "Palavras-chave".

As "regras" de 5

Os Editores e Conselho Editorial têm desenvolvido as "Regras de 5" para a publicação no PEC. Nós produzimos cinco critérios claros de que cada autor tem de pensar antes de submeter um manuscrito e definir todo o processo de edição e revisão no trabalho. Para mais detalhes sobre como escrever um papel de classe mundial, por favor visite nosso Farmacologia Autor página de Recursos.

Autores são incentivados a enviar material de vídeo ou seqüências de animação para apoiar e melhorar a sua investigação científica. Para mais informações consulte o parágrafo sobre dados de vídeo abaixo.

Os tipos de papel

O Jornal de Etnofarmacologia aceitará as seguintes contribuições:

1. Artigos originais de pesquisa - cujo comprimento não é limitada e deve incluir título,

resumo, Métodos e Materiais, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências. Como uma diretriz, um papel comprimento total normalmente não ocupa mais do que 10 páginas impressas da revista, incluindo tabelas e ilustrações.

Política e ética

Na carta, o autor também deve declarar que o estudo foi realizado de acordo com as normas internacionais, nacionais e institucionais, considerando experiências com animais, estudos clínicos e os direitos da biodiversidade. Veja abaixo para mais informações. A importância etnofarmacológica do estudo também deve ser explicada na carta de apresentação.

Animais e estudos clínicos - Investigações utilizando animais experimentais deve indicar na seção Métodos que a pesquisa foi realizada de acordo com os princípios internacionalmente aceites para o uso de animais de laboratório e cuidar como os encontrados em, por exemplo, as orientações da Comunidade Europeia (Directiva CEE de 1986; 86 / 609/EEC) ou as diretrizes dos Estados Unidos (NIH publicação # 85-23, revisto em 1985). Investigações com seres humanos deve indicar na seção Métodos que a pesquisa seguiu as orientações da Declaração de Helsinki e Tóquio para os seres humanos, e foi aprovado pelo comitê de experimentação institucional humana ou equivalente, e que o consentimento informado foi obtido. Os editores irá rejeitar papéis se houver qualquer dúvida sobre a aptidão do animal ou procedimentos humanos utilizados.

Biodiversidade direitos - Cada país tem seus próprios direitos sobre sua biodiversidade. Consequentemente, para estudar plantas é preciso seguir as regras internacionais, nacionais e institucionais relativas aos direitos da biodiversidade.

Conflito de interesses

Todos os autores são convidados a divulgar qualquer conflito real ou potencial de interesse incluindo quaisquer relacionamentos financeiros, pessoais ou de outros com outras pessoas ou organizações dentro de três anos de início do trabalho apresentado que poderiam influenciar inapropriadamente, ou ser percebida de influenciar, o seu trabalho. Veja também <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Declaração de submissão e de verificação

Apresentação de um artigo implica que o trabalho descrito não tenha sido publicado anteriormente (exceto na forma de um resumo ou como parte de uma palestra publicada ou tese acadêmica ou como um pré-impressão eletrônica, consulte <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), que não está sob consideração para publicação em outro, que a sua publicação é aprovado por todos os autores e tácita ou explicitamente por parte das autoridades responsáveis, onde o trabalho foi realizado, e que, se aceito, não vai ser publicados em outros lugares na mesma forma, em Inglês ou em qualquer outra língua, incluindo eletronicamente, sem o consentimento por escrito do portador dos direitos autorais. Para verificar a originalidade, o seu artigo podem ser verificados pela

originalidade detecção serviço CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Mudanças a autoria

Esta política diz respeito à adição, exclusão ou rearranjo de nomes de autores na autoria de manuscritos aceitos:

Antes do manuscrito aceito é publicado em uma edição on-line: Pedidos para adicionar ou remover um autor, ou para reorganizar os nomes de autores, devem ser enviados para o Editor Gerente do autor do manuscrito aceito e deve incluir: (a) a razão o nome deve ser adicionados ou removidos, ou os nomes dos autores reorganizados e (b) a confirmação por escrito (e-mail, carta, fax) de todos os autores que concordam com a adição, remoção ou rearranjo. No caso da adição ou remoção de autores, esta inclui a confirmação do autor sendo adicionadas ou removidas. Pedidos que não são enviadas pelo autor correspondente será encaminhado pelo Gerente Jornal ao autor correspondente, que deve seguir o procedimento descrito acima. Note-se que: (1) Os gerentes Journal informa os editores de periódicos de quaisquer tais pedidos e (2) a publicação do manuscrito aceito em uma edição on-line está suspensa até que a autoria foi acordado.

Após o manuscrito aceito é publicado em uma edição on-line: Todos os pedidos para adicionar, excluir ou reorganizar os nomes dos autores em um artigo publicado em uma edição on-line vai seguir as mesmas políticas como mencionado acima e resultar em uma retificação.

Direitos autorais

Após a aceitação de um artigo, os autores serão convidados a preencher um "acordo de publicação Journal '(para mais informações sobre este e direitos autorais ver <http://www.elsevier.com/copyright>). A aceitação do acordo vai assegurar a maior difusão possível de informações. Um e-mail será enviado para o autor correspondente confirmando o recebimento do manuscrito, juntamente com a forma de um "acordo de publicação Journal 'ou um link para a versão online deste acordo.

Assinantes podem reproduzir tabelas de conteúdo ou preparar listas de artigos, incluindo resumos para circulação interna dentro de suas instituições. Autorização do editor é necessário para revenda ou distribuição fora da instituição e de todos os outros trabalhos derivados, incluindo compilações e traduções (por favor consultar <http://www.elsevier.com/permissions>). Se excertos de outras obras com direitos autorais são incluídos, o autor (es) devem obter permissão por escrito dos proprietários de direitos autorais e de crédito da fonte (s) no artigo. Elsevier formulários pré-impresos para uso por autores nestes casos: consulte <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retidos direitos de autor

Como um autor que você (ou seu empregador ou instituição) mantém certos direitos, por detalhes que são mencionados: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Papel da fonte de financiamento

Você é solicitado a identificar quem forneceu apoio financeiro para a realização de pesquisa e / ou preparação do artigo e descrever brevemente o papel do patrocinador (s), se houver, no delineamento do estudo; na coleta, análise e interpretação de dados; na escrita do relatório e na decisão de enviar o artigo para publicação. Se a fonte de financiamento (s) não tinha esse envolvimento, então isso deve ser declarado. Por favor, veja <http://www.elsevier.com/funding>.

Financiamento acordos corpo e políticas

Elsevier estabeleceu acordos e políticas desenvolvidas para permitir que os autores cujos artigos aparecem em revistas publicadas pela Elsevier, em conformidade com o manuscrito de potencial arquivamento requisitos especificados como condições de prêmios a sua concessão. Para saber mais sobre os acordos e políticas existentes por favor <http://www.elsevier.com/fundingbodies> visita.

Abrir o acesso

Este jornal normalmente não têm custo de publicação, no entanto, os autores podem agora optar por fazer os seus artigos disponíveis a todos (incluindo os não-assinantes) através da plataforma ScienceDirect, para o qual uma taxa de \$ 3000 se aplica (para mais informações sobre o acesso aberto ver [http://www.elsevier.com//acesso aberto sobre // acesso livre-opções](http://www.elsevier.com//acesso%20aberto%20sobre//acesso%20livre-opções)). Por favor, note que você só pode fazer esta escolha depois de receber a notificação de que seu artigo foi aceito para publicação, a fim de evitar qualquer percepção de conflito de interesses. A taxa exclui impostos e outros custos potenciais, tais como taxas de cor. Em alguns casos, as instituições e organismos de financiamento entraram em acordo com a Elsevier para atender a essas taxas, em nome dos seus autores. Os detalhes desses acordos estão disponíveis em <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Os autores de artigos aceitos, que desejam tirar proveito desta opção, deve preencher e enviar o formulário de pedido (disponível em <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>). Independentemente da opção de acesso que você escolher, você mantém muitos direitos de autor, incluindo o direito de publicar uma versão revista pessoal de seu artigo em seu próprio site. Mais informações podem ser encontradas aqui: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Língua (serviços de uso e edição)

Por favor, escreva seu texto em Inglês bom (uso americano ou britânico é aceita, mas não uma mistura destes). Autores que sentem que seu manuscrito idioma Inglês pode exigir de edição para eliminar possíveis erros gramaticais ou de ortografia e conformar para corrigir Inglês científica pode querer usar o serviço de edição de Inglês Língua disponível a partir de <http://webshop.elsevier.com/languageediting/> Elsevier WebShop ou visite o nosso cliente <http://support.elsevier.com> site de suporte para obter mais informações.

Submissão

Submissão à revista procede totalmente online e você será guiado passo a passo através

da criação e upload de seus arquivos. O sistema converte automaticamente arquivos de origem em um único arquivo PDF do artigo, que é usado no processo de revisão por pares. Por favor, note que mesmo que os arquivos de origem do manuscrito são convertidos em arquivos PDF no envio para o processo de revisão, esses arquivos de origem são necessários para processamento adicional após a aceitação. Toda a correspondência, incluindo a notificação da decisão do editor e pedidos de revisão, ocorre por e-mail eliminando a necessidade de uma fuga de papel.

Informações adicionais

Autores que querem apresentar um manuscrito deve consultar e ler cuidadosamente as questões recentes da revista para o formato e estilo. Os autores devem incluir as seguintes informações na página de rosto do manuscrito apresentado: endereço postal, fax, e-mail. Todos os manuscritos submetidos estão sujeitos a revisão por pares. Os requisitos mínimos para um manuscrito de se qualificar para revisão por pares são de que ele foi preparado por seguir estritamente o formato e estilo da revista, como mencionado, que está escrito em Inglês bom, e que ele é completo. Os manuscritos que não cumpriram esses requisitos serão devolvidos ao autor (s).

Além disso, recomenda-se seguir os padrões de pesquisa descritas nos artigos seguintes:

Cos P, Vlietinck AJ, DV Berghe et ai. Anti-infecciosos potencial de produtos naturais: como desenvolver uma forte in vitro "prova de conceito". *J Ethnopharmacol* 2006, 106: 290-302. Clique aqui.

Matteucci, E., Giampietro, O. Proposta aberto para a discussão: a definição de procedimentos acordados de diagnóstico em pesquisa do diabetes experimental. *J Ethnopharmacol* 2008.115: 163-172. Clique aqui.

T.SA. Froede e Y.S. Os modelos animais para testar Medeiros medicamentos com actividade anti-diabética potencial. *J Ethnopharmacol* 2008, 115: 173-183.

O uso de software de processamento de texto

É importante que o ficheiro ser guardado no formato nativo do processador de texto usado. O texto deve ser em formato de coluna única. Mantenha o layout do texto o mais simples possível. A maioria dos códigos de formatação será removida e substituída no processamento do artigo. Em particular, não utilize as opções do processador de texto para justificar o texto ou para hifenizar as palavras. No entanto, não usar negrito, itálico, subscrito, sobrescrito, etc Ao preparar tabelas, se você estiver usando uma grade de tabela, use apenas uma grade para cada tabela individual e não uma grade para cada linha. Se nenhuma rede for utilizado, guias, e não espaços, para alinhar colunas. O texto eletrônico deve ser preparado de uma forma muito semelhante à de manuscritos convencionais (ver também o Guia de Publicação com Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note que os arquivos de origem de figuras, tabelas e gráficos de texto será necessária ou não você incorporar suas figuras no texto. Veja também a seção sobre arte eletrônica.

Para evitar erros desnecessários que são fortemente aconselhados a usar a "verificação ortográfica" e funções "gramática-check" de seu processador de texto.

Estrutura de artigo

Bairro - seções numeradas
 Divida o seu artigo em seções bem definidas e numeradas. Subseções devem ser numeradas 1,1 (então 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc (o resumo não está incluído na seção numeração). Use esta numeração também para internos de referência cruzada: não se refere apenas ao "texto". Qualquer subseção poderá ser dado um título breve. Cada título deve aparecer em sua própria linha separada.

Introdução

Declare os objetivos do trabalho e fornecer uma base adequada, evitando uma pesquisa bibliográfica detalhada ou um resumo dos resultados.

Material e métodos
 Fornecem detalhes suficientes para permitir que o trabalho a ser reproduzido. Métodos já publicados devem ser indicados por uma referência: apenas modificações relevantes devem ser descritas.

Teoria / cálculo
 Uma seção Teoria deve se estender, não repetir, o fundo para o artigo já tratadas na Introdução e estabelecer as bases para o trabalho futuro. Em contraste, a seção de Cálculo representa um desenvolvimento prático a partir de uma base teórica.

Resultados

Os resultados devem ser clara e concisa.

Discussão

Este deve explorar o significado dos resultados do trabalho, e não repeti-los. A Resultados combinados e seção de discussão muitas vezes é apropriado. Evite citações extensas e discussão de literatura.

Conclusões

As principais conclusões do estudo podem ser apresentados em uma seção Conclusões curto, que pode estar sozinho ou formar uma subseção de uma discussão ou Resultados e Discussão seção.

Glossário

Por favor, abastecimento, como uma lista separada, as definições de termos específicos de campo usado em seu artigo.

Apêndices

Se houver mais de um apêndice, eles devem ser identificadas como A, B, etc Fórmulas e equações em apêndices deve ser dada numeração separada: Eq. (A.1), eq. (A.2), etc, em um apêndice posterior, a Eq. (B.1) e assim por diante. Da mesma forma para tabelas e

figuras: Tabela A.1, fig. A.1, etc

Informações da página Essencial título

- Título. Conciso e informativo. Títulos são frequentemente utilizados em sistemas de recuperação de informação. Evite abreviações e fórmulas, quando possível.
- Os nomes dos autores e afiliações. Quando o nome de família pode ser ambíguo (por exemplo, um nome duplo), indique isso claramente. Apresentar o endereço dos autores de afiliação (onde o trabalho tenha sido feito) abaixo os nomes. Indique todas as afiliações com uma carta sobrescrito minúsculas logo após o nome do autor e em frente ao endereço apropriado. Fornecer o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e, se possível, o endereço de e-mail de cada autor.
- Autor correspondente. Indicar claramente quem vai lidar com a correspondência em todas as fases de arbitragem e publicação, também pós-publicação. Certifique-se que os números de telefone (com código de país e de área) são fornecidos, além do endereço de e-mail eo endereço postal completo. Detalhes de contato deve ser mantido até à data pelo autor correspondente.
- Presente / endereço permanente. Se um autor se mudou desde que o trabalho descrito no artigo foi feito, ou estava visitando no momento, um "endereço de Presente" (ou "endereço permanente") pode ser indicada como uma nota de rodapé do nome desse autor. O endereço no qual o autor realmente fez o trabalho deve ser mantido como o endereço de afiliação principal. Números arábicos sobrescritos são usados para notas de rodapé tais.

Abstrato

Um resumo conciso e factual é necessária. O resumo deve indicar brevemente o objetivo da pesquisa, os principais resultados e conclusões principais. Um resumo é muitas vezes apresentada separadamente do artigo, assim que deve ser capaz de ficar sozinho. Por esta razão, as referências devem ser evitados, mas, se necessário, em seguida, citar o autor (es) e ano (s). Além disso, as abreviações não-padrão ou incomum deve ser evitado, mas se essencial que deve ser definida na sua primeira menção no abstrato em si.

O autor deve dividir o abstrato com a relevância títulos etnofarmacológica, Material e Métodos, Resultados e Conclusões.

Abstrato gráfica

Um resumo gráfica é obrigatório para este jornal. Deve resumir o conteúdo do artigo de uma forma concisa e pictórico projetado para capturar a atenção de um vasto público online. Os autores devem fornecer imagens que representam claramente o trabalho descrito no artigo. Resumos gráficos devem ser apresentados como um arquivo separado no sistema de inscrição online. Tamanho da imagem: por favor fornecer uma imagem com um mínimo de 531 × 1328 pixels (h × w) ou proporcionalmente mais. A imagem deve ser legível em um tamanho de 5 × 13 cm, utilizando uma resolução de tela regular de 96 dpi. Preferenciais tipos de arquivo: TIFF, EPS, PDF ou arquivos do MS Office. Veja <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> para exemplos.

Os autores podem fazer uso de Ilustração da Elsevier e serviço Aperfeiçoamento para garantir a melhor apresentação de suas imagens também de acordo com todos os requisitos técnicos: Serviço de Ilustração.

Palavras-chave

Depois de ter seleccionado uma classificação no sistema de submissão, os autores devem no mesmo passo seleccionar cinco palavras-chave. Essas palavras-chave vai ajudar os editores a categorizar o seu artigo com precisão e processá-la mais rapidamente. A lista das classificações e palavras-chave conjunto pode ser encontrada aqui.

Além disso, você pode fornecer um máximo de 6 palavras-chave específicas, usando a ortografia americana e evitar gerais e plural termos e conceitos múltiplos (evitar, por exemplo, "e", "de"). Ser poupado com abreviações: abreviaturas apenas firmemente estabelecidos no campo pode ser elegível. Essas palavras-chave será utilizada para fins de indexação.

Agradecimentos

Agrupar reconhecimentos em uma seção separada, no final do artigo, antes das referências e não, portanto, incluí-los na página de título, como uma nota de rodapé para o título ou não. Listar aqui aqueles indivíduos que forneceram ajuda durante a investigação (por exemplo, oferecendo ajuda linguagem, escrita assistência ou prova de ler o artigo, etc.)

Banco de dados que liga

Elsevier encoraja os autores a conectam artigos com bancos de dados externos, dando aos seus leitores o acesso de um clique a bases de dados relevantes que ajudam a construir uma melhor compreensão da pesquisa descrita. Por favor, consulte identificadores de banco de dados relevantes usando o seguinte formato em seu artigo: Base de dados: xxxx (por exemplo, TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). Veja <http://www.elsevier.com/databaselinking> para mais informações e uma lista completa de bancos de dados suportados.

Matemática fórmulas

Fórmulas simples presentes na linha de texto normal, sempre que possível, e usar o solidus (/) em vez de uma linha horizontal para pequenas termos fraccionários, por exemplo, X / Y. Em princípio, as variáveis devem ser apresentados em itálico. Poderes de e são muitas vezes mais convenientemente denotado por exp. Número consecutivamente as equações que têm de ser apresentadas separadamente do texto (se referido explicitamente no texto).

Notas de Rodapé

As notas devem ser usados com moderação. Número los consecutivamente ao longo do artigo, usando números arábicos sobrescritos. Wordprocessors muitas construir notas de

rodapé no texto, e esse recurso pode ser usado. Se não for este o caso, indicar a posição das notas de rodapé no texto e apresentar as notas de rodapé em si separadamente no final do artigo. Não incluir notas de rodapé na lista de referência.

Notas de mesa

Indique cada nota de rodapé em uma tabela com uma letra minúscula sobrescrito.

Obra

Arte eletrônica

Pontos gerais

- Certifique-se de usar lettering uniforme e dimensionamento de seu trabalho artístico original.
- Incorporar as fontes usadas se o aplicativo fornece essa opção.
- Procure usar as seguintes fontes em suas ilustrações: Arial, Courier, Times New Roman, símbolo ou fontes de uso que parecem semelhantes.
- Número das ilustrações de acordo com a sua sequência no texto.
- Use uma convenção de nomenclatura lógica para seus arquivos de arte.
- fornecer legendas para as ilustrações separadamente.
- Tamanho fechar as ilustrações para as dimensões desejadas da versão impressa.
- Apresentar cada ilustração como um arquivo separado.

Um guia detalhado sobre arte eletrônica está disponível em nosso site: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

Você está convidado a visitar este site, alguns trechos da informações detalhadas são dadas aqui.

Formatos

Se a sua arte eletrônica é criado em um aplicativo do Microsoft Office (Word, PowerPoint, Excel), por favor oferta "como está" no formato de documento nativa. Independentemente do aplicativo usado diferente do Microsoft Office, quando o seu trabalho artístico eletrônico é finalizado, por favor 'Salvar como' ou converter as imagens para um dos seguintes formatos (observe os requisitos de resolução para desenhos de linhas, meios-tons e de linha / meio-tom combinações abaixo indicados):

EPS (ou PDF): desenhos vetoriais, incorporar todas as fontes utilizadas.
 TIFF (ou JPEG): cores ou tons de cinza fotografias (meios-tons), mantenha a um mínimo de 300 dpi.

TIFF (ou JPEG): desenhos de bitmap (puros pixels em preto e branco) de linha, manter um mínimo de 1000 dpi.

TIFF (ou JPEG): Combinações de bitmap linha / meio-tom (cor ou em tons de cinza), manter um mínimo de 500 dpi.

Por favor, não:

- Fornecimento de arquivos que são otimizados para uso em tela (por exemplo, GIF, BMP, PICT, WPG), estes geralmente têm um baixo número de pixels e conjunto limitado de cores;
- Arquivos de Abastecimento que são muito baixos em alta;
- Apresentar os gráficos que são desproporcionalmente grande para o conteúdo.

Por favor, note que as figuras e tabelas devem ser incorporados no texto o mais próximo possível de onde são inicialmente citados. Também é obrigatório fazer upload de

arquivos separados gráficos e tabela como estes serão necessários se o seu manuscrito for aceito para publicação.

Artwork cor

Certifique-se de que os arquivos de arte estão em um formato aceitável (TIFF, EPS ou arquivos do MS Office) e com a resolução correta. Se, em conjunto com o seu artigo aceito, você apresentar valores de cor utilizáveis depois Elsevier irá garantir, sem nenhum custo adicional, que esses números aparecem a cores na Web (por exemplo, ScienceDirect e outros sites), independentemente de haver ou não estas ilustrações são reproduzidas em cores na versão impressa. Para reprodução de cores na impressão, você receberá informações sobre os custos de Elsevier após o recebimento de seu artigo aceito. Por favor, indique a sua preferência por cor: em versão impressa ou na Web apenas. Para mais informações sobre a preparação de obras de arte eletrônica, consulte <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Atenção: Devido a complicações técnicas que podem surgir através da conversão de valores de cor para "escala de cinza" (para a versão impressa que você não deve optar por cores na impressão) envie além utilizáveis versões preto e branco de todas as ilustrações coloridas.

As legendas das figuras

Assegurar que cada ilustração tem uma legenda. Fornecer legendas em separado, não ligado à figura. A legenda deve compreender um título breve (não na própria figura) e a descrição da figura. Manter o texto nas próprias ilustrações para um mínimo, mas explicar todos os símbolos e abreviações utilizadas.

Tabelas

Número tabelas consecutivamente de acordo com a sua aparição no texto. Coloque notas de rodapé nas tabelas abaixo do corpo da tabela e indicar-lhes sobrescritos letras minúsculas. Evite regras verticais. Ser poupar no uso de tabelas e garantir que os dados apresentados em tabelas não duplicar resultados descritos em outras partes do artigo.

Referências

Citação no texto

Certifique-se de que todas as referências citadas no texto também está presente na lista de referência (e vice-versa). Todas as referências citadas no resumo deve ser dada na íntegra. Resultados não publicados e comunicações pessoais não são recomendadas na lista de referência, mas pode ser mencionada no texto. Se essas referências estão incluídas na lista de referências devem seguir o estilo de referência padrão da revista e deve incluir uma substituição da data de publicação de "resultados não publicados". "Comunicação pessoal" não serão aceitos como referência. Citação de uma referência como "no prelo" implica que o item foi aceito para publicação.

Referência de software de gestão

Esta revista tem modelos padrão disponíveis na chave de referência de gerenciamento de pacotes EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) e Gerente de

Referência (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Usando plug-ins para processamento de texto pacotes, os autores só precisa selecionar o modelo apropriado revista ao preparar seu artigo ea lista de referências e citações a estes serão formatados de acordo com o estilo da revista, que é descrito abaixo.

Estilo de referência

Texto: Todas as citações no texto devem se referir a:

1. Só autor: o nome do autor (sem iniciais, a menos que haja ambigüidade) e do ano de publicação;

2. Dois autores: ambos os nomes dos autores eo ano de publicação;

3. Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de "et al." eo ano de publicação.

As citações podem ser feitas diretamente (ou entre parênteses). Grupos de referências devem ser listadas em ordem alfabética primeiro, em seguida, em ordem cronológica.

Exemplos: ".. Como demonstrado (Allan, 1996a, 1996b, 1999; Allan e Jones, 1995) Kramer et al (2000) mostraram recentemente"

Lista: As referências devem ser organizadas em ordem alfabética primeiro e depois cronologicamente também classificados, se necessário. Mais do que uma referência do mesmo autor (es) no mesmo ano devem ser identificados pelas letras "a", "b", "c", etc, colocado após o ano de publicação. Por favor, use os nomes completos de periódicos.

Exemplos:

A referência a uma publicação do jornal:

Van der Geer, J., Hanraads, JAJ, Lupton, RA, 2000. A arte de escrever um artigo científico. *Jornal de Comunicação Científica*. 163, 51-59.

A referência a um livro:

Strunk Jr., W., White, E. B., 1979. *The Elements of Style*, ed terceiro. Macmillan, New York.

Referência a um capítulo de um livro editado:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. Como preparar uma versão eletrônica do seu artigo, in: Jones, BS, Smith, RZ (Eds.), *Introdução à era eletrônica*. E-Publishing Inc., Nova Iorque, pp 281-304.

Os dados de vídeo

Elsevier aceita material de vídeo e seqüências de animação para apoiar e melhorar a sua investigação científica. Autores que têm arquivos de vídeo ou animação que desejam apresentar, juntamente com seu artigo são fortemente encorajados a incluir links para estes dentro do corpo do artigo. Isto pode ser feito da mesma maneira como uma figura ou tabela, referindo-se o conteúdo de vídeo ou a animação e registrando no corpo do texto, onde ele deve ser colocado. Todos os arquivos enviados devem ser devidamente identificados para que se relacionam diretamente com o conteúdo do arquivo de vídeo. A fim de garantir que o seu vídeo ou material de animação é directamente utilizável, por favor fornecer os arquivos em um de nossos formatos de arquivo recomendadas com um tamanho máximo de 50 MB preferido. Vídeo e animação arquivos fornecidos será publicado online na versão eletrônica do seu artigo em produtos Elsevier ScienceDirect da Web, incluindo: <http://www.sciencedirect.com>. Por favor, forneça "stills" com seus arquivos: você pode escolher qualquer quadro do vídeo ou animação ou fazer uma

imagem separada. Estes serão utilizados em vez de ícones padrão e personalizar o link para seus dados de vídeo. Para instruções mais detalhadas visite nossas páginas de instruções de vídeo em <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Nota: desde vídeo e animação não pode ser incorporado na versão impressa da revista, por favor fornecer um texto, tanto para a electrónica ea versão de impressão para as partes do artigo que se referem a este conteúdo.

Dados complementares

Elsevier aceita material suplementar eletrônico para apoiar e melhorar a sua investigação científica. Arquivos suplementares oferecem as possibilidades adicionais autor publicar aplicativos de apoio, imagens em alta resolução, conjuntos de dados de fundo, clipes de som e muito mais. Arquivos complementares fornecidos será publicado online junto com a versão eletrônica do seu artigo em produtos Elsevier ScienceDirect da Web, incluindo: <http://www.sciencedirect.com>. A fim de garantir que o material apresentado é directamente utilizável, por favor fornecer os dados em um de nossos formatos de arquivo recomendadas. Os autores devem apresentar o material em formato electrónico em conjunto com o artigo e fornecer uma legenda concisa e descritiva para cada arquivo. Para instruções mais detalhadas visite nossas páginas de instruções arte em <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Lista submissão

A lista a seguir serão úteis durante a verificação final de um artigo antes de enviá-lo para a revista para a revisão. Por favor, consulte este Guia para Autores para mais detalhes de qualquer item.

Certifique-se que os seguintes itens estão presentes:

Um autor foi designado como o autor correspondente com detalhes de contato:

- Endereço de E-mail
- O endereço postal completo
- Os números de telefone

Todos os arquivos necessários foram enviados, e conter:

- Palavras-chave
- Todas as legendas das figuras
- Todas as tabelas (incluindo título, descrição, notas de rodapé)

Outras considerações

Manuscrito • foi 'spell-check "e" gramática verificado "

- Referências são no formato correto para este jorna l
- Todas as referências mencionadas na lista de referência são citados no texto, e vice-versa
- Permissão foi obtida por uso de material protegido por direitos autorais de outras fontes (incluindo o Web)

Figuras coloridas • estão claramente marcados como sendo destinados para reprodução de cor na Web (gratuito) e na cópia, ou para ser reproduzida em cores na Web (gratuito) e em preto-e-branco na impressão

- Se a cor somente na Web é necessário, em preto-e-branco versões das figuras também são fornecidos para fins de impressão

Para mais informações visite o nosso site de suporte ao cliente em <http://support.elsevier.com>.

O uso do Digital Object Identifier

O Digital Object Identifier (DOI) pode ser usado para citar e vincular a documentos eletrônicos. O DOI consiste de uma cadeia de caracteres alfa-numérico único que é atribuído a um documento do editor sobre a publicação inicial eletrônica. O DOI atribuído nunca muda. Portanto, é um meio ideal para citando um documento, em particular «artigos na imprensa », porque eles ainda não receberam sua plena informação bibliográfica. Exemplo de um DOI corretamente dado (em formato de URL, aqui um artigo no Journal Letters Física B):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

Quando você usa uma DOI para criar links para documentos na web, os DOIs são garantidos para nunca mudar.

Provas

Um conjunto de provas de página (como arquivos PDF) será enviada por e-mail ao autor (se não tiver um endereço de e-mail, então as provas de papel serão enviados por correio) ou, um link será fornecida no e-mail para que os autores podem baixar os próprios arquivos. Elsevier oferece agora autores com provas em PDF que pode ser anotado, para isso você vai precisar baixar o Adobe Reader versão 7 (ou superior), disponível a partir de <http://get.adobe.com/reader>. Instruções de como fazer anotações em arquivos PDF vai acompanhar as provas (também dado em linha). Os requisitos de sistema exatas são dadas no site da Adobe: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>. Se você não quiser usar a função de anotações PDF, você pode listar as correções (incluindo respostas ao formulário de consulta) e devolvê-los a Elsevier em um e-mail. Por favor, liste suas correções citando o número da linha. Se, por qualquer razão, isto não é possível, em seguida, marcar as correções e quaisquer outros comentários (incluindo respostas ao formulário de consulta) em uma cópia impressa de sua prova e volta por fax ou digitalizar as páginas e e-mail, ou por correio . Utilize este única prova para verificar a composição, edição, exaustividade e correção do texto, tabelas e figuras. Alterações significativas no artigo como aceito para publicação somente será considerado nesta fase, com a permissão do Editor. Vamos fazer todo o possível para obter o seu artigo publicado com rapidez e precisão - por favor, vamos ter todas as suas correções dentro de 48 horas. É importante assegurar que todas as correções são enviados de volta para nós, de uma comunicação: por favor, verifique com cuidado antes de responder, como a inclusão de quaisquer correções subsequentes não pode ser garantida. Revisão é de sua exclusiva responsabilidade. Note que Elsevier pode prosseguir com a publicação de seu artigo, se nenhuma resposta for recebida.

Separatas

O autor correspondente, sem nenhum custo, será fornecido com um arquivo PDF do artigo por e-mail (o arquivo PDF é uma versão com marca d'água do artigo publicado e inclui uma folha de rosto com a imagem da capa do jornal e um aviso descrevendo os

termos e condições de uso). Por uma taxa extra, separatas em papel podem ser encomendados através do formulário de pedido separata que é enviado uma vez que o artigo for aceito para publicação. Ambos correspondente e co-autores pode ordenar separatas a qualquer momento através WebShop Elsevier (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Autores requerem cópias impressas de artigos múltiplos podem usar Elsevier WebShop do "Criar seu próprio livro" serviço para agrupar vários artigos dentro de uma capa do single (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints/myarticlesservices/booklets>).
