

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
IASMINE ANDREZA BASILIO DOS SANTOS ALVES

**PADRONIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA, DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO
DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE TANINOS EM
Simarouba amara AUBL.**

IASMINE ANDREZA BASILIO DOS SANTOS ALVES

**PADRONIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA, DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO
DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE TANINOS EM
Simarouba amara AUBL.**

Dissertação apresentada Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração: Obtenção e Avaliação de Produtos Naturais e Bioativos.

Orientadora: Prof. Dra. Karina Perrelli Randau

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

RECIFE-2014

IASMINE ANDREZA BASILIO DOS SANTOS ALVES

**Padronização Farmacognóstica, desenvolvimento e validação de metodologia analítica
para determinação de taninos em *Simarouba amara* Aubl.**

Dissertação apresentada Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 17/02/2014

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Karina Perrelli Randau (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Evani de Lemos Araújo (Examinadora Externa)
Faculdade Pernambucana de Saúde

Prof. Dr. Severino Granjeiro Júnior (Examinador Externo)
Faculdade Pernambucana de Saúde

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr, Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof^a. Dr^a. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr, Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

Dedico este trabalho a Deus, por me conceder a dádiva da vida, aos meus pais, Iasnaia e Roberto, por estarem sempre ao meu lado, à minha irmã, Monique, por ser uma companheira insubstituível, ao meu namorado, Bruno, por toda paciência e amor que tem me dado, e a todos os meus familiares e amigos, cujo apoio foi fundamental no decurso de minha jornada.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Karina Perrelli Randau, por todo o incentivo, dedicação, amizade e apoio integral no desenvolvimento deste trabalho e no meu amadurecimento profissional e pessoal.

Ao meu co-orientador Luiz Alberto de Lira Soares, pelo respaldo científico.

Aos meus colegas de laboratório, Alex Lucena, Asaph Santana, Bárbara Nunes e Henrique Miranda, pela compreensão, tolerância e significativa contribuição nas atividades de pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e FACEPE, pelo apoio financeiro.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, pelos valiosos ensinamentos.

Às minhas amigas, Rafaela, Talita, Jéssika, Tatiane e Tamires, que estiveram ao meu lado nesses 2 anos de jornada.

Aos meus pais, irmã, namorado e familiares, cujo apoio e incentivo constituíram um dos pilares para a concretização deste trabalho.

“Os ideais que cultivamos, nossos maiores sonhos e esperanças mais ardentes podem não se realizar durante a nossa vida. Mas isto não é o principal. Saber que em seu tempo você cumpriu seu dever e viveu de acordo com as expectativas de seus companheiros é em si uma experiência compensadora e uma realização magnífica.”

Nelson Mandela

RESUMO

Simarouba amara Aubl. (Simaroubaceae) é amplamente utilizada na medicina popular brasileira e de países tropicais para tratamento de malária, parasitas intestinais, diarreia, anemia, sífilis, dispepsia. Apesar de sua importância etnofarmacológica, de ter sido integrante da primeira e segunda edições da Farmacopeia Brasileira e de ser empregada na fitoterapia e homeopatia, poucos estudos acerca de seu controle de qualidade são encontrados na literatura. Nesse contexto, o presente estudo objetivou a realização de uma padronização farmacognóstica, nos âmbitos farmacobotânico, fitoquímico, e físico-químico além do desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação de taninos na droga vegetal. Segundo a caracterização farmacobotânica, a raiz apresenta parênquima cortical compacto e cilindro vascular anficrival, além de inclusões e abundantes cristais poliédricos em seu parênquima axial. O caule demonstrou a presença de células tabulares no súber, parênquima cortical com células pétreas, parênquima axial do tipo paratraqueal aliforme, com cristais, além de canais secretores, encontrados no xilema. A folha é hipostomática, com estômatos anomocíticos e papilas. O mesofilo é dorsiventral, com parênquima lacunoso compreendido por células brachiformes. A nervura central apresenta contorno biconvexo, epiderme uniestratificada e sistema vascular anficrival. A triagem fitoquímica revelou a presença de quassinoides, fenilpropanoglicosídeos, derivados cinâmicos, taninos, cumarinas, triterpenos, esteroides, mono e sesquiterpenos. Quanto ao estudo físico-químico, o teor de umidade foi 8,00 ($\pm 0,05$) %; os teores de cinzas totais e insolúveis em ácido apresentaram valores de 0,98($\pm 0,02$) % e 0,54($\pm 0,07$) %, respectivamente. A análise granulométrica permitiu classificar o pó como grosso. Para a determinação de taninos, foi desenvolvido e validado um método espectrofotométrico baseado em quantificação a um comprimento de onda de 760 nm, após adição do reagente Folin-Ciocalteu. O estudo permitiu especificar as quantidades ótimas de material vegetal e reagentes e demonstrou que o método foi linear, específico, preciso, exato e robusto, destacando-se pela facilidade de execução e baixo custo, além de constituir uma ferramenta útil para o controle de qualidade de *Simarouba amara*. Diante disso, as descrições anatômicas, estabelecidas pelo estudo farmacobotânico, os valores determinados pelos ensaios físico-químicos, as classes de metabólitos visualizadas na caracterização fitoquímica e a metodologia espectrofotométrica desenvolvida para a determinação de taninos em *Simarouba amara* constituem parâmetros para o controle de qualidade desta matéria-prima vegetal, fornecendo subsídios para a garantia da autenticidade da espécie, homogeneidade de seus constituintes e eficiência de procedimentos que abrangem desde a coleta, secagem até a pulverização do vegetal.

Palavras-Chave: *Simarouba amara*. Controle de qualidade. Análise Quantitativa. Taninos.

ABSTRACT

Simarouba amara Aubl. (Simaroubaceae) is widely used in folk medicine of tropical countries for the treatment of malaria, intestinal parasites, diarrhea, anemia, syphilis, dyspepsia. Although its ethnopharmacological importance, it has been a member of the first and second editions of Brazilian Pharmacopoeia and it has been employed in phytotherapy and homeopathy, few studies about its quality control are found in the literature. In this context, the present study aimed to conduct a pharmacognostic standardization, in pharmacobotanical, phytochemical and physicochemical fields, in addition to develop and validate an analytical methodology for the determination of tannins in the plant drug. According to pharmacobotanical characterization, the root presents compact cortical parenchyma and anficrival vascular cylinder, besides inclusions and abundant polyhedral crystals in its axial parenchyma. The stem showed the presence of tabular cells in suber, cortical parenchyma composed of stone cells, paratracheal aliform axial parenchyma, with crystals, besides secretory canals found in xylem. The leaf is hypostomatic with anomocytic stomata and presence of papillae. The mesophyll is dorsiventral, with spongy parenchyma comprised of bractiform cells. The midrib has uniseriate epidermis and anficrival vascular system. Phytochemical screening revealed the presence of quassinoids, phenylpropano glycosides, cinnamic derivatives, tannins, coumarins, triterpenes, sterols, mono and sesquiterpenes. As for the physico-chemical study, the moisture content was $8.00 (\pm 0.05) \%$, the levels of total and acid insoluble ash had values of $0.98 (\pm 0.02) \%$ and $0.54 (\pm 0.07) \%$, respectively. The size analysis allowed us to classify the dust as thick. For the tannin content determination it was developed and validated a spectrophotometric method based on a measurement wavelength of 760 nm after addition of Folin-Ciocalteu reagent. The study allowed specify the optimum amounts of plant material and reagents and demonstrated that the method was linear, specific, precise, accurate and robust, highlighted by the ease of implementation and low cost, besides being a useful tool for quality control of *Simarouba amara*. Therefore, the anatomical descriptions, established by pharmacobotanical study, the values determined by physico-chemical tests, the classes of metabolites displaying the phytochemical characterization and the spectrophotometric method developed for the determination of tannins in *Simarouba amara* constitute parameters for quality control of this plant drug, providing subsidies to guarantee the species authenticity, its constituents homogeneity and efficiency of procedures ranging from collecting , drying up spraying the plant .

Keywords: *Simarouba amara*. Quality control. Quantitative Analysis. Tannins.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

INTRODUÇÃO

- Figura 1.** *Simarouba amara* Aubl. em seu habitat e suas diferentes partes: folha, flor, fruto imaturo e caule. 21

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Algumas espécies da família Simaroubaceae. 61

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Raiz de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae). 87
- Figura 2.** Caule de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae). 88
- Figura 3.** Caule de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae). 89
- Figura 4.** Macerado do caule de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae). 90
- Figura 5.** Folha de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae). 91
- Figura 6.** Pecíolo de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae). 92

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Histograma de distribuição granulométrica das cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl. 106
- Figura 2.** Curvas de retenção e passagem das cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl. 106

CAPÍTULO IV

- Figura 1.** Superfície de Resposta obtida através da análise fatorial em valores de Absorvância (U.A.). 134
- Figura 2.** Gráfico de Pareto para as variáveis: quantidade de droga e volume de Folin-Ciocalteu. 135
- Figura 3.** Variações entre agentes precipitantes e suas respectivas quantidades para determinação espectrofotométrica de taninos totais em *Simarouba amara*. 136
- Figura 4.** Curvas de linearidade e especificidade da solução extrativa de *Simarouba amara*. 136

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Constituintes químicos das principais espécies da família Simaroubaceae. 61

Tabela 2. Atividades biológicas dos principais gêneros da família Simaroubaceae. 70

CAPÍTULO III

Tabela 1. Sistemas cromatográficos, padrões e reveladores empregados na prospecção fitoquímica de *Simarouba amara*. 100

Tabela 2. Prospecção fitoquímica da Casca do Caule de *Simarouba amara* Aubl. 102

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Matriz do planejamento fatorial aplicada para avaliar a influência da quantidade de droga e volume do reagente Folin-Ciocalteu na resposta do método (absorbância). 137

Tabela 2. Curvas de calibração do padrão (pirogalol) e extrato da casca do caule de *Simarouba amara*. 137

Tabela 3. Avaliação da robustez variando-se a concentração de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3), luminosidade e comprimento de onda. 138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de Etila
AcOH	Ácido Acético
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CV/DPR	Coeficiente de Variação
C-18	Esqueleto com 18 carbonos
C-19	Esqueleto com 19 carbonos
C-20	Esqueleto com 20 carbonos
C-22	Esqueleto com 22 carbonos
C-25	Esqueleto com 25 carbonos
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CYP1A1	Enzima citocromo P 1A1
DP	Desvio Padrão
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
FAA	Formol: Ácido Acético: Álcool
FACEPE	Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco
H ₂ O	Água
HCOOH	Ácido Fórmico
ICH	International Conference on Harmonization
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio anidro

NEU	Ácido Etilborilaminoéster
R ²	Coeficiente de Determinação
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RE	Resolução Específica
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TT	Teor de Taninos
UV-Vis	Ultravioleta-Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
cm	Centímetros
Δ	Delta
g	Gramas
°C	Graus Célsius
$\pm$	Mais ou menos
m/v	Massa/volume
μg	Microgramas
mg	Miligramas
mL	Mililitros
nm	Nanômetros
p/v	Peso/volume
%	Porcentagem
U.A.	Unidades de Absorbância
v/v	Volume/volume

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3. CAPÍTULO I – FAMÍLIA SIMAROUBACEAE: BOTÂNICA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS.	27
3.1 Introdução	28
3.2 Material e Métodos	28
3.3 Botânica	29
3.4 Constituintes Químicos	31
3.5 Atividades Biológicas	35
3.6 Discussão e Conclusão	41
3.7 Agradecimentos	42
3.8 Contribuições dos Autores	42
3.9 Referências	43
4. CAPÍTULO II – ANATOMIA DA RAIZ, CAULE E FOLHA DE <i>Simarouba amara</i> AUBL. (SIMAROUBACEAE).	74
4.1 Introdução	75
4.2 Material e Métodos	77
4.2.1 Material Vegetal	77
4.2.2 Caracterização Farmacobotânica	77
4.3 Resultados e Discussão	78
4.4 Conclusão	81
4.5 Agradecimentos	82
4.6 Contribuições dos Autores	83
4.7 Referências	83

5. CAPÍTULO III – CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA DE <i>Simarouba amara</i> AUBL. (SIMAROUBACEAE)	96
5.1 Introdução	98
5.2 Material e Métodos	99
5.2.1 Material Vegetal	99
5.2.2 Prospeção Fitoquímica	99
5.2.3 Caracterização Físico-Química	101
5.3 Resultados e Discussão	102
5.4 Conclusão	107
5.5 Agradecimentos	108
5.6 Referências	108
6. CAPÍTULO IV – DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR ESPECTROFOTOMETRIA VISÍVEL PARA QUANTIFICAÇÃO DE TANINOS TOTAIS NA CASCA DO CAULE DE <i>Simarouba amara</i> AUBL. (SIMAROUBACEAE)	117
6.1 Introdução	119
6.2 Material e Métodos	120
6.2.1 Material Vegetal	120
6.2.2 Reagentes e Substância de Referência	121
6.2.3 Determinação Espectrofotométrica de Taninos Totais na Casca de <i>Simarouba amara</i>	121
6.2.3.1 Preparo da Solução Extrativa	121
6.2.3.2 Preparo da Solução para Determinação de Polifenóis Totais	121
6.2.3.3 Preparo da Solução para Polifenóis Não Adsorvidos Por Pó de pele	121
6.2.3.4 Preparo da Solução Padrão de Pirogalol	122
6.2.3.5 Cálculo do Teor de Taninos Totais	122
6.2.4 Desenvolvimento do Método	122
6.2.5 Validação	123

6.2.5.1 Linearidade da Amostra e do Padrão	124
6.2.5.2 Limites de Detecção e de Quantificação	124
6.2.5.3 Especificidade	124
6.2.5.4 Precisão	125
6.2.5.5 Exatidão	125
6.2.5.6 Robustez	125
6.3 Resultados	125
6.4 Discussão	129
6.5 Conclusão	130
6.6 Agradecimentos	130
6.7 Referências	130
7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	140
REFERÊNCIAS	144
ANEXOS	149
ANEXO I – CROMATOGRAMAS DO EXTRATO METANÓLICO DA CASCA DO CAULE DE <i>Simarouba amara</i> AUBL.	149
ANEXO II – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA	150
ANEXO III – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS	156
ANEXO IV – NORMAS DA REVISTA ÁRVORE	158

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O emprego de plantas medicinais para o tratamento de enfermidades está documentado desde as primeiras civilizações (MACIEL *et al.*, 2002; SARDERSAI, 2002). Os papiros egípcios (1.500 a.C.), os escritos chineses nas folhas de bambu e as tábuas de argila dos sumérios estão dentre os primeiros registros, estando o tratado médico escrito pelo imperador chinês Shen Wung datado de 3.700 a.C. No Brasil, o uso das plantas medicinais está intrinsecamente relacionado com a cultura indígena, apesar de ter havido uma contribuição estrangeira para o aumento do arsenal terapêutico de origem vegetal, com o transporte de espécies nativas da Europa, África e outras partes da América (SIMÕES *et al.*, 2002).

A procura cada vez maior pela utilização de terapias alternativas e complementares para o tratamento ou cura de enfermidades (VEIGA-JUNIOR *et al.*, 2005) aliada à descoberta de vários compostos farmacologicamente ativos de origem vegetal e ao alto faturamento das indústrias farmacêuticas com a venda destes itens tem impulsionado a pesquisa na área de produtos naturais (TULP; BOHLIN, 2002). Neste contexto, destaca-se o Brasil, por ser considerado como um dos países de maior biodiversidade do planeta, além de apresentar uma rica diversidade étnica e cultural (KLEIN *et al.*, 2009).

A família Simaroubaceae possui 32 gêneros com aproximadamente 200 espécies de distribuição pantropical. Caracteriza-se quimicamente pela presença de quassinoides, metabólitos secundários responsáveis por um amplo espectro de atividades biológicas, dentre as quais destacam-se as ações antitumoral, antimalárica, antiviral, anorexígena, inseticida, amebicida, antiparasitária, herbicida, dentre outras (BHATTACHARJEE *et al.*, 2008; MENDES; CARLINI, 2007; MUHAMMAD *et al.*, 2004; SARAIVA; PINTO, 2006; SILVA *et al.*, 2010).

Simarouba amara Aubl. (Simaroubaceae), popularmente conhecida como marupá ou caixeta, é uma árvore tropical de médio porte encontrada nas Américas Central e do Sul bem como nas ilhas do Caribe. No Brasil, está presente na Amazônia e em Estados como o Maranhão (MIRANDA, 1998), Ceará (SEIXAS *et al.*, 2000), Pernambuco (LOUREIRO *et al.*, 1979), Paraíba, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (LORENZI, 1998; PIRANI; THOMAS, 2013).

É uma planta dióica, semidecídua, heliófita, seletiva higrófila (DECLERCQ, 2004; LORENZI, 1998) polinizada por insetos e dispersa principalmente por vertebrados (aves e

grandes mamíferos) (GROSVENOR *et al.*, 2006). As flores unissexuais ocorrem em panículas terminais compostas por numerosas, pequenas e pálidas flores amarelas (HARDESTY *et al.*, 2005). O fruto consiste numa drupa carnosa, de formato ovoide a elipsoide (HARDESTY *et al.*, 2010; MIRANDA, 1998) (Figura 1).

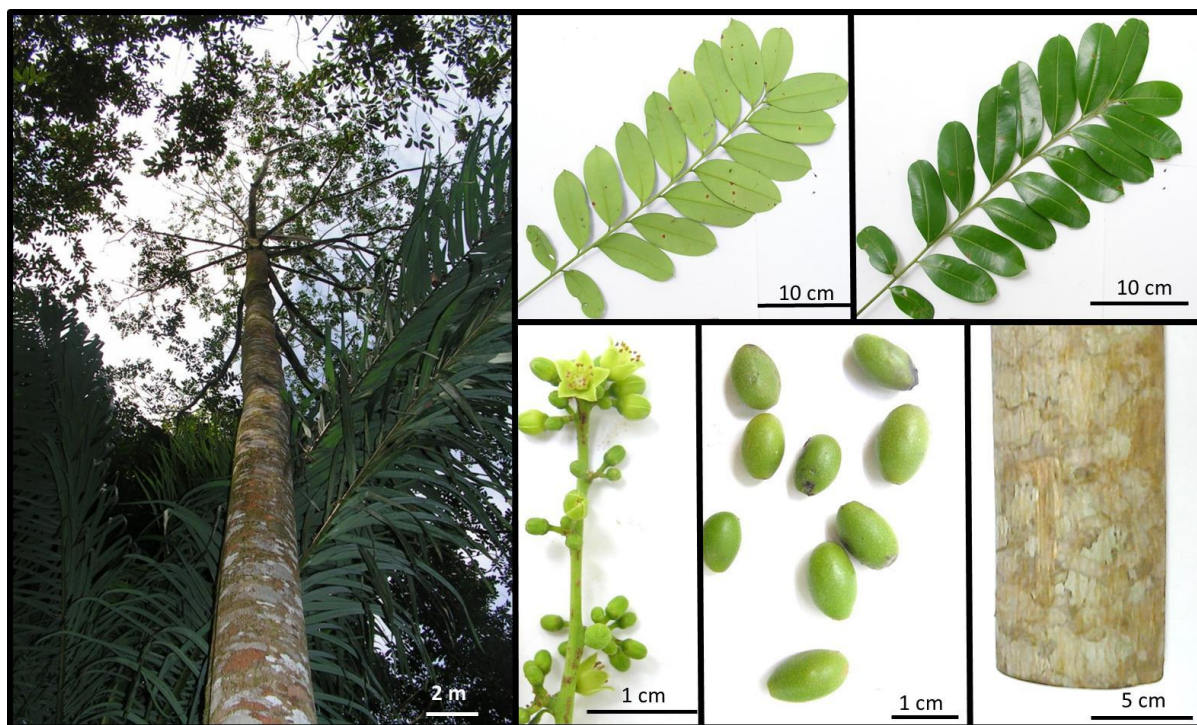


Figura 1. *Simarouba amara* Aubl. em seu habitat e suas diferentes partes: folha, flor, fruto imaturo e caule.

Foto: Tarcísio Leão, 2013.

Simarouba amara consiste numa planta cuja história na medicina tradicional dos trópicos é de longa data. Em 1713, foi introduzida na França a partir das Guianas, caracterizando-se como um dos poucos tratamentos efetivos contra uma epidemia de disenteria disseminada no país (LORENZI; MATOS, 2002). Quanto aos usos etnofarmacológicos, as cascas de seu caule, parte mais utilizada, são empregadas no tratamento de malária, leucemia (LUZ, 2001; GROSVENOR *et al.*, 2006; KAUR *et al.*, 2009), disenteria (DUKE; VASQUES, 1994), além de serem utilizadas como agente tônico, estomático, antitérmico, cicatrizante, anti-helmíntico (SCOLES *et al.*, 2006) e na melhoria da retenção de água pela pele (BONTÉ *et al.*, 1996; CASETTI *et al.*, 2011). Elas também estão disponíveis na fitoterapia e homeopatia (SOARES, 2014). Os frutos são usados como antitérmicos, vermífugos, anti-sifílicos e no combate a piolhos. As raízes são usadas como

eméticas, em epilepsia (VIEIRA, 1991 e 1992), como agente tônico (PARROTA *et al.*, 1995), cicatrizante, contra hemorroidas (AMOROZO; GÉLI, 1988), no tratamento de hemorragias, febres intermitentes e vermes (LE COINTE, 1947). As folhas, por sua vez, são utilizadas como anti-helmínticas, no tratamento da malária, disenteria e doenças de pele (TAYLOR, 2003; WENIGER *et al.*, 1986).

Quanto à constituição química, investigações prévias resultaram no isolamento de quassinoides, alcaloides, triterpenos, esteroides e compostos fenólicos de diferentes partes da planta (LASSAK *et al.*, 1977; POLONSKY; BASKEVITCH-VARON; DAS, 1976; POLONSKY; VARON; RABANAL, 1977; GROSVENOR *et al.*, 2006). Os quassinoides, por sua vez, são os metabólitos mais abundantes desta planta, aos quais tem sido atribuídas as atividades antimaláricas e antitumorais (O'NEILL *et al.*, 1988). Além disso, por serem um grupo de substâncias quase que exclusivas da família Simaroubaceae, eles podem ser considerados seu marcador taxonômico (SARAIVA; PINTO, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2007). Por outro lado, a indisponibilidade de padrões para comercialização tem sido um dos grandes obstáculos à realização do seu controle de qualidade analítico, o que pode ser solucionado pela quantificação de outros metabólitos representativos da espécie.

Apesar de *S. amara* apresentar várias atividades farmacológicas já comprovadas, ser extensamente utilizada pela medicina popular do Brasil, na fitoterapia e na homeopatia, de ter participado da primeira e segunda edições da Farmacopeia Brasileira e de constituir um notável potencial para pesquisas científicas, há uma reduzida quantidade de dados na literatura acerca de seu controle de qualidade. A importância do preenchimento desta lacuna, nos âmbitos farmacobotânico, físico-químico, fitoquímico e analítico, é reforçada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da resolução nº 14/2010, que normatiza o registro de fitoterápicos no Brasil e exige que o controle de qualidade seja realizado em todas as etapas de processamento da droga vegetal, incluindo a análise da matéria-prima (BRASIL, 2010).

Diante do exposto, verifica-se a necessidade e importância da realização de estudos que permitam a padronização farmacognóstica de *Simarouba amara* bem como o desenvolvimento e validação de um método analítico para quantificação de taninos presentes nas cascas de seu caule. Estes estudos, por sua vez, contribuirão para a realização de um controle de qualidade da matéria-prima vegetal adequado aos parâmetros preconizados pela legislação vigente e, por conseguinte, para a garantia da autenticidade, integridade e uniformidade das amostras.

Objetivos

2. OBJETIVOS

Os objetivos que norteiam este trabalho serão descritos abaixo e estão divididos em geral e específicos.

2.1 Objetivo Geral

Realizar padronização farmacognóstica de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae) bem como desenvolver e validar método analítico para quantificação de taninos nas cascas do caule da matéria-prima vegetal.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever e classificar as estruturas anatômicas de raiz, caule e folha de *Simarouba amara* para estabelecer sua padronização farmacobotânica;
- Caracterizar o perfil físico-químico das cascas do caule da matéria-prima vegetal de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira;
- Realizar prospecção fitoquímica do extrato das cascas do caule de *Simarouba amara* através de cromatografia em camada delgada para determinar a presença das principais classes de metabólitos secundários;
- Desenvolver e validar metodologia analítica, por espectrofotometria no Visível, que permita a quantificação de taninos totais nas cascas do caule de *Simarouba amara*.

3. CAPÍTULO I

ARTIGO I - Família Simaroubaceae: Botânica, Composição Química e Atividades Biológicas.

Submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia, Qualis Capes B2.

Família Simaroubaceae: Botânica, Composição Química e Atividades Biológicas

Iasmine A. B. S. Alves¹, Henrique M. Miranda², Luiz A. L. Soares^{1,2}, Karina P. Randau*^{1,2}

*¹Laboratório de Farmacognosia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil*

*²Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal de
Pernambuco, Brasil*

RESUMO: A família Simaroubaceae compreende 32 gêneros e mais de 170 espécies de árvores e arbustos de distribuição pantropical. O principal centro de distribuição ocorre na América tropical, estendendo-se pela África, Madagascar e Austrália. Ela é caracterizada pela presença de quassinoides, metabólitos secundários responsáveis por um diversificado espectro de atividades biológicas tais como antitumoral, antimalárica, antiviral, inseticida, anti-alimentar, amebicida, antiparasitária e herbicida. Apesar do potencial químico e farmacológico além da participação em compêndios oficiais, como as farmacopeias britânica, germânica, francesa e brasileira, e do registro de patente, muitas de suas espécies ainda não foram estudadas. Com o objetivo de direcionar futuras investigações que contemplem aspectos botânicos, químicos e farmacológicos de integrantes desta família, o presente trabalho consiste numa revisão que traz informação acerca dos principais gêneros da mesma no período de 1846 a 2013.

Palavras-Chave: Constituição química, *Simaba*, *Simarouba*, Simaroubaceae, *Quassia*.

Introdução

A família Simaroubaceae compreende 32 gêneros e mais de 170 espécies de árvores e arbustos de distribuição pantropical. Caracteriza-se pela quantidade de substâncias amargas, em sua maioria responsáveis pelas propriedades farmacológicas (Fernando & Quinn, 1992; Muhammad et al., 2004). O principal centro de distribuição ocorre na América tropical, estendendo-se para o oeste da África, Madagascar, Ásia (Malásia) e regiões da Austrália banhadas pelo Pacífico (Saraiva et al., 2002; Simão et al., 1991). No Brasil, esta família está representada pelos gêneros *Quassia* e *Picrolemma*, na região Amazônica, *Castela* e *Picrasma*, na região Sul, *Simaba* e *Simarouba*, as quais estão presentes em todo o país (Figura 1) (Almeida et al., 2007; Arriaga et al., 2002). Devido à diversidade química já descrita para muitas de suas espécies, é importante ressaltar que ela pode ser caracterizada como uma fonte promissora de moléculas bioativas. Um exemplo disso é que partir de 1961, quando o primeiro quassinóide foi estruturalmente elucidado, o crescente o interesse em estudar as diversas espécies de Simaroubaceae resultou no isolamento e identificação dos mais de 200 quassinóides atualmente conhecidos (Curcino Vieira & Braz-Filho, 2006). Por outro lado, muitas espécies ainda não foram estudadas ou foram pouco exploradas. Nesse contexto, com o objetivo de direcionar futuros estudos, o presente trabalho consiste numa revisão da literatura, do período de 1846 até 2013, que contempla os aspectos botânicos, químicos e farmacológicos das principais espécies da família.

Material e Métodos

As descrições botânicas, os constituintes químicos isolados e identificados e as atividades farmacológicas exibidas pelos compostos isolados assim como pelo extrato bruto das principais espécies da família Simaroubaceae foram pesquisados em livros e artigos originais em bases de dados como SciFinder, Periodicos Capes, Science Direct, Scopus e Web of

Science, no período de 1846 até 2013. As palavras-chave usadas incluíram *Simaroubaceae*, *Ailanthus*, *Brucea*, *Castela*, *Eurycoma*, *Picrasma*, *Picrolemma*, *Quassia*, *Samadera*, *Simaba* e *Simarouba*. Diante das referências obtidas, aquelas consideradas relevantes foram selecionadas.

Botânica

Uma extensa literatura quanto aos aspectos botânicos da família *Simaroubaceae* tem discutido acerca da afinidade entre suas subfamílias e as cinco de seis subfamílias – *Surianoideae*, *Kirkioideae*, *Irvingioideae*, *Picrammioideae* e *Alvaradoideae* – foram removidas da família (Muhammad et al., 2004). Nesse contexto, apenas a subfamília *Simarouboideae*, que compreende 22 gêneros, está em *Simaroubaceae*. A inclusão desta última na família, além das características anatômicas, foi baseada em evidências químicas uma vez que apenas os seus gêneros contêm alcaloides derivados do triptofano (β -carbolinas e cantinonas) e/ou quassinoides derivados de triterpenos (Simão et al., 1991).

A família *Simaroubaceae* está relacionada botanicamente com as famílias *Rutaceae*, *Meliaceae* e *Burseraceae*, porém, dentro desse grupo, encontra-se mais próxima à primeira no que se refere à composição química, anatomia da madeira, ausência de vasos condutores de resina na casca do caule e presença de estames livres em suas flores. Diferencia-se pela ausência de cavidades secretoras de óleos aromáticos nas folhas, em suas partes florais (Fernando & Quinn, 1992) e pela presença de quassinoides, propriedade exclusiva de *Simaroubaceae* (Thomas, 1990).

Planchon (1846) foi o primeiro a propor uma classificação intrafamiliar, baseando-se na natureza do ovário (livre ou conato), número de óvulos, tipo de embrião, comprimento do filamento e o número de estames e pétalas. Nesse contexto, a família foi dividida em 4 tribos: *Simaroubeae*, *Harrisonieae*, *Ailanthaeae* e *Spathelieae*. Posteriormente, Bentham e Hooker

(1862) apresentaram uma classificação baseada em se o ovário era dividido ou não, o que resultou nas tribos Simaroubeae e Picramnieae. Anos depois, Engler (1874) reconheceu 3 tribos, Surianeae, Eusimaroubeae e Picramnieae, levando em consideração a natureza dos carpelos e estilos bem como o número de óvulos. A última classificação de Engler (1931), a mais usada, foi baseada no número e natureza dos carpelos e estilos, número e posição dos óvulos, presença ou ausência de escamas na base dos filamentos e composição da folha. Ela incluiu nove tribos em seis subfamílias.

Devido à natureza heterogênea de Simaroubaceae segundo a classificação de Engler (1931), evidenciada por estudos comparativos da anatomia da madeira (Webber, 1936; Heimsch, 1942) e pericarpo (Fernando & Quinn, 1992), morfologia do pólen (Erdtman, 1952, 1986; Moncada & Machado, 1987) e fitoquímica (Hilditch & Williams, 1964; Simão et al., 1991), autores posteriores limitaram ainda mais a família: Trakhtajan (1987), Cronquist (1988) e Thorne (1992) excluíram uma ou mais de suas subfamílias. Os estudos de Fernando, Gadek e Quinn (1995) acerca de variação na sequência de *rbcl*, demonstraram claramente que Simaroubaceae é polifilético, o que embasou o reconhecimento das famílias Surianaceae classificadas por Cronquist, Kirkiaceae e Irvingiaceae, anteriormente segregadas de Simaroubaceae.

Os gêneros *Picramniae Alvaradoa*, apesar de algumas vezes ainda serem reportados como integrantes da família Simaroubaceae (Balderrama et al., 2001; Cortadi et al., 2010; Rodríguez-Gamboa et al., 2001), foram excluídos da mesma e incluídos numa nova família, Picramniaceae por Fernando, Gadek e Quinn (1995). Essa translocação é suportada pelo fato de *Picramnia* e *Alvaradoa* serem caracterizados fitoquimicamente pela presença vasta de antraquinonas e derivados antracênicos quando comparados aos quassinoides, marcador quimiotaxonômico da família Simaroubaceae (Diaz et al., 2004).

As espécies desta família apresentam folhas alternas compostas ou inteiras, sem pontuações, com ou sem espinhos. Suas flores, em geral, estão reunidas em inflorescências axilares, apresentam sépalas livres ou soldadas, pétalas livres, estames em número duplo ao das pétalas, filetes muitas vezes com apêndices. O ovário é súpero sobre um curto ginóforo ou sobre um disco com 4 ou 5 carpelos, em geral livres na base e soldados pelo estilete com 1 (no caso de *Quassia*) ou 2 óvulos por carpelo. Seu fruto é drupáceo, em geral separando-se em frutículos (Noldin, 2005).

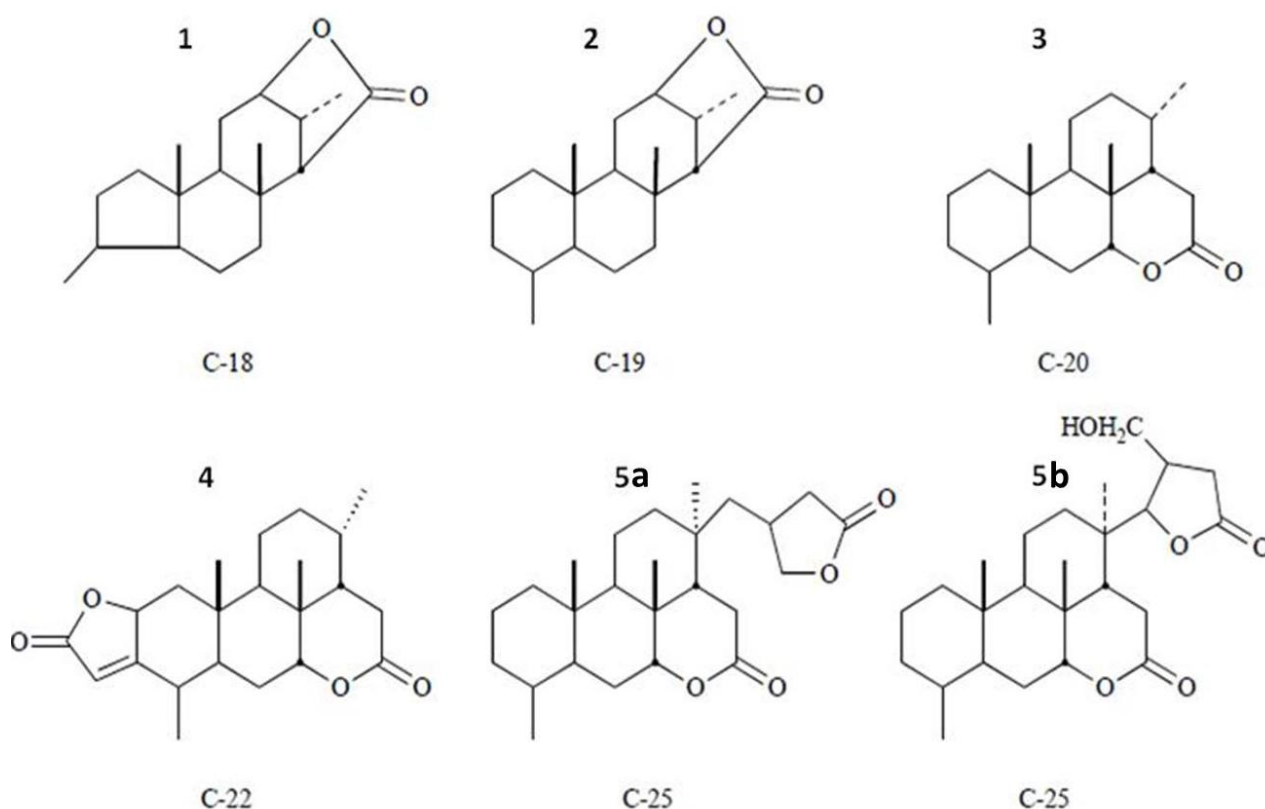
Constituintes Químicos

A família Simaroubaceae tem sido alvo de estudos quanto à sua constituição química desde 1930 e inúmeros compostos tem sido isolados e elucidados estruturalmente, destacando-se quassinoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, cumarinas, antraquinonas, flavonoides e outros metabólitos (Quadro 1) (Barbosa; Braz-Filho; Vieira, 2011). Os quassinoides, por constiuírem o grupo de substâncias naturais mais abundantes e quase que exclusivas da família Simaroubaceae, podem ser considerados um marcador taxonômico da mesma (Saraiva et al., 2006; Almeida et al., 2007).

Quassinoides

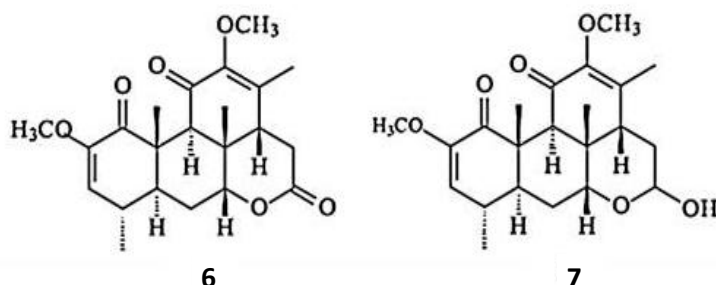
Diversos gêneros da família Simaroubaceae têm sido reportados na literatura pela presença de quassinoides. Estes consistem em produtos de degradação de triterpenos, derivados da série eufol/tirucalol, altamente oxigenados e estruturalmente complexos. Quanto ao esqueleto

básico, eles podem ser estruturalmente classificados em cinco grupos: C-18 (1), C-19 (2), C-20 (3), C-22 (4) e C-25 (5), embora alguns não se encaixem em nenhuma configuração – como (+)-poliandrol, eurilactonas A e B, ailanquassinas A e B, 6-dehidroxilongilactona, dentre outros. A maioria dos quassinoides isolados tem um esqueleto de 20 carbonos.



Os compostos desta natureza química, inicialmente, eram conhecidos pelo termo “quassin”, após o médico Quassi ter usado a cascas de plantas da família Simaroubaceae para o tratamento de febre. Os primeiros quassinoides isolados e identificados foram quassina (6) e neoquassina (7), a partir de *Quassia amara*. O isolamento ocorreu na década de 30, por Clark (1937). Por outro lado, a elucidação estrutural foi realizada apenas no início da década de 60, quando Valenta e colaboradores (1961) aplicaram modernas técnicas, como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A partir deste período, foi crescente o interesse em estudar as

diversas espécies da família Simaroubaceae, o que resultou no isolamento e identificação dos mais de 200 quassinoides atualmente conhecidos (Curcino Vieira & Braz-Filho, 2006).



Em recente revisão, Barbosa e colaboradores (2011) descreveram 39 quassinoides isolados de 9 espécies do gênero *Simaba*. Kundu e Laskar (2010), por sua vez, reportaram 91 terpenoides para 8 espécies do gênero *Ailanthus*, os quais incluíram principalmente quassinoides.

Alcaloides

Dentre os alcaloides isolados dos diferentes gêneros da família Simaroubaceae (Quadro 1), os cantinônicos merecem destaque. Eles constituem uma classe de alcaloides β -carbolínicos cujos primeiros membros foram descritos no final da década de 30. Canthin-6-onas tem sido reportadas pela sua diversificada gama de atividades, tais como antiviral, citotóxica, antiparasitária, antibacteriana, redutora de altos níveis de citocinas pro-inflamatórias, dentre outras (Showalter, 2013).

Barbosa, Braz-Filho e Vieira (2011) descreveram 18 alcaloides isolados a partir de 9 espécies do gênero *Simaba*. Kundur e Laskar (2010), por sua vez, descreveram 25 alcaloides já

isolados nas 4 espécies do gênero *Ailanthus*: *A. malabarica*, *A. excelsa*, *A. altíssima* e *A. giraldii*.

Triterpenos

Vinte triterpenos foram reportados numa recente revisão de literatura para 6 diferentes espécies do gênero *Simaba* (Barbosa; Braz-Filho; Vieira, 2011). Kundu e Laskar (2010) reportaram 91 terpenoides, em cuja classificação incluíram os quassinoides.

Essa classe de metabólitos secundários também tem sido amplamente reportada na literatura para diversos gêneros de Simaroubaceae, como *Quassia*, *Brucea*, *Picramnia*, *Castela*, *Simarouba* e *Ailanthus* (Quadro 1).

Esteroides

Oito esteroides foram isolados e elucidados estruturalmente em 4 espécies do gênero *Simaba* (Barbosa; Braz-Filho; Vieira, 2011). O isolamento de vinte e sete esteroides a partir de 4 espécies de *Ailanthus* foi demonstrado por Kundu e Laskar (2010). Esses compostos também são encontrados em espécies de *Simarouba* e *Picramnia* (Quadro 1).

Outros Compostos

Vinte e três metabólitos de diferentes classes foram isolados de seis espécies do gênero *Simaba* (Barbosa; Braz-Filho; Vieira, 2011). Kundu e Laskar (2010) destacaram a presença de 19 flavonoides em cinco espécies de *Ailanthus*, além de outros metabólitos, como cromonas, ácidos graxos, compostos voláteis, proteínas, dentre outros. Polifenóis, antraquinonas, cumarinas, flavonoides, lignanas, limonoides, ácidos graxos, quinona, fenilpropanoides e vitaminas tem sido relatados para as diferentes espécies da família Simaroubaceae (Quadro 1), embora muitas espécies ainda não tenham sido estudadas do ponto de vista químico.

Atividades Biológicas

As espécies da família Simaroubaceae são conhecidas por suas propriedades medicinais utilizadas tradicionalmente para tratamento da malária, e também como anti-helmínticas, antitumorais, anti-inflamatórias, antivirais, anorexígenas, tônicas, inseticidas e amebicidas (Arriaga et al., 2002; Muhammad et al., 2004; Saraiva et al., 2006; Silva et al., 2010; Simão et al., 1991). Há relatos do uso de *Brucea antidysenterica* na África, *Brucea javanica* e *Ailanthus altissima* na China, *Simaba guianensis*, *Quassia amara* e *Simarouba versicolor* no Brasil, *Castela texana* no México (Mendes & Carlini, 2007; Muhammad et al., 2004; Silva et al., 2010) e *Quassia amara* na Guiana Francesa (Cachet et al., 2009).

A ampla gama de atividades biológicas das diferentes espécies de Simaroubaceae se deve, principalmente, aos quassinoides, para os quais já foram atribuídas as atividades antitumoral, antimalárica, antiviral, anorexígena, inseticida, amebicida, antiparasitária, herbicida (Bhattacharjee et al., 2008).

Atividade Citotóxica

A citotoxicidade, atividade comumente encontrada na família Simaroubaceae, é atribuída principalmente aos quassinoides. Alcaloides cantinônicos e terpenoides também podem exibir este tipo de atividade (Rivero-Cruz et al., 2005). Nesse contexto, Shields e colaboradores (2009) verificaram que a quassina e neoquassina inibiram a isoenzima CYP1A1, isoforma do painel de enzimas citocromo P450 conhecida por ser um ativador de carcinógenos, podendo, conseqüentemente, desempenhar um papel de quimioprotetor (Shields et al., 2009). Simalikalactona D, por sua vez, também demonstrou proeminente atividade citotóxica contra células de adenocarcinoma de mama humano (Houël et al., 2009).

Rivero-Cruz e colaboradores (2005) confirmaram a atividade citotóxica de quatro alcaloides derivados da cantin-6-ona, isolados de *Simarouba glauca*, contra linhagens celulares de câncer de colo humano, carcinoma epidermoide oral humano, câncer de próstata humano hormônio-dependente e câncer de pulmão humano. Contra este último, também foi ativo um triterpenoide do tipo escaleno. Jiang e Zhou (2008), por sua vez, demonstraram a atividade de quatro alcaloides, também derivados da cantin-6-ona, isolados de *Picrasma quassioides*, contra linhagens celulares de carcinoma de nasofaringe.

Atividade Antitumoral

Várias espécies da família Simaroubaceae apresentam proeminente atividade antitumoral, sendo que os principais gêneros incluem: *Ailanthus*, *Brucea*, *Simarouba*, *Quassia*, *Picrolemma*, *Simaba* e *Picrasma* (Quadro 2). Os principais metabólitos relacionados com a ação antitumoral de várias espécies incluem os quassinoides e alcaloides (Rivero-Cruz et al., 2005).

Dentre os quassinóides mais potentes que desempenham atividade antitumoral destacam-se: bruceantina, bruceantinol, glaucarubinona e simalikalactona D (Guo et al., 2009). A bruceantina é a principal substância estudada devido à sua marcante atividade antileucêmica, o que possibilitou sua submissão a testes clínicos pelo Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (Bedikian et al., 1979; Polonsky et al., 1978). Chaparrinona e chaparrina assim como isobruceína B, sergeolida e quassimarina, isolados de espécies de *Picrolemma*, *Simaba* e *Quassia*, também mostraram significativa atividade antileucêmica (Kupchan & Streelman, 1976; Moretti et al, 1986, Moretti et al., 1982).

Ailantinona e glaucarubinona mostraram-se ativas contra o carcinoma epidermóide humano da faringe (Wright et al., 1993). Esta última, ainda apresentou atividade contra tumores sólidos e tumores mamários multirresistentes em ratos (Valeriotte et al., 1998). AECHL-1, quassinóide isolado de *Ailanthus excelsa*, inibiu o crescimento de linhagens celulares de melanoma, câncer de próstata, carcinoma e adeno-carcinoma de mama, tendo, nesta última, se mostrado mais potente que paclitaxel e cisplatina, fármacos comumente utilizados na terapêutica (Lavhale et al., 2009). Quassimarina, isolada de *Quassia amara*, mostrou-se ativa contra leucemia linfocítica em ratos e contra células de carcinoma humano de nasofaringe (Kupchan & Streelman, 1976).

Apesar da atividade antitumoral desses compostos estar definida, a maioria é muito tóxica para ser clinicamente utilizada. Diante disso, a busca por novas fontes naturais que permitam isolar quassinóides mais potentes e menos tóxicos bem como a modificação estrutural de compostos já conhecidos que vise diminuir a toxicidade constituem alternativas interessantes para o desenvolvimento de drogas anticâncer (Guo et al., 2009).

Atividade Antimalárica

Diversos estudos com plantas da família Simaroubaceae tem mostrado resultados promissores em culturas de *Plasmodium falciparum* resistentes à cloroquina, sendo os quassinoides os compostos responsáveis por esta atividade (Murgu, 1998). Cachet e colaboradores (2009) demonstraram uma interessante atividade antimalárica da simalikalactona E. A simalikalactona D também apresenta atividade significativa *in vitro* e *in vivo* (Houël et al., 2009; Bertani et al., 2006), tendo sido comprovado, ainda, seu sinergismo com atovaquone, um antimalárico clássico (Bertani et al., 2012). Outros quassinoides que apresentam significativa atividade antimalárica incluem: ailantinona, 6 α -tigloiloxichaparrinona (Okunade et al., 2003), pasakbuminas B e C, eurikomanona (Kuo et al., 2004; Chan et al., 2004), simalikalactona D (Houël et al., 2009), orinocinolídeo (Muhammad et al., 2004) isobruceína B e neosergeolida (Andrade-Neto et al., 2007; Silva et al., 2009a). Sabe-se que as características estruturais dos quassinoides estão diretamente relacionadas com essa atividade, sendo a presença de uma cetona α,β -insaturada no anel A, uma ponte epóximetileno no anel C e funções éster em C-15 essenciais para a atividade antimalárica (Kaur et al., 2009).

O mecanismo de ação consiste na inibição da síntese proteica, mas esta provavelmente ocorre de maneira distinta daquela visualizada nas células tumorais, visto que os quassinoides tem mostrado uma seletividade muito maior para *Plasmodium falciparum* quando em comparação com células KB (Anderson et al., 1991). Os compostos com maior atividade antimalárica incluem: simalikalactona D, glaucarubinona, soularubinona (Polonsky, 1985), holacantona, 2'-acetilglaucarubinona e ailantinona (O'Neill et al., 1988), sendo a maioria encontrados em *Simarouba amara*.

Atividade Inseticida e Anti-Alimentar para Insetos

Diversos quassinoides tem sido reportados como agentes responsáveis por alterações no comportamento alimentar e na regulação do crescimento de insetos (Govindachari et al., 2001). Outros estudos demonstraram atividade inseticida destes compostos em *Tetranychus urticae*, *Myzus persicae*, *Meloidogyne incognita* (Latif et al., 2000) e *Rhodnius milesi* (Coelho, 2006). A quassina, assim como simalikalactona D, bruceantina, glaucarubinona e isobruceína são ativos como um agente anti-alimentar contra o besouro do feijão Mexicano (*Epiçachna varivestis*), a traça costas-de-diamante (*Plutella xylostela*) e contra a lagarta do sul (Daido; Fukamiya; Okano, 1995).

Isobruceína B e neosergeolida, quassinoides presentes em *Picrolemma sprucei*, apresentam propriedades larvicidas, sendo ativos contra larvas de *Aedes aegypti* (Silva et al., 2009a). A chaparramarina, presente em *Castela tortuosa*, apresenta atividade inibidora do crescimento do inseto *Heliothis virescens* (Kubo; Murai; Chaudhuri, 1992). Extratos de *Quassia amara*, por sua vez, apresentaram atividade anti-alimentar em *Bemisia tabaci* (Flores et al., 2008) e *Hypsipyla grandella* (Mancebo et al., 2000).

Outras Atividades Biológicas

Em elevadas concentrações alguns quassinoides e alcaloides desempenham atividade antiviral *in vitro*. A simalikalactona D, por exemplo, é ativa contra o vírus oncogênico do sarcoma de Rous (Pierré et al., 1980) e contra os vírus *Herpes simplex* tipo1, *Vesicular stomatitis* e *Semliki forest* (Apers et al., 2002), enquanto a shinjulactona é ativa contra o vírus HIV (Okano et al., 1996). Esses compostos também mostraram interessante atividade anti-inflamatória em alguns estudos (Guo et al., 2009; Hall et al., 1983). Além deles destacam-se o brusatol bem como as samaderinas X e B (Kitagawa et al., 1996). Dentre os alcaloides com atividade antiviral, destacam-se aqueles isolados de *Picrasma quassioides*, os quais foram ativos contra o vírus do mosaico do tabaco (Chen et al., 2009). Quanto à atividade amebicida

apresentada pelos quassinoides (Wright et al., 1988), a bruceantina mostrou-se a mais potente (Gillin; Reiner; Suffness, 1982).

A atividade herbicida dos quassinoides foi verificada em estudo que revelou a excelsina como um ótimo agente controlador do crescimento de *Chenopodium album* e *Amaranthus retroflexus* em soja (Guo et al., 2009). Paralelamente, Tada e colaboradores (1991) reportaram a atividade anti-ulcerogênica das pasakbuminas A, B, C e D.

Além das atividades reportadas aos quassinoides e alcaloides cantinônicos, diversos estudos farmacológicos tem comprovado diferentes atividades de extratos das diversas espécies da família Simaroubaceae bem como de seus isolados (Quadro 2). Foi comprovada a atividade anti-inflamatória de uma lactona sesquiterpênica, duas neolignanas e um flavonol em *Picrasma quassioides* (Jiao et al., 2011). Espécies do gênero *Ailanthus* apresentam atividade antiasmática e antialérgica (Kumar et al., 2011); hipotensora, mediada pela inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) por flavonoides (Loizzo et al., 2007), e inibidora do crescimento de plantas, sendo esta última também expressa pelo gênero *Castela* (Lin et al., 1995). Espécies de *Brucea* apresentaram atividade antiprotozoária, sendo ativas contra espécies de *Trypanosoma* (*T. cruzi* e *T. brucei*) e *Leishmania infantum* (Ehata et al., 2012) além de atividade hipoglicemiante, sendo esta atribuída aos quassinoides (Noorshahida; Wong; Choo, 2009).

Eurycoma longifolia, por sua vez, demonstrou aumentar a espermatogênese e a fertilidade em ratos (Low et al., 2013). Em contrapartida, *Quassia amara* mostrou-se com propriedades antifertilizantes (Raji & Bolarinwa, 1997), além de atividade antiulcerogênica em modelos de indução de úlcera aguda (García-Barrantes & Badilla, 2011; Toma et al., 2002); antidiabética, com significativa redução da dislipidemia associada (Hussain et al., 2011) e também analgésica e antiedematogênica, provavelmente decorrentes de atividades sedativas e relaxantes musculares ou psicomiméticas (Toma et al., 2003). *Picrolemma sprucei* apresentou

atividade anti-helmíntica contra *Haemonchus contortus*, um parasita de ruminantes (Nunomura et al., 2006). *Simaba ferrugínea* apresentou atividade antiulcerogênica mediante ação gastroprotetora (Almeida et al., 2011).

O extrato aquoso de *Simarouba amara* promoveu a diferenciação de queratinócitos da pele humana bem como aumentou a produção de involucrina, colesterol e ceramidas, podendo ser útil para pele seca visto que também melhora a retenção de água pelo extrato córneo (Bonté et al., 1996; Casetti et al., 2011). Em decorrência desses achados, foi registrada uma patente em 1997 para o seu uso como cosmético ou produto farmacêutico para a pele (Bonté et al., 1997).

Discussão e Conclusão

O presente artigo consiste numa revisão da literatura que contempla as características botânicas, químicas e farmacológicas dos principais gêneros e espécies da família Simaroubaceae, a qual apresenta uma notável importância no âmbito etnofarmacológico visto que muitas de suas espécies são amplamente utilizadas na medicina popular de diversos países e fazem parte de compêndios oficiais. Esta família é empregada no tratamento de malária, câncer, verminoses, viroses, gastrite, úlcera, inflamação, diarreia e diabetes além de atuar como inseticida, cicatrizante e tônica. Além dos usos etnofarmacológicos, plantas da família Simaroubaceae merecem destaque pela diversidade química, uma vez que já foi determinada a presença de quassinoides, alcaloides, terpenos, esteroides, flavonoides, antraquinonas, cumarinas, saponinas, mono e sesquiterpenos, dentre outros. Essa diversidade química associada às atividades farmacológicas já comprovadas para muitos dos compostos isolados, tais como citotoxicidade, atividade antimalárica, inseticida, antitumoral, hipoglicemiante, antiulcerogênica e outras, as caracteriza como potencial fonte para o isolamento e elucidação estrutural de novos compostos bioativos e fornece subsídios para o desenvolvimento

tecnológico de fitoterápicos, fitomedicamentos e fitocosméticos. Diante disso, uma compilação dos conhecimentos relacionados com a tríade botânica-química-farmacologia da família Simaroubaceae pode contribuir significativamente para o direcionamento, embasamento e desenvolvimento de novas e promissoras investigações, impedindo, assim, a estagnação do conhecimento que tem sido visualizada nos últimos anos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (475216/2011-3; 483870/2011; 0480128/2012-0; 302113/2012-6) e FACEPE (*APQ-1296-4.03/12*) pelo apoio financeiro.

Contribuições dos Autores

IABSA (estudante de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE) e HMM, ambos membros do grupo de pesquisa Desenvolvimento Analítico, Tecnológico e Biológico de Produtos Naturais e Fitoterápicos, contribuíram na compilação de dados acerca da família Simaroubaceae até o ano de 2013. LALS e KPR, professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE e coordenadores do referido grupo de pesquisa contribuíram selecionando as informações mais relevantes e na correção do artigo final.

Referências

- Ajaiyeoba E, Abalogu UI, Krebs HC, Oduola AMJ 1999. In vivo antimalarial activities of *Quassia amara* and *Quassia undulata* plant extracts in mice. *J Ethnopharmacol* 67: 321-325.
- Almeida ESS, Filho VC, Niero R, Clasen BK, Balogun SO, Martins DTO 2011. Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-Hil. in animal models. *J Ethnopharmacol* 134: 630-636.
- Almeida MMB, Arriaga AMC, Santos AKL, Lemos TLG, Braz-Filho R, Vieira IJC 2007. Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década. *Quim Nova* 30(4): 935-951.
- Anderson MM, O'Neill MJ, Phillipson JD, Warhurst DC 1991. In vitro cytotoxicity of a series of quassinoids from *Brucea javanica* fruits against KB cells. *Planta Med* (57): 62-64.
- Andrade-Neto VF, Pohlit AM, Pinto AC, Silva EC, Nogueira KL, Melo MR, Henrique MC, Amorim RC, Silva LF, Costa MR, Nunomura RC, Nunomura SM, Alecrim WD, Alecrim MD, Chaves FC, Vieira PF 2007. In vitro inhibition of *Plasmodium falciparum* by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102(3): 359-365.
- Apers S, Cimanga K, Vanden Berghe D, Van Meenen E, Longanga AO, Foriers A, Vlietinck A, Pieters L 2002. Antiviral activity of Simalikalactone D, a quassinoid from *Quassia africana*. *Planta Med* 68(1): 20-24.
- Arriaga AMC, Mesquita AC, Pouliquen YBM, Lima RA, Cavalcante SH, Carvalho MG, Siqueira JA, Alegrio LV, Braz-Filho R 2002. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. *An Acad Bras Cienc* 74(3): 415-424.

- Ayafor, JF, Tchuendem MK, Mbazona CM, Ngadjui BT, Tillequin F 1993. ^{13}C NMR and other spectral data of 4-methylthiocanthin-6-one from *Quassia Africana*. *Bull Chem Soc Ethiop* 7(2): 121-124.
- Balderrama L, Braca A, Garcia E, Melgarejo M, Pizza C, De Tomasi N 2001. Triterpenes and anthraquinones from *Picramnia selowii* Planchon in Hook (Simaroubaceae). *Biochem Syst Ecol* 29: 331-333.
- Barbetti P, Grandolini G, Fardela G, Chiappini I 1987. Indole alkaloids from *Quassia amara*. *Planta Med* 53(3): 289-290.
- Barbosa L, Braz-Filho R, Vieira I 2011. Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae). *Chem Biodiversity* 8: 2163-2178.
- Bawn S, Matsuura H, Elkhateeb A, Nabeta K, Subeki, Nonaka K, Oku Y, Katakura K 2008. *In vitro* antitrypanosomal activities of quassinoid compounds from the fruits of a medicinal plant, *Brucea javanica*. *Vet Parasitol* 158: 288-294.
- Bertani S, Houël E, Stien D, Chevolot L, Jullian V, Garavito G, Bourdy G, Deharo E 2006. Simalikalactone D is responsible for the antimalarial properties of an amazonian traditional remedy made with *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *J Ethnopharmacol* 108: 155-157.
- Bertani S, Houël E, Stien D, Chevolot L, Jullian V, Garavito G, Bourdy G, Deharo E 2012. New findings on Simalikalactone D, an antimalarial compound from *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Exp Parasitol* 130: 341-347.
- Bhatnagar S, Polonsky J, Prange T, Pascard C 1984. New toxic quassinoid glucosides from *Simarouba glauca*. *Tetrahedron Lett* 25(3): 299-302.
- Bhattacharjee S, Gupta G, Bhattacharya P, Mukherjee A, Mujumbar S, Pal A, Majumdar S 2008. Quassin alters the immunological patterns of murine macrophages through

generation of nitric oxide to exert antileishmanial activity. *J Antimicrob Chemother* 63: 317-324.

Bentham G, Hooker J 1862. Simaroubeae In V1 Bentham G, Hooker J (org.) *Genera Plantarum: ad exemplaria imprimis in Herberiis Kewensibus servata definita*. London: A. Black, p. 106-116.

Bedikian AY, Valdivieso M, Bodey GP, Murphy WK, Freireich EJ 1979. Initial clinical studies with bruceantin. *Cancer Treat Rep* 63: 1843.

Bonté F, Barré P, Pinguet P, Dusser I, Dumas M, Meybeck A 1996. *Simarouba amara* extract increases human skin keratinocyte differentiation. *J Ethnopharmacol* 53: 5-74.

Bonté F, Meybeck A, Dumas M October, 14, 1997. *Use of Simarouba amara extract for reducing patchy skin pigmentation*. United States Patent, number 5,676,948.

Caceres A, Cano O, Samayoa B, Aguilar L 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J Ethnopharmacol* 30(1): 55-73.

Cachet N, Valentin A, Jullian V, Stien D, Houël E, Gornitzka H, Fillaux J, Chevalley S, Hoakwe F, Bertani S, Bourdy G, Deharo E 2009. Antimalarial activity of simalikalactone E, a new quassinoid of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Antimicrob Agents Ch* 53(10): 4393-4398.

Cachet N, Ho-A-Kwie F, Rivaud M, Houe E, Deharo E, Bourdy G, Jullian V 2012. Picrasin k, a new quassinoid from *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Phytochem lett* 5: 162-164.

Casetti F, Wölflle U, Gehring W, Schempp CM 2011. Dermocosmetics for dry skin: A new role for botanical extracts. *Skin Pharmacol Physiol* 24: 289-293.

Chan KL, Choo CY, Abdullah NR, Ismail Z 2004. Antiplasmodial studies of *Eurycoma longifolia* Jack using lactate dehydrogenase assay of *Plasmodium falciparum*. *J Ethnopharmacol* 92: 223-227.

- Chen J, Yan XH, Dong JH, Sang P, Fang X, Di YT, Zhang ZK, Hao XJ 2009. Tobacco Mosaic Virus (TMV) inhibitors from *Picrasma quassioides* Benn. *J Agr Food Chem* 57: 6590-6595.
- Clark EP 1937. Quassin I. The preparation and purification of quassin and neoquassin, with information concerning their molecular formulas. *J Am Chem Soc* 59: 927-931.
- Cortadi A, Adriolo L, Campagna MN, Martinez ML, Di Sapio O, Broussalis A, Gattuso, M, Gattuso S 2010. Estudio farmacobotánico de hojas, cortezas y leños de Simaroubaceae Sensus Latu de arentina. Parte I. *Alvaradoa subovata* Cronquist, *picramnia parvifolia* Engl., *Picramnia selowii* Planch. Y *Castela coccinea* Griseb. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 9(1): 38-55.
- Coelho AAM 2006. Análise inseticida de extratos de plantas do bioma cerrado sobre triatomíneos e larvas de *Aedes aegypti*. Brasília, 138p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.
- Cronquist A 1988. *The evolution and classification of flowering plants*. New York: Botanical Gardens.
- Curcino Vieira IJ, Brax-Filho R 2006. Quassinoids: structural diversity, biological activity and synthetic studies. *Stud Nat Prod Chem* 33: 433-492.
- Daido M, Fukamiya N, Okano M 1995. Picrasinol D, a new quassinoid from the stem wood of *Picrasma ailanthoides*. *J Nat Prod* 58(4): 605-608.
- Diaz F, Chai HB, Mi Q, Su BN, Vigo JS, Graham JG, Cabieses F, Farnsworth NR, Cordell GA, Pezzuto JM, Swanson SM, Kinghorn AD` 2004. Anthrone and oxanthrone *c*-glycosides from *Picramnia latifolia* collected in Peru. *J Na. Prod* 67: 352-356.
- Dou J, Khan IA, McChesney JD, Burandt CL 1996a. Qualitative and quantitative High Performance Liquid Chromatographic analysis of quassinoids in Simaroubaceae plants. *Phytochem Anal* 7: 192-200.

- Dou J, McChesney JD, Sindelar RD, Going DK, Walker LA 1996b. A new quassinoid from *Castela texana*. *J Nat Prod* 59: 73-76.
- Ehata MT, Phuati AM, Lumpu SN, Munduku CK, Phongi DB, Lutete GT, Kabangu OK, Kanyanga RC, Matheeussen A, Cos P, Apers S, Pieters L, Maes L, Vlietnick AJ 2012. *In vitro* antiprotozoal and cytotoxic activity of the aqueous extract, the 80% methanol extract and its fractions from the seeds of *Brucea sumatrana* Roxb. (Simaroubaceae) growing in Democratic Republic of Congo. *Chin Med* 3: 65-71.
- Engler A 1874. Simarubaceae. In Martius CFP (org.) *Flora brasiliensis*. p197-248.
- Engler A 1931. Simarubaceae. In Engler A and Prantl K (org.) *Die natürlichen pflanzenfamilien*. Engelmann: Leipzig p. 359-405.
- Erdtman G 1952. *Polen morphology and plant taxonomy*. Waltham: Chronica botanica.
- Erdtman, G 1986. *Polen morphology and plant taxonomy: angiosperms*. Leiden: E. J. Brill.
- Fabre N, Deharo E, Le HL, Girardi C, Valentin A, Jullian GBV 2012. LC-ESI-MS/MS analysis of *Quassia amara* leaves tea. Is antiplasmodial activity of the tea is due to quassinoids? *Planta Med* 78(11): 1262-1262.
- Fernando ES, Gadek PA, Quinn CJ 1995. Simaroubaceae: an artificial construct: evidence from rbcL sequence variation. *Am J Bot* 82(1): 92-103.
- Fernando ES, Quinn CJ 1992. Pericarp anatomy and systematics of the simaroubaceae *sensu lato*. *Aust J Bot* 40: 263-289.
- Flores G, Hilje L, Mora GA, Carballo M 2008. Antifeedant activity of botanical crude extracts and their fractions on *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adults: III. *Quassia amara* (Simaroubaceae). *Rev Biol Trop* 56(4): 2131-2146.
- Furuno T, Ishibashi M, Naora H, Murae T, Hirota H, Tsuyuki T, Takahashi T, Itai A, Iitaka Y 1984. Structure determination of bitter principles of *Ailanthus altissima*. Structures of shinjulactones B, D and E. *Bull Chem Soc Jpn* 57(9): 2484-2489.

- García-Barrantes PM, Badilla B 2011. Anti-ulcerogenic properties of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) standardized extracts in rodent models. *J Ethnopharmacol* 134: 904-910.
- Geissman TA, Chandorkari KR 1961. Bitter principles of the Simaroubaceae. I. Chaparrin from *Castela nicholsoni*, *J Org Chem* 26(4) 1217-1220.
- Gibbons S, Craven L, Dunlop C, Gray AI, Hartley TG, Waterman PG 1997. The secondary metabolites of *Samadera* SAC-2825: an Australian Simaroubaceae with unusual chemistry. *Phytochemistry* 44(6): 1109-1114.
- Giesbrecht AM, Gottlieb HE, Gottlier OR, Goulart MOF, de Lima RA, Sant'ana AEG 1980. Canthinones from *Simaba cuspidate*. *Phytochemistry* 19: 313-315.
- Gillin FD, Reiner DS, Suffness M 1982. Bruceantin, a potent amoebicide from the plant *Brucea antidysenterica*. *Antimicrob Agents Chemother* 22: 342-345.
- Gosh PC, Larrahondo JE, LeQuesne PW, Raffauf RF 1977. Antitumor plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. *Lloydia* 40(4): 364-369.
- Govindachari TR, Krishna KGN, Gopalakrishnan G, Suresh G, Wesley SD, Seelatha T 2011. Insect antifeedant and growth regulating activities of quassinoids from *Samadera indica*. *Fitoterapia* 72: 568-571.
- Govindaraju K, Darukeshwara J, Srivastava AK 2009. Studies on protein characteristics and toxic constituents of *Simarouba glauca* oilseed meal. *Food Chem Toxicol* 47: 1327-1332.
- Grandolini G, Casinovi CG, Barbetti P, Fardella G 1987. A new neoquassin derivative from *Quassia amara*. *Phytochemistry* 26(11): 3085-3087.
- Grieco PA, Moher ED, Seya M, Huffman JC, Grieco HJ 1994. A quassinoid (peninsularinone) and a steroid from *Castela peninsularis*. *Phytochemistry* 37(5): 1451-1454.

- Grieco PA, Roest JMV, Campaigne MMPNEE, Carmak M 1995. Polyandrol, a C₁₉ quassinoid from *Castela polyandra*. *Phytochemistry*, 38(6): 1463-1465.
- Grieco PA, Haddad J, Piñeiro-Núñez, Huffman JC 1999a. Quassinoid constituents from the twigs and thorns of *Castela polyandra*. *Phytochemistry* 50: 637-645.
- Grieco PA, Haddad J, Piñeiro-Núñez, Huffman JC 1999b. Non-quassinoid constituents from the twigs and thorns of *Castela polyandra*. *Phytochemistry* 51: 575-578.
- Grosvenor SNJ, Mascoll K, McLean S, Reynolds WF, Tinto WF 2006. Tirucallane, apotirucallane, and octanorapotirucallane triterpenes of *Simarouba amara*. *J Nat Prod* 69: 1315-1318.
- Guo Z, Vangapandu S, Sindelar RW, Walker LA, Sindelar RD 2009. Biologically active quassinoids and their chemistry: potential leads for drug design. *Frontiers in medicinal chemistry* 4: 285-308.
- Hall IH, Liou YF, Lee KH, Chaney SG, Willingham WJ 1983. Antitumor agents LIX: effects of quassinoids on protein synthesis of a number of murine tumors and normal cells. *J Pharm Sci* 72(6): 626-630.
- Ham EA, Schafer HM, Denkwalter RG, rink NG 1954. Structural studies on glaucarubin from *Simarouba glauca*. *J Am Chem Soc* 76: 6066-6068.
- Heimsch C 1942. Comparative anatomy of the secondary xylem in the gruinales and terebinthales of wettstein with reference to taxonomic grouping. *Lilloa* 8: 83-199.
- Hikino H, Ohta T, Takemoto T 1975. Picrasins, simaroubolides of japanese quassia tree *Picrasna quassioides*. *Phytochemistry* 14: 2473-1481.
- Hilditch TP, Williams PM 1964. *The chemical constitution of natural fats*. London: Chapman and Hall.

- Houël E, Bertani S, Bourdy G, Deharo E, Jullian V, Valentin A, Chevalley S, Stien D 2009. Quassinoid constituents of *Quassia amara* I. Leaf herbal tea. Impact on its antimalarial activity and cytotoxicity. *J Ethnopharmacol* 126: 114-118.
- Hussain GM, Singh PN, Singh RK, Kumar V 2011. Antidiabetic activity of standardized extraxt of *Quassia amara* in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytoter Res* 25: 1806-1812.
- Ishibashi M Tsuyuki T, Murae T, Hirota H, Takahashi T, Itai A, Itaka Y 1983. Constituents of the root bark of *Ailanthus altissima* Swingle. Isolation and X-ray crystal structures of shinjaudilactone and shinjulactone C and conversion of ailanthone into shinjaudilactone. *Bull Chem Soc Jpn* 56(12) 3683-3693.
- Ishibashi M, Yoshimura S, suyuki T, Takahashi T, Itai A, Itaka Y 1984. Structure determination of bitter principles of *Ailanthus altissima*. Structures of shinjulactones f, i, j and k. *Bull Chem Soc Jpn* 57(10): 2885-2892.
- Ishibashi M, Tsuyuki T, Takahashi T 1985. Structure determination of a new bitter principle, shinjulactone L, from *Ailanthus altissima*. *Bull Chem Soc Jpn* 58(9) 2723-2724.
- Jacobs H, Simpson D, Reynolds W 2007. Quassinoids and a coumarin from *Castela macrophylla* (Simaroubaceae). *Biochem Syst Ecol* 35: 42-44.
- Jeyarani T, Reddy SY 2001. Cocoa butter extender from *Simarouba glauca* fat. *J Am Oil Chem Soc* 78(3): 271-276.
- Jiang XM, Zhou Y 2008. J canthin-6-one alkaloids from *Picrasma quassioides* and their cytotoxic activity. *J Asian Nat Prod Res* 10(11): 1009-1012.
- Jiao WH, Gao H, Zhao F, He F, Zhou GX, Yao XS 2011. A new neolignan and a new sesterterpenoid from the stems of *Picrasma quassioides* Bennet. *Chem Biodiversity* 8: 1163-1169.

- Jiao WH, Gao H, Li CY, Zhou GX, Kitanaka S, Ohmura A, Yao XS 2010a. β -carboline alkaloids from the stems of *Picrasma quassioides*. *Magn Reson Chem* 48: 490-495.
- Jiao WH, Gao H, Li CY, Zhao F, Jiang RW, Wang Y, Zhou GX, Yao XS 2010b. Quassidines A-D, bis- β -carboline alkaloids from the stems of *Picrasma quassioides*. *J Nat Prod* 73: 167-171.
- Jin M, BAE K, Chang HW, Son JK 2009. Anti-inflammatory compounds from the leaves of *Ailanthus altissima*. *Biomol Ther* 17(1): 86-91.
- Joshi BC, Pandei A, Sharma RP, Khare A 2003. Quassinoids from *Ailanthus excelsa*. *Phytochemistry* 62: 579-584.
- Joshi S, Hiremath S 2000. *Simarouba*: a potential oilseed tree. *Curr Sci* 78(6): 694-697.
- Kaij-A-Kamb M, Amoros M 1992. Search for new antiviral agents of plant origin. *Pharm Acta. Helv* 67(5/6): 130-147.
- Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R 2009. Antimalarials from nature. *Bioorg Med Chem* 17: 3229-3256.
- Kitagawa I, Mahmud T, Simanjuntak P, Hori K, Uji T, Shibuya H 1994. Indonesian medicinal plants VIII. Chemical structures of three new triterpenoids, bruceajavanin B, and a new alkaloidal glycoside, bruceacanthinoside, from the stems of *Brucea javanica* (Simaroubaceae). *Chem Pharm Bull* 42(7): 1416-1421.
- Kitagawa I, Mahmud T, Yokota K, Nakagawa S, Mayumi T, Kobayashi M, Shibuya H 1996. Indonesian medicinal plants. XVII. Characterization of quassinoids from the stems of *Quassia indica*. *Chem Pharm Bull* 44: 2009-2014.
- Koike K, Ishi K, Mitsunaga K, Ohmoto T 1991a. Quassinoids from *Picrasma javanica*. *Phytochemistry* 30(3): 933-936.
- Koike K, Ishi K, Mitsunaga K, Ohmoto T 1991b. New des-4-methylpicrasane quassinoids from *Picrasma javanica*. *J Nat Prod* 54(3): 837-843.

- Koike K, Yoko M, Furukawa M, Ishii S, Ohmoto T 1995. Picrasane quassinoids from *Picrasma javanica*. *Phytochemistry* 40(1): 233-238.
- Koike K, Ohmoto T 1988. Picrasidine-U, dimeric alkaloid from *Picrasma quassioides*. *Phytochemistry* 27(9): 3029-3030.
- Koike K, Ohmoto T 1992. New quassinoids glucosides, javanicinosides I, J, K, and L, from *Picrasma javanica*. *J Nat Prod* 55(4): 482-486.
- Koike K, Ohmoto T 1993. Indaquassin A and B: quassinoids from *Quassia indica*. *Phytochemistry* 34(2): 502-509.
- Koike K, Ohmoto T 1994. Quassinoids from *Quassia indica*. *Phytochemistry* 35(2): 459-463.
- Koike K, Ohmoto T, Higushi T 1987. Picrasidine-T, a dimeric β -carboline alkaloid from *Picrasma quassioides*. *Phytochemistry* 26(12): 3375-3377.
- Koike K, Ohmoto T, Ikeda K 1990. β -carboline alkaloids from *Picrasma quassioides*. *Phytochemistry* 29(9): 3060-3061.
- Kubo I, Chaudhuri SK 1993. A quassinoid glucoside from the bark of *Castela tortuosa*. *Phytochemistry* 32(1): 215-217.
- Kubo I, Murae Y, Chaudhuri SK 1992. Structure of chaparramarin, a quassinoid from *Castela tortuosa*. *Phytochemistry* 31(9): 3262-3264.
- Kubo I, Murae Y, Chaudhuri SK 1993. Castelin, a quassinoid from *Castela tortuosa*. *Phytochemistry* 33(2): 461-463.
- Kumar D, Bhat ZA, Singh P, Khatanglakar V, Bhujbal SS 2011. Antiasthmatic and antiallergic potential of methanolic extract of leaves of *Ailanthus excelsa*. *Rev Bras Farmacogn* 21(1): 139-145.
- Kundu P, Laskar S 2010. A brief resume on the genus *Ailanthus*: chemical and pharmacological aspects. *Phytochem Rev* 9: 379-412.

- Kuo PC, Damu AG, Lee KH, WU TS 2004. Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Bioorg Med Chem* 12(3): 537-544.
- Kupchan SM, Streelman DR 1976. Quassimarin, a new antileukemic quassinoid from *Quassia amara*. *J Org Chem* 41(21): 3481-3482.
- Lassak EV, Polonsky J, Jacquemin H 1977. 5-hydroxy-canthin-6-one from *Simarouba amara*. *Phytochemistry* 16: 1126-1127.
- Latif ZL, Craven L, Hartley TG, Kemp BR, Potter J, Rice MJ, Waigh RD, Waterman PG 2000. An insecticidal quassinoid from the new australian species *Quassia* sp. aff. *bidwillii*. *Biochem Syst Ecol* 28: 183-184.
- Lavhale MS, Kumar S, Mishra SH, Sitasawad SL 2009. A novel triterpenoid isolated from the root bark of *Ailanthus excelsa* Roxb (tree of heaven), AECHL-1 as a potential anti-cancer agent. *Plos One* 4(4): 1-11.
- Lin LJ, Peiser G, Ying BP, Mathias K, Karasina F, Wang Z, Itatani J, Green L, Hwang YR 1995. Identification of plant growth inhibitor principles in *Ailanthus altissima* and *Castela tortuosa*. *J Agr Food Chem* 43: 1708-1711.
- Loizzo MR, Said A, Tundis R, Rashed K, Statti GA, Hufner A, Menichi F 2007. Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) by flavonoids isolated from *Ailanthus excelsa* (Roxb) (Simaroubaceae). *Phytother Res* 21: 32-36.
- Low BS, Das PK, Chan KL 2013. Standardized quassinoid-rich *Eurycoma longifolia* extract improved spermatogenesis and fertility in male rats via the hypothalamic–pituitary–gonadal axis. *J Ethnopharmacol* 145: 706-714.
- Lumonadio L, Vanhaelen M 1985. Indole alkaloids and quassin from *Quassia africana*. *J Nat Prod* 49(5): 940.

- Mancebo F, Hilje L, Mora GA, Salazar R 2000. Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. *Crop Prot* 19: 301-305.
- Matsuzaki T, Fukamiya N, Okano M, Fujita T 1991. Picrasinoside H, a new quassinoid glucoside, and related compounds from the stem wood of *Picrasma ailanthoides*. *J Nat Prod* 54(3): 844-848.
- Mendes FR, Carlini EA 2007. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. *J Ethnopharmacol* 109: 493-500.
- Merrien A, Polonsky J 1971. The natural occurrence of melianodiol and its diacetate in *Samadera madagascariensis* (Simaroubaceae): model experiments on melianodiol directed towards simarolide. *Chem Commun* 6: 261-263.
- Mesquita AG, Arriaga AMC, Oliveira FA, Braz-Filho R 1997. Quassinóide de *Simarouba versicolor*. 20^a Reunião Anual da SBQ. Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil.
- Miller S, Tinto W 1995a. Quassiols B-D, new squalene triterpenes from *Quassia multiflora*. *Tetrahedron* 51(54): 11959-11966.
- Miller S, Tinto W 1995b. Isolation and characterization of a new glabretal triterpene from *Quassia multiflora*. *J Nat Prod* 58(10): 1640-1642.
- Mitchell R, Stocklin W, Stefanovic M, Geissman TA 1971. Chaparrolide and castelanolide, new bitter principles from *Castela nicholsoni*. *Phytochemistry* 10: 411-417.
- Moncada M, Machado S 1987. Los granos de polen de simaroubaceae. *Acta botanica cubana* 45: 1-7.
- Moretti C 1986. Contribution à l'étude de quatre simaroubacées médicinales de 1a guyane. Quassinoides de: *Picrolemma pseudocoffea* Ducke, *Simaba cuspidate* Spruce, *Simaba multiflora* Juss., *Simaba morettii* C. Feuillet. Paris, 156p. PhD Thesis, Université Paris.

- Moretti C, Bhatnagar S, Beloeil JC, Polonsky J 1986. Two new quassinoids from *Simaba multiflora* fruits. *J Nat Prod* 49(3): 440-444.
- Moretti C, Polonsky J, Vuilhorgne M, Prange T 1982. Isolation and structure of sergeolide, a potent cytotoxic quassinoid from *Picrolemma pseudocoffea*. *Tetrahedron Lett* 23: 647-650.
- Muhammad I, Bedir E, Khan SI, Tekwani BL, Khan IA, Takamatsu S, Pelletier J, Walker LA 2004. A new antimalarial quassinoid from *Simaba orinocensis*. *J Nat Prod*. 62: 772-777.
- Murgu M 1998. Estudo de metodologias analíticas para quassinóides: espectrometria de massas e cromatografia. São Carlos, 131p. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos.
- Noldin VF 2005. *Estudo fitoquímico das folhas e rizomas de Simaba ferruginea st. Hil. e avaliação da atividade antiúlcera e antinociceptiva dos extratos e compostos isolados*. Itajai, 91p. Dissertação de Mestrado, Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajai.
- Noorshahida A, Wong TW, Choo CY 2009. Hypoglycemic effect of quassinoids from *Brucea javanica* (L.) Merr (Simaroubaceae) seeds. *J Ethnopharmacol* 124: 586-591.
- Nunomura RCS, Silva ECC, Oliveira DF, Garcia AM, Boeloni JN, Nunomura SM, Pohlit AM 2006. *In vitro* studies of the anthelmintic activity of *Picrolemma sprucei* Hook. F. (Simaroubaceae). *Acta amazonica* 36(3): 327-330.
- Ogura M, Cordell GA, Kinghorn AD, Farnsworth NR 1977. Potential anticancer agents VI. Constituents of *Ailanthus excelsa* (Simaroubaceae). *Lloydia* 40: 579-584.
- Okano M, Fukamiya N, Tagahara H, Cosentino M, Lee TTY, Morris-Natschke, Lee KH 1996. Anti-hiv activity of quassinoids. *Bioorg Med Chem Lett* 6(6): 701-706.

- Okunade AL, Bikoff EL, Casper SJ, Oskman A, Goldberg DE, Lewis WH 2003. Antiplasmodial activity of extracts and quassinoids isolated from seedlings of *Ailanthus altissima* (simaroubaceae). *Phytother Res* 17(6): 675-670.
- O'Neill MJ, Bray DH, Boardman P, Wright CW, Phillipson JD, Warhurst DC, Gupta MP, Correia M, Solis P 1988. Plants as sources of antimalarial drugs, part 6: activities of *Simarouba amara* fruits. *J Ethnopharmacol* 22(2): 183-190.
- Pettit GR, Singh SB, Goswami A, Nieman RA 1988. Antineoplastic agents 157. *Quassia kerstingii*. *Tetrahedron* 44(11): 3349-3354.
- Pierré A, Robert-Géro M, Tempête C, Polonsky J 1980. Structural requirements of quassinoids for the inhibition of cell transformations. *Biochem Biophys Res Commun* 93: 675-680.
- Planchon JE 1846. Revue de la famille des simaroubées. *London Journal of Botany* 5: 560-584, apud *Chemical Abstracts* ST: 318353.
- Polonsky J 1964. The structure of simarolide, the bitter principle of *Simarouba amara*. *Proc Chem Soc* 1:292-293.
- Polonsky J 1985. Quassinoid bitter principles II. *Forstch Chem Org Naturst* 41: 221-264.
- Polonsky J, Baskevitch-Varon Z, Das BC 1976. Triterpenes tetracycliques du *Simarouba amara*. *Phytochemistry* 15: 337-339.
- Polonsky J, Varon Z, Rabanal RM 1977. 21,20-anhydromelianone and melianone from *Simarouba amara* (Simaroubaceae): carbon-13 NMR spectral analysis of Δ^7 -tirucallol-type triterpenes. *Isr J Chem* 16: 16-19.
- Polonsky J, Varon Z, Soler E 1979. Constituents amers de *Castela tweedii* (Simaroubaceae). Structure d'un nouveau quassinolide, la castelanone. *C R Acad Sci* 288: 269.

- Polonsky J, Varon Z, Jacquemin H, Pettit GR 1978. The isolation and structure of 13,18-dehydroglaucarubinone a new antineoplastic quassinoid from *Simarouba amara*. *Experientia* 34: 1122-1123.
- Raji Y, Bolarinwa AF 1997. Antifertility activity of *Quassia amara* in male rats: *in vivo* study. *Life Sci* 61(11): 1067-1074.
- Raji Y, Oloyede GK 2012. Antiulcerogenic effects and possible mechanism of action of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) extract and its bioactive principles in rats. *Afr J Tradit Complem* 9(1): 112-119.
- Rivero-cruz JF, Lezutekong R, Lobo-Echeverri T, Ito A, Mi Q, Chai HB, Soejarto DD, Cordell GA, Pezzuto JM, Swanson SM, Morelli I, Kinghorn AD 2005. Cytotoxic constituents of the twigs of *Simarouba glauca* collected from a plot in southern Florida. *Phytoter Res* 19: 136-140.
- Rodríguez-Gamboa T, Fernandes JB, Filho ER, Silva MFGF, Vieira PC, Barrios-Ch M, Castro-Castillo O, Victor SR, Pagnocca FC, Bueno OC, Hebling MJA 2001. Triterpene benzoates from the bark of *Picramnia teapensis* (Simaroubaceae). *J Braz Chem Soc* 12(3) 386-390.
- Rodrigues-Filho E, Fernandes JB, Vieira PC, Silva MFGF 1992. Canthin-6-one alkaloids from *Picrolemma granatensis*. *Phytochemistry* 31(7): 2499-2501.
- Rodrigues-Filho E, Fernandes JB, Vieira PC, Silva MFGF 1993. Quassinoids and tetranortriterpenoids from *Picrolemma granatensis*. *Phytochemistry* 34(1): 501-504.
- Rodrigues-Filho E, Fernandes JC, Vieira PC, Silva MFGF, Schpector JZ, Lima RMOC, Nascimento SC, Thomas W 1996. Protolimonoids and quassinoids from *Picrolemma granatensis*. *Phytochemistry* 43(4): 857-862.

- Saraiva RCG, Barreto, AS, Siani AC, Ferreira JLP, Araújo RB, Nunomura SM, Pohlit AM 2002. Anatomia foliar e caular de *Picrolemma sprucei* Hook (Simaroubaceae). *Acta Amazonica* 33(2): 213-220.
- Saraiva RCG, Pinto AC, Nunomura SM, Pohlit AM 2006. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W. W. Thomas (Simaroubaceae). *Quim Nova* 29(2) 264-268.
- Shields M, Niazi U, Badal S, Yee T, Sutcliffe MJ, Delgoda R 2009. Inhibition of CYP1A1 by quassinoids found in *Picrasma excelsa*. *Planta Med* 75: 137-141.
- Showalter HDH 2013. Progress in the synthesis of canthine alkaloids and ring-truncated congeners. *J Nat Prod* 76(3): 455-467.
- Silva ECC, Cavalcanti BC, Amorim RCN, Lucena JF, Quadros DS, Tadi WP, Montenegro RC, Costa-lotufo LV, Pessoa C, Moraes MO, Nunomura RCS, Nunomura SM, Melo MRS, Andrade-neto VF, Silva LFR, Vieira PPR, Pohlit AM 2009a. Biological activity of neosergeolide and isobrucein B (and two semi-synthetic derivatives) isolated from the amazonian medicinal plant *Picrolemma sprucei* (Simaroubaceae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104(1): 48-56.
- Silva ECC, Amorim RCN, Tadei WP, Pohlit AM 2009b. Gram-scale isolation of isobrucein B and neosergeolide from *Picrolemma sprucei* Hook. *Acta amazonica* 39(1): 229-232.
- Silva MAB, Melo LVL, Ribeiro RV, Souza JPM, Lima JCS, Martins DTO, Silva RM 2010. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de nova Xavantina-MT, Brasil. *Rev Bras Farmacogn* 20(4): 549-562.
- Simão SM, Barreiros EL, Silva MFGF, Gottlieb OR 1991. Chemogeographical evolution of quassinoids in Simaroubaceae. *Phytochemistry* 30: 853-865.

- Sugimoto Y, Sakita T, Moriyama Y, Murae T, Tsuyuki T, Takahashi T 1978. Structure of gniakialcohol, a new ionone derivative from *Picrasma ailanthoides* Planchon. *Tetrahedron Lett* 44: 4285-4288.
- Tada H, Yasuda F, Otani K, Doteuchi M, Ishhara Y, Shiro M 1991. New antiulcer quassinoids from *Eurycroma longifolia*. *Eur J Med Chem* 26: 345-349.
- Tanigushi K, Takizawa S, Hirano T, Murata S, Kagechika H, Kishid A, Ohsaki A 2012. Amarastelline A: a fluorescent alkaloid from *Quassia amara* and its properties in living cells. *Chem Plus Chem* 77(6): 427-431.
- Thomas WW 1990. The american genera of Simaroubaceae and their distribution. *Acta Bot Bras* 4(1): 11-18.
- Thorne RF 1992. An updated phylogenetic classification of the flowering plants. *Aliso* 13: 365-389.
- Tinto W, Reynolds S, Carter C 1993. Quassiol A, a novel squalene triterpene from *Quassia multiflora*. *Tetrahedron Lett* 34(11): 1705-1708.
- Toma W, Gracioso JS, Andrade FDP, Hiruma-Lima CA, Vilegas W, Souza Brito ARM 2002. Antiulcerogenic activity of four extracts obtained from the bark wood of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Biol Pharm Bull* 25(9): 1151-1155.
- Toma W, Gracioso JS, Hiruma-Lima CA, Andrade FDP, Vilegas W, Souza Brito ARM 2003. Evaluation of the analgesic and antiedematogenic activities of *Quassia amara* bark extract. *J Ethnopharmacol* 85: 19-23.
- Valdez AFC, Martinez JM, Lizama RS, Vermeersch M, Cos P, Maes L 2008. *In vitro* antimicrobial activity of the cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC, *Melaleuca leucadendron* L. and *Artemisia absinthium* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103(6): 615-618.
- Valenta Z, Papadopoulos S, Podesva C 1961. Quassin and neoquassin. *Tetrahedron* 15: 100-110.

- Valeriote FA, Corbett TH, Grieco PA, Moher ED, Collins JL, Fleck TJ 1998. Anticancer activity of glaucarubinone analogues. *Oncol Res* 10(4): 201-208.
- Wagner H, Nestler T 1978. N-methoxy-1-vinyl- β -carbolin, en neues alkaloid aus *Picrasma excels* (Swartz) Planchon. *Tetrahedron Lett* 31: 2777-2778.
- Webber IE 1936. Systematic anatomy of the wood of the Simaroubaceae. *Am JBot* 23: 577-587.
- Wright CW, O'Neill MJ, Phillipson JD, Warhurst DC 1988. Use of microdilution to assess in vitro antiamoebic activities of *Brucea javanica* fruits, *Simarouba amara* stem, and a number of quassinoids. *Antimicrob Agents Chemother* 32(11): 1725-1729.
- Wright CW, Anderson MM, Allen D, Phillipson JD, Kirby GC, Warhurst DC, Chang HR 1993. Quassinoids exhibit greater selectivity against *Plasmodium falciparum* than against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* or *Toxoplasma gondii* in vitro. *J Eukaryot Microbiol* 40(3): 244-246.
- Yang SP, Yue JM 2004. Five new quassinoids from the bark of *Picrasma quassioides*. *Helv Chim Acta* 87: 1591-1600.
- Yoshikawa M, Harada E, Aoki S, Yamahara J, Murakami N, Shibuya H, Kitagawa I 1993. Indonesian medicinal-plants.VI. On the chemical-constituents of the bark of *Picrasma javanica*BL (Simaroubaceae) from Flores Island. Absolute stereostructures of picrajanin-A and picrajanin-B. *Chem Pharm Bull* 41(12) 2101-2105.
- Yoshikawa M, Sugawara S, Arihara S 1995. Phenylpropanoids and other secondary metabolites from fresh fruits of *Picrasma quassioides*. *Phytochemistry* 40(1): 253-256.

*** Correspondência:**

Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE, Rua Prof. Artur de Sá, s/n; Cidade Universitária, Recife-PE; CEP: 50.740-521.

Telefone: +55 81 2126-8511; Fax: +55 81 2126-8510; Email: Karina.prandau@ufpe.br

Figura 1. Algumas espécies da família Simaroubaceae.



A. *Ailanthus altissima*. B. *Quassia amara*. C. *Simarouba amara*.

Fontes: A. Georges Jansoone, 2005.

B. *Quassia amara*. Disponível em:

<<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Quassiaamara.jpg>>. Acesso em 20 mar. 2014.

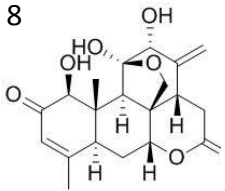
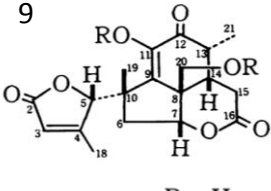
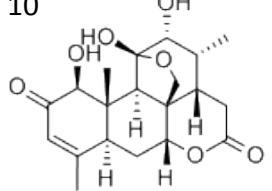
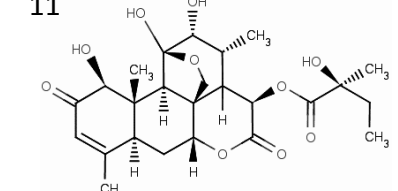
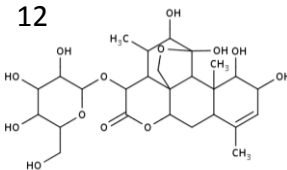
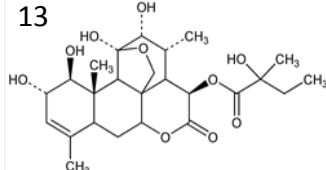
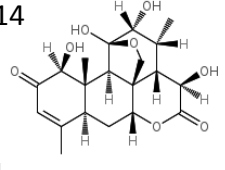
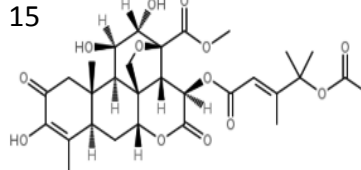
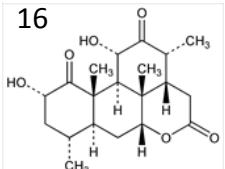
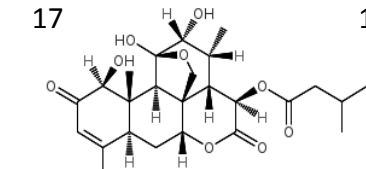
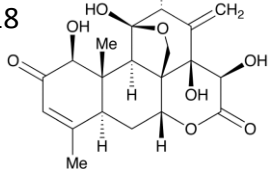
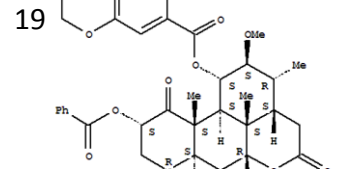
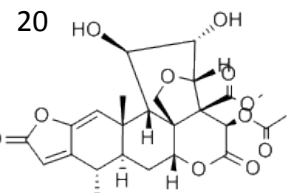
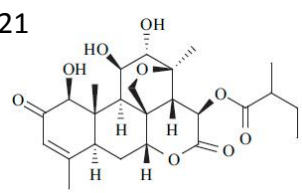
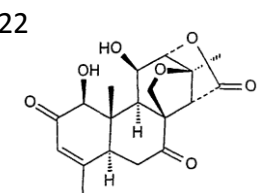
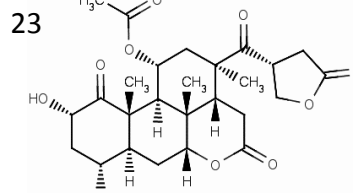
C. Tarcisio Leão, 2013.

Quadro 1. Constituintes químicos das principais espécies da família Simaroubaceae.

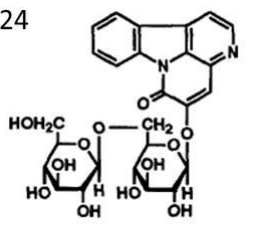
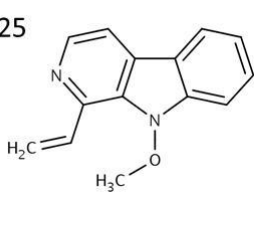
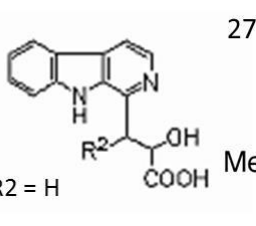
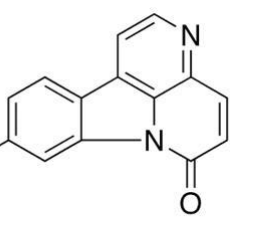
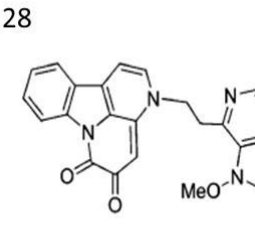
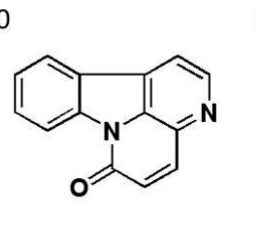
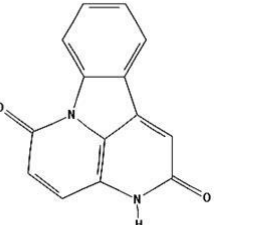
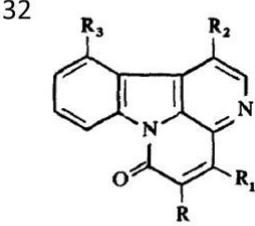
Gênero	Composto	Parte da Planta	Referência
Quassinoides			
<i>Ailanthus</i>	Ailantonona (8)	Sementes	Okunade et al., 2003
	Shinjulactona	Raiz	Ishibashi et al., 1983
	Shinjulactonas B (9), C, D, E, L, I, J, K	Raiz, Caule	Ishibashi et al., 1984 Furuno et al., 1984 Ishibashi; Tsuyuki; Takahashi; 1985
	Chaparrinona (10)	Raiz	Dou et al., 1996a
	2,12-Didemetilquassina	Raiz	Dou et al., 1996a
	Ailantinona	Raiz	Ogura et al., 1977
	Glaucarubinona (11)	Raiz	Ogura et al., 1977
	Glaucarubol (12)	Raiz	Ogura et al., 1977
	Excelsina	Caule	Joshi et al., 2003
	Glaucarubina (13)	Caule	Joshi et al., 2003

	Glaucarubolona (14)	Caule	Joshi et al., 2003
<i>Brucea</i>	Bruceinas E and D	Sementes	Noorshahida; Wong; Choo, 2009
	2,12-didemetilquassina	Fruto	Dou et al., 1996a
	Bruceinas A, B e C	Fruto	Bawn et al., 2008
	Bruceantinol (15)	Fruto	Bawn et al., 2008
	Brusatol	Fruto	Bawn et al., 2008
	Bruceajavaninas Ae B	Caule	Kitagawa et al., 1994
<i>Castela</i>	Glaucarubolona (14)	Partes Aéreas	Jacobs; Simpson; Reynolds, 2007
	Holacantona	Partes Aéreas	Jacobs; Simpson; Reynolds, 2007
	2,12-didemetilquassina	Raiz	Dou et al., 1996a
	Chaparrinona (10)	Raiz	Dou et al., 1996a
	Glaucarubinona (11)	Caule	Dou et al., 1996a
	Amarolida (16)	Leaves	Dou et al., 1996b
	Glaucarubol (12)	Leaves	Dou et al., 1996b
	Chaparrina	Partes Aéreas	Geissman & Chandorkar, 1961
	Chaparrolida	Não Descrito	Mitchell et al., 1971
	Castelanolida	Não Descrito	Mitchell et al., 1971
	Peninsularinona	Raiz	Grieco et al., 1994
	Castelosideo C	Casca	Kubo & Chaudhuri, 1993
	Chaparramarina	Casca	Kubo; Murai; Chaudhuri, 1992
	Castelalina	Casca	Kubo; Murai; Chaudhuri, 1993
	Poliandrol	Raiz	Grieco et al., 1995
	Castelanona (17)	Não Descrito	Polonsky; Varon; Soler, 1979
<i>Picrasma</i>	Picrajavaninas A (19) e B	Caule	Yoshikawa et al., 1993
	Javanicinas H, I, J, K, L, O, R e S	Folhas	Koike et al., 1991a and b
	Javanicinosideos I, J, K e L	Caule	Koike & Ohmoto, 1992
	Javanicinas T, U e Z	Caule	Koike et al., 1995
	Nigakilactonas B, C, E e F	Folhas, Caule	Chen et al., 2009
	Quassina (6)	Folhas	Shields et al., 2009
	Neoquassina (7)	Caule	Wagner & Nestler, 1978
	Isoquassina	Caule	Wagner & Nestler, 1978
	Picrasinas A, B, C, D, E, F, G e H	Caule	Hikino; Otha; Takemoto, 1975
	Picraqualidas A, B, C, D e E	Casca	Yang & Yue, 2004
	Kusulactona	Casca	Yang & Yue, 2004
	Simalikalactona C	Casca	Yang & Yue, 2004
	Picrasinol Be D	Caule	Daido; Fukamiya; Okano, 1995
	Picrasinosideos B, C, D, E, G e H	Caule	Matsuzaki et al., 1991

<i>Picrolemma</i>	Isobruceina B Neosergeolida Sergeolida (20)	Caule Raiz, Folhas Raiz	Silva et al., 2009b Silva et al., 2009b Moretti, 1982
	Simalikalactona D (21)	Caule	Rodrigues-Filho et al., 1993
	Ailatinona	Caule	Rodrigues-Filho et al., 1993
	Glaucarubolona (14)	Caule	Rodrigues-Filho et al., 1996
	Glaucarubinona (11)	Caule	Rodrigues-Filho et al., 1996
	Glaucarubol (12)	Caule	Rodrigues-Filho et al., 1996
	Excelsina	Caule	Rodrigues-Filho et al., 1996
<i>Quassia</i>	Simalikalactonas D (21) e E	Folhas	Houël et al., 2009 Cachet et al., 2009
	Quassina (6)	Folhas	Bertani et al., 2012
	Neoquassina (7)	Folhas	Bertani et al., 2012
	Picrasinas B, H, I, Je K	Folhas	Cachet et al., 2012
	Paraina Quassimarina	Caule Entrecasca	Dou et al., 1996a Kupchan & Streelman, 1976
	Chaparrinona (10)	Partes Aérias	Latif et al., 2000
	Samaderinas B, E, X, Y e Z	Caule	Kitagawa et al., 1996
	Simarinolida	Caule	Kitagawa et al., 1996
	Indaquassinas A, B, C, D, E e F	Caule	Koike & Ohmoto, 1993
	Bruceina D Soulameolida	Casca Casca	Koike & Ohmoto, 1994 Koike & Ohmoto, 1994
<i>Samadera</i>	Glaucarubina (13)	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	Samaderinas B (22) e C	Folhas	Merrien & Polonsky, 1971
<i>Simaba</i>	Chaparrina	Raiz	Moretti, 1986
	Chaparrinona (10)	Raiz	Moretti, 1986
	Karinolida	Caule	Moretti, 1986
	Simarolida (23)	Raiz	Moretti, 1986
	Simarinolida	Raiz	Moretti, 1986
	Guanepolida	Raiz	Moretti, 1986
<i>Simarouba</i>	Amarolida (16)	Raiz	Arriaga et al., 2002
	Glaucarubinona (11)	Fruto	Gosh et al., 1977
	Glaucarubina (13)	Fruto	Mesquita et al., 1997 Ham et al., 1954
	Ailantinona	Fruto	O'Neill et al., 1988
	Glaucarubolona (14)	Sementes	Bhatnagar et al., 1984

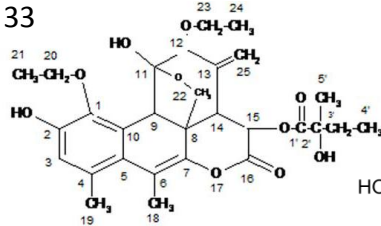
	Glaucarubolol Simarolida (23) Chaparrinona (10) 2,12-didemetilquassina Holacantona	Sementes Raiz Raiz Raiz Raiz	Bhatnagar et al., 1984 Polonsky,1964 Dou et al., 1996a Dou et al., 1996a Dou et al., 1996a				
8		9		10		11	
12		13		14		15	
16		17		18		19	
20		21		22		23	
Alcaloides							
<i>Brucea</i>	Bruceacantinosideo (24)	Caule	Kitagawa et al., 1994				
<i>Picrasma</i>	4-Metóxi-1-etil- β -carbolina	Caule	Yoshikawa et al., 1993				
	4-metóxi-1-acetil- β -carbolina	Caule	Yoshikawa et al., 1993				
	N-Metóxi-1-vinil- β -carbolina	Caule	Wagner & Nestler, 1978				
	(25)						
	β -Carbolina-1-il-4,8-dimetóxi-	Caule	Chen et al., 2009				
	β -carbolina-1-iletil ketona						
	4,8-Dimetóxi-1-vinil- β -	Caule	Chen et al., 2009				
	carbolinae outras β -carbolinas						
	3-metilcantin-5,6-diona	Caule	Chen et al., 2009				
	Dimetóxi-3-(1-hidróxiletíl)- β -	Caule	Jiao et al., 2010a				
carbolina							
3-Etóxicarbonil- β -carbolina	Caule	Koike; Ohmoto; Ikeda, 1990					
Picrasidina X (26)	Caule	Jiao et al., 2010a					
Quassidinas A, B, C e D	Caule	Jiao et al., 2010b					
Picrasidina C	Caule	Jiao et al., 2010b					
Picrasidina U	Raiz	Koike & Ohmoto, 1988					

	Picrasidina T	Casca	Koike; Ohmoto; Higuchi, 1987
<i>Picrolemma</i>	9-Metóxicantin-6-ona (27)	Ramos	Rodrigues-Filho et al., 1992
	9-Hidróxicantin-6-ona	Ramos	Rodrigues-Filho et al., 1992
	4.5-Dimetoxicantin-6-ona	Ramos	Rodrigues-Filho et al., 1992
<i>Quassia</i>	Astramelina A (28)	Casca	Tanigushi et al., 2012
	2-Metoxicantin-6-ona	Não Descrito	Raji & Oloyede, 2012
	4-Metoxi-5-Hidroxican-6-ona	Caule	Grandolini et al., 1987
	1-Vinil-4,8-Dimetoxi-Beta-Carbolina (29)	Caule	Barbetti et al., 1987
	3-Metilcantin-2,6-Diona	Caule	Barbetti et al., 1987
	Cantin-2,6-diona	Casca	Koike & Ohmoto, 1994
	2-Hidrox-11-Hidrox-cantin-6-ona	Caule	Pettit et al., 1990
	Cantin-6-ona (30)	Raiz	Lumonadio & Vanhaelen, 1985
<i>Samadera</i>	4-Metiltiocantin-6-ona	Raiz	Ayafor et al., 1993
	1,8-Dihidroxiacridan-9-ona	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
<i>Simaba</i>	2-(10'-acetoxiundecanil)-1-acetoximetil-4-quinolona	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	Cantin-2,6-diona (31)	Caule	Saraiva et al., 2006
	9-Metoxi-cantin-6-ona	Caule	Saraiva et al., 2006
<i>Simarouba</i>	3-Metoxycantin-2,6-diona	Casca	Giesbrecht et al., 1980
	5-Hidroxican-6-ona (32)	Raiz	Lassak; Polonsky; Jacquemin, 1977
	Cantin-6-ona(30) e outros alcaloides cantinônicos	Ramos	Rivero-Cruz et al., 2005

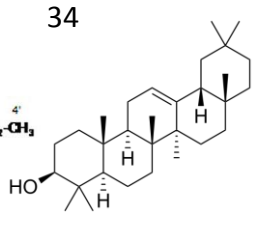
24  25  26  27  28  29  30  31  32  R R₁ R₂ R₃ —OH —H —H —H			
Triterpenos			
<i>Ailanthus</i>	AECHL-1 (33)	Raiz	Lavhale et al., 2009
<i>Castela</i>	Acetatos de α - e β -Amirina (34) Nilocitina (35)	Ramos Ramos, espinhos	Jacobs; Simpson; Reynolds, 2007 Grieco et al., 1999a
<i>Picrolemma</i>	Melianodiol (36) Dihidroxi-3-oxo-24,25,26,27-tetranorapotirucall-14,20(22)-dien-21,23-olidae outros 21,23-Epoxi-7 α ,20,21,24,25-pentahidroxiapotirucall α -14-en-3-onae outros	Caule Caule Caule	Rodrigues-Filho et al., 1993 Rodrigues-Filho et al., 1993 Rodrigues-Filho et al., 1996
<i>Quassia</i>	Quassióis A, B, C e D Triterpeno Glabretal (C ₃₅ H ₅₆ O ₇) (37)	Raiz Raiz	Miller & Tinto, 1995a Tinto; Reynolds; Carter, 1993 Miller & Tinto, 1995b
<i>Simaba</i>	Nilocitina (35) Taraxerona	Caule Caule	Saraiva et al., 2006 Saraiva et al., 2006
<i>Simarouba</i>	Ocotilona (38) Nilocitina (35) Bourjutinolona A 3-Episapelina Tirucalla-7,24-dien-3-ona e outros	Raiz Ramos Fruto Fruto Fruto	Arriaga et al., 2002 Gosh et al., 1977 Arriaga et al., 2002 Arriaga et al., 2002 Arriaga et al., 2002

21,20-Anidromelianona	Raiz	Polonsky; Varon; Rabanal, 1977
Melianona (39)	Raiz	Polonsky; Varon; Rabanal, 1977
Oxo-3-tirucalla-7,24-dieno	Caule	Polonsky; Baskevitch-Varon; Das, 1976
Δ^7 -Tirucallona (40)	Caule	Polonsky; Varon; Rabanal, 1977
Simaroubinas A, B, C eD	Casca	Grosvenor et al., 2006
Octanorsimaroubina A	Casca	Grosvenor et al., 2006
24,25-Epoxi-3-oxotirucalla-8-em-23-ol	Casca	Grosvenor et al., 2006
14-Deacetileurileno	Ramos	Rivero-Cruz et al., 2005

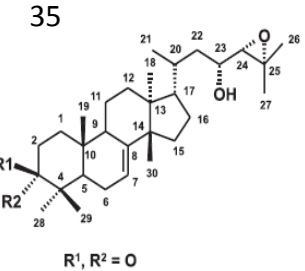
33



34

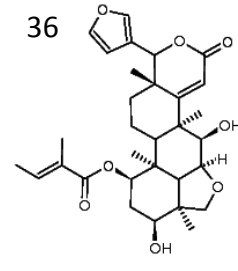


35

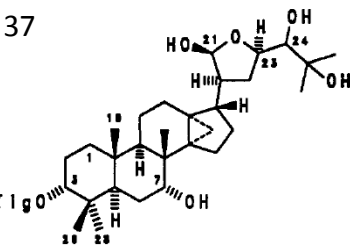


$R^1, R^2 = O$

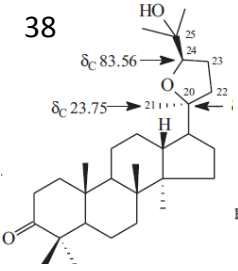
36



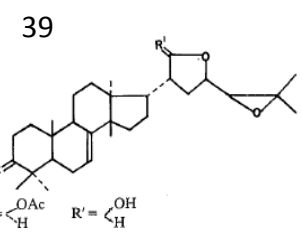
37



38

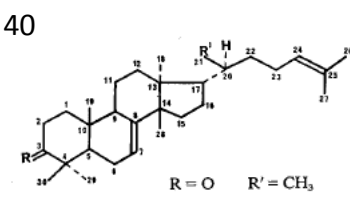


39



$R = \text{OAc}$ $R' = \text{OH}$

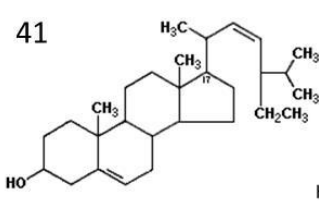
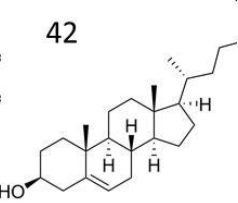
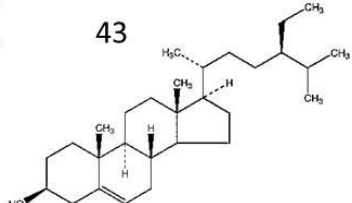
40



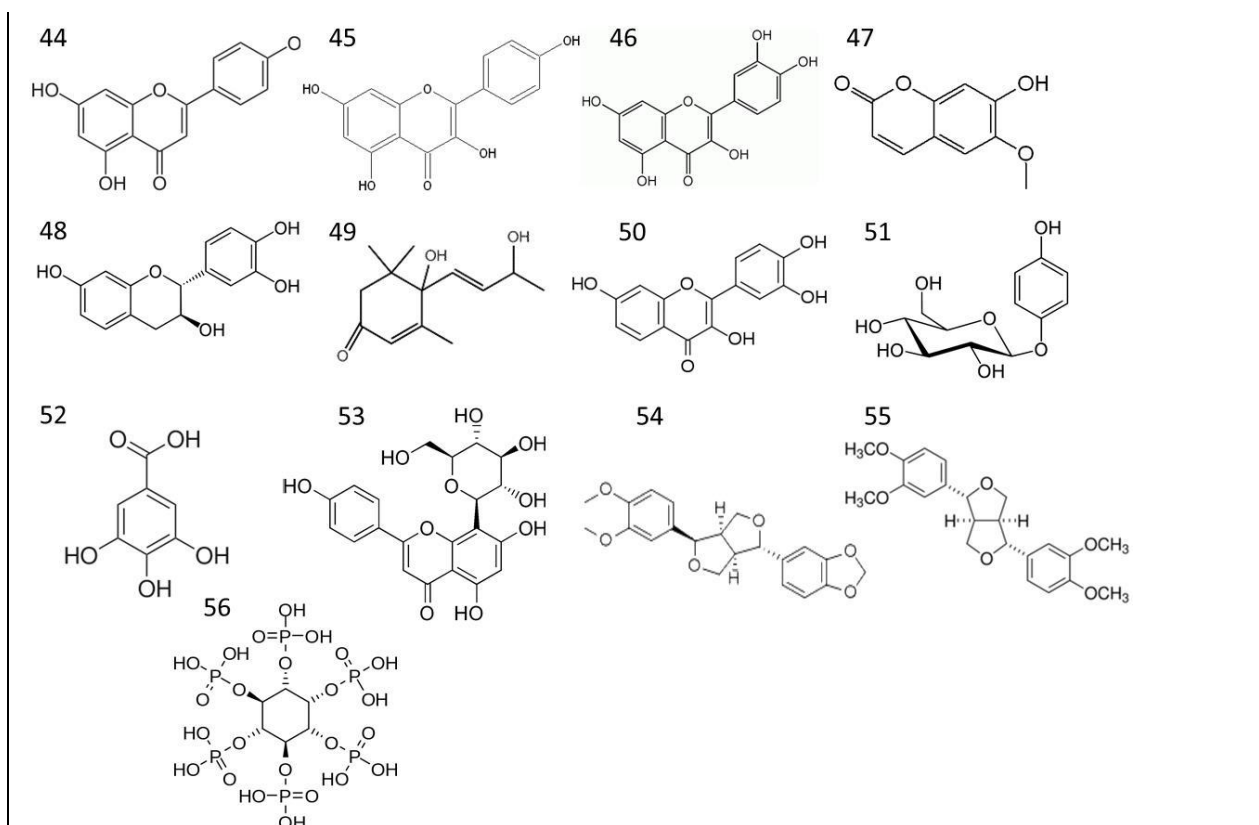
$R = O$ $R' = \text{CH}_3$

Esteroides

<i>Castela</i>	3 α ,17 α ,20(S)-Trihidroxipregnane-6,16-diona (-)-[3 α ,16 β ,17 α ,20(S)]-3,16,17,20-Tetrahidroxipregnane-6-ona	Raiz Ramos, espinhos	Grieco et al., 1994 Grieco et al., 1999b
<i>Picrolemma</i>	Sitosterol Stigmasterol (41) Campesterol (42)	Caule Caule Caule	Rodrigues-Filho et al., 1993 Rodrigues-Filho et al., 1993 Rodrigues-Filho et al., 1993
<i>Simarouba</i>	β -Sitosterol (43)	Raiz, Fruto	Arriaga et al., 2002

41  42  43 			
Outros Constituintes			
<i>Ailanthus</i>	Apigenina (44) Luteolina Caempferol (45) Quercetina (46) Escaleno Scopoletina (47) Astragalina Escopolina	Folhas Folhas Folhas Folhas Folhas Folhas Folhas Folhas	Loizzo et al., 2007 Loizzo et al., 2007 Loizzo et al., 2007 Loizzo et al., 2007 Jin et al., 2009 Jin et al., 2009 Jin et al., 2009 Jin et al., 2009
<i>Castela</i>	Escopoletina (47) Metil vanilato Prosopina Fisetinidol (48) Metil Galato Glicosídeo 1 (C ₁₉ H ₂₈ O ₈)	Partes Aéreas Partes Aéreas Casca Casca Casca Ramos Espinhas	Jacobs; Simpson; Reynolds, 2007 Jacobs; Simpson; Reynolds, 2007 Kubo; Murai; Chaudhuri, 1993 Kubo; Murai; Chaudhuri, 1993 Kubo; Murai; Chaudhuri, 1993 Grieco et al., 1999b Grieco et al., 1999b
<i>Picrasma</i>	6-Metoxi-7,8-metilenodioxo- Cumarina Nigakiálcool Vomifoliol (49) Picrasmalignana A Buddlenol A e C 2'-Isopicrasina A Fisetina (50) Arbutina (51) Florina Coaburasideo Siringina Citrusina B	Caule Folhas Folhas Caule Caule Caule Caule Fruto Fruto Fruto Fruto Fruto	Yoshikawa et al., 1993 Sugimoto et al., 1978 Sugimoto et al., 1978 Jiao et al., 2011 Jiao et al., 2011 Jiao et al., 2011 Jiao et al., 2011 Yoshikawa; Sugawara; Arihara, 1995 Yoshikawa; Sugawara; Arihara, 1995 Yoshikawa; Sugawara; Arihara, 1995 Yoshikawa; Sugawara; Arihara, 1995 Yoshikawa; Sugawara; Arihara, 1995
<i>Picrolemma</i>	Escopoletina (47)	Ramos	Rodrigues-Filho et al., 1992
<i>Quassia</i>	Ácido Gálico (52) Metil Galato Apiosil Galato	Folhas Folhas Folhas	Fabre et al., 2012 Fabre et al., 2012 Fabre et al., 2012

	Vitexina (53)	Folhas	Fabre et al., 2012
<i>Samadera</i>	(-)-Sesamina	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	Fargesina (54)	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	(-)-Neofargesina	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	(-)-cobusina	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	(-)-Eudesmina (55)	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	Limonina	Não Descrito	Gibbons et al., 1997
	Melianodiol	Folhas	Merrien & Polonsky, 1971
<i>Simarouba</i>	Campferol	Raiz, Fruto	Arriaga et al., 2002
	Epilupeol	Não Descrito	Gosh et al., 1977
	Melianodiol	Ramos	Rivero-Cruz et al., 2005
	Escopoletina	Ramos	Rivero-Cruz et al., 2005
	Fraxidina	Ramos	Rivero-Cruz et al., 2005
	Ácidos Palmítico, Esteárico, Oleico, Linoleico e Linolênico	Sementes	Jeyarani & Reddy, 2001
	Saponinas	Sementes	Joshi & Hiremath, 2000 Govindaraju; Darukeshwara; Srivastava, 2009
	Compostos Fenólicos	Sementes	Govindaraju; Darukeshwara; Srivastava, 2009
	Ácido Fítico (56)	Sementes	Govindaraju; Darukeshwara; Srivastava, 2009
	Aminoácidos	Sementes	Govindaraju; Darukeshwara; Srivastava, 2009



Quadro 2. Atividades biológicas dos principais gêneros da família Simaroubaceae.

Gênero	Atividade	Referência
<i>Ailanthus</i>	Antiasmático	Kumar et al., 2011
	Antialergênico	
	Citotóxico (carcinoma e adenocarcinoma mamário, melanoma e câncer de próstata)	Lavhale et al., 2009
	Hipotensor: inibição da Enzima Conversora de Angiotensina	Loizzo et al., 2007
	Antiplasmódica	Okunade et al., 2003
<i>Brucea</i>	Citotóxico	Ehata et al., 2012
	Antiprotozoário (contra <i>Trypanossoma cruzi</i> e <i>brucei</i> , <i>Leishmania infantum</i> , <i>Plasmodium falciparum</i>)	
	Hipoglicêmico	Noorshahida; Wong; Choo, 2009
<i>Eurycoma</i>	Antiprotozoário (<i>Trypanossoma evansi</i>)	Bawn et al., 2008
<i>Eurycoma</i>	Aumenta a espermato gênese e fertilidade	Low et al., 2013
<i>Picrolemma</i>	Anthelmíntico	Nunomura et al., 2006
	Larvacida (contra <i>Aedes aegypti</i>)	Silva et al., 2009a
	Antimalárico (contra <i>Plasmodium falciparum</i>)	
<i>Quassia</i>	Antimalárico (contra <i>Plasmodium berghei</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> resistente à cloroquina)	Ajaiyeoba et al., 1999
	Antituberculogênico	Bertani et al., 2006, 2012
		Cachet et al., 2009
		García-Barrantes & Badilla,

	Antidiabético Antifertilizante Sedativo e anticonceptivo Citotóxico (contra leucemia linfocítica, carcinoma nasofaríngeo humano e adenocarcinoma mamário humano) Anti-alimentar (<i>Bemisia tabaci</i> e <i>Hypsipyla grandella</i>) Inseticida (contra <i>Tetranychus urticae</i> , <i>Myzus persicae</i> e <i>Meloidogyne incognita</i>) Antimalárico (contra <i>Plasmodium berghei</i>)	2011 Toma et al., 2002 Hussain et al., 2011 Raji & Bolarinwa, 1997 Toma et al., 2003 Kupchan & Streelman, 1976 Houël et al., 2009 Flores et al., 2008 Mancebo et al., 2000 Latif et al., 2000 Ajaiyeoba et al., 1999
<i>Simaba</i>	Antiulcerogênico Antineoplásico Antimalárico Hipolipidêmico	Almeida et al., 2011 Almeida et al., 2011 Muhammad et al., 2004 Silva et al., 2010
<i>Simarouba</i>	Antiplasmódico (contra <i>Plasmodium falciparum</i> e <i>berghei</i>) Antiprotozoário (contra <i>Trypanosoma brucei</i> e <i>cruzi</i> , <i>Lishmania infantum</i> e <i>Plasmodium falciparum</i>) Antiulcerogênico Amebicida Citotóxico Antiviral Antimicrobiano (contra <i>Salmonella typhosa</i> e <i>Shigella flexneri</i>) Promove diferenciação de queratinócitos	O'Neill et al., 1988 Valdez et al., 2008 Mendes; Carlini, 2007 Wright et al., 1988 Polonsky et al., 1978 Valeriotte et al., 1998 Kaij-A-Kamb, 1992 Caceres et al., 1990 Casetti et al., 2011

Capítulo II

5. CAPÍTULO II

ARTIGO II - Anatomia da Raiz, Caule e Folha de *Simarouba amara* Aubl.
(Simaroubaceae)

A ser submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia, Qualis Capes B2.

Anatomia da Raiz, Caule e Folha de *Simarouba amara* Aubl.

(Simaroubaceae)

Iasmine A. B. S. Alves¹, Henrique M. Miranda², Flávia Carolina Lins da Silva³, Luiz A. L.

Soares^{1,2}, Karina P. Randau*^{1,2}

¹Laboratório de Farmacognosia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

²Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade

Federal de Pernambuco, Brasil

³Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

RESUMO: *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae), popularmente conhecida como marupá, é amplamente utilizada na medicina popular do Brasil e de vários países tropicais para o tratamento de malária, leucemia, diarreia, feridas na pele, parasitoses intestinais. Devido à importância etnofarmacológica da espécie e à dificuldade em distingui-la de outras do mesmo gênero, verifica-se a necessidade de estudos que contemplem sua caracterização farmacobotânica. O presente trabalho objetivou descrever a anatomia da raiz, caule e folha de *S. amara*. O material vegetal foi coletado em Manaus, Amazonas, e em Santa Rita, Paraíba, Brasil, fixado em FAA 50 e submetido à montagem em lâminas semipermanentes conforme procedimentos usuais em anatomia vegetal. A folha, hipostomática, apresenta papilas e estômatos do tipo anomocítico. Seu mesofilo compreende parênquima braciforme e idioblastos esclerenquimáticos. O sistema vascular é caracterizado como anficrival. O caule apresenta células pétreas no parênquima cortical, cristais prismáticos no parênquima axial e tiloses no xilema. O parênquima do xilema é paratraqueal aliforme. A raiz apresenta exoderme com sete camadas celulares, parênquima cortical compacto e cilindro vascular anficrival. Observam-se, ainda, inclusões e abundantes cristais poliédricos em seu parênquima

axial. Todos esses resultados fornecem subsídios para a correta identificação da espécie e, conseqüentemente, para o adequado controle de qualidade desta matéria-prima vegetal.

Palavras-Chave: Anatomia vegetal, farmacobotânica, sistema vegetativo, *Simarouba amara*.

Introdução

A família Simaroubaceae compreende 32 gêneros e mais de 170 espécies de árvores e arbustos de distribuição pantropical. O principal centro de distribuição é a América Tropical, estendendo-se para o oeste da África, Madagascar, Ásia (Malásia) e regiões da Austrália banhadas pelo Pacífico (Saraiva et al., 2002; Simão et al., 1991). As espécies desta família apresentam folhas alternas compostas ou inteiras, sem pontuações, com ou sem espinhos. Suas flores, em geral, estão reunidas em inflorescências axilares, apresentam sépalas livres ou soldadas, pétalas livres, estames diplostêmones, filetes muitas vezes com apêndices. O ovário é súpero sobre um curto ginóforo ou sobre um disco com 4 ou 5 carpelos, em geral livres na base e soldados pelo estilete com 1 ou 2 óvulos por carpelo. Seu fruto é drupáceo, em geral separando-se em frutículos (Muhammad et al., 2004).

Quanto à constituição química, inúmeros compostos tem sido isolados e elucidados estruturalmente, destacando-se quassinoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, polifenóis, cumarinas, antraquinonas, flavonoides e outros metabólitos (Barbosa; Braz-Filho; Vieira, 2011). Os quassinoides, por constituírem o grupo de substâncias naturais mais abundantes e quase que exclusivas da família Simaroubaceae, podem ser considerados seu marcador taxonômico (Saraiva et al., 2006; Almeida et al., 2007).

Simarouba amara Aubl. (Simaroubaceae) é uma árvore tropical de médio porte (cerca de 35 metros) encontrada nas Américas Central e do Sul bem como nas ilhas do Caribe. É uma planta dióica, semidecídua, heliófita, seletiva higrófito (Declercq, 2004; Lorenzi, 2002) polinizada por insetos e dispersa principalmente por vertebrados (aves e grandes mamíferos)

(Grosvenor et al., 2006). Suas flores ocorrem em panículas terminais compostas por numerosas, pequenas e pálidas flores amarelas (Hardesty et al., 2005). O fruto consiste numa drupa carnosa, de formato ovoide a elipsoide, de coloração marrom-escuro, marcada por pontuações mais claras (Hardesty et al., 2010; Miranda, 1998).

Todas as partes de *S. amara* são amplamente utilizadas na medicina popular de vários países, sendo que algumas de suas atividades já foram farmacologicamente comprovadas (Casetti et al., 2011; O'Neill et al., 1988; Wright et al., 1988). A casca do caule é empregada no tratamento de malária, leucemia (Grosvenor et al., 2006), disenteria, vermes, além de ser utilizada tônica, estomática, antipirética e cicatrizante (Vieira 1991, 1992; Duke; Vaskes, 1994). O fruto é usado como antipirético e seu pó apresenta propriedades vermífuga, anti-sifilica e escabícida. Por outro lado, as raízes são empregadas como eméticas, antiepiléticas (Vieira, 1991, 1992), como agentes tônicos (Parrota et al., 1995) bem como no tratamento de hemorroidas (Amorozzo & Géli, 1988), hemorragia, febre intermitente, vermes e na cicatrização (Le Cointe, 1947). As folhas, por sua vez, são utilizadas como anti-helmínticas, no tratamento da malária, disenteria e doenças de pele (Taylor, 2003; Weniger et al., 1986).

Apesar de *S. amara* apresentar notável importância etnofarmacológica, ter sido integrante da primeira e segunda edições da Farmacopeia Brasileira, de ser utilizada na fitoterapia e homeopatia, além de constituir um potencial alvo de pesquisas, poucos estudos acerca de sua caracterização farmacobotânica estão disponíveis na literatura. Paralelamente, ela tem sido comumente confundida com outras duas espécies continentais, *Simarouba glauca* e *Simarouba versicolor*, durante o processo de identificação, o que pode resultar em utilização inadequada da matéria-prima (Franceschinelli et al., 1998). Nesse contexto, o presente estudo caracterizou a anatomia da raiz, caule e folha de *S. amara*, com o objetivo de fornecer parâmetros para a correta identificação da espécie e, conseqüentemente, para o controle de

qualidade desta matéria-prima vegetal, conforme preconizado pela RDC 14 de 2010 (Brasil, 2010).

Material e Métodos

Material Vegetal

Amostras de caule de *Simarouba amara* Aubl. foram coletadas na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (EEST) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), situada na BR-174, Km 43, município de Manaus, Amazonas. A exsicata foi depositada no herbário do INPA, sob o número 181.975. As folhas e raiz foram coletadas no município de Santa Rita, Paraíba.

Caracterização Farmacobotânica

As amostras de raiz, caule e folha foram fixadas em FAA 50. Secções transversais e paradérmicas, do terço médio superior das folhas, foram obtidas à mão livre com auxílio de lâmina de barbear e tendo por suporte pecíolo de *Cecropia* sp. Os estômatos foram classificados segundo Metcalfe & Chalk (1950). No pecíolo foram realizadas secções transversais. Raiz e caule, ambos em crescimento secundário, foram submetidos a secções transversais longitudinais. Todos os cortes foram diafanizados em solução de hipoclorito de sódio a 30%, no caso de folha, e 50%, nos casos de raiz e caule, hidratados e, posteriormente, corados com safranina e azul de Astra (Johansen, 1940). Lâminas histológicas semipermanentes foram preparadas de acordo com os procedimentos clássicos em anatomia vegetal (Johansen, 1940; Sass, 1951).

Devido à dureza do caule de *S. amara*, também foi realizada a técnica de maceração, pelo método descrito por Johansen (1940), com pequenas modificações (Kraus & Arduin, 1997).

As análises foram realizadas através de imagens digitais captadas através de microscópio óptico (*Altion*).

Resultados e Discussão

Anatomia da Raiz

A raiz de *S. amara*, apesar de ser amplamente utilizada na medicina popular de vários países tropicais, ainda não foi descrita na literatura, o que consolida a importância do estabelecimento de parâmetros microscópicos para sua correta identificação. Em corte transversal, é constituída de exoderme composta de 7 camadas de células alongadas no eixo transversal. O córtex parenquimático apresenta-se compacto e pouco desenvolvido (Figura 1a). O cilindro vascular, caracterizado como anficrival, é constituído de feixes de xilema e floema dispostos radialmente, onde o câmbio é evidente (Figuras 1b e c). Em corte longitudinal (Figura 1d), pode-se observar que o xilema é formado por traqueídes de espessamento reticulado e que há presença de inclusões no seu parênquima axial (Figura 1e) além de abundantes cristais poliédricos (Figura 1f).

Anatomia do Caule

Em secção transversal, o caule em apresenta-se cilíndrico. É composto por súber com células tabulares, de maior comprimento no sentido longitudinal do órgão (Figura 2a). O parênquima cortical é composto por 20 a 24 camadas de células alongadas (Figura 2b), sendo ainda visualizadas células pétreas, geralmente agrupadas (Figura 2c), o que corrobora com a descrição da primeira e segunda edições da Farmacopeia Brasileira. Quanto ao cilindro vascular, cuja disposição caracteriza-se como anficrival, observa-se que o floema compreende feixes cuneiformes, os quais são separados por raios medulares de 2 a 3 fileiras de células

parenquimáticas, além de apresentar numerosas fibras agrupadas, pouco espessas, dispostas transversalmente e separadas por zonas de parênquima (Figura 2d). A presença de cristais no floema também foi observada (Figura 2e). Os feixes de floema são separados entre si pelos mesmos raios medulares que separam o floema. O parênquima axial do xilema é do tipo paratraqueal aliforme de extensão linear, o que também foi descrito por Metcalfe e Chalk (1950) e, recentemente, por Muñiz (2012) (Figura 2f). O xilema apresenta porosidade difusa e raios confluentes (Figura 3a), o que corrobora com a descrição de Koch e colaboradores (2008), Rolet (1982) e Webber (1936) para a espécie. Nota-se, ainda, a presença de canais secretores radiais na região xilemática caracterizados como tiloses (Figuras 3a e b), os quais já foram descritos para *S. amara* e outras espécies da família por Metcalfe e Chalk (1950) bem como por Webber (1936). Tilose consiste no crescimento de células parenquimáticas no interior do lume de vasos, cuja formação é comumente visualizada em vasos da periferia de lesões, fato que representa um isolamento efetivo dos tecidos vivos contra injúrias e infecções (Cosmo et al., 2010). Em corte longitudinal, nas células não septadas do parênquima axial, observa-se a presença de cristais prismáticos em cadeia (Figuras 3c e d). Os raios parenquimáticos são multisseriados, homogêneos, com largura variando de 3 a 4 células, as quais apresentam-se com fina parede celular (Figura 3c). As fibras apresentam fendas simples, o que é consistente com as descrições de MetCalfe e Chalk (1950) para a maioria das espécies da família Simaroubaceae (Figura 3e). A análise do macerado permitiu a visualização de fibras e elementos de vaso, os quais são calibrosos, com paredes espessas, contorno regular e pontuações dispostas de forma reticulada (Figuras 4a e b). Por esta técnica observam-se, ainda, células pétreas, (Figura 4c), as quais também podem ser vistas através da análise direta do pó (Figura 4d).

Anatomia da Folha

Nas secções paradérmicas observa-se epiderme com células poligonais de paredes anticliniais e pericliniais retas na face adaxial (Figura 5a) e pericliniais convexas na face abaxial (Figura 5b). Este parâmetro é útil para diferenciar *Simarouba amara* de *Quassia amara*, também conhecida como marupá em algumas comunidades, visto que esta última apresenta paredes de contorno sinuoso (Di Sapio et al., 2012). A folha é hipoestomática, os estômatos do tipo anomocítico (Figura 5c), o que corrobora com a descrição de Metcalfe e Chalk (1950) para a família. Além disso, observa-se a presença de papilas na face abaxial, o que é característico de algumas espécies do gênero *Simarouba* (Metcalfe & Chalk, 1950; Figura 5d). Napp-Zinn (1988 *apud* Vieira & Gomes, 1995) relatou que as papilas possuem funções de proteção contra a perda de água pelos estômatos e de captação de estímulos luminosos. Espécies do gênero *Simaba*, por sua vez, apresentam nectários extra-florais em forma de glândulas imersas na região adaxial da folha (Metcalfe & Chalk, 1950).

Quanto ao mesofilo, em secção transversal, a epiderme é uniestratificada em ambas as faces, revestida por espessa camada de cutícula. O parênquima é caracterizado como dorsiventral. Sendo o parênquima paliçádico uniestratificado e o lacunoso apresentando 3 a 4 camadas de células braciiformes (Figura 5e). Jandin (1901) descreveu parênquima lacunoso com células estreladas para espécies do gênero *Simaba*. Há presença de nervuras com bainha parenquimática bem desenvolvida, assim como relatado por Metcalfe e Chalk (1950) (Figura 5f). Observam-se, ainda, idioblastos esclerenquimáticos em toda extensão do mesofilo (Figura 5g), característica já relatada por Metcalfe e Chalk (1950) para alguns gêneros da família Simaroubaceae, por Jandin (1901) para o gênero *Simaba* e por Macedo e colaboradores (2005) para *Quassia amara*. O formato destes esclereides e o seu padrão de distribuição ao longo do mesofilo consistem num relevante parâmetro de diferenciação entre as espécies continentais *Simarouba amara*, *Simarouba glauca* e *Simarouba versicolor*, comumente confundidas (Franceschinelli et al, 1998).

A venação central, em secção transversal, apresenta contorno biconvexo, mais proeminente na face abaxial. A epiderme é uniestratificada, em consonância com os relatos de Metcalfe e Chalk (1950), e apresenta, em ambas as faces, células de contorno arredondado. O parênquima cortical é compacto e composto de 8 a 10 camadas. O sistema vascular externo, na região mediana da folha, é circular e caracteriza-se como anficrival. A zona cambial é evidente. Xilema e floema são constituídos feixes radiais separados por células parenquimáticas. Ductos secretores, envolvidos por endoderme e bainha parenquimática, são encontrados dispersos no interior do parênquima medular, juntamente com feixes colaterais de xilema e floema (Figura 5h).

Anatomia do Pecíolo

O pecíolo apresenta epiderme multiestratificada, com cerca de 3 camadas de células (Figura 6a). Logo abaixo da epiderme é visualizado colênquima do tipo angular (Figura 6b), com presença de cristais isolados (Figura 6a). No parênquima cortical cristais também são visualizados (Figuras 6c e d), o que corrobora com os achados de Metcalfe e Chalk (1950) para a família. O cilindro vascular é classificado como anficrival, cujos feixes xilemáticos são separados por raios de células parenquimatosas. Há presença de parênquima medular no qual se encontram dispersos ductos secretores e cerca de 10 a 12 feixes vasculares do tipo colateral, uniformemente distribuídos (Figuras 6e e f). Segundo Metcalfe e Chalk (1950), a orientação e distribuição dos feixes vasculares no parênquima medular do pecíolo constituem uma importante ferramenta para a identificação de muitas espécies de Simaroubaceae.

Conclusão

Em decorrência da ausência de estudos acerca da anatomia da raiz, caule e folhade *S. amara*, da dificuldade na diferenciação desta espécie dentre as demais do mesmo gênero e,

consequentemente, na garantia de sua autenticidade, os resultados obtidos são de fundamental relevância no âmbito da caracterização microscópica da espécie, parâmetro exigido no controle de qualidade de matéria-prima vegetal. Assim, a presença de parênquima braciiforme e de idioblastos esclerenquimáticos ao longo do mesófilo bem como de ductos secretores no parênquima medular da folha; a visualização de cristais prismáticos no colênquima angular e no parênquima cortical, de ductos secretores e feixes vasculares colaterais no parênquima medular do pecíolo; as células tabulares do súber, as células pétreas do parênquima cortical, o parênquima paratraqueal aliforme do xilema, as tiloses e os cristais prismáticos em cadeia do caule; além do súber com 7 camadas celulares, parênquima compacto, cilindro vascular anficrival e presença de cristais prismáticos e inclusões no parênquima axial da raiz de *S. amara*, juntos, constituem parâmetros farmacobotânicos que são úteis na identificação da espécie e diferenciação dentre as demais do mesmo gênero.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro (475216/2011-3; 483870/2011; 0480128/2012-0; 302113/2012-6) e FACEPE (APQ-1296-4.03/12) pelo suporte financeiro.

Ao Dr. Antenor Pereira Barbosa, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, por ter coletado o material vegetal no Amazonas.

Ao senhor José Ramos, técnico do INPA, por ter identificado *Simarouba amara*.

À bióloga Tatiane Gomes Calaça Menezes, por ter coletado e identificado as amostras da Paraíba.

Contribuições dos Autores

IABSA (estudante de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE) e HMM contribuíram na realização das práticas laboratoriais, análise dos dados e escrita do artigo. FCLS, professora da Universidade Federal Rural de Pernambuco, LALS e KPR, professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE, contribuíram com a leitura crítica e edição final do manuscrito. Todos os autores leram o manuscrito final e aprovaram a submissão.

Referências

- Almeida MMB, Arriaga AMC, Santos AKL, Lemos TLG, Braz-Filho R, Vieira IJC 2007. Ocorrência e atividade biológica de quassinoides da última década. *Quim Nova* 30(4): 935-951.
- Amorozzo MCM, Gély A 1988. Uso de plantas medicinais por caboclos do baixo amazonas, Barcarena, PA, Brasil. *Bol Mus Para Emílio Goeldi: Bot* 4(1): 47-131.
- Barbosa L, Braz-Filho R, Vieira I 2011. Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae). *Chem Biodiversity* 8: 2163-2178.
- Brasil, Resolução RDC 14 – Dispõe sobre o registro de fitoterápicos no Brasil. ANVISA, *Diário Oficial da União*, Brasília – DF, março, 2010.
- Casetti F, Wölflle U, Gehring W, Schempp CM 2011. Dermocosmetics for dry skin: A new role for botanical extracts. *Skin Pharmacol Physiol* 24: 289-293.
- Cosmo NL, Kuniyoshi YS, Botosso PC 2010. Anatomia da madeira de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae): aspectos funcionais e ecológicos. *Acta Bot Bras* 4(3): 747-755.
- Declercq J 2004. Suspected wood poisoning caused by *Simarouba amara* (marupá/caixeta) shavings in two dogs with erosive stomatitis and dermatitis. *Vet Dermatol* 15: 188-193.

- Di Sapio O, Campagna MN, Rodriguez MV, Martínez ML, Gattuso S, Cortadi A, Gattuso M 2012. Parámetros micrográficos para la identificación de leno, corteza y hoja de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 11(2): 172-187.
- Duke JA, Vasquez R 1994. *Amazonian Ethnobotanical Dictionary*. London: Boca Raton/Ann Arbor/CRC. 215p.
- Franceschinelli EV, Yamamoto K, Shepherd GJ 1998. Distinctions among three *Simarouba* species. *Sist Bot* 23(4): 479-488.
- Grosvenor SNJ, Mascoll K, McLean S, Reynolds WF, Tinto WF 2006. Tirucallane, apotirucallane, and octanorapotirucallane triterpenes of *Simarouba amara*. *J Nat Prod* 69: 1315-1318.
- Hardesty BD, Dick CW, Hamrick JL, Degen B, Hubbell SP, Bermingham E 2010. Geographic influence on genetic structure in the widespread neotropical tree *Simarouba amara* (Simaroubaceae). *Trop Plant Biol* 3: 28-39.
- Hardesty BD, Dick CW, Kremer A, Hubbelk SP, Bermingham E 2005. Spatial genetic structure of *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae), a dioicous, animal-dispersed neotropical tree, on Barro Colorado island, Panama. *Heredity* 95: 290-297.
- Jandin MF 1901. Contribution a l'étude des Simaroubacées. *Ann Sc Nat* 7(13); 201-305.
- Johansen DA 1940. *Plant microtechnique*. New York: Mcgraw-Hill Book Co.
- Koch G, Hichter HG, Schmitt U 2008. Computer-aided identification and description of cites protected trade timbers. *Bois For Trop* 297(3): 65-69.
- Kraus JE, Arduin M 1997. *Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR.

- Le Cointe P 1947. *Árvores e plantas úteis (indígenas e aclimadas): nomes vernáculos e nomes vulgares, classificação botânica, habitat, principais aplicações e propriedades*. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 2.ed. 506p.
- Lorenzi H 2002. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Editora Plantarum, 5. ed., 324p.
- Macedo EG, Potiguara RCV, Rocha-Neto O 2005. Anatomia foliar de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae), uma espécie medicinal e inseticida. *Bol Mus Para Emílio Goeldi, Sér Ciênc Nat* 1(1): 9-18.
- Metcalf CR, Chalk L 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. London: Oxford Univ Press. v. 1.
- Miranda PRM 1998. *Morfologia de fruto, semente, germinação e plântula e o efeito de temperatura na germinação e viabilidade de sementes de 7 espécies florestais da Amazônia*. Manaus, 147p. Dissertação de Mestrado, Programa de Mestrado em Botânica, UFAM/INPA.
- Muhammad I, Bedir E, Khan SI, Tekwani BL, Khan IA, Takamatsu S, Pelletier J, Walker LA 2004. A new antimalarial quassinoid from *Simaba orinocensis*. *J Nat Prod*. 62: 772-777.
- Muñiz GIB, Nisgoski S, Shardosin FZ, Fança RF 2012. Anatomia do carvão de espécies florestais. *Cerne* 18(3): 471-477.
- O'Neill MJ, Bray DH, Boardman P, Wright CW, Phillipson JD, Warhurst DC, Gupta MP, Correya M, Solis P 1988. Plants as sources of antimalarial drugs, part 6: activities of *Simarouba amara* fruits. *J Ethnopharmacol* 22(2): 183-190.
- Parrota JA, Francis JK, Almeida RR 1995. *Trees of the Tapajós: a photographic field guide*. United States: Department of Agriculture/International Institute of Tropical Forestry, 370p.

- Rolet B 1982. Intérêt de L'étude des écorces dans la détermination des arbres tropicaux sur pied. *Bois For Trop* 195: 31-50.
- Saraiva RCG, Barreto, AS, Siani AC, Ferreira JLP, Araújo RB, Nunomura SM, Pohlit AM 2002. Anatomia foliar e caulinar de *Picrolemma sprucei* Hook (Simaroubaceae). *Acta Amazonica* 33(2): 213-220.
- Saraiva RCG, Pinto AC, Nunomura SM, Pohlit AM 2006. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W. W. Thomas (Simaroubaceae). *Quim Nova* 29(2) 264-268.
- Sass JE 1951. *Botanical microtechnique*. 2nd ed. Ames: Iowa: State College Press.
- Simão SM, Barreiros EL, Silva MFGF, Gottlieb OR 1991. Chemogeographical evolution of quassinoids in Simaroubaceae. *Phytochemistry* 30: 853-865.
- Taylor L 2003. *Herbal Secrets of the Rainforest*. Milam Country: Sage Press, 2 ed.
- Vieira LS 1992. *Fitoterapia da Amazônia: manual de plantas medicinais (a farmácia de Deus.)* São Paulo: Agronômica Ceres. 2.ed. 347p.
- Vieira LS 1991. *Manual de medicina popular: a fitoterapia da Amazônia*. Belém: FCAP Serviço de Documentação e Informação. 248p.
- Vieira RC, Gomes DMS 1995. Superfície da lâmina foliar de *Psychotria nuda* (Cham. &Schltdl) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. &Schltdl, *P. stenocalyx* Müll. Arg. e *P. tenuinerves*Müll. Arg. (Rubiaceae). *Acta Bot Bras* 9(2): 263-270.
- Webber IE 1936. Systematic anatomy of the wood of the Simaroubaceae. *Am J Bot* 23: 577-587.
- Weniger B, Rouzier M, Daquilh R, Henrys D, Henrys JH, Anton R 1986. Popular medicine of the central plateau of Haiti. 2. Ethnopharmacological Inventory. *J Ethnopharmacol* 17(1): 13-30.

Wright CW, O'Neill MJ, Phillipson JD, Warhurst DC 1988. Use of microdilution to assess in vitro antiamoebic activities of *Brucea javanica* fruits, *Simarouba amara* stem, and a number of quassinoids. *Antimicrob Agents Chemother* 32(11): 1725-1729.

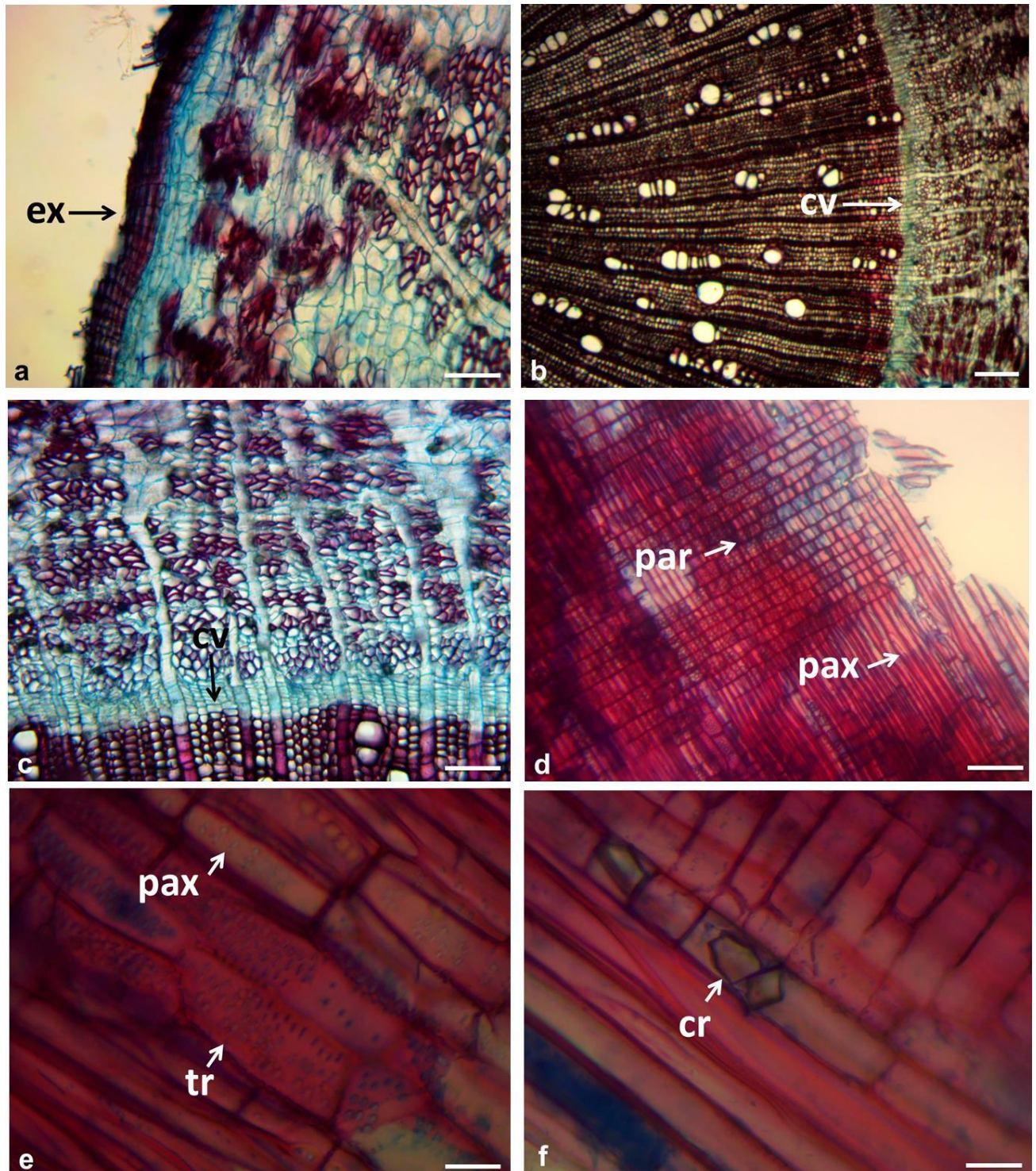


Figura 1. Raiz de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae): a. Exoderme (ex) e córtex parenquimático. b. Cilindro vascular. c. Detalhe do câmbio vascular (cv). d. Secção

longitudinal, evidenciando parênquima axial (pax) e radial (par). e. traqueídes (tr) com espessamento reticulado e parênquima axial (pax) com inclusões. f. Cristais (cr) poliédricos no parênquima axial. a, c, d = 100 μ m. b = 200 μ m. e, f = 40 μ m.

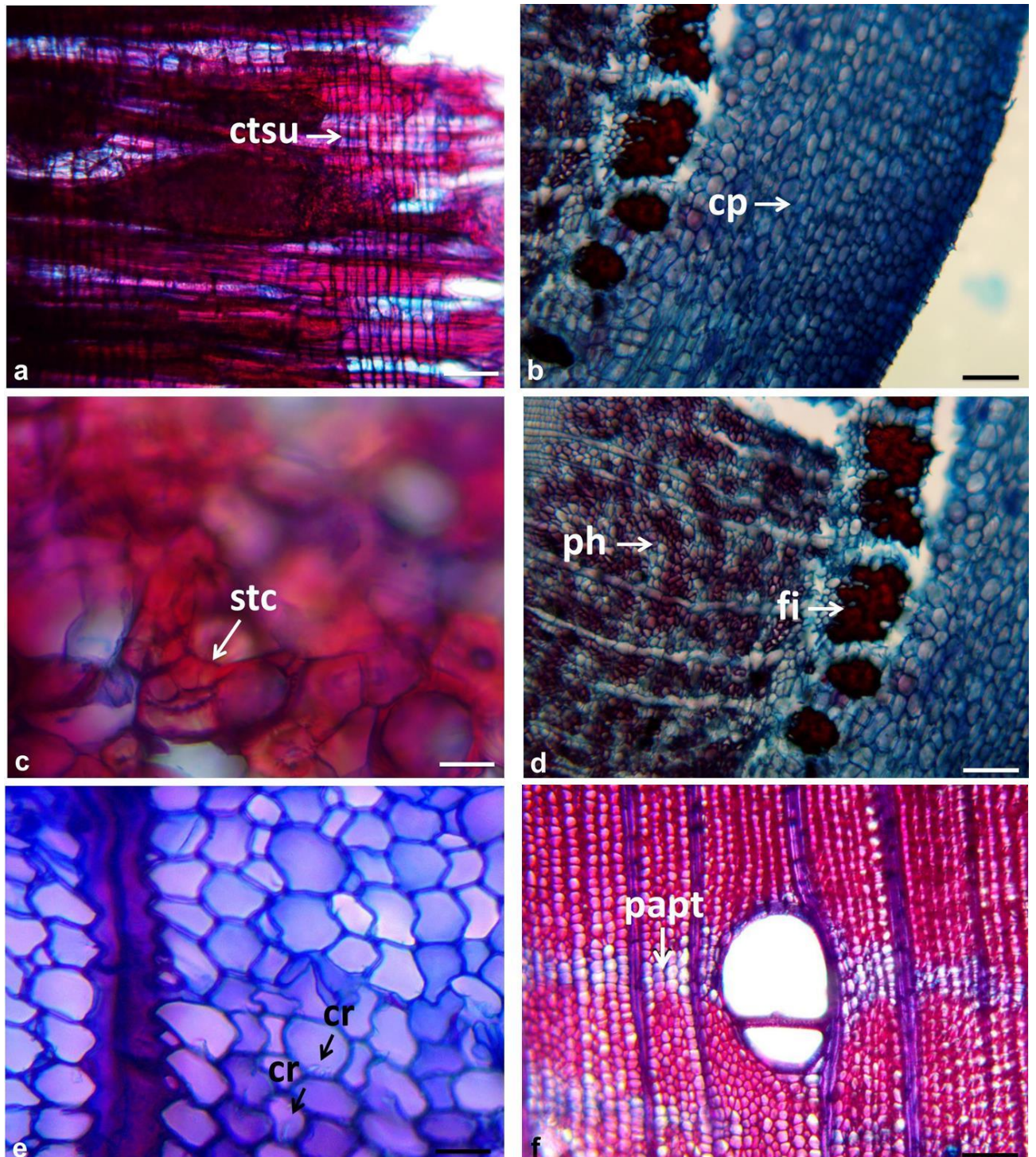


Figura 2. Caule de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae): a. Células tabulares do súber (cts). b. Parênquima cortical (cp). c. Células pétreas (stc) do parênquima cortical. d. Feixes

de floema (ph), com fibras (fi) dispostas transversal e externamente. e. Cristais (cr) presentes no floema. f. Parênquima do xilema, do tipo paratraqueal aliforme (papt). a, b, d, f = 100 μm . c, e = 25 μm .

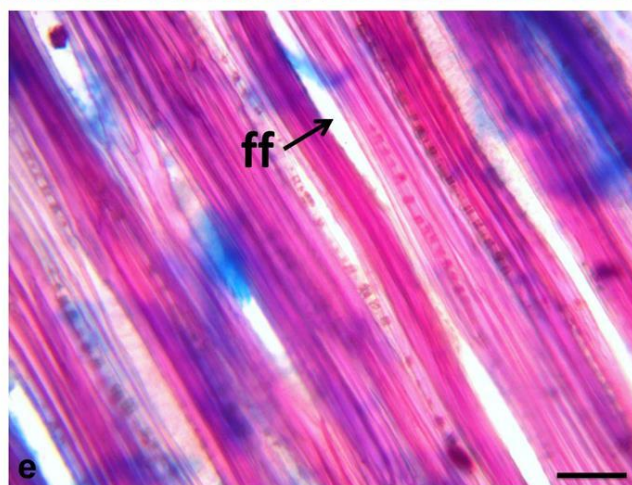
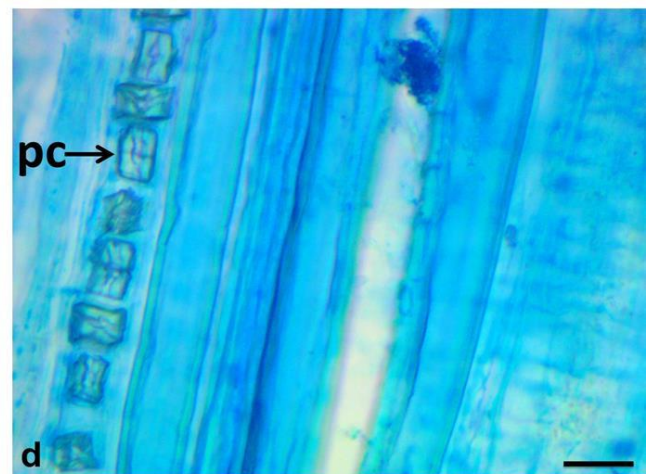
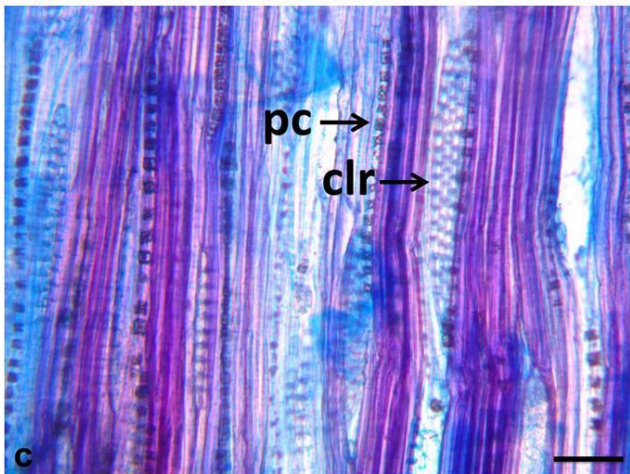
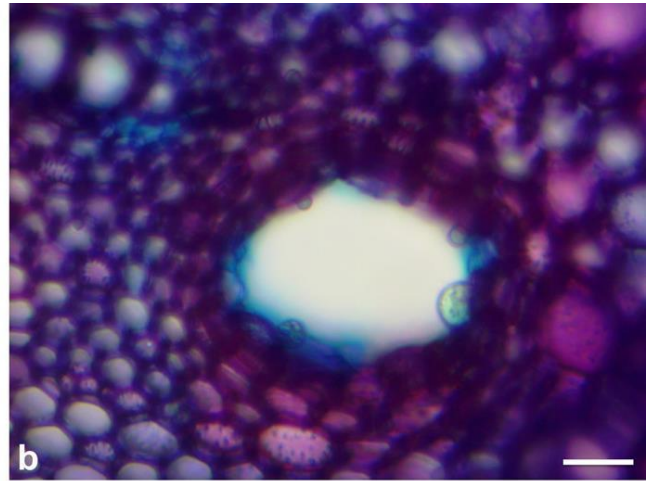
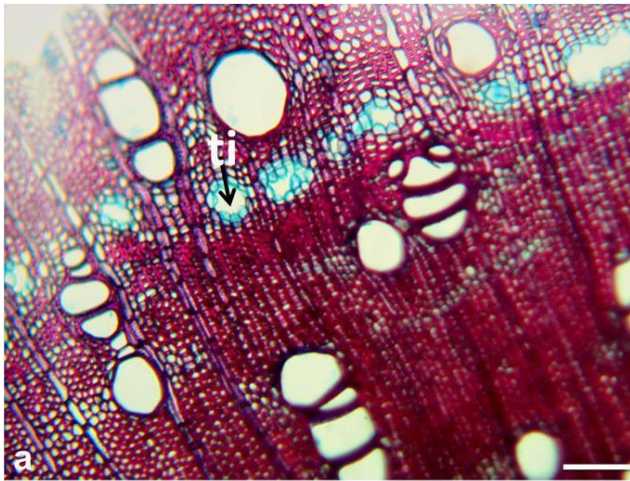


Figura 3. Caule de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae): a. Região xilemática na qual observam-se tiloses (ti). b. Tilose em detalhe. c. Cristais prismáticos (pc) e células do raio (clr), visualizados em secção longitudinal. d. Detalhe dos cristais prismáticos (pc). e. Fendas entre as fibras (ff). a, c, e = 100 μ m. b, d = 25 μ m.

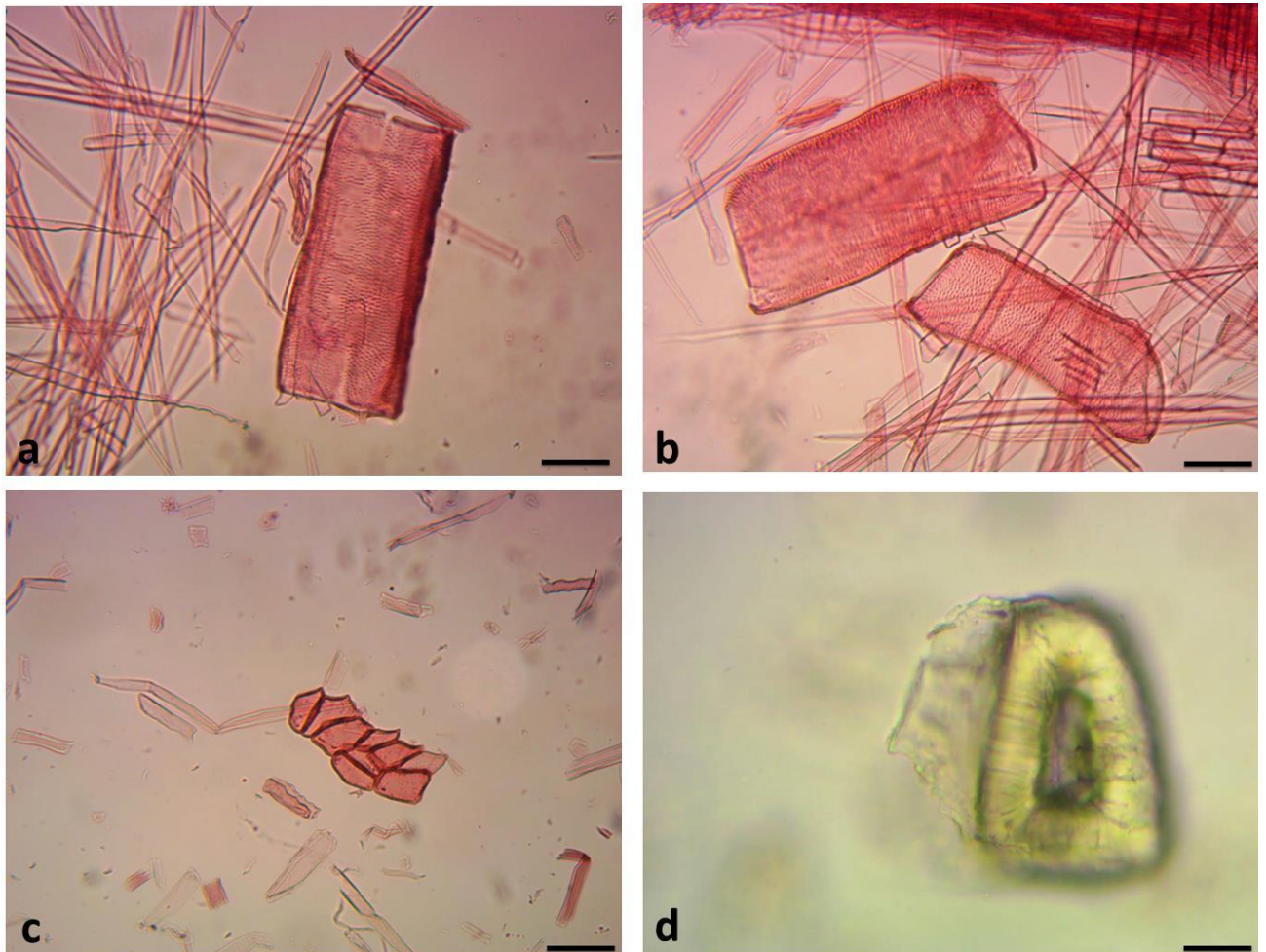


Figura 4. Macerado/ Material fresco do caule de *Simarouba amara* Aubl. a. Elementos de vaso e fibras dissociados. Elementos de vaso calibrosos, com parede espessa, de contorno regular e com pontuações organizadas de forma reticulada. b. Detalhe de placa de perfuração de elemento de vaso. c. células parenquimáticas. d. Detalhe de célula pétrea. a, b, c = 100 μ m. d = 25 μ m.

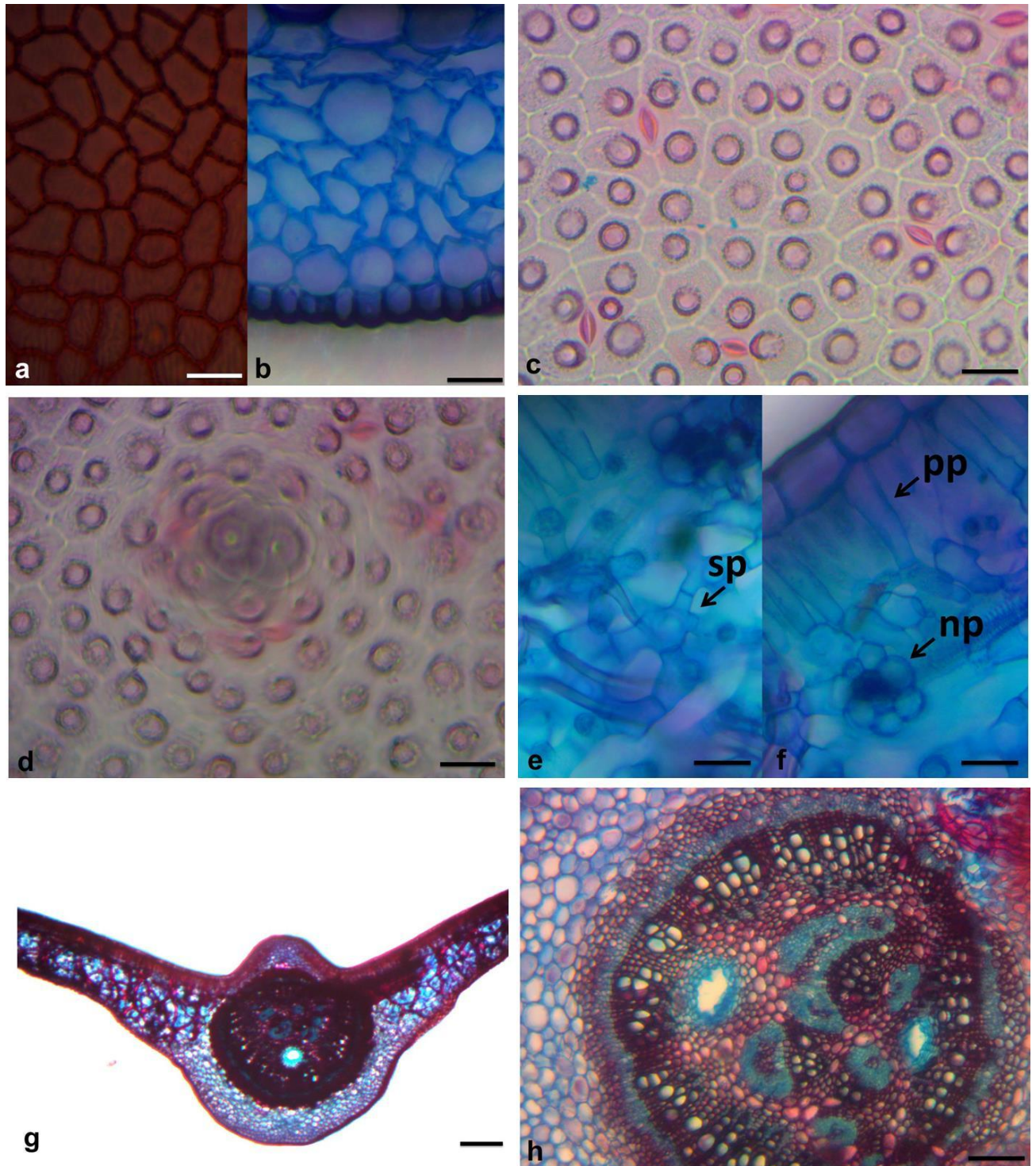


Figura 5. Folha de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae): a. Face adaxial. b. Secção transversal evidenciando epiderme abaxial. c. Face abaxial, evidenciando estômatos anomocíticos. d. Face abaxial, evidenciando a presença de papila. e. Mesofilo dorsiventral, onde é visualizado parênquima lacunoso (sp) com células braciformes. f. Mesofilo: parênquima paliçádico (pp) e nervura com bainha parenquimática (np). g. Corte transversal, h. Corte transversal, evidenciando a bainha parenquimática (np).

evidenciando idioblastos esclerenquimáticos no mesofilo. h. Sistema vascular. a, b, c, d = 25 μm . e = 100 μm . f = 200 μm .

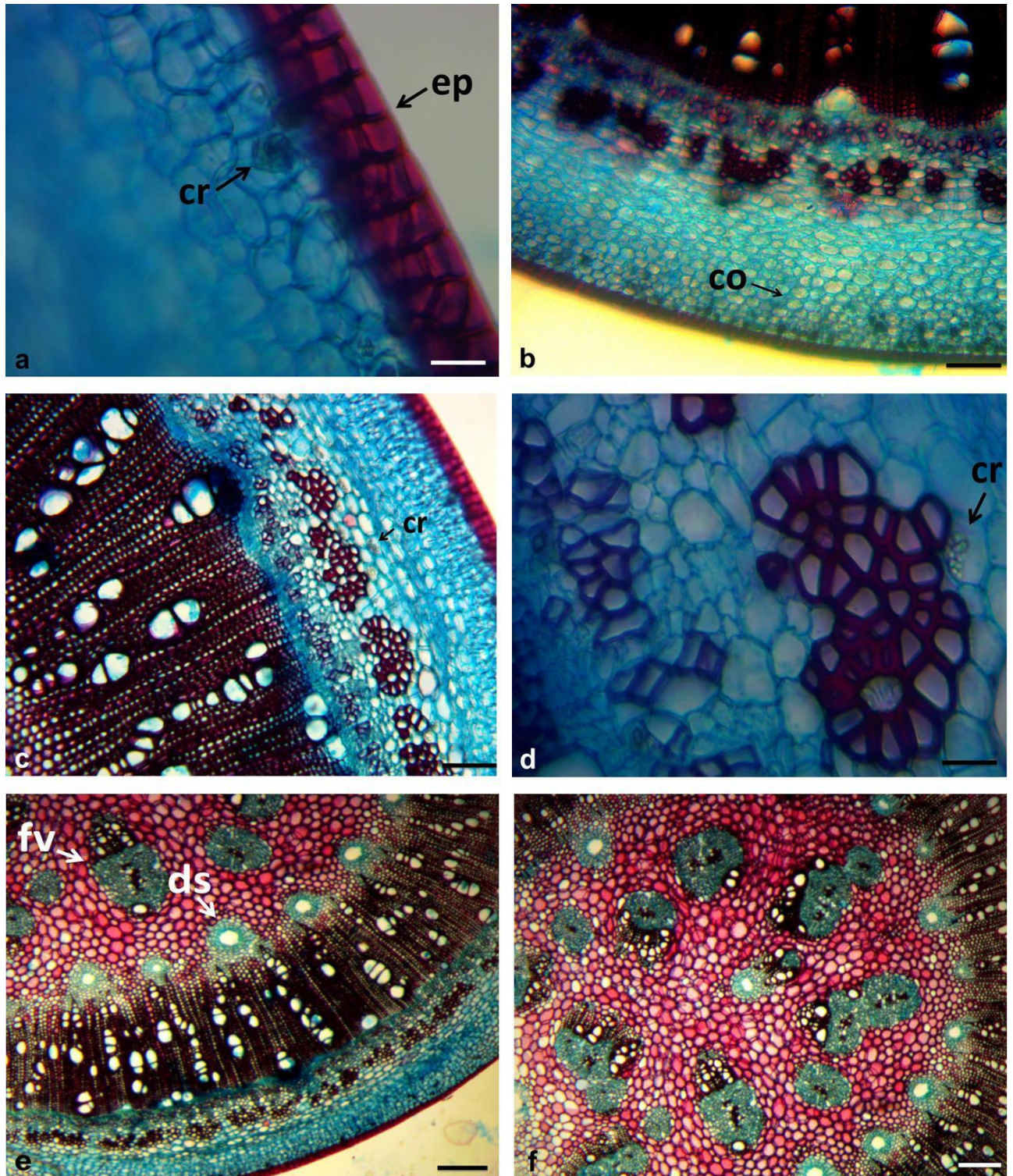


Figura 6. Pecíolo de *Simarouba amara* Aubl.(Simaroubaceae): a. Epiderme e cristal (cr) no colênquima. b. Colênquima (co) do tipo angular. c. Cristal (cr) no parênquima cortical. d.

Detalhe do cristal parênquima cortical. e. Ducto secretor (ds) e feixe vascular (fv) no parênquima medular. f. Disposição dos feixes vasculares no parênquima medular. a, d = 25 μm . b, c = 100 μm . e, f = 200 μm .

Capítulo III

4. CAPÍTULO III

ARTIGO III - Caracterização Fitoquímica e Físico-Química de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae)

A ser submetido à Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Qualis Capes B5.

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA DAS CASCAS DO CAULE
DE *Simarouba amara* AUBL. (SIMAROUBACEAE)

Iasmine Andreza Basilio dos Santos Alves¹, Henrique Marcelino Miranda², Antenor

Pereira Barbosa³, Luiz Alberto Lira Soares^{1,2}, Karina Perreli Randau*^{1,2}

¹*Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Ciências*

Farmacêuticas – UFPE

²*Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE*

³*Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA*

RESUMO: *Simarouba amara* é amplamente distribuída no Brasil e as cascas de seu caule são extensamente empregadas na medicina popular como agente inseticida, antitumoral, antimalárico, antiviral, anti-helmíntico. Visto que ainda não foram realizados estudos relacionados ao seu controle de qualidade, o presente trabalho realizou uma caracterização fitoquímica e físico-química da droga vegetal. As cascas do caule foram submetidas a prospecção fitoquímica, através de cromatografia em camada delgada, em consonância com procedimentos descritos por Harbone e Wagner e Bladt. Os testes físico-químicos foram realizados de acordo com a Farmacopeia Brasileira V Edição. A triagem fitoquímica revelou a presença de quassinoides, fenilpropanoglicosídeos, derivados cinâmicos, taninos, triterpenos e esteroides, mono e sesquiterpenos. Quanto ao estudo físico-químico, a matéria estranha foi 0,20 ($\pm 0,005$) %, o teor de umidade foi 8,00 ($\pm 0,05$) %; os teores de cinzas totais e insolúveis em ácido foram, respectivamente, 0,98 ($\pm 0,02$) % e 0,54 ($\pm 0,07$) % e o teor de extrativos, 12,33 ($\pm 0,006$) %. A análise granulométrica permitiu classificar o pó como grosso. As caracterizações fitoquímica e físico-química das cascas do caule de *Simarouba amara*, não descritas até então na literatura, constituem importantes parâmetros para o seu controle de qualidade, fornecendo subsídios para a certificação da homogeneidade de seus constituintes e

eficiência de procedimentos que abrangem desde a coleta, secagem até a pulverização do vegetal.

Unitermos: Controle de qualidade, *Simarouba amara*, padronização, perfil fitoquímico.

1. INTRODUÇÃO

A família Simaroubaceae compreende 32 gêneros e mais de 170 espécies de árvores e arbustos de distribuição pantropical, localizando-se, principalmente, nas regiões tropicais da América, África, Ásia e Austrália (Saraiva *et al.*, 2002; Simão *et al.*, 1991). Quanto à sua constituição química, inúmeros compostos tem sido isolados e elucidados estruturalmente desde 1930, destacando-se quassinoides, alcaloides, triterpenos, esteroides, cumarinas, antraquinonas, flavonoides e outros metabólitos (Barbosa; Braz-Filho, Vieira, 2011; Lassak *et al.*, 1977; Polonsky *et al.*, 1973; Grosvenor *et al.*, 2006). Os quassinoides, por serem o grupo de substâncias naturais mais abundantes e quase que exclusivas da família Simaroubaceae, podem ser considerados um marcador taxonômico da mesma (Saraiva *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2007).

As espécies da família Simaroubaceae são conhecidas por suas propriedades medicinais utilizadas tradicionalmente para tratamento da malária, e também como anti-helmínticas, antitumorais, hipolipemiantes, antiulcerogênicas, anti-inflamatórias, antivirais, antitripanossômicas, hipoglicemiantes, anorexígenas, tônicas, inseticidas e amebicidas (Arriaga *et al.*, 2002; Bawn *et al.*, 2008; Cachet *et al.*, 2009; Noldin *et al.*, 2005; Mendes; Carlini, 2007; Muhammad *et al.*, 2004; Noorshahida; Wong; Choo, 2009; Pires *et al.*, 2007; Saraiva *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2010; Simão *et al.*, 1991; Wright *et al.*, 1988).

O gênero *Simarouba* tem sido reportado em estudos prévios como bioprodutor de agentes anticâncer, antivirais, antimaláricos, anti-inflamatórios (Polonsky, 1973), inseticidas e amebicidas (Polonsky, 1985). *Simarouba amara* Aubl. é uma árvore tropical de médio porte, que atinge cerca de 35 metros, encontrada nas Américas Central e do Sul bem como nas ilhas do Caribe (Azevedo *et al.*, 2010). Diversas partes desse vegetal são empregadas na medicina popular, sendo que as cascas do caule constituem a principal fonte de utilização, além de já

estarem disponíveis na fitoterapia e na homeopatia (Soares, 2014). Elas são utilizadas no tratamento de malária e leucemia (Luz, 2001; Grosvenor *et al.*, 2006), disenteria (Duke; Vasques, 1994), além de serem empregadas como agente tônico, estomático, antitérmico, cicatrizante, contra diarreia, leucorreia, verminoses e piolhos (Vieira, 1991 e 1992, Duke; Vasques, 1994).

Apesar de *Simarouba amara* ser amplamente utilizada pela medicina popular do Brasil e de diversos países, ter diversas atividades farmacológicas já comprovadas e, conseqüentemente, constituir uma matéria-prima vegetal com forte potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos, não existem estudos na literatura que assegurem uma padronização farmacognóstica da espécie, conforme preconizado pela Resolução nº 14/2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 2010). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estabelecer parâmetros para o seu controle de qualidade, mediante caracterização fitoquímica e físico-química.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

As cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl. foram coletadas na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (EEST) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), situada na BR-174, Km 43, município de Manaus, Amazonas. A exsicata foi depositada no herbário do INPA, sob o número 181.975. Após a coleta, o material vegetal foi submetido a secagem à temperatura ambiente e, em seguida, pulverizado em triturador industrial.

2.2 Prospecção Fitoquímica

Para os ensaios fitoquímicos, extratos da casca do caule, casca da raiz e folhas foram

preparados por decocção metanólica a 10% (p/v), por um período de 5 minutos, e submetidos a cromatografia em camada delgada, em consonância com os procedimentos descritos por Harborne (1998) e Wagner e Bladt (1996). As análises foram efetuadas aplicando-se alíquotas (15 µL) dos extratos em placas cromatográficas de gel de sílica (F254), empregando-se diversos sistemas eluentes, padrões e reveladores adequados (Tabela I). Para pesquisa de saponinas, realizou-se o teste de afrogenicidade, no qual a presença de espuma abundante e persistente por mais de 15 minutos, após forte agitação da solução durante 30 segundos seguida de repouso, foi o critério para determinar a presença de saponósidos (Costa, 2001).

TABELA I. Sistemas cromatográficos, padrões e reveladores empregados na prospecção fitoquímica de *Simarouba amara*.

Classe de metabólito	Sistema de Eluição	Padrão	Revelador
Alcaloides	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O ¹	Pilocarpina	Dragendorff
Mono e Sesquiterpenos	Tolueno-AcOEt ²	Timol	Vanilina Sulfúrica
Triterpenos e Esteroides	Tolueno-AcOEt ³	β-sitosterol	Liebermann Buchard
Cumarinas	n-Hexano-AcOEt ⁴	Umbeliferona	KOH 10% em EtOH
Flavonoides, Fenilpropanoglicosídeos e Derivados Cinâmicos	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O ¹	Rutina	NEU + UV
Taninos Condensados	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O ⁵	Epicatequina	Vanilina Clorídrica
Taninos Hidrolisáveis	AcOEt-HCOOH-	Ácido gálico	NEU + UV

Antraquinonas	AcOH-H ₂ O ¹	Aloína	KOH 10% em H ₂ O
	AcOEt-HCOOH-		
	AcOH-H ₂ O ⁵		
Quassinoides	CHCl ₃ -MeOH ⁶	--	Ácido
			Fosfomolíbico

¹100:11:11:27 v/v; ²97:3 v/v; ³90:10 v/v; ⁴95:5 v/v; ⁵100:3:3:3 v/v; ⁶97:3 v/v; AcOEt = Acetato de Etila; HCOOH = Ácido Acético; AcOH = Ácido Fórmico; H₂O = Água; CHCl₃ = Clorofórmio; MeOH = Metanol; UV = Ultravioleta.

2.3 Caracterização Físico-Química

Todos os ensaios físico-químicos da matéria-prima vegetal foram realizados em consonância com os parâmetros preconizados pela Farmacopeia Brasileira V Edição (2010). Os testes incluíram: determinação de material estranho, perda por dessecação, teor de cinzas totais e de cinzas insolúveis em ácido, análise granulométrica por tamisação e teor de substâncias extraíveis por água (Bundesvereinigung, 1986).

Para determinação da granulometria, foram pesadas amostras com cerca de 25 gramas do material vegetal pulverizado e submetidas a passagem através de tamises com abertura de malha de 850, 425, 250 e 150 µm em tamisador Bertel®. Os resultados, obtidos pela média de três determinações, foram analisados através de histograma de distribuição e gráfico das curvas de retenção e passagem a fim de determinar o diâmetro médio das partículas e, assim, classificar o pó.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Prospecção Fitoquímica

A triagem fitoquímica revelou a presença de quassinoides, flavonoides, fenilpropanoides e derivados cinâmicos, mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteroides, cumarinas, saponinas, taninos hidrolisáveis, taninos condensados, onde o extrato apresentou o mesmo Rf do padrão, a catequina. Não foram encontrados alcaloides e antraquinonas (Tabela II).

TABELA II. Prospecção Fitoquímica da Casca do Caule de *Simarouba amara* Aubl.

Metabólitos	Casca do Caule
Alcaloides	-
Mono e Sesquiterpenos	+
Triterpenos e Esteroides	+
Cumarinas	+
Flavonoides, Fenilpropanoglicosídeos e Derivados Cinâmicos	+
Taninos Condensados	+
Taninos Hidrolisáveis	+
Antraquinonas	-
Quassinoides	+
Saponinas	+

+ presente; - ausente.

Quassinoides, triterpenos e esteroides são metabólitos amplamente encontrados em vários gêneros da família Simaroubaceae (Cachet *et al.*, 2012; Jacobs; Simpson; Reynolds, 2007; Kundu; Laskar, 2010; Lavhale *et al.*, 2009). Sua presença em *S. amara*, verificada na triagem

fitoquímica, está em consonância com a literatura (Polonsky, 1964; Polonsky; Baskevitch-Varon; Das, 1976; Polonsky; Varon; Rabanal, 1977; Polonsky *et al.*, 1978) e é responsável pelas atividades citotóxica, antimalárica, antimicrobiana, anti-amebiana e antiprotozoária de diversas espécies da referida família (Barbosa; Braz-Filho, Vieira, 2011; Bhattacharjee *et al.*, 2008; Bertani *et al.*, 2012; Guo *et al.*, 2009).

A ausência de alcaloides difere do que foi relatado por Lassak e colaboradores (1977), que os encontraram na raiz de *S. amara*. Apesar dessa classe de metabólitos ser comumente encontrada em espécies da família Simaroubaceae, fatores como a parte da planta, a coleta de material vegetal em países e/ou períodos distintos assim como o emprego de métodos extrativos diferentes são comumente relacionados com as divergências observadas em análises fitoquímicas (Marques *et al.*, 2012). Paralelamente, a presença de flavonoides, fenilpropanoglicosídeos, derivados cinâmicos, mono e sesquiterpenos, taninos condensados, taninos hidrolisáveis saponinas e cumarinas ainda não foi descrita para *S. amara* e merece estudos mais aprofundados no que concerne ao isolamento e elucidação estrutural de novos compostos. Estas classes de metabólitos secundários já foram descritas na literatura para diferentes gêneros da família Simaroubaceae, dentre os quais se destacam *Simaba* (Barbosa; Braz-Filho; Vieira, 2011), *Ailanthus* (Kundu; Laskar, 2010; Jin *et al.*, 2009), *Quassia* (Fabre *et al.*, 2012), *Castela* (Kubo; Murai; Chaudhuri, 1993), *Simarouba* (Arriaga *et al.*, 2002; Rivero-Cruz *et al.*, 2005), dentre outros. A presença de saponinas, apesar de não ter sido relatada na literatura para esta espécie, já foi mencionada para outras espécies do gênero *Simarouba*, como *S. glauca* e *S. versicolor* (Rivero-Cruz *et al.*, 2005; Govindaraju; Darukeshwara; Srivastava, 2009). Diversos estudos relacionam a presença de tais compostos ao seu emprego etnofarmacológico, tal como cicatrizante, antimicrobiano, anti-inflamatório, adstringente e inseticida (Almeida *et al.*, 2011; Bertani *et al.*, 2012; Grosvenor *et al.*, 2006; O'Neill *et al.*, 1988; Raji; Oloyede, 2012; Zhao *et al.*, 2012).

3.2 Caracterização Físico-Química

A matéria estranha presente no pó da casca do caule de *S. amara*, um coadjuvante na determinação de elementos contaminantes na matéria-prima vegetal, apresentou uma média de 0,20 ($\pm 0,005$) %, estando em consonância com o limite máximo de 2% m/m especificado pela Farmacopeia Brasileira V (2010). A matéria estranha encontrada foi classificada, de acordo com a Farmacopeia, como impurezas de natureza mineral ou orgânica, não inerentes à droga (ANVISA, 2010).

A perda por dessecação visa determinar a quantidade de substância(s) volátil(eis), de qualquer natureza, eliminada(s) nas condições especificadas no ensaio, além de constituir um indicativo da umidade residual. A presença de quantidade excessiva de água em drogas vegetais propicia o desenvolvimento de microrganismos e insetos, a hidrólise e a atividade enzimática, com consequente deterioração dos constituintes da droga. O baixo conteúdo de umidade, por sua vez, indica que houve eficiência durante o processo de secagem e que o material é estável (Couto *et al.*, 2009; Sharapin, 2000). A perda por dessecação do pó da casca do caule de *S. amara*, apresentou uma média de 8,00 ($\pm 0,05$) %, a qual encontra-se dentro do limite de 8 a 14% estabelecido pela Farmacopeia Brasileira V (2010), sendo indicativo de uma boa conservação e secagem eficiente da matéria-prima vegetal.

A determinação do teor de cinzas totais avalia a presença de substâncias inorgânicas não voláteis, obtidas por incineração, como constituintes ou contaminantes na droga vegetal, dentre as quais se destacam carbonatos, cloretos e diversos tipos de óxidos (Braga *et al.*, 2007; Costa, 2001). Já a determinação de cinzas insolúveis em ácido tem como objetivo verificar a presença de sílica e constituintes silícicos na droga vegetal, tais como terra ou areia (ANVISA, 2010; Barni; Cerchinell-Filho, Couto, 2009; Couto *et al.*, 2009). Os resultados encontrados na determinação de cinzas totais e insolúveis em ácido da casca do caule de *S. amara* foram, respectivamente, 0,98 ($\pm 0,02$) % e 0,54 ($\pm 0,05$) %, sendo que os valores

aceitáveis para esta espécie ainda não encontram-se estabelecidos em compêndios oficiais. Os valores obtidos nestes ensaios sugerem que a amostra vegetal não possui excesso de terra ou areia bem como outros contaminantes inorgânicos visto que estão abaixo do limite de 14% estabelecido nas monografias de diversas drogas vegetais contempladas na Farmacopeia Brasileira V (2010).

Quanto à granulometria do pó da casca de *S. amara*, pode-se observar, através da análise do histograma de distribuição granulométrica, que as partículas da matéria-prima vegetal encontram-se predominantemente distribuídas no tamis de malha de 425 μm , representando 48 % de todo o material (Figura 1). O conhecimento acerca da distribuição granulométrica pode ser útil na indicação da tamisação como o procedimento prévio aos processos nos quais a homogeneidade do tamanho de partículas pode interferir (Barni; Cechinel-Filho, Couto, 2009). O tamanho médio das partículas, 482 μm , pode ser visualizado através do ponto de interseção das curvas de retenção e passagem representadas na Figura 2. Uma vez que menos de 40 % do pó passou pelo tamis com abertura nominal de malha de 355 μm , ele foi classificado como grosso, segundo a Farmacopeia Brasileira V (2010), o que favorece os processos extrativos, diferentemente dos pós finos, os quais podem aderir a partículas maiores, aumentando a viscosidade do meio e criando uma barreira que dificulta a penetração dos solventes além de favorecer o entupimento dos filtros, quando é necessário filtrar o extrato (List; Schmidt, 2000; Voigt, 2010). Visto que a distribuição granulométrica determina a superfície de contato disponível para interação com o solvente utilizado no processo de extração para a obtenção do derivado vegetal, os resultados acima descritos constituem um parâmetro importante para manter a homogeneidade e reprodutibilidade dos processos extrativos com *S. amara* (Migliato, 2007).

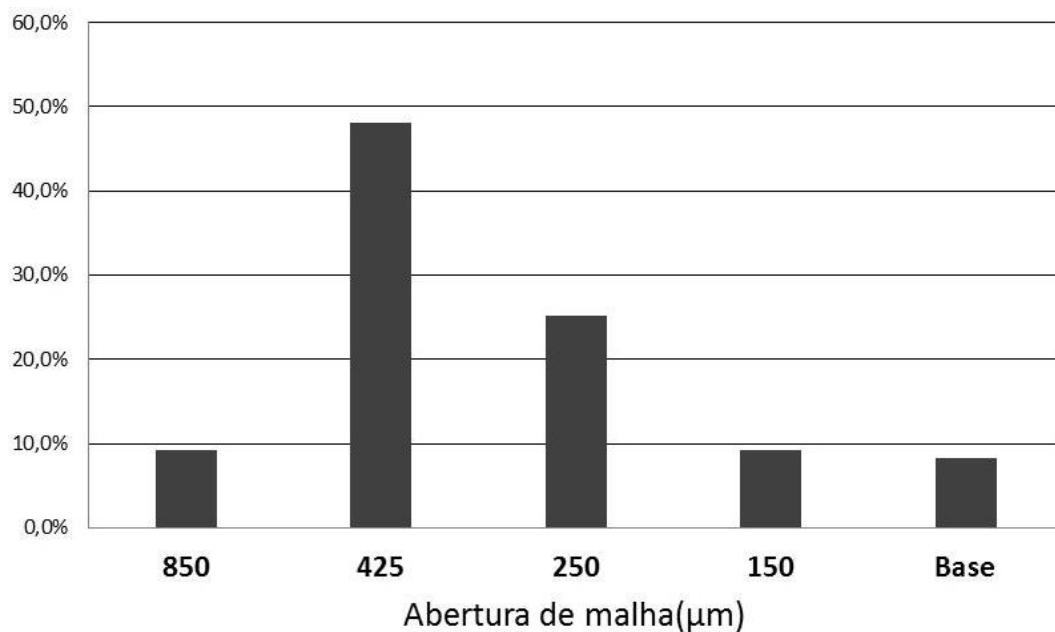


FIGURA 1. Histograma de distribuição granulométrica das cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl.

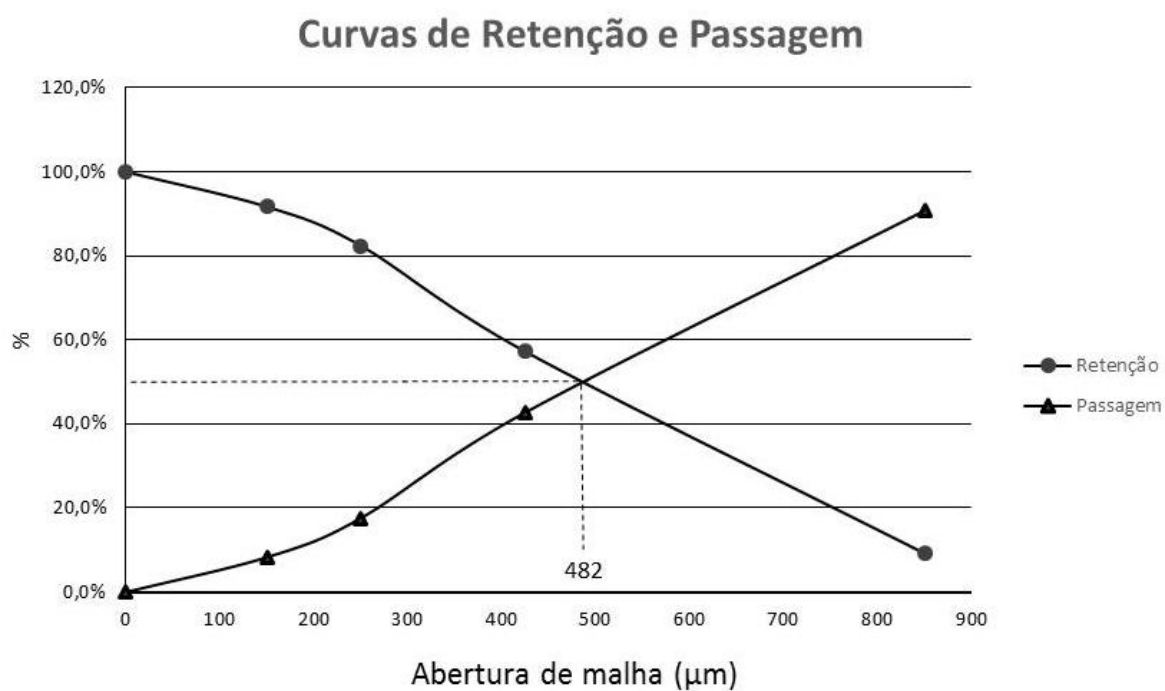


FIGURA 2. Curvas de retenção e passagem das cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl.

O teor de extrativos pode fornecer informações muito relevantes sobre o rendimento dos mais variados processos extrativos que podem ser empregados na transformação tecnológica da droga vegetal. Os resultados obtidos com este ensaio revelam que o teor de substâncias extraíveis por água foi de 12,33 ($\pm 0,006$) %.

4. CONCLUSÃO

A padronização farmacognóstica de *S. amara*, através de sua caracterização fitoquímica e físico-química, até então não descritas na literatura, constitui um processo fundamental para o controle de qualidade desta matéria-prima vegetal, amplamente utilizada pela medicina tradicional brasileira e de outros países tropicais, na fitoterapia e na homeopatia. Quanto à triagem fitoquímica, a identificação de classes de metabólitos secundários ainda não descritos na literatura para as cascas do caule de *S. amara* denotam a importância da realização de estudos mais aprofundados acerca de sua constituição química. Os resultados obtidos a partir das análises físico-químicas, por sua vez, contribuíram para o estabelecimento de parâmetros úteis no controle de qualidade da referida matéria-prima, fornecendo subsídios para a certificação da homogeneidade, autenticidade e eficiência de procedimentos que abrangem desde a coleta, secagem até a pulverização do vegetal.

ABSTRACT: *Simarouba amara* Aubl. is widely distributed in Brazil and its stem bark is much employed as insecticide, antitumor, antimalarial, antiviral, anthelmintic. Since there are no studies related to its quality control, this work conducted a phytochemical and physicochemical characterization of the plant drug. The stem bark was subjected to phytochemical screening through thin layer chromatography, in accordance with procedures described by Harbone and Wagner and Bladt. The physicochemical tests were performed with the stem bark, according to the Brazilian Pharmacopoeia V Edition. The phytochemical

screening revealed the presence of quassinoids, phenylpropano glycosides, cinnamic derivatives, tannins, coumarins, triterpenes and steroids, mono and sesquiterpenes. As for the physicochemical study, the foreign matter was 0.20 ($\pm$ 0.005) %, the moisture content was 8.00 ($\pm$ 0.05) %, the levels of total and acid insoluble ash were, respectively, 0.98 ($\pm$ 0.02) % and 0.54 ($\pm$ 0.07) % and the extractives content, 12,33 ($\pm$ 0,006) %. The particle size analysis allowed classify the powder as thick. Phytochemical and physicochemical characterization of *S. amara* stem bark, not previously described in the literature, is an important parameter for its quality control, supporting the certification of constituents homogeneity and efficiency of procedures ranging from collecting, drying up spraying the plant material.

Uniterms: Quality control; *Simarouba amara*; standardization; phytochemical screening.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo suporte financeiro(475216/2011-3; 483870/2011; 0480128/2012-0; 302113/2012-6) e FACEPE (APQ-1296-4.03/12) pelo suporte financeiro.

Ao Dr. Antenor Pereira Barbosa, por ter coletado o material vegetal.

Ao Sr. José Ramos, que identificou a espécie.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Ocorrência e atividade biológica de quassinoides da última década. **Quím. Nova**, v. 30, n. 4, p. 935-951, 2007.

AMOROZO, M. C. M.; GÉLY, A. Uso de plantas medicinais por caboclos do baixo amazonas, Barcarena, PA, Brasil. **Bol. Mus. Paraense Emílio Goeldi, n. s. Bot.**, v.4, n.1, p.47-131, 1988.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª. ed. São Paulo: Atheneu; 2010. 2 v.

ALMEIDA, E.S.S. *et al.* Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanolextract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-Hil.in animal models. **J. Etnopharmacol.**, v. 134, p. 630-636, 2011.

ARRIAGA, A. M. C. *et al.* Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. **An. Acad. Bras.Ciênc.**, v. 74, n. 3, p. 415-424, 2002.

AZEVEDO, I.M.G. *et al.* Estudo do crescimento e qualidade de mudas de marupá (*Simarouba amara* Aubl.) em viveiro. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 1, p. 157-164, 2010.

BARBOSA, L.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I.C. Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae). **ChemBiodiversity**, v.8, p. 2163-2178, 2011.

BARNI, S.T.; CECHINEL-FILHO, V; COUTO, A.G. Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., Convolvulaceae, como matéria-prima farmacêutica. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, n. 4, p. 865-870, 2009.

BAWN, S. *et al.* *In vitro* antitrypanosomal activities of quassinoid compounds from the fruits of a medicinal plant, *Brucea javanica*. **Vet. Parasitology**, v. 158, p. 288-294, 2008.

BERTANI, S. *et al.* New findings on Simalikalactone D, an antimalarial compound from *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Exp. Parasitol.**, v. 130, p. 341-347, 2012.

BHATTACHARJEE, S. *et al.* Quassin alters the immunological patterns of murine macrophages through generation of nitric oxide to exert antileishmanial activity. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 63, p. 317-324, 2008.

BRAGA, T.V. *et al.* Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *verticillata* e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.3, p. 287-290, 2007.

BRASIL, Resolução RDC 14 – Dispõe sobre o registro de fitoterápicos no Brasil. ANVISA, **Diário Oficial da União**, Brasília - DF, março, 2010.

BUNDESVEREINIGUNG, D.A.(Hrsg.) **Deutscher Arzneimittel - Codex**.Frankfurt: Govi, Stuttgart, DeutscherApotheker, 1986.

CACHET, N. *et al.* Antimalarial activity of simalikalactone E, a new quassinoid of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Antimicrobi. Agents Chemoter.**, v. 53, n. 10, p. 4393-4398, 2009.

CACHET, N. *et al.* Picrasin k, a new quassinoid from *Quassia amara* L. (Simaroubaceae).**PhytochemLett.**, v. 5, p. 162-164, 2012.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**.3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

COUTO, R.O.; VALGAS, A.B.; BARA, M.T.F.; PAULA, J.R. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysentericadc.* (Myrtaceae). **Rev Eletr Farm.**, v. 6, n.3, p. 59-69, 2009.

DUKE, J. A.; VASQUEZ, R. **Amazonian Ethnobotanical Dictionary**. London: Boca Raton/Ann Arbor/CRC, 1994. 215p.

FABRE, N.*et al.* LC-ESI-MS/MS analysis of *Quassia amara* leaves tea. Is antiplasmodial activity of the tea is due to quassinoids? **Planta Med.**, v. 78, n. 11, p. 1262-1262, 2012.

GOVINDARAJU, K.; DARUKESHWARA, J.;SRIVASTAVA. A.K. Studies on protein characteristics and toxic constituents of *Simarouba glauca* oilseed meal. **Food Chem. Toxicol.**, v.47, p. 1327-1332, 2009.

GROSVENOR, N. J. *et al.* Tirucallane, apotirucallane, and octanorapotirucallane triterpenes of *Simarouba amara*.**J. Nat. Prod.**, v. 69, p. 1315-1318, 2006.

GUO, Z. *et al.* Biologically active quassinoids and their chemistry: potential leads for drug design. **Front. Med. Chem.**, v. 4, p. 285-308, 2009.

HARBONE, J. B. **Phytochemical methods**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1984.

JACOBS, H.; SIMPSON, D.; REYNOLDS, W. Quassinoids and a coumarin from *Castela macrophylla* (Simaroubaceae). **Biochem.Syst. Ecol.**, v. 35, p. 42-44, 2007.

KUNDU, P.; LASKAR, S. A brief resume on the genus *Ailanthus*: chemical and pharmacological aspects. **Phytochem.Rev.**, v. 9, p. 379-412, 2010.

JIN, M. *et al.* Anti-inflammatory compounds from the leaves of *Ailanthus altissima*. **Biomol.Ther.**, v. 17, n. 1, p. 86-91, 2009.

KUBO, I.; MURAE, Y.; CHAUDHURI, S.K. Castelin, a quassinoid from *Castela tortuosa*. **Phytochemistry**, v. 33, n.2, p. 461-463, 1993.

LASSAK, E. V.; POLONSKY, J.; JACQUEMIN, H. 5-Hydroxy-canthin-6-one from *Simarouba amara*. **Phytochemistry**, v. 16, p. 1126-1127, 1977.

LAVHALE, M.S. *et al.* A novel triterpenoid isolated from the root bark of *Ailanthus excels* Roxb (tree of heaven), AECHL-1 as a potential anti-cancer agent. **Plos. One**, v.4, n.4, p. 1-11, 2009.

LE COINTE, P. **Árvores e plantas úteis (indígenas e aclimadas):** nomes vernáculos e nomes vulgares, classificação botânica, habitat, principais aplicações e propriedades. 2.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1947. 506p.

LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. **Phytopharmaceutical Technology**, Florida: CRC Press, 2000.

LUZ, F. J. F. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. **Hortic. Bras.**, v.19, n.1, p.88-96, 2001.

MARQUES, G. S. *et al.* Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de *Bauhinia forficata* Link coletada em duas regiões brasileiras. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 33, n. 1, p. 57-62, 2012.

MENDES, F. R.; CARLINI, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, p. 493-500, 2007.

MIGLIATO, K. F. *et al.* Controle de qualidade de fruto de *Syzygiumcumini* (L.) Skeels. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 17, n. 1, p. 94-101, 2007.

MUHAMMAD, I. *et al.* A newantimalarial quassinoid from *Simaba orinocensis*. **J. Nat. Prod.** v. 62, p. 772-777, 2004.

NOLDIN, V.F. *et al.* Phytochemical and antiulcerogenic properties of rhizomes from *Simaba ferruginea* St. Hill.(Simaroubaceae). **Z Naturforsch C.**, v. 60, n. 9-10, p. 701-706, 2005.

NOORSHAHIDA, A.; WONG, T. W.; CHOO, C. Y. Hipoglycemic effect of quassionoids from *Bruceajavanica* (L.) Merr. **J. Ethnopharmacol.**,v. 124, p.586-591, 2009.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Análise de Drogas**. São Paulo: Editora Livraria Atheneu, 1991.

PARROTA, J. A.; FRANCIS, J. K. ALMEIDA, R. R. **Trees of the Tapajós**: a photographic field guide. United States: Department of Agriculture/International Institute of Tropical Forestry, 1995. 370p.

PIRES, J.E.P. *et al.* Determinação da concentração inibitória média (CI50) do extrato aquoso de *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilusmicroplus*, Canestrine, 1887). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.9, n.4, p.23-26, 2007.

POLONSKY, J. Quassinoid bitter principles. **Forstch.Chem. Org. Naturstoffe**, v. 30, p. 101-150, 1973.

POLONSKY, J. Quassinoid bitter principles II. **Forstch. Chem. Org. Naturstoffe**, v.41, p. 221-264, 1985.

POLONSKY J. The structure of simarolide, the bitter principle of *Simarouba amara*. **Proc. Chem. Soc.**, v. 1, p. 292-293, 1964.

POLONSKY, J.; BASKEVITCH-VARON, Z.; DAS, B. C. Triterpenes tetracycliques du *Simarouba amara*.**Phytochemistry**, v. 15, p. 337-339, 1976.

POLONSKY, J. *et al.* The isolation and structure of 13,18-dehydroglauucarubinone a new antineoplastic quassinoid from *Simarouba amara*. **Experientia**, v. 34, p. 1122-1123, 1978.

POLONSKY, J.; VARON, Z.; RABANAL, R. M. 21,20-Anhydromelianone and melianone from *Simarouba amara* (Simaroubaceae); carbon-13 NMR spectral analysis of Δ^7 -tirucallol-type triterpenes. **Israel J. Chem.**, v. 16, p. 16-19, 1977.

RAJI, Y.; OLOYEDE, G.K. Antiulcerogenic effects and possible mechanism of action of *Quassia amara* (L. Simaroubaceae) extract and its bioactive principles in rats. **Afr. J. Trad. Complement. Altern. Med.**, v. 9, n. 1, p. 112-119, 2012.

RIVERO-CRUZ, J.F. *et al.* Cytotoxic constituents of the twigs of *Simarouba glauca* collected from a plot in southern Florida. **Phytoter. Res.**, v. 19, p. 136-140, 2005.

SARAIVA, R. C. G. *et al.* Anatomia Foliar e caulinar de *Picrolemma sprucei* HOOK (Simaroubaceae). **Acta Amazônica**, v. 33, n. 2, p. 213-220, 2002.

SARAIVA, R. C. G.; PINTO, A. C. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W. W. Thomas (Simaroubaceae). **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 264-268, 2006.

SHARAPIN, N. **Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos**. 1. ed. Santafé de Bogotá: CAB, 2000.

SILVA, M. A. B. *et al.* Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

SIMÃO, S.M.; *et al.* Chemogeographical evolution of quassinoids in Simaroubaceae. **Phytochemistry**, v.30, n.3, p.853-865, 1991.

SOARES, A.A.D. **Estudo comparativo das matérias-primas de origem vegetal utilizadas em Homeopatia em farmacopéias homeopáticas**. Disponível em: <<http://lamasson.com.br/biblioteca/biblioteca/pesquisahomeopatica/artigogigio.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

TAYLOR, L. **Herbal Secrets of the Rainforest**. 2 ed. Austin: Sage Press, 2002.

VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia**: manual de plantas medicinais (a farmácia de Deus). 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 347p.

VIEIRA, L. S. **Manual de medicina popular**: a fitoterapia da Amazônia. Belém: FCAP Serviço de Documentação e Informação, 1991. 248p.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie**. 11. ed. Berlin: Ullstein Mosby, 2010.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**. 2. ed. New York: Springer, 1996.

WENIGER, B. *et al.* Popular medicine of the central plateau of Haiti. 2. Ethnopharmacological Inventory. **J. Ethnopharmacol.**, v. 17, n. 1, p. 13-30, 1986.

WRIGHT, C. W., et al. Use of microdilution to assess in vitro antiamoebic activities of *Brucea javanica* fruits, *Simarouba amara* stem, and a number of quassinoids. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 32, n. 11, p. 1725-1729, 1988.

ZHAO, F. *et al.* In vitro Anti-Inflammatory Effects of Beta-Carboline Alkaloids, Isolated from *Picrasma quassioides*, through Inhibition of the iNOS Pathway. **Planta Med.**, v. 78, p. 1906-1911, 2012.

Capítulo IV

6. CAPÍTULO IV

ARTIGO IV - Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica por Espectrofotometria no Visível para Quantificação de Taninos Totais na Casca do Caule de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae).

A ser submetido à Revista Árvore, Qualis Capes B2.

Iasmine Andreza Basilio dos Santos Alves¹, Henrique Marcelino Miranda², Antenor Pereira Barbosa³, Luiz Alberto Lira Soares^{1,2}, Karina Perreli Randau*^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE

²Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE

³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA

*** Correspondência:**

Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE, Rua Prof. Artur de Sá, s/n; Cidade Universitária, Recife-PE; CEP: 50.740-521.

Telefone: +55 81 2126-8511; Fax: +55 81 2126-8510; Email: karina.prandau@ufpe.br

Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica por Espectrofotometria no Visível para Quantificação de Taninos Totais na Casca do Caule de *Simarouba amara* Aubl.

RESUMO: As cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl., Simaroubaceae, são amplamente utilizadas pela medicina popular brasileira e de vários países das Américas Central e do Sul para o tratamento de malária, parasitas intestinais, diarreia, anemia e febre. Apesar de os quassinoides serem considerados os marcadores quimiotaxonômicos para a espécie, a indisponibilidade de padrões para comercialização tem sido um dos grandes obstáculos à realização de seu controle de qualidade. Diante disso, o propósito deste estudo foi o desenvolvimento e validação de metodologia analítica por espectrofotometria para a quantificação do teor de taninos totais das cascas do caule de *S. amara*, visto que esta classe de metabólitos é umas das mais abundantes e representativas já descritas para a espécie. O método proposto baseou-se na quantificação a 760 nm, após adição do reagente Folin-Ciocalteu, e sua validação incluiu todos os parâmetros preconizados pela RE 899. Os resultados demonstraram que o método proposto foi adequadamente desenvolvido e validado, constituindo uma ferramenta analítica útil para o controle de qualidade de *S. amara*.

Palavras-Chave: Espectrofotometria Visível, *Simarouba amara*, teor de taninos.

Development and Validation of Analytical Methodology by Visible Spectrophotometry for Quantification of Total Tannins in the Stem Bark of *Simarouba amara* Aubl.

ABSTRACT: The stem bark of *Simarouba amara* Aubl., Simaroubaceae, is widely used in Brazilian folk medicine and in various countries of Central and South America for the treatment of malaria, intestinal parasites, diarrhea, anemia and fever. Although quassinoids are considered chemotaxonomic markers of the species, the unavailability of marketed standards stay as a challenge for its quality control. Therefore, the purpose of this study was the development and validation of a spectrophotometric method to quantify the total tannin content from stem bark of *S. amara*, since this class of metabolites is one of the most abundant in the species. The proposed method was based on quantification at 760 nm after addition of Folin-Ciocalteu reagent and its validation included all parameters recommended by the RE 899. The results showed that the proposed method was adequately developed and validated and is an useful analytical tool for *S. amara's* quality control.

Keywords: Visible spectrophotometry, *Simarouba amara*, tannin content.

1. INTRODUÇÃO

A família Simaroubaceae apresenta distribuição pantropical e é caracterizada pela presença de quassinoides, produtos de degradação de triterpenos, altamente oxigenados e estruturalmente complexos, os quais consistem em marcadores quimiotaxonômicos da mesma (ALMEIDA et al., 2007). Espécies desta família são amplamente utilizadas na medicina popular por apresentarem atividade antimalárica, anti-helmíntica, antitumoral, anti-inflamatória, antiviral, anorexígena, tônica, inseticida e amebicida (ARRIAGA et al., 2002; CACHET et al., 2009; MUHAMMAD et al., 2004; SARAIVA; PINTO, 2006; SILVA et al., 2010). Dentre suas atividades farmacológicas comprovadas, destacam-se as ações antitumoral *in vitro* (OGURA et al., 1977), antileucêmica (VALERIOTE et al., 1998; GHOSH et al., 1977; POLONSKY et al., 1978), antiviral *in vitro* contra herpes vírus, influenza vírus, poliovírus e vírus vaccínia (KAJJ-A-KAMB, 1992), amebicida (WRIGHT et al., 1988) e antimicrobiana contra *Salmonella typhosa*, *Shigella flexneri* (CACERES et al., 1990), *Plasmodium falciparum* (KAUR et al., 2009) e *Plasmodium berghei* (MARIATH et al., 2009).

Simarouba amara Aubl. é uma árvore tropical de médio porte (cerca de 35 metros) encontrada nas Américas Central e do Sul, bem como nas ilhas do Caribe (DECLERCQ, 2004; LORENZI, 1998). No Brasil, está presente na Amazônia e em estados como o Maranhão, Ceará, Pernambuco (LOUREIRO et al., 1979), Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (LORENZI, 1998; PIRANI e THOMAS, 2013). Na medicina tradicional brasileira é utilizada no tratamento de anemia, febre, diarreia, disenteria, parasitas intestinais e dispepsia (AMARAL et al., 2006; RIBEIRO et al., 2007; SILVA e FRANCO, 2010; SCOLES et al., 2006; LORENZI e MATOS, 2002). Quanto à constituição química, investigações prévias resultaram no isolamento de alcaloides (LASSAK et al., 1977), quassinoides, triterpenos (POLONSKY et al., 1976; GROSVENOR et al., 2006) e polifenóis (GOVINDARAJU et al., 2009).

Apesar de *S. amara* apresentar várias atividades farmacológicas já comprovadas, ser extensamente utilizada pela medicina popular do Brasil, ter feito parte da primeira e segunda edições da Farmacopeia Brasileira e constituir um notável potencial para pesquisas científicas, ainda não foram desenvolvidos e validados procedimentos analíticos para seu controle de qualidade. A importância do preenchimento desta lacuna é reforçada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da resolução nº 14/2010, que normatiza o registro de fitoterápicos no Brasil e exige que o controle de qualidade seja realizado em todas as

etapas de processamento da droga vegetal, incluindo a análise da matéria-prima (BRASIL, 2010).

Neste contexto, destacam-se as metodologias espectrofotométricas pelo Ultravioleta-Visível, as quais são de baixo custo, fáceis de realizar, rápidas e aplicáveis ao uso de rotina laboratorial (FERNANDES et al., 2012; MARQUES et al., 2013). Os metabólitos secundários escolhidos para serem determinados em *S. amara* foram os taninos, visto que esta classe de compostos é abundante e representativa na referida espécie, conforme verificado em triagem fitoquímica preliminar. Para sua quantificação, o método de Folin-Ciocalteu é amplamente empregado (FOLIN; CIOCALTEU, 1927; GALLICE et al., 2011). Ele baseia-se na redução dos ácidos fosfotungstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), presentes no reagente, pelos compostos fenólicos presentes na amostra a óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}) em meio alcalino. Os óxidos formados apresentam coloração azulada, sendo possível a quantificação da absorvância da solução na região do visível (760 nm). Visto que este método tem sido considerado eficiente para a quantificação de substâncias em várias espécies arbóreas (LOPEZ; SANCHES; NAKAMURA, 2005; MONTEIRO et al., 2005), optou-se pela escolha do mesmo para determinar os taninos totais na casca do caule da matéria-prima vegetal.

Diante do exposto, o trabalho objetivou desenvolver e validar uma metodologia espectrofotométrica na faixa visível para a determinação de taninos totais na casca do caule de *S. amara*, através do método de Folin-Ciocalteu, a qual possa contribuir para o seu controle de qualidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

As cascas do caule de *Simarouba amara* Aubl. foram coletadas na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (EEST) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), situada na BR-174, Km 43, município de Manaus, Amazonas. A exsicata foi depositada no herbário do INPA, sob o número 181.975. Após a coleta, o material vegetal foi submetido a secagem à temperatura ambiente e, em seguida, pulverizado em triturador industrial.

2.2 Reagentes e Substância de Referência

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico: água destilada, reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica®), carbonato de sódio anidro (Synth®), pó de pele, polivinilpirrolidona (BASF®) e caseína (Merck®). Pirogalol (Fluka®, Pureza $\geq 98.0\%$) foi utilizado como padrão.

2.3 Determinação Espectrofotométrica de Taninos Totais na Casca de Simarouba amara

2.3.1 Preparo da Solução Extrativa

1,5 g da droga vegetal foram pesados e transferidos para balão com boca esmerilhada de 250 mL. Foram adicionados 150 mL de água destilada, levando-se a aquecimento em banho-maria, sob refluxo, por 30 minutos, à 60°C. Em seguida, o balão foi resfriado em água corrente e a solução, transferida para balão volumétrico de 250 mL, com subsequentes lavagens até a remoção total do conteúdo de droga vegetal. Completou-se o volume com água destilada e, após decantação, o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro. Os primeiros 50 mL foram desprezados.

2.3.2 Preparo da Solução para Determinação de Polifenóis Totais

Em balão volumétrico de 25 mL, foram adicionados 4 mL da solução extrativa, 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 10 mL de água destilada. O volume final foi completado com a solução de carbonato de sódio anidro a 10,75 % (p/v). Após 30 minutos, a absorvância foi mensurada em um comprimento de onda de 760 nm, em espectrofotômetro (EVOLUTION 60S, Thermo Fischer Scientific®), utilizando água destilada como solução de compensação. Todas as operações foram protegidas da luz.

2.3.3 Preparo da Solução para Polifenóis Não Adsorvidos Por Pó de pele

Em erlenmeyer de 125 mL foram adicionados 10 mL da solução extrativa e 150 mg de pó de pele, os quais foram submetidos a agitação mecânica por 60 minutos e, em seguida, filtrados em papel de filtro. Alíquota de 4 mL foi retirada do filtrado e transferida, volumetricamente, para balão volumétrico de 25 mL. Em seguida, foram adicionados 10 mL de água destilada, 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu e o volume completado com solução de carbonato de sódio

anidro a 10,75 % (p/v). Após 30 minutos, a absorvância foi lida em um comprimento de onda de 760 nm, utilizando água destilada como solução de compensação. Todas as operações foram protegidas da luz.

2.3.4 *Preparo da Solução Padrão de Pirogalol*

Pirogalol foi escolhido como padrão por já ser utilizado para quantificação de taninos na Farmacopeia Brasileira V Edição (2010). Foram pesados exatamente cerca de 50 mg de pirogalol e dissolvidos em balão volumétrico de 100 mL, com água destilada. Alíquota de 5 mL desta solução foi volumetricamente transferida para balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com água destilada. Em balão volumétrico de 25 mL, foram transferidos 2 mL desta solução, 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu, 10 mL de água destilada e o volume foi completado com solução de carbonato de sódio anidro a 10,75 % (p/v). A absorvância foi determinada em 760 nm após 30 minutos, utilizando água destilada como solução de compensação. Todas as operações foram protegidas da luz.

2.3.5 *Cálculo do Teor de Taninos Totais*

O teor de taninos totais foi determinado pela seguinte equação:

$$TT = \frac{6,25 \times (A1 - A2) \times M2}{A3 \times M1} \quad (1)$$

Onde: TT representa o teor de taninos totais; A1 e A2 consistem, respectivamente, na absorvância da amostra para polifenóis totais e na absorvância da amostra para polifenóis não adsorvidos em pó de pele; M₁ é a massa da amostra utilizada no ensaio, em gramas, considerando a perda por dessecação; M₂ é a massa de pirogalol, em gramas; e A3 inclui a absorvância da solução padrão.

2.4 *Desenvolvimento do Método*

2.4.1 *Quantidade de Droga e Volume do Reagente Folin-Ciocalteu*

Os efeitos da quantidade de droga (0,5; 1,0 e 1,5 g) e volume do reagente Folin-Ciocalteu (1, 2 e 3 mL) sobre a resposta do método foram estudados através de um experimento fatorial do

tipo 3² adicionado de dois pontos centrais (1,0 g de droga e 2 mL de Folin). Cada ponto representa uma média de três determinações.

As variáveis independentes para o desenho experimental incluíram quantidade de droga e volume de reagente. A variável dependente estudada (resposta) foi a absorvância. A matriz experimental está representada na tabela 1. A reposta foi estabelecida por um modelo de segunda ordem. A análise estatística do modelo foi realizada através do método dos mínimos quadrados e o modelo matemático obtido foi usado para gerar superfície resposta com o auxílio do programa computacional STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA).

2.4.2 Concentração de Carbonato de Sódio Anidro

Após a determinação da quantidade ideal de droga e do volume adequado do reagente, foi avaliada a concentração ótima de carbonato de sódio anidro (Na₂CO₃), comparando-se soluções distintas de 10,75; 14; e 29 %, p/v. A absorvância foi determinada e o teor de taninos totais foi expresso como uma média de três determinações.

2.4.3 Agente Precipitante

Por fim, foi avaliado o melhor agente precipitante, cujo critério de escolha incluiu a maior absorvância, bem como a quantidade ideal do referido agente. Foram comparados: caseína (150, 250 e 350 mg), polivinilpirrolidona (50, 100 e 200 mg) e pó de pele (50, 100 e 150 mg). A absorvância foi determinada e o teor de taninos totais foi expresso como uma média de três determinações.

2.5 Validação

Os parâmetros de validação foram analisados de acordo com os requisitos preconizados pelo Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, disponível na RE 899 (BRASIL, 2003) e pelo *International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH, 2005). Todos os ensaios de validação foram realizados nas condições espectrofotométricas estabelecidas após o estudo de desenvolvimento.

Os resultados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Também foram utilizados análise de variância (ANOVA) e teste *t* de Student quando pertinentes, com o

auxílio do software Excel (Microsoft Corporation, USA). O limite de significância foi considerado como 5% ($p < 0,05$).

2.5.1 Linearidade da Amostra e do Padrão

A linearidade da amostra e do padrão foi avaliada através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados a partir de três curvas de calibração autênticas, usando-se cinco concentrações. Os resultados permitiram definir o coeficiente de determinação (mínimo aceitável $R^2 = 0,99$), o desvio-padrão relativo (DPR) e a equação de regressão. Também foram efetuados testes de falta de ajuste do modelo linear e significância da regressão (PIMENTEL; BARROS, 1996).

As faixas de concentração utilizadas para o pirogalol e para a amostra foram, respectivamente, de 1 a 5 $\mu\text{g/mL}$ e de 6 a 30 $\mu\text{g/mL}$.

2.5.2 Limites de Detecção e de Quantificação

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram estimados (em $\mu\text{g/mL}$) considerando o desvio-padrão (DP) com relação à absorvância da menor concentração e ao coeficiente angular (inclinação da reta – IC), obtidos pela linearidade do padrão e da amostra (Equações 2 e 3).

$$LD = \frac{DP \times 3}{IC} \quad (\text{Equação 2})$$

$$LQ = \frac{DP \times 10}{IC} \quad (\text{Equação 3})$$

2.5.3 Especificidade

A especificidade foi avaliada pelo método de adição de padrão, no qual foi adicionado 1 mL de pirogalol (1 $\mu\text{g/mL}$) em cada uma das cinco concentrações utilizadas no teste de linearidade. O método foi considerado específico quando os coeficientes angulares das equações da reta de linearidade e especificidade foram considerados semelhantes (BLAINSKI; LOPES; MELLO, 2013).

2.5.4 Precisão

A precisão da metodologia espectrofotométrica foi avaliada nos níveis de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi definida pela análise de seis amostras individuais da solução extrativa a 100 % de sua concentração (18 µg/mL). A precisão intermediária foi avaliada em triplicata, em dois dias consecutivos por dois analistas diferentes. A repetibilidade foi expressa através do desvio padrão relativo (DPR) e a precisão intermediária foi avaliada através de ANOVA, além do DPR (RIBANI et al., 2004).

2.5.5 Exatidão

A recuperação foi calculada pela adição de quantidades conhecidas e crescentes da solução padrão de pirogalol (1 a 3 µg/mL) em amostras na concentração de análise de 100 %. Os testes foram realizados em triplicata para cada nível de concentração. Os ensaios foram realizados em triplicata e percentual de recuperação foi calculado. O método foi considerado exato quando o percentual de recuperação atingiu a faixa entre 85 e 115% (BRASIL, 2003; BLAINSKI; LOPES; MELLO, 2013).

2.5.6 Robustez

A robustez do método foi determinada através de variações na luminosidade (presença ou ausência de luz) e no comprimento de onda (758, 760 e 762nm). As análises foram realizadas em triplicata, utilizando a solução extrativa a 100% de sua concentração. A análise dos resultados foi feita através de ANOVA *One-Way*.

3. RESULTADOS

3.1 Desenvolvimento do Método

3.1.1 Quantidade de Droga e Volume do Reagente Folin-Ciocalteu

Os resultados para o desempenho do método com diferentes quantidades de droga e/ou volume de reagente Folin-Ciocalteu são mostrados na tabela 1. Os dados experimentais foram usados para gerar modelos de segunda ordem para cada variável dependente. Visto que o teste

de falta de ajuste não foi significativa, as variações experimentais puderam ser atribuídas apenas ao erro aleatório. Diante disso, os modelos ajustados demonstraram uma aproximação adequada dos valores reais e propiciaram a construção do gráfico superfície-resposta. A análise deste gráfico demonstrou que há influência de ambas as variáveis analisadas: com o aumento do volume do reagente Folin-Ciocalteu verifica-se um aumento na resposta do método, mas este aumento é muito mais pronunciado quando se eleva a quantidade de droga (Figura 1).

ENTRA FIGURA 1

A ANOVA foi significativa para ambas as variáveis, quantidade de droga e volume de reagente, demonstrando que a variação destas influencia significativamente a resposta estudada. O gráfico de Pareto, construído a partir do teste *t*, revelou importância estatística para os termos lineares de ambas as variáveis independentes, principalmente quantidade de droga. Dentre os termos quadráticos, apenas a quantidade de droga foi estatisticamente significativa (Figura 2).

ENTRA FIGURA 2

3.1.2 Concentração de Carbonato de Sódio Anidro e Agente Precipitante

A mudança nas concentrações de carbonato de sódio anidro levou em consideração dados da literatura: 7,5 % (BLAINSKI; LOPES; MELLO, 2013); 10,75 % (GLASL, 1983) e 14 % (COUNCIL OF EUROPE, 2007). A avaliação das três concentrações distintas de carbonato de sódio anidro não revelou nenhuma diferença estatisticamente significativa entre as variações estabelecidas. No que se refere ao agente precipitante, o pó de pele demonstrou melhores resultados para a determinação do teor de taninos totais quando comparado aos demais. Além disso, um aumento na sua quantidade resultou num aumento da resposta do método (Figura 3).

ENTRA FIGURA 3

3.2 Validação

3.2.1 Linearidade e Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)

As curvas de calibração do padrão e taninos totais nas cascas de *S. amara* por espectrofotometria apresentaram linearidade dentro do intervalo de 80 a 120% na faixa de concentração estabelecida, no comprimento de onda de 760 nm (Tabela 2). A análise de regressão linear demonstrou coeficientes de determinação de 0,9992 e 0,9982, respectivamente, para a curva do padrão e de taninos, valores que comprovam que mais de 99% da variabilidade experimental pode ser explicada pelos modelos lineares e que há adequação do método no que concerne à relação entre as concentrações do analito e as respostas espectrofotométricas.

Os limites de detecção e quantificação, também descritos na tabela 2, foram determinados utilizando-se o desvio-padrão médio do primeiro ponto da curva de calibração do pirogalol (Equações 2 e 3).

ENTRA TABELA 2

3.2.2 Especificidade

A especificidade de métodos espectrofotométricos para matrizes complexas, tais como matérias-primas vegetais, é de fundamental importância para garantir confiabilidade na quantificação de metabólitos secundários (LANDIN; FEITOZA; COSTA, 2012). No caso de matrizes complexas, se a matriz sem o analito não está disponível, os efeitos do sistema matricial podem ser analisados comparando-se os coeficientes angulares das curvas de linearidade e especificidade. Se as curvas forem paralelas, o método pode ser considerado específico (BLAINSKI; LOPES; MELLO, 2013). A especificidade do método para a solução extrativa foi confirmada uma vez que os coeficientes angulares das equações lineares foram muito próximos (Figura 4).

ENTRA FIGURA 4

3.2.3 Precisão

Os resultados demonstram que, em relação à repetibilidade, o método corrobora com os parâmetros exigidos pela legislação vigente, apresentando desvio padrão relativo (DPR) inferior a 5 %.

Quanto à precisão intermediária, além do DPR inferior a 5 %, a análise estatística demonstrou que o F calculado (3,45) foi menor do que o F tabelado (4,07), o que comprova que não há diferença estatisticamente significativa entre as amostras analisadas em dias distintos por diferentes analistas, no nível de 95% de confiança.

3.2.4 Exatidão

Para as concentrações baixa, média e alta, os resultados evidenciaram percentuais de recuperação iguais a 92,01; 102,21 e 109,33 %, respectivamente. Estes percentuais encontram-se dentro da faixa de 85-115 % preconizada pela legislação vigente (BRASIL, 2003). O desvio padrão relativo foi inferior a 5 % em todos os níveis de concentração avaliados, o que demonstra a exatidão do método e confiabilidade dos resultados.

3.2.5 Robustez

Para a avaliação da robustez do método, foram realizadas pequenas e deliberadas variações nos parâmetros de presença/ausência de luz e comprimento de onda. A luminosidade foi estudada quanto à proteção ou não das amostras contra a luz, desde a adição do reagente Folin-Ciocalteu até o momento de leitura no espectrofotômetro. Já o comprimento de onda foi avaliado nos níveis de 758, 760 e 762 nm. Todos os resultados apresentaram um coeficiente de variação inferior a 5%, corroborando com a RE 899, e não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si no teste *t* de Student (Tabela 3). Estes resultados confirmam a robustez do método.

ENTRA TABELA 3

4. DISCUSSÃO

No desenvolvimento do método, tanto o gráfico de superfície-resposta, construído a partir da análise fatorial para as variáveis volume do reagente e quantidade de droga vegetal, quanto os ensaios que compararam diferentes concentrações de Na_2CO_3 e quantidades distintas de pó de pele, permitiram estabelecer parâmetros através dos quais foram alcançadas as condições ótimas para a determinação espectrofotométrica de taninos totais em *S. amara* pelo método de Folin-Ciocalteu. Estes valores incluíram: 1,5 g de droga vegetal; 3 mL do reagente Folin-Ciocalteu; carbonato de sódio a 10,75% e 150 mg de pó de pele.

A validação, exigida pela RDC nº 14 (BRASIL, 2010) e regulamentada pela RE 899, contribuiu para identificar e controlar fatores de variação, estabelecer limites de aceitação do erro analítico e assegurar a confiabilidade dos resultados (BRASIL, 2003).

Os resultados obtidos a partir da linearidade demonstraram que a variável dependente (absorvância) é diretamente proporcional à variável independente (concentração do analito) dentro do intervalo estudado e que a equação matemática obtida expressa adequadamente esta relação. Além disso, os valores expressos na Tabela 1 revelaram que a metodologia espectrofotométrica foi sensível para a determinação de taninos na solução extrativa da casca do caule de *S. amara*, sem sofrer alterações intrínsecas do equipamento.

A especificidade de um método consiste na sua capacidade de distinguir o analito na presença de outros componentes da matriz, os quais podem incluir impurezas, produtos de degradação, dentre outros (ICH, 2005). O paralelismo das retas confirmou que, nas condições experimentais, foi possível quantificar especificamente o padrão pirogalol assim como os taninos presentes na solução extrativa, mesmo na presença de outros compostos ou impurezas. A precisão é considerada uma das análises mais representativas visto que revela o efeito das variações relacionadas aos dias, analistas ou equipamentos distintos, implicando na garantia da reprodutibilidade do método (BUENO, 2010). A exatidão, por sua vez, reflete a proximidade dos resultados obtidos por uma metodologia analítica em relação aos valores verdadeiros (BRASIL, 2003). Procedimentos exatos devem estar livres de interferências, tais como condições extrativas e reagentes semelhantes, e as respostas da metodologia devem estar relacionadas com a concentração do analito (ARAÚJO et al., 2013). Os resultados expressos em ambos os ensaios demonstraram que o método é preciso e exato, o que contribui para a garantia da sua confiabilidade.

O estudo da robustez, definida como a capacidade do método em resistir a pequenas e deliberadas variações de parâmetros analíticos, sem perder sua exatidão e precisão (ICH,

1995), permitiu verificar que a metodologia proposta não sofreu interferências significativas frente a pequenas variações na concentração de carbonato de sódio anidro, presença de luz e comprimento de onda, contribuindo para fornecer uma indicação de confiança no processo durante seu desenvolvimento usual.

5. CONCLUSÃO

A quantificação de metabólitos secundários exerce importante papel no controle de qualidade da matéria-prima vegetal. Nesse contexto, uma metodologia espectrofotométrica na faixa do visível para a determinação de taninos totais na casca do caule de *S. amara* foi adequadamente desenvolvida e validada. O método proposto foi linear, específico, exato, preciso e robusto, sob as condições estudadas, e destaca-se pela facilidade de execução (desde o preparo até a leitura das amostras) e baixo custo, estando em conformidade com os requisitos para o uso analítico e para garantir a confiabilidade dos resultados.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (475216/2011-3; 483870/2011; 0480128/2012-0; 302113/2012-6) e FACEPE (APQ-1296-4.03/12) pelo suporte financeiro.

7. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, MMB et al. Ocorrência e atividade biológica de quassinoides da última década. **Quim. Nova**, v. 30, n. 4, p. 935-951, 2007.
- AMARAL, FMM et al. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 16, p. 696-720, 2006.
- ARAÚJO, LBDC et al. Total phytosterol content in drug materials and extracts from roots of *Acanthospermum hispidum* by UV-VIS spectrophotometry. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.23, n. 5, p. 736-742, 2013.
- ARRIAGA, AMC et al. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. **An. Acad. Bras.Ciênc.**, v. 74, n. 3, p. 415-424, 2002.

BLAINSKI, A; LOPES, GC; MELLO, JCP. Application and analysis of the Folin-Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. **Molecules**, v. 18, p. 6852-6864, 2013.

BRASIL, 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RE N°899, de 29 de Maio de 2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília DOU de 02/06/2003.

BRASIL, Resolução RDC 14 – Dispõe sobre o registro de fitoterápicos no Brasil. ANVISA, Diário Oficial da União, Brasília - DF, março, 2010.

BUENO, F.G, **Controle de qualidade, desenvolvimento de metodologia analítica e avaliação da atividade cicatrizante de *Caesalpinia peltophoroides* Benth.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

CACERES, A. et al. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. **J. Ethnopharmacol.**, v. 30, n. 1, p. 55-73, 1990.

CACHET, N. et al. Antimalarial activity of simalikalactone E, a new quassinoid from *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.53, n. 10, p. 4393-4398, 2009.

DECLERCQ, J. Suspected wood poisoning caused by *Simarouba amara* (marupá/caixeta) shavings in two dogs with erosive stomatitis and dermatitis. **Vet. Dermatol.**, v. 15, p. 188-193, 2004.

EUROPE COUNCIL.Determination of tannins in herbal drugs. In *European Pharmacopoeia*, 6th ed.; European Directorate for the Quality of Medicines: Strasbourg, France, 2007; p. A286.

FERNANDES, AJ. et al. Total flavonoids content in the raw material and aqueous extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). **Sci. World J.**, v. 2012, p. 1-7, 2012.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V.On tyrosine and tryptophan determination proteins. **J. Biol. Chem.**, v. 73, n. 2, p. 627, 650, 1927.

GALLICE, WC.; MESSERSCHIMIDT, I.; PERALTA-ZAMORA, P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Quim. Nova**, v. 34, n. 3, p. 397-403, 2011.

GHOSH, P C., et al. Antitumor plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. **Lloydia**, v. 40, n. 4, p. 364-369, 1977.

GLASL, H. Zur Photometrie in der Drogenstandardisierung. 3. Gehaltsbestimmung von Gerbstoffdrogen. **Dtsch. Apoth. Ztg.**, v. 123, p. 1979–1983, 1983.

GOVINDARAJU, K. et al. Studies on protein characteristics and toxic constituents of *Simarouba glauca* oilseed meal. **Food Chem. Toxicol.**, v. 47, p. 1327-1332, 2009.

ICH. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. In *Q2B(R1): Guideline on Validation of Analytical Procedure- Methodology*; ICH Steering Committee: Brussels, Belgium, 2005.

KAIJ-A-KAMB, M. et al. Search for new antiviral agents of plant origin. **Pharm. Acta Helv**, v. 67, n. 5/6, p. 130-147, 1992.

KAUR, K. Antimalarials from nature. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 17, p. 3229-3256, 2009.

LANDIN, LP.; FEITOZA, GS.; COSTA, JGM. Development and validation of a HPLC method for the quantification of three flavonoids in a crude extract of *Dimorphandra gardneriana*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 23, n. 1, p. 58-64, 2012.

LASSAK, EV.; POLONSKY, J.; JACQUEMIN, H. 5-Hydroxy-canthin-6-one from *Simarouba amara*. **Phytochemistry**, v. 16, p. 1126-1127, 1977.

LOPEZ, CG.; SANCHES, CCA.; NAKAMURA, CV. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Marth and *Stryphnodendron obovatum* Benth. On the cicatrization of cutaneous wounds in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 99, n. 2, p. 265-272, 2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Editora Plantarum, 5. ed., 2002. 324p.

LORENZI, H.; MATOS, FJA. **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512p. Il.

LOUREIRO, AA.; SILVA, M F.; ALENCAR, JC. **Essências madeireiras da Amazônia**. Manaus: INPA, 1979. 432p.

MARIATH, IR. et al. Plants of the American continent with antimalarial activity. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 19, n. 1A, p. 158-192, 2009.

MARQUES, GS. et al. Comparative evaluation of UV/VIS and HPLC analytical methodologies applied for quantification of flavonoids from leaves of *Bauhinia forficata*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 23, p. 51-57, 2013.

MONTEIRO, JMM. et al. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Rev. Árvore**, v. 29, n. 6, p. 999-1005, 2005.

MUHAMMAD, I. et al. A new antimalarial quassinoid from *Simaba orinocensis*. **J. Nat. Prod.** v. 62, p. 772-777, 2004.

OGURA, M. et al. Potential anticancer agents VI. Constituents of *Ailanthus excelsa* (Simaroubaceae). **Lloydia**, v. 40, n. 6, p. 579-84, 1977.

PIMENTEL, M.F.; BARROS, N.B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. **Quim Nova**, v. 19, p. 268-277, 1996.

PIRANI, JR.; THOMAS, WW. *Simaroubaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1381>>. Acesso em: 11 Dez. 2013.

POLONSKY, J.; BASKEVITCH-VARON, Z.; DAS, B C. Triterpenes tetracycliques du *Simarouba amara*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 337-339, 1976.

POLONSKY, J. et al. The isolation and structure of 13,18-dehydroglauucarubinone a new antineoplastic quassinoid from *Simarouba amara*. **Experientia**, v. 34, p. 1122-1123, 1978.

RIBANI, M.; BOTTOLI, CBG. COLLINS, CH.; JARDIM, ICSF. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v.27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, ASS. et al. Utilização de recursos naturais por comunidades humanas do parque ecoturístico do Guamá, Belém, Pará. **Acta Amazonica**, v. 37, n.2, p. 235-240, 2007.

SARAIVA, RCG.; PINTO, AC. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla*(Cavalcante) W. W. Thomas (Simaroubaceae). **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 264-268, 2006.

SCOLES, R. et al. Sabiduria popular y plantas medicinales: elejemplo de la comunidad negra de Itacoã, Acará, Pará. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Naturais**, v.1, n. 2, p. 79-102, 2006.

SILVA, MAB. et al. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Rev. Bras.Farmacogn.**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

SILVA, JM.; FRANCO, ES. Florística de espécies arbórea-arbustivas do sub-bosque com potencial fitoterápico em fragmento florestal urbano no município de Camaragibe, Pernambuco, Brasil. **RCG**, v. 11, n. 35, p.179-194, 2010.

GROSVENOR, NJ. et al. Tirucallane, apotirucallane, and octanorapotirucallane triterpenes of *Simarouba amara*. **J. Nat. Prod.**, v. 69, p. 1315-1318, 2006.

VALERIOTE, FA. et al. Anticancer activity of Glaucarubinone analogues. **Oncol. Res.**, v. 10, n. 4, p. 201-208, 1998.

WRIGHT, CW., et al. Use of microdilution to assess in vitro antiamoebic activities of *Brucea javanica* fruits, *Simarouba amara* stem, and a number of quassinoids. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 32, n. 11, p. 1725-1729, 1988.

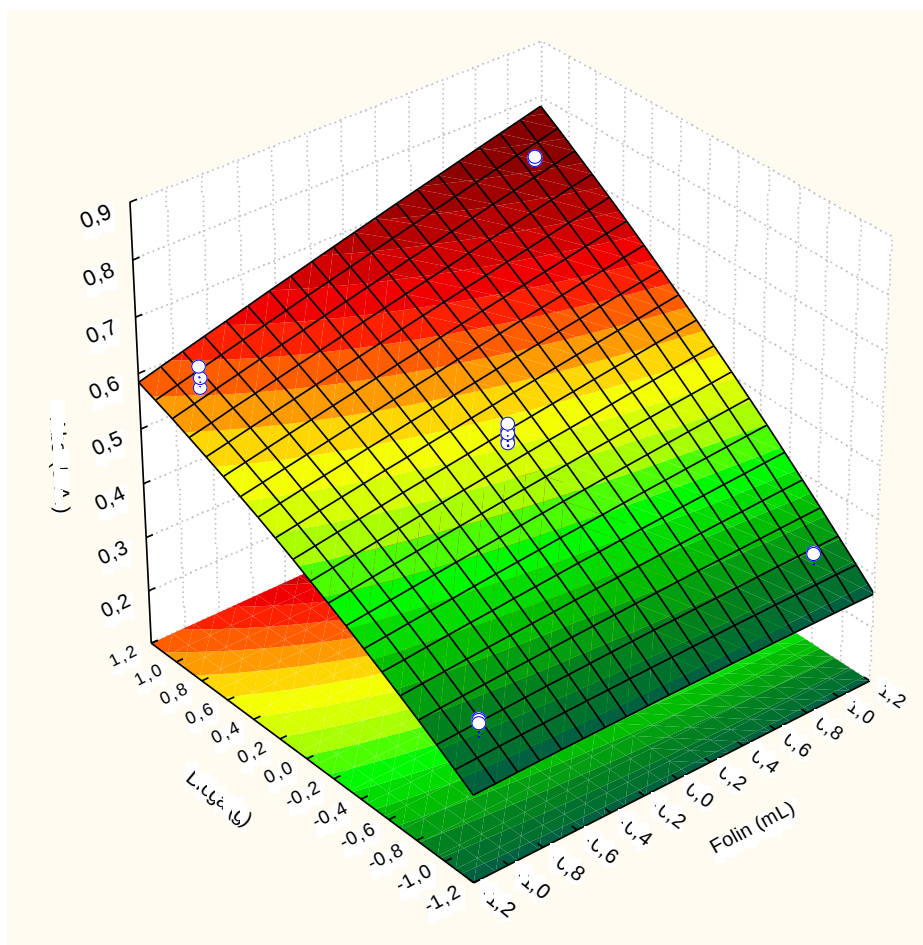


Figura 1. Superfície de Resposta obtida através da análise fatorial em valores de Absorvância (U.A.).

Figure 1. Response surface obtained by factorial analysis in absorbance values (A.U.).

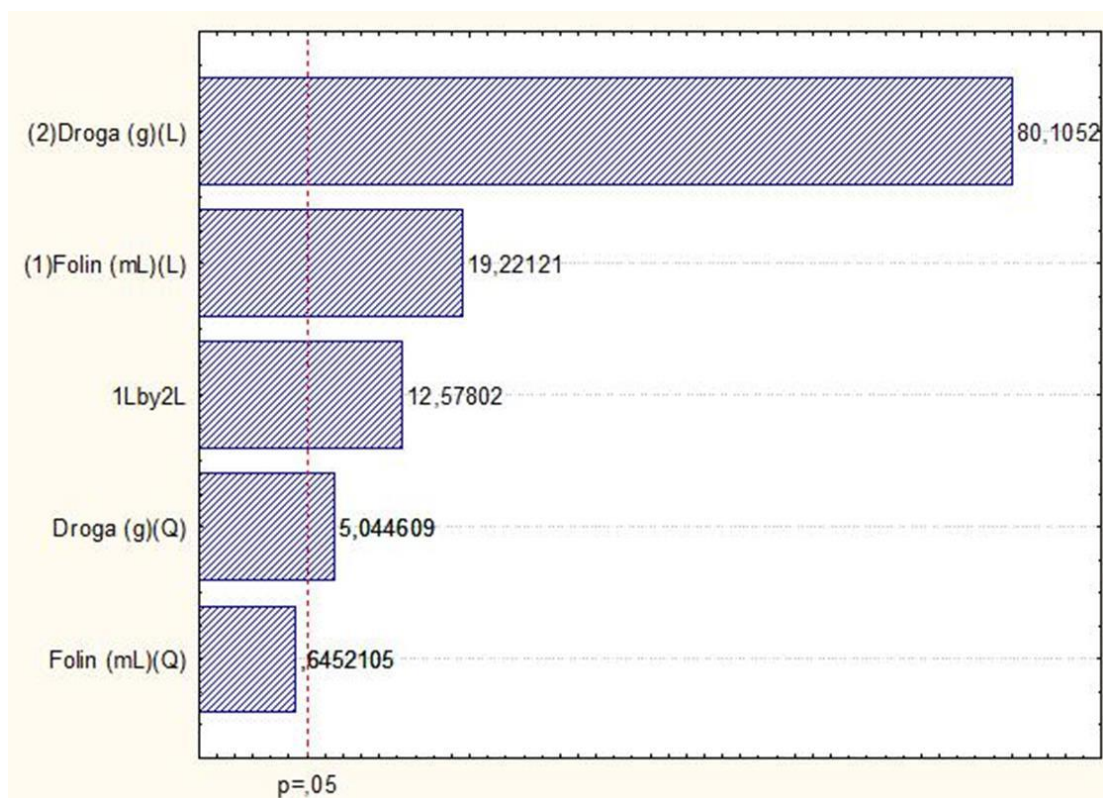


Figura 2. Gráfico de Pareto para as variáveis: quantidade de droga e volume de Folin-Ciocalteu. L = termo linear. Q = termo quadrático. 1Lby2L = interação volume de Folin x quantidade de droga.

Figure 2. Pareto's graphic for the variables: drug amount and Folin-Ciocalteu volume. L = linear term. Q = quadratic term. 1Lby2L= interaction Folin volume x drug amount.

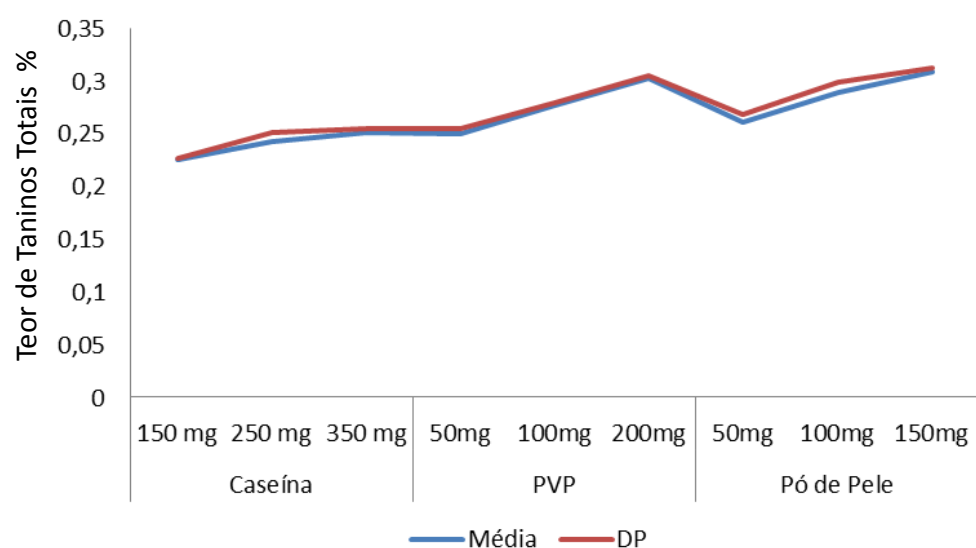


Figura 3. Variações entre agentes precipitantes e suas respectivas quantidades para determinação espectrofotométrica de taninos totais em *Simarouba amara*.

Figure 3. Variations between precipitating agents and their respective quantities for spectrophotometric determination of total tannins in *Simarouba amara*.

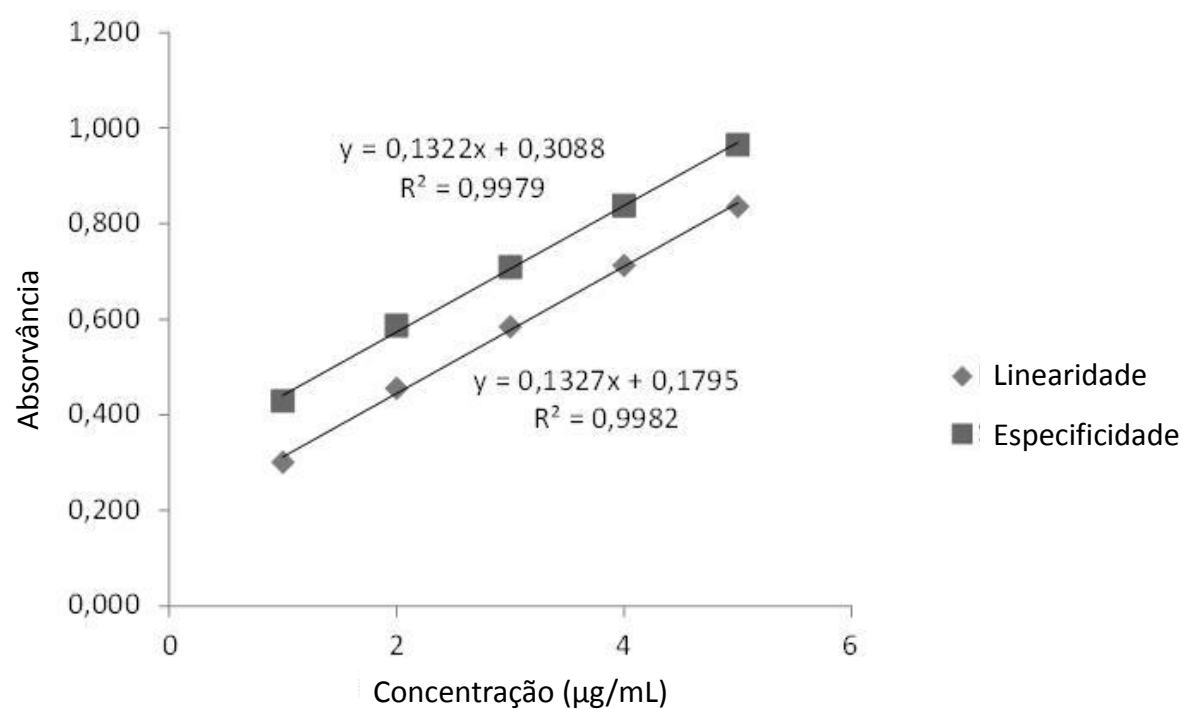


Figura 4. Curvas de linearidade e especificidade da solução extrativa de *Simarouba amara*.

Figure 4. Linearity and specificity curves of *Simarouba amara*'s extractive solution.

Tabela 1. Matriz do planejamento fatorial aplicada para avaliar a influência da quantidade de droga e volume do reagente Folin-Ciocalteu na resposta do método (absorvância).

Table 1. Matrix of factorial design applied to evaluate the influence of drug amount and Folin-Ciocalteu volume on the method response(absorbance).

Experimento	Variáveis Codificadas		Variáveis Naturais		Resposta do Método
	QD (g)	VR (mL)	QD (g)	VR (mL)	
1	-1	-1	0,5	1	0,325
2	-1	+1	0,5	3	0,333
3	+1	-1	1,5	1	0,598
4	+1	+1	1,5	3	0,741
5	0	0	1,0	2	0,516
6	0	0	1,0	2	0,524
7	0	0	1,0	2	0,532
8	0	-1	1,0	1	0,411
9	0	+1	1,0	3	0,514
10	-1	0	0,5	2	0,262
11	+1	0	1,5	2	0,634

Tabela 2. Curvas de calibração do padrão (pirogallol) e extrato da casca do caule de *Simarouba amara*.

Table 2. Calibration curves of the standard (pyrogallol) and *Simarouba amara*'s stem bark extract.

Amostra	Coefficientes Angular e Linear	Faixa (µg/mL)	LD e LQ	R ²	Significância da Regressão	Falta de Ajuste
Pirogalol	a = 0,1709 b = 0,0493	1,0-5,0	LD = 0,0709 LQ = 0,2365	0,9992	F Calculado: 63,94 F Tabelado: 4,557	F Calculado: 0,005 F Tabelado: 3,708
<i>Simarouba amara</i>	a = 0,1327 b = 0,1795	6,0-30,0	LD = 0,0977	0,9982	F Calculado: 31,59	F Calculado: 3,31

LQ = F Tabelado: F Tabelado:
0,3258 4,557 3,708

LD = Limite de Detecção; LQ = Limite de Quantificação. R^2 = Coeficiente de Determinação.

Tabela 3. Avaliação da robustez variando-se a luminosidade e comprimento de onda.

Table 3. Robustness evaluation varying the luminosity and wavelength.

Fonte de Variação	TT%	F Calculado	F Tabelado
Luminosidade			
Ausente	0,242 ± 0,003 (1,232)	2,257	7,729
Presente	0,247 ± 0,009 (3,670)		
Comprimento de Onda			
758 nm	0,254 ± 0,010 (4,076)		
760 nm	0,260 ± 0,010 (3,885)	0,386	5,143
762 nm	0,260 ± 0,009 (3,670)		

Resultados expressos como média ± erro padrão (Coeficiente de Variação Percentual).

Conclusões e Perspectivas

7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

7.1 CONCLUSÕES

Através da revisão da literatura foi possível observar que *Simarouba amara*, de notável importância nos âmbitos químico e farmacológico, é amplamente empregada na medicina popular de países tropicais, além de ter suas cascas utilizadas na fitoterapia e homeopatia. Em contraposição, não existem estudos na literatura que assegurem uma padronização farmacognóstica da espécie, conforme preconizado pela Resolução nº 14/2010 da ANVISA. A caracterização fitoquímica, físico-química e botânica permitiu estabelecer esta padronização, etapa fundamental para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal.

A prospecção fitoquímica das cascas do caule revelou a presença de quassinoides, flavonoides, fenilpropanoglicosídeos, derivados cinâmicos, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, cumarinas, triterpenos, esteroides, mono e sesquiterpenos, sendo que muitas dessas classes de metabólitos secundários ainda não haviam sido descritas até então na literatura para a espécie, o que demonstra a necessidade de realizar estudos mais aprofundados acerca de sua constituição química.

O estudo físico-químico contribuiu para o estabelecimento de parâmetros de qualidade utilizados para a certificação da homogeneidade e da eficiência de procedimentos de secagem e pulverização da droga vegetal. Dentre os resultados obtidos, a análise granulométrica permitiu classificar o pó como grosso, o teor de umidade mostrou-se dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira V edição, sendo que os demais parâmetros ainda não haviam sido determinados para *S. amara*.

A caracterização farmacobotânica contribuiu para garantir a correta identificação da espécie e sua diferenciação dentre as demais do mesmo gênero, principalmente *S. glauca* e *S. versicolor*, com as quais é comumente confundida. Assim, a presença de parênquima lacunoso bráquiforme, a disposição dos idioblastos esclerenquimáticos ao longo do mesófilo bem como do cilindro vascular no parênquima medular da folha; a visualização de cristais no colênquima e parênquima cortical, de ductos secretores e feixes vasculares colaterais no parênquima medular do pecíolo; as células tabulares do súber, as células pétreas do parênquima cortical, o parênquima paratraqueal aliforme do xilema, as tiloses e os cristais prismáticos em cadeia do caule; além do parênquima compacto, cilindro vascular anficrival e presença de cristais prismáticos e inclusões no parênquima axial da raiz, juntos, constituem parâmetros microscópicos de identificação da espécie.

A quantificação de metabólitos secundários em *S. amara* foi realizada através do desenvolvimento e validação de metodologia espectrofotométrica na faixa do visível para a determinação de taninos totais na casca do caule da matéria-prima vegetal pelo método de Folin-Ciocalteu. O estudo permitiu especificar as quantidades ideais de material vegetal e reagentes e demonstrou que o método proposto foi linear, específico, preciso, exato e robusto, destacando-se pela facilidade de execução e baixo custo, além de estar em conformidade com os requisitos para o uso analítico e para garantir a confiabilidade dos resultados.

Diante disso, os dados botânicos, fitoquímicos, físico-químicos e analíticos demonstrados neste estudo constituem parâmetros para o controle de qualidade de *S. amara*, fornecendo subsídios para a certificação de sua autenticidade, pureza e integridade, além da quantificação de metabólitos secundários.

7.2 PERSPECTIVAS

- Desenvolver e validar metodologia analítica para a quantificação de quassinoides por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Isolar e elucidar estruturalmente metabólitos secundários.

Referências

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Ocorrência e atividade biológica de quassinoides da última década. **Quim. Nova**, v. 30, n. 4, p. 935-951, 2007.

AMOROZO, M. C. M.; GÉLY, A. Uso de plantas medicinais por caboclos do baixo amazonas, Barcarena, PA, Brasil. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi: Bot.**, v.4, n.1, p.47-131, 1988.

BHATTACHARJEE, S. *et al.* Quassin alters the immunological patterns of murine macrophages through generation of nitric oxide to exert antileishmanial activity. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 63, p. 317-324, 2008.

BONTÉ, F. *et al.* *Simarouba amara* extract increases human skin keratinocyte differentiation. **J. Ethnopharmacol.**, v. 53, p. 65-74, 1996.

BRASIL, Resolução RDC 14 – Dispõe sobre o registro de fitoterápicos no Brasil. ANVISA, Diário Oficial da União, Brasília - DF, março, 2010.

CASETTI, F. *et al.* Dermocosmetics for dry skin: a new role for botanical extracts. **Skin Pharmacol. Physiol.**, v. 24, p. 289-293, 2011.

DECLERCQ, J. Suspected wood poisoning caused by *Simarouba amara* (marupá/caixeta) shavings in two dogs with erosive stomatitis and dermatitis. **Vet. Dermatol.**, v. 15, p. 188-193, 2004.

DUKE, J. A.; VASQUEZ, R. **Amazonian Ethnobotanical Dictionary**. London: Boca Raton/Ann Arbor/CRC, 1994. 215p.:il.

GROSVENOR, N. J. *et al.* Tirucallane, apotirucallane, and octanorapotirucallane triterpenes of *Simarouba amara*. **J. Nat. Prod.**, v. 69, p. 1315-1318, 2006.

HARDESTY, B. D. *et al.* Spatial genetic structure of *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae), a dioicous, animal-dispersed neotropical tree, on Barro Colorado island, Panama. **Heredity**, v. 95, p. 290-297, 2005;

HARDESTY, B. D. *et al.* Geographic influence on genetic structure in the widespread neotropical tree *Simarouba amara* (Simaroubaceae). **Tropical Plant Biol.**, v.3, p. 28-39, 2010.

KAUR, K. Antimalarials from nature. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 17, p. 3229-3256, 2009.

KLEIN, T. *et al.* Fitoterápicos: um mercado promissor. **Rev. Cienc. Farm. Basica Apl.**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2009.

LASSAK, E. V.; POLONSKY, J.; JACQUEMIN, H. 5-Hydroxy-canthin-6-one from *Simarouba amara*. **Phytochemistry**, v. 16, p. 1126-1127, 1977.

LE COINTE, P. **Árvores e plantas úteis (indígenas e aclimadas):** nomes vernáculos e nomes vulgares, classificação botânica, habitat, principais aplicações e propriedades. 2.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1947. 506p. Ilustrada (A Amazônia Brasileira, 3).

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F.; ALENCAR, J.C. **Essências madeireiras da Amazônia.** Manaus: INPA, 1979. 432p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil:** nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512p. Il.

LUZ, F. J. F. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. **Hortic. Bras.**, v.19, n.1, p.88-96, 2001.

MACIEL, M. A. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MENDES, F. R.; CARLINI, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, p. 493-500, 2007.

MIRANDA, P. R. M. **Morfologia de fruto, semente, germinação e plântula e o efeito de temperatura na germinação e viabilidade de sementes de 7 espécies florestais da Amazônia.** 1998. 147f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - UFAM/INPA, Manaus, 1998.

MUHAMMAD, I. *et al.* A new antimalarial quassinoid from *Simaba orinocensis*. **J. Nat. Prod.** v. 62, p. 772-777, 2004.

O'NEILL, M. J., *et al.* Plants as sources of antimalarial drugs, Part 6: Activities of *Simarouba amara* fruits **J. Ethnopharmacol.**, v. 22, n. 2, p. 183-190, 1988.

PARROTA, J. A.; FRANCIS, J. K. ALMEIDA, R. R. **Trees of the Tapajós**: a photographic field guide. United States: Department of Agriculture/International Institute of Tropical Forestry, 1995. 370p. (General technical report - IITF).

PIRANI, J. R.; THOMAS, W. W. 2012. *Sinmaroubaceae* in **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB001381>).

POLONSKY, J.; BASKEVITCH-VARON, Z.; DAS, B. C. Triterpenes tetracycliques du *Simarouba amara*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 337-339, 1976.

POLONSKY, J.; VARON, Z.; RABANAL, R. M. 21,20-Anhydromelianone and melianone from *Simarouba amara* (Simaroubaceae); carbon-13 NMR spectral analysis of Δ^7 -tirucallol-type triterpenes. **Isr. J. Chem.**, v. 16, p. 16-19, 1977.

SARDERSAI, V. Herbal medicines: poisons or potions? **J. Lab. Clin. Med.**, v. 139, p. 343-348, 2002.

SARAIVA, R. C. G.; PINTO, A. C. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W. W. Thomas (Simaroubaceae). **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 264-268, 2006.

SCOLES, R. Sabiduria popular y plantas medicinales: el ejemplo de la comunidad negra de Itacoã, Acará, Pará. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi: Ciênc. Nat.**, v.1, n. 2, p. 79-102, 2006.

SEIXAS, R. M. A.; CARDOSO, N. S.; DÜNISCH, O. E. Variação da densidade básica ao longo do fuste de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae) e *Iryanthera tricornis* Warb (Myristicaceae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51., Brasília, 2000. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira de Botânica, 2000. p.139.

SILVA, M. A. B. *et al.* Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2002, 833 p.

SOARES, A.A.D. **Estudo comparativo das matérias-primas de origem vegetal utilizadas em Homeopatia em farmacopéias homeopáticas**. Disponível em:

<<http://lamasson.com.br/biblioteca/biblioteca/pesquisahomeopatica/artigogigio.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

TAYLOR, L. **Herbal Secrets of the Rainforest**. 2 ed. Milam Country: Sage Press, 2003.

TULP, M.; BOHLIN, L. Functional versus chemical diversity: is biodiversity important for drug discovery? **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 23, n. 5, p. 225-231, 2002.

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

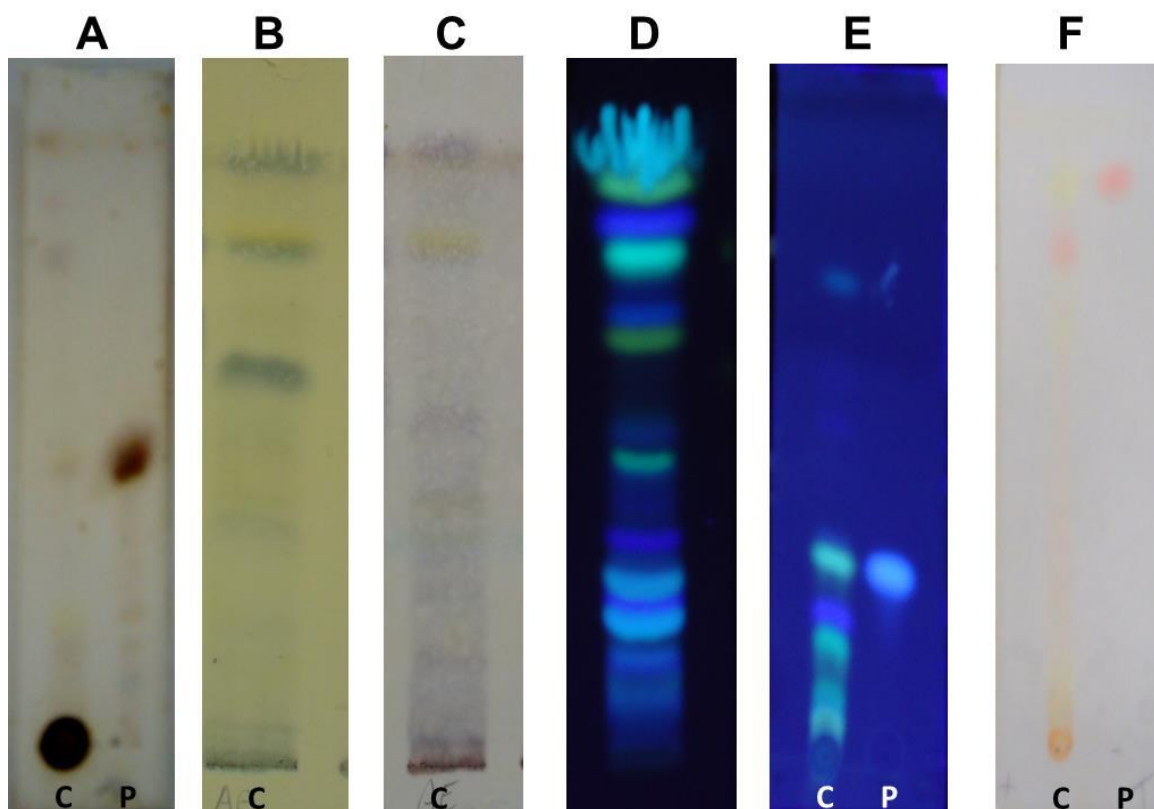
VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia**: manual de plantas medicinais (a farmácia de Deus). 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 347p.

VIEIRA, L. S. **Manual de medicina popular**: a fitoterapia da Amazônia. Belém: FCAP Serviço de Documentação e Informação, 1991. 248p.

WENIGER B. *et al.* Popular medicine of the central plateau of Haiti. 2. Ethnopharmacological Inventory. **J. Ethnopharmacol.**, v. 17, n. 1, p. 13-30, 1986.

ANEXOS

**ANEXO I – CROMATOGRAMAS DO EXTRATO METANÓLICO DA CASCA DO
CAULE DE *Simarouba amara* AUBL.**



A = Triterpenos e Esteroides. B = Quassinoides (revelados em ácido fosfomolibdico). C = Quassinoides (revelados em vanilina sulfúrica). D = Fenilpropanoglicosídeos e derivados cinâmicos. E = Coumarinas. F = Taninos condensados. C = Extrato da casca do caule de *Simarouba amara*. P = Padrão.

ANEXO II – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA

The **Revista Brasileira de Farmacognosia** (*Brazilian Journal of Pharmacognosy*) is a periodical dedicated to the publication of original scientific work, reviews and communications in the field of Pharmacognosy (the study of biologically active natural products).

1. General rules

1.1 All submitted manuscripts must not have been published. The simultaneous submission of manuscripts describing the same work to other journals is not recommended. The journal will accept contributions on the understanding that the author has obtained the necessary authority for publication. In the case of multiple authors, each author must inform the corresponding author that he/she consents to submission of the article to The **Revista Brasileira de Farmacognosia**.

1.2 The **Revista Brasileira de Farmacognosia** accepts for publication original scientific work, reviews and communication articles written only in English. The content of the text is entirely the responsibility of the author(s), and does not necessarily reflect the opinion of the Editor, Editorial Board or members of the Advisory Board.

1.3 Manuscripts written by authors whose native language is not English should be checked by a native speaker or a professional language editing service before submission. Assistance of independent editing services can be found at <http://www.sbfgnosia.org.br/revista>. All services are paid for and arranged by the author, and the use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

1.4 The **Revista Brasileira de Farmacognosia** reserves the right to submit all received manuscripts to *ad hoc* referees, whose names will be kept confidential, and who will have the authority to decide on the pertinence for acceptance. Referees may return manuscripts to the Editor-in-Chief or Section Editors for transmission to the author(s) with suggestions for necessary alterations which are to be made to conform to the standards and editorial rules of the journal.

1.5 All articles involving studies with humans or animals should have the approval and authorization of the Ethics Committees on Research on Human Beings or on Animals of the institutions to which the author(s) belong.

1.6 All plant, microorganism and marine organism materials used in the described research should be supported by an indication of the site (including GPS coordinates, if possible) and country of origin, the name of the person identifying the biological material and the location of the voucher specimen.

1.7 Authors should be prepared to provide documentary evidence that approval for collection was afforded from an appropriate authority in the country of collection and, if applicable, to follow the rules concerning the biodiversity rights.

1.8 Manuscripts dealing with essential oils that contain seasonal harvest and biological activity and which explore mechanisms of action or synergism are welcome.

1.9 The journal will not accept responsibility for research works that do not comply with the legislation of the country of residence of the author.

1.10 We strongly recommend that authors avoid stating that the popular or traditional use of a certain herb was confirmed by pre-clinical, *in-vitro* or *in-vivo* tests using animals.

1.11 The following **immediate rejection criteria** apply:

- i. the manuscript does not fall into the areas of interest of the journal;
- ii. manuscripts not formatted in accordance with the standards of the journal (see Section 3);
- iii. the manuscript results are preliminary;

- iv. manuscripts reporting activity data without comparison with a reference, without a positive control/appropriate control or not based on adequate statistics;
- v. the biological source (*e.g.* plant, microorganism, marine organism etc.) is not clearly identified, authenticated and documented;
- vi. experimental work on antioxidant activity of crude extracts without isolation, identification and content estimation of the active compounds;
- vii. experimental work on antimicrobial activity with crude extracts without isolation and identification of the active compounds, with large MIC values ($\mu\text{g/mL}$) for antimicrobial activity ($\geq 250 \mu\text{g/mL}$ for plant extracts and $\geq 50 \mu\text{g/mL}$ for pure compounds) and without appropriate identification of culture collections/strain designation codes;
- viii. experimental work on essential oils with only one sample of a single plant specimen with a single chromatographic analysis and without appropriate statistical analyses; without oil yield (%) and characterization and component quantification not undertaken using GC-MS-FID and analyses of the retention indices of the components not calculated using *n*-alkane homologous series together with analyses of some of the isolated natural components. Biological activity results without chemical characterization of the compounds.
- ix. too preliminary data using *in-vitro* assays will not be acceptable if (i) no information on the type of activity is given; (ii) single dose or very high concentrations (must show dose–response studies); (iii) repetition of a simple bioassay (usually one assay with replicates); (iv) lack of appropriate controls (solvents; positive or negative substances according to the study); (v) no IC₅₀ values (if applicable).
- x. manuscripts with repetition of a single bioassay for yet another extract or plant;
- xi. use of only the brine shrimp assay (*Artemia salina*) to access the toxicity of extracts;
- xii. isolation and bioassay of well-known compounds with small or no relationship to the activity, or to the medicinal use of the plant without clear justification;
- xiii. manuscripts reporting pharmacological or biological activities of crude extracts without chemical and technical standardization.

2. Rules for the elaboration of contributions

2.1 The author(s) should retain a copy (electronic and paper) of the submitted manuscript in the event of loss or damage to the original sent to the journal.

2.2 Figures (photographs, charts, drawings, *etc.*) and tables should be inserted close to the point at which they are discussed and numbered consecutively in Arabic numerals. The respective captions should be clear, concise, with no abbreviations and located underneath the figures. Their respective position in the text should be indicated preferentially just after their citation in the body of the manuscript. *If figures are from another font, formal authorization is required.*

2.3 Tables should be numbered consecutively using Arabic numerals. Tables (numerical data) should not be closed by side lines. The respective captions must be clear, concise, with no abbreviations and located above the table. There should be an indication of the approximate position in the text where tables should be placed (preferentially just after their citation in the body of the manuscript).

2.4 The captions of botanical illustrations (abbreviations of anatomical descriptions) should be in accordance with the rules adopted by the journal. Please request standards by email to revista@sbfgnosia.org.br.

3. Text formatting and contents of the work

3.1 Original papers: Original papers are research articles describing original experimental results. The manuscript should be arranged in the following order: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References, Figures with Legends, Tables and Structural Formulae. Results and Discussion sections may appear as a combined ‘Results and Discussion’ section. The normal length of the main text of

an Original Paper (excluding references, tables, figures and figure legends) is approximately 3,000 words. Longer manuscripts may be accepted in exceptional and well-justified cases. If submitting such manuscripts, authors should provide a justification statement in the covering letter, giving compelling reasons for the length of the paper.

3.2 Short communications: This section will cover mainly the isolation of known compounds from new neotropical sources, or complementary results of on-going work. The text should be arranged as follows: Title, Abstract of 200 words, Keywords, Introductory Remarks, Material and Methods with brief experimental details without subheadings, Results and Discussion as one body of text without headlines, Acknowledgements, References (up to 20 citations) and Figures and/or Tables (up to 3). The text should not exceed 2,000 words.

3.3 Reviews will, in general, be invited by the Editor-in-Chief and only those with more than 100 references will be considered. The main purpose of reviews is to provide a concise, accurate introduction to the subject matter and inform the reader critically of the latest developments in the field. They should be concise and not include experimental details.

3.4 In addition to these Guidelines, a template (for original papers) and a sample covering letter are available at www.sbfgnosia.org.br/revista. Authors are strongly recommended to follow these formats when preparing a manuscript.

3.5 The originals should be on A4-sized paper, double-spaced using Times New Roman size-12 font, fully justified, with margins of 2 cm.

3.6 Title and subtitle: They should be in lower case, using Times New Roman size-14 font, and in accordance with the contents of the article, taking in consideration the scope and objectives of the journal.

3.7 Authors: The authors' names should appear centred underneath the title. The first and last names should appear in full, followed by the initials of all other names (e.g. Carlos N. U. Silva). In the case of several authors, the names should be separated by commas.

3.8 Author affiliations: After each author name there should be superscript Arabic numerals indicating the institution to which they are affiliated. The list of institutions should appear immediately below the list of authors. The name of the corresponding author should be identified with a superscript asterisk indicating the address to which all correspondence should be sent. The electronic institutional address, telephone number and fax number of the main author should appear after the References. The journal will not publish commercial e-mail addresses.

3.9 Abstract: A brief and concise abstract of ≤ 200 words highlighting the most important information (including the methodology, results and conclusions) that allows readers to evaluate their interest in the article and thus avoiding reading of the entire work.

3.10 Keywords: Very important for database searches, thus validating the article. The authors should identify a maximum of six Keywords, in alphabetical order and separated by commas, to represent the content of the article.

3.11 Introduction: The Introduction should clearly establish the objectives of the work and its relationship with other works in the same field. Extensive literature reviews should be replaced by references of more recent publications, where these reviews have been published and where they are available.

3.12 Materials and methods: The description of the Material and the Methods used should be brief and sufficiently clear for comprehension and reproducibility of the work. Processes and techniques already published, unless extensively modified, should be referenced. Plant names should be complete, including author name and family, according to <http://www.tropicos.org>, <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/> or <http://www.theplantlist.org/> or.

3.13 Results: The Results should be presented with minimum personal discussion or interpretation, and whenever possible, be accompanied by suitable tables and figures. The data, if pertinent, should be subjected to statistical analyses.

3.14 Discussion: The Discussion must be restricted to the significance of the data presented, avoiding conclusions not based upon them. Alternatively, at the discretion of the author, the Results and Discussion can be presented as one section.

3.15 Acknowledgements: This is an optional item. Please acknowledge anyone who made a substantial contribution towards the article.

3.16 Author contributions: The role of each author involved in the development of the study and/or the elaboration of the manuscript must be clearly described, and he/she should be referred to by his/her initials. Please see the template for examples available at www.sbfgnosia.org.br/revista.

4. References

The formatting of the references should be standardised to conform to the requirements of the journal as outlined. *Preferentially use references that can be accessed by the readers worldwide.* Endnote® users, please see the template section available at www.sbfgnosia.org.br/revista to obtain the Endnote® style for RBFAR.

4.1 References within the text: at the beginning of the citation: Author in lower case, followed by the publication year between parenthesis, *e.g.* Pereira (1999); at the end of the citation: Author in lower case and year, both between parenthesis. *e.g.* (Silva, 1999) or (Silva & Souza, 1998) or (Silva et al., 1999) or (Silva et al., 1995a,b); textual citation: the page must be provided, *e.g.* (Silva, 1999, p. 24).

4.2 The references should be presented in alphabetical order by the last name of the first author, in lower case in ascending order of the publication date. Take into consideration the following possibilities:

4.2.1 Article from a periodical: Title of the periodical in italics abbreviated conform *Chemical Abstracts Service Source Index* (<http://www.cas.org/sent.html> or <http://library.caltech.edu/reference/abbreviations/>). In the case of an authorised abbreviation of a certain periodical that cannot be located and is not obvious, the title should be cited complete (*e.g.*): Kumar D, Bhujbal SS, Deoda RS, Mudgade SC 2010. *In-vitro* and *in-vivo* antiasthmatic studies of *Ailanthus excelsa* Roxb. on guinea pigs. *J Sci Res* 2: 196-202. In case the cited journal is not readily accessible, the *Chemical Abstract Number* can be quoted, as follows: Qu W, Li J, Wang M 1991. Chemical studies on *Helicteres isora* L. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* 22: 203-206, apud *Chemical Abstracts* 116: 124855r.

In a citation, the sources should be shown in italics: Wax ET 1977. Antimicrobial activity of Brazilian medicinal plants. *J Braz Biol Res* 41: 77-82, apud *Nat Prod Abs* 23: 588-593, 1978.

4.2.2 Book:

Costa AF 1996. *Farmacognosia*. Lisboa: Calouste Gulbenkian.

4.2.3 Book chapter:

El Sohly MA, Stanford DS, Murphy TP 2007. Compounds properties and drug quality. In El Sohly MA (org.) *Forensic Science and Medicine: Marijuana and the Cannabinoids*. New Jersey: Humana Press, p. 51-66.

4.2.4 Thesis or dissertation materials: Singab ANBI 1996. *Phytochemical studies of some potential bioactive Egyptian plants*. Tokyo, 173p. PhD Thesis, Meiji College of Pharmacy. Romero MAV 1997. *Estudo químico de Brunfelsia hopeana Benth e do mecanismo de ação da escopoletina*. João Pessoa, 119p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais, Universidade Federal da Paraíba.

4.2.5 Scientific meetings:

Oliveira RMMW, Lolli LF, Santos CAM 2006. Possible involvement of GABAABenzodiazepine receptor in the anxiolytic-like effect induced by *Passiflora actinia* extracts in mice. *19th ECNP Congress*. Paris, France.

4.2.6 Patents: Should be identified as indicated below; whenever possible the *Chemical Abstracts Service* number should be informed. Ichikawa M, Ogura M, Lijima T 1986.

Antiallergic flavones glycoside from *Kalanchoe pinnatum*. *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 61,118,396*, apud *Chemical Abstracts* 105: 178423q.

4.2.7 Internet pages:

Taylor L 2000. *Plant based drugs and medicines*. <http://www.raintree.com/plantdrugs.htm>, access in October 2009.

5. Abbreviations

Units will be in accordance with the International System (SI) as adopted by the 11th General Conference on Weights and Measures. Common abbreviations to be used are m (meter; cm (centimeter); mm (millimeter); μ m (micrometer); nm (nanometer); kg (kilogram); g (gram); mg (milligram); μ g (microgram); ng (nanogram); mL milliliter; μ L (microliter); s (second); min (minute); h (hour); N (normal); M molar; mM (millimolar); μ M (micromolar); SD (standard deviation); SE (standard error); X (mean); Ci (Curie); mp (melting point); bp (boiling point); TLC (thin-layer chromatography); GC (gas chromatography); NMR (nuclear magnetic resonance); MS (mass spectrometry); UV (ultraviolet); CD (circular dichroism); IR (infrared); *g* instead of rpm; ppm (parts per million); cpm (counts per minute); dpm (disintegrations per minute); Hz (Hertz); LD50 (median lethal dose); LC50 (median lethal concentration); TLV (threshold limit value). When using a word that is asserted to be a proprietary term or trademark, authors must use the symbol ®.

6. Illustrations

6.1 The quality of the illustrations depends on the quality of the originals provided. Figures cannot be modified or enhanced by the production staff of the journal. The graphics must be submitted as part of the manuscript file. Contrast is important.

6.2 Remove all colour from graphics, except for those graphics that author(s) would consider for publication in colour (see Costs section for details).

6.3 Chemical structures are not considered as figures, should be numbered sequentially in bold letters according to their citations in the manuscript, and placed closed to the desired point in the manuscript body. Structures should be drawn according to the style set by the American Chemical Society. Preferences for the drawing of structures can be found as a pre-set style in appropriate software packages.

6.4 Upload each figure in .tiff, .jpg or .eps format. The figure number and the top of the figure should be indicated. Lettering must be with Arial font of a reasonable size that will be clearly legible upon reduction and which is consistent within each figure and set of figures. If a key to symbols is required, please include this in the figure legend.

7. Submission of manuscripts

7.1 Manuscripts which do not meet acceptable standards will be returned to the authors.

7.2 Manuscript submissions will be processed exclusively online at <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbfar-scielo>. Please follow carefully the guidelines for authors. Submissions by e-mail will not be accepted.

7.3 Important: All authors, with their respective email addresses, should be entered into the system.

7.4 The qualification of the manuscript will be certified by at least two referees indicated by the Editorial Board.

8. Costs

8.1. The journal will cover the costs of publication of manuscripts that are ≤ 15 pages (including tables and figures). The journal uses recycled paper, so colour pictures are accepted and will be available only online unless the author(s) agree to cover the extra expenses for the print publication irrespective of the number of pages of the article.

8.2. Authors may be requested to provide voluntary financial support after acceptance.

9. Proofs and reprints

9.1. Galley proofs will be sent to all authors as a PDF file. Rephrasing of sentences or additions is not permitted at the page-proof stage. It is the responsibility of the corresponding author to ensure that all authors listed on the manuscript agree with the changes made on the proofs. Galley proofs should be returned within 5 days of receipt to ensure timely publication of the manuscript.

9.2 Before publication, the articles will be available ahead of print on the Scielo Portal. For further information, please contact:

Revista Brasileira de Farmacognosia

Professor Cid Aimbiré M. Santos, Editor

Laboratório de Farmacognosia,

Departamento de Farmácia - UFPR

Rua Prof. Lothario Meissner, 632 - Jd Botânico

80210-170, Curitiba-PR, Brasil

revista@sbfgnosia.org.br

ANEXO III – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

1. Estrutura dos originais

1.1. Cabeçalho: constituído por:

- Título do trabalho: deve ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho.

- Autor(es) por extenso, indicando a(s) instituição(ões) a(s) qual(is) pertence(m) mediante números. O autor para correspondência deve ser identificado com asterisco, fornecendo o endereço completo, incluindo o eletrónico. Estas informações devem constar em notas de rodapé.

1.2 Resumo (em português): deve apresentar a condensação do conteúdo, expondo metodologia, resultados e conclusões, não excedendo 200 palavras. Os membros da Comissão poderão auxiliar autores que não são fluentes em português.

1.3 Unitermos: devem representar o conteúdo do artigo, evitando-se os de natureza genérica e observando o limite máximo de 6(seis) unitermos.

1.4 Introdução: deve estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos no mesmo campo. Extensas revisões de literatura devem ser substituídas por referências aos trabalhos bibliográficos mais recentes, onde tais revisões tenham sido apresentadas.

1.5 Material e Métodos: a descrição dos métodos usados deve ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e repetição do trabalho. Processos e Técnicas já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, devem ser apenas referidos por citação. Estudos em humanos devem fazer referência à aprovação do Comitê de Ética correspondente.

1.6 Resultados e Discussão: deverão ser acompanhados de tabelas e material ilustrativo adequado, devendo se restringir ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados. É facultativa a apresentação desses itens em separado.

1.7 Conclusões: Quando pertinentes, devem ser fundamentadas no texto.

1.8 Resumo em inglês (ABSTRACT): deve acompanhar o conteúdo do resumo em português.

1.9 Unitermos em inglês: devem acompanhar os unitermos em português.

1.10 Agradecimentos: devem constar de parágrafos, à parte, antecedendo as referências bibliográficas.

1.11 Referências: devem ser organizadas de acordo com as normas da ABNT NBR-6023, ordenadas alfabeticamente no fim do artigo incluindo os nomes de todos os autores.

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

2. Apresentação dos originais

Os trabalhos devem ser apresentados em lauda padrão (de 30 a 36 linhas com espaço duplo). Utilizar Programa Word for Windows. Os autores devem encaminhar o trabalho acompanhado de carta assinada pelo autor de correspondência, que se responsabilizará pela transferência dos direitos à RBCF.

3. Informações adicionais

3.1 Citação bibliográfica: As citações bibliográficas devem ser apresentadas no texto pelo(s) nome(s) do(s) autor(es), com apenas a inicial em maiúsculo e seguida do ano de publicação. No caso de haver mais de três autores, citar o primeiro e acrescentar a expressão *et al.* (*em itálico*)

3.2 Ilustrações: As ilustrações (gráficos, tabelas, fórmulas químicas, equações, mapas, figuras, fotografias, etc) devem ser incluídas no texto, o mais próximo possível das respectivas citações. Mapas, figuras e fotografias devem ser, também, apresentados em arquivos separados e reproduzidas em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços) com extensão tif. e/ou bmp. No caso de não ser possível a entrega do arquivo eletrônico das figuras, os originais devem ser enviados em papel vegetal ou impressora a laser.

Ilustrações coloridas somente serão publicadas mediante pagamento pelos autores.

As tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos romanos e as figuras em algarismos arábicos, seguidos do título. As palavras TABELA e FIGURA devem aparecer em maiúsculas na apresentação no texto e na citação com apenas a inicial em maiúsculo.

3.3 Nomenclatura: pesos, medidas, nomes de plantas, animais e substâncias químicas devem estar de acordo com as regras internacionais de nomenclatura. A grafia dos nomes de fármacos deve seguir, no caso de artigos nacionais, as Denominações Comuns Brasileiras (DCB) em vigor, podendo ser mencionados uma vez (entre parênteses, com inicial maiúscula) os registrados.

Envio de manuscritos

Os trabalhos devem ser remetidos por correio eletrônico, anexando à mensagem os arquivos correspondentes.
E-mail: rbcf@edu.usp.br
Secretaria de edição:
Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences
Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas/USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 950
Caixa Postal 66083
05315-970 - São Paulo - SP - Brasil
Contato telefônico: Fone: (011) 3091.3804 FAX: (011) 3097.8627

ANEXO IV – NORMAS DA REVISTA ÁRVORE

- O conteúdo e as opiniões apresentadas nos trabalhos publicados não são de responsabilidade desta revista e não representam necessariamente as opiniões da Sociedade de Investigações Florestais (SIF), sendo o autor do artigo responsável pelo conteúdo científico do mesmo.

- Ao submeter um artigo, o(s) autor(es) deve(m) concordar(em) que seu copyright seja transferido à Sociedade de Investigações Florestais - SIF, se e quando o artigo for aceito para publicação.

Primeira Etapa (exigida para submissão do Manuscrito)

Submeter os artigos somente em formatos compatíveis com Microsoft-Word. O sistema aceita arquivos até 10MB de tamanho.

O Manuscrito deverá apresentar as seguintes características: espaço 1,5; papel A4 (210 x 297 mm), enumerando-se todas as páginas e as linhas do texto, páginas com margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5 cm; fonte Times New Roman 12; e conter no máximo 16 laudas, incluindo tabelas e figuras. Tabelas e figuras devem ser limitadas a 5 no conjunto.

Na primeira página deverá conter o título do manuscrito, o resumo e as três (3) Palavras-Chaves.

Não se menciona os nomes dos autores e o rodapé com as informações, para evitar a identificação dos mesmos pelos avaliadores.

Nos Manuscritos em português, os títulos de tabelas e figuras deverão ser escritos também em inglês; e Manuscritos em espanhol ou em inglês, os títulos de tabelas e figuras deverão ser escritos também em português. As tabelas e as figuras devem ser apresentadas ao final do texto, numeradas com algarismos arábicos consecutivos junto as legendas, e sua localização aproximada deve ser indicada no texto com uma chamada entre dois parágrafos: Entra Figura 1; Entra Tabela 3. Os títulos das figuras deverão aparecer na sua parte inferior antecédidos da palavra Figura mais o seu número de ordem. Os títulos das tabelas deverão aparecer na parte superior e antecédidos da palavra tabela seguida do seu número de ordem. Na figura, a fonte (Fonte:) deve aparecer na parte superior, na tabela, na parte inferior. As figuras deverão estar exclusivamente em tons de cinza e, no caso de coloridas, será cobrada a importância de R\$100,00/página, para versão impressa.

Forma dos manuscritos

O Manuscrito em PORTUGUÊS deverá seguir a seguinte sequência:

TÍTULO em português; RESUMO (seguido de Palavras-chave não incluindo palavras do título); TÍTULO em inglês; ABSTRACT (seguido de Keywords não incluindo palavras do título); 1. INTRODUÇÃO (incluindo revisão de literatura e o objetivo); 2. MATERIAL E MÉTODOS; 3. RESULTADOS; 4. DISCUSSÃO; 5. CONCLUSÃO; 6. AGRADECIMENTOS (se for o caso) e 7. REFERÊNCIAS (alinhadas à esquerda e somente as citadas no texto).

O manuscrito em INGLÊS deverá obedecer à seguinte sequência:

TÍTULO em inglês; ABSTRACT (seguido de Keywords não incluindo palavras do título); TÍTULO em português; RESUMO (seguido de Palavras-chave não incluindo palavras do título); 1. INTRODUCTION (incluindo revisão de literatura e o objetivo); 2. MATERIAL AND METHODS; 3. RESULTS; 4. DISCUSSION; 5. CONCLUSION; 6. ACKNOWLEDGEMENT (se for o caso) e 7. REFERENCES (alinhadas à esquerda e somente as citadas no texto).

O manuscrito em ESPANHOL deverá obedecer à seguinte sequência:

TÍTULO em espanhol; RESUMEN (seguido de Palabras-clave não incluindo palavras do título); TÍTULO do manuscrito em Português; RESUMO em Português (seguido de palavras-chave não incluindo palavras do título); 1. INTRODUCCIÓN (incluindo revisão de literatura e objetivo); 2. MATERIALES Y METODOS; 3. RESULTADOS; 4. DISCUSIÓN; 5. CONCLUSIÓN; 6. RECONOCIMIENTO (se for o caso) e 7. REFERENCIAS (alinhadas à esquerda e somente as citadas no texto).

No caso das línguas estrangeiras, será necessária a declaração de revisão lingüística de um especialista.

Os subtítulos, quando se fizerem necessários, serão escritos com letras iniciais maiúsculas, antecédidos de dois números arábicos colocados em posição de início de parágrafo.

No texto, a citação de referências bibliográficas deverá ser feita da seguinte forma: colocar o sobrenome do autor citado com apenas a primeira letra maiúscula, seguido do ano entre parênteses, quando o autor fizer parte do texto. Quando o autor não fizer parte do texto, colocar, entre parênteses, o sobrenome, em maiúsculas, seguido do ano separado por vírgula. As referências bibliográficas utilizadas deverão ser preferencialmente de periódicos nacionais ou internacionais de níveis A/B do Qualis. A Revista Árvore adota as normas vigentes da ABNT 2002 - NBR 6023.

Não se usa "et al." em itálico e o "&" deverá ser substituído pelo "e" entre os autores.

A Introdução deve ser curta, definindo o problema estudado, sintetizando sua importância e destacando as lacunas do conhecimento ("estado da arte") que serão abordadas no artigo. Os Métodos empregados a população estudada, a fonte de dados e critérios de seleção, dentre outros, devem ser descritos de forma compreensiva e completa, mas sem prolixidade. A seção de Resultados devem se limitar a descrever os resultados encontrados sem incluir interpretações/comparações. O texto deve complementar e não repetir o que está descrito em tabelas e figuras. A Discussão deve começar apreciando as limitações do estudo (quando for o caso), seguida da comparação com a literatura e da interpretação dos autores, extraindo as conclusões e indicando os caminhos para novas pesquisas. O resumo deverá ser do tipo informativo, expondo os pontos relevantes do texto relacionados com os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões, devendo ser compostos de uma sequência corrente de frases e conter, no máximo, 250 palavras. (ABNT-6028).

Para submeter um Manuscrito à Revista, o(s) autor(es) deverá(ão) entrar no site <www.revistaarvore.ufv.br> e clicar no link "**Submissão de Artigos**".

Copyright

Ao submeter um artigo, o(s) autor(es) deve(m) concordar(em) que seu copyright seja transferido à Sociedade de Investigações Florestais - SIF, se e quando o artigo for aceito para publicação.

O conteúdo e as opiniões apresentadas nos trabalhos publicados não são de responsabilidade desta revista e não representam necessariamente as opiniões da Sociedade de Investigações Florestais (SIF), sendo o autor do artigo responsável pelo conteúdo científico do mesmo.