

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE**

VALÉRIA DE JESUS MENEZES DE MENEZES

**PADRONIZAÇÃO DE EXTRATIVOS BIOATIVOS E
IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS DE *Jacaranda decurrens*
Cham.**

**SÃO LUIS
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE**

VALÉRIA DE JESUS MENEZES DE MENEZES

**PADRONIZAÇÃO DE EXTRATIVOS BIOATIVOS E
IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS DE *Jacaranda decurrens*
Cham.**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, área de concentração Química e Farmacologia de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro
Co- Orientadora: Profa. Dra. Flavia Maria Mendonça do Amaral

**SÃO LUIS
2013**

Menezes, Valéria de Jesus Menezes de.

Padronização de extrativos bioativos e identificação de compostos de *Jacaranda decurrens* Cham. / Valéria de Jesus Menezes de Menezes. _ São Luís, 2013.

94 f.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Maria Nilce de Sousa Ribeiro.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Maranhão, 2013.

1. Botânica – Bignoniaceae. 2. *Jacaranda decurrens*. 3. Farmacologia – Análise. I. Título.

CDU 582.951.8:615.07(812.1)

VALÉRIA DE JESUS MENEZES DE MENEZES

**PADRONIZAÇÃO DE EXTRATIVOS BIOATIVOS E IDENTIFICAÇÃO DE
COMPOSTOS DE *Jacaranda decurrens* Cham.**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, área de concentração Química e Farmacologia de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Data da Aprovação: ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Profa. Dra. Flavia Maria Mendonça do Amaral (Co-orientadora)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Richard Pereira Dutra
Secretaria de Estado da Educação - SEEDUC

Profa. Dra. Marilene Oliveira da Rocha Borges
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Dedico este trabalho a minha família que sempre me apoiou durante todo esse tempo, principalmente aos meus filhos pelo amor, carinho e compreensão durante todos os momentos em que fui ausente na vida deles.

AGRADECIMENTOS

À DEUS por tudo o que tens me dado ao longo da vida.

A Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro por sua preciosa orientação, por sua ajuda e incentivo na realização das pesquisas, por ter me proporcionado conhecer pessoas maravilhosas e por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa.

A Profa. Dra. Flávia Maria Mendonça do Amaral, por ter me acolhido no momento em que eu almejava o ingresso em um Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente por ter possibilitado esta etapa da minha formação acadêmica. Em especial ao Seu Simeão, Carol e Profa. Márta pelo apoio e incentivo constante.

A todos os professores pela oportunidade e ensinamentos.

Aos meus amigos do mestrado. Em especial a Wellyson Firmo, a Gizelli Santos e a Carlos Eduardo pela amizade, atenção, ajuda e incentivo em todas as fases desse processo.

Aos membros do laboratório de Farmacognosia, Marisa, Richard, Bruno, Josiane, Vanessa, Carol, Alyne, Débora, James, Wilany, Ludmilla. Em especial a Mayara por ter compartilhado suas experiências e me acompanhado durante esse trajeto. Nunca irei esquecê-los.

A toda minha família, em especial a minha mãe, Valdecy Menezes; ao meu pai Menezes; aos meus filhos, Thajison Robert e Thajilla Vitória; a minha irmã, Viviane Menezes, e ao meu irmão Marcelo Menezes por sempre acreditarem em mim. Sem o apoio de vocês jamais teria conseguido concretizar essa etapa.

A duas pessoas maravilhosas que Deus colocou em minha vida, Vanessa Silva e Maria das Graças Silva, por terem cuidado da minha filha todos os momentos em que estive ausente para me dedicar à realização desse trabalho.

A Direção da Faculdade de Educação de Bacabal – FEBAC, por terem me possibilitado esse afastamento para poder me dedicar às pesquisas.

A funcionária da FEBAC, Rosilene, por oferecer seu ombro amigo nas horas de angústias.

*Deus não escolhe os preparados, prepara os escolhidos.
Fazer ou não fazer algo só depende da nossa vontade e da
nossa perseverança.*

Albert Einstein

RESUMO

Jacaranda decurrens Cham. (Bignoniaceae) é uma planta endêmica do Cerrado, conhecida como carobinha, caroba ou caroba-do-campo. A espécie é empregada popularmente no tratamento de amebíase, giardíase, inflamações, infecções ginecológicas, afecções cutâneas, no combate a diarreia e como depurativa do sangue, sendo comprovadas as ações giardicida, bactericida, antifúngica, citotóxica e larvicida, com a presença de compostos fenólicos, triterpenos e iridoides glicosilados. O presente trabalho teve como objetivo padronizar extrativos de folhas de *Jacaranda decurrens* com potencial giardicida e antioxidante, como parâmetros de certificação de qualidade. As folhas da espécie foram coletadas no município de São Raimundo das Mangabeiras, estado do Maranhão, Brasil e submetidas a diferentes processos extrativos: maceração, percolação e Soxhlet com etanol 70% (relação hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12). Foi realizada partição líquido/líquido do percolado 1:10 em hexano, diclorometano e acetato de etila para a obtenção das frações. Os extratos e frações foram submetidos à abordagem fitoquímica; os teores de polifenóis foram determinados com reagente de Folin Ciocalteu; os flavonoides totais com cloreto de alumínio; a atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH e a avaliação da atividade giardicida “*in vitro*” de citotoxicidade pelo método colorimétrico direto e indireto, empregando cepas axênicas de *Giardia lamblia*, linhagem Portland-1 (ATCC30888). Os perfis dos extrativos foram obtidos por espectrometria de UV/Vis, CLAE/UV/Vis e LC/MS. Os resultados demonstraram presença de substâncias fenólicas, triterpênicas e ausência de cumarinas, esteroides e alcaloides. Os teores de polifenóis totais nos extratos e frações variaram de 13,10 a 80,41% e os de flavonoides, 1,74 a 5,15%. Os extratos e frações apresentaram atividades antioxidantes entre os intervalos de CE₅₀ 26,39 a 339,73 µg/mL. Os extratos (M110, P108 e S112) submetidos à avaliação da atividade giardicida demonstraram atividade inibitória sobre os trofozoítos de *Giardia lamblia*, sendo os valores encontrados entre 17,10 a 18,92 µg/ml. As análises dos espectros de UV demonstraram semelhanças com absorções máximas entre 230 a 300 nm, indicando a presença de flavonoides. Analisando os cromatogramas, atribuiu-se ao método de Percolação na relação de 1:10 o melhor extrativo para *Jacaranda decurrens*. Pelo cromatograma obtido por CLAE/UV/Vis no comprimento de onda de 254 nm, identificou-se que na fração hexânica houve um pico coincidente com o padrão do ácido oleanólico com o mesmo tempo de retenção (108.403), sugerindo que esse ácido seja um dos constituintes químicos da planta. Com o espectrômetro de massas, identificou-se ácido cafeoil, rutina,

quercetina-pentosídeo-hexosídeo, quercetina-3- β -glicosídeo, ácido arjunólico e ácido 2 α -hidroxioleanólico. Concluimos que os triterpenos (ácido oleanólico) e os flavonoides são os prováveis responsáveis pela ação giardicida e antioxidante.

Palavras-chave: Antioxidante. Giardicida. *Jacaranda decurrens*. Padronização. Perfil cromatográfico.

ABSTRACT

Jacaranda decurrens Cham. (Bignoniaceae) is a plant native to the Cerrado, popularly known as carobinha, carob or carob-of-field. Biological studies have shown giardicidal activity, antibacterial, antifungal, cytotoxic and larvicidal, being referred to the popular use in combating diarrhea, amebiasis, giardiasis, inflammations, gynecological infections, and skin disorders such as purifying the blood, indicating the presence of phenolic compounds, triterpenes and iridoid glycosides. The present study aimed to standardize extractives of leaves of *Jacaranda decurrens* giardicidal antioxidant potential and proven in previous studies, as parameters of quality certification. The leaves of this species were collected in São Raimundo Mangabeiras, state of Maranhão, Brazil and submitted to different extractive processes: maceration, percolation and Soxhlet with ethanol 70% (compared hydromodule 1:8, 1:10 and 1:12). Partition was held liquid / liquid leachate 1:10 hexane, dichloromethane and ethyl acetate to obtain the fractions. The extracts and fractions were subjected to phytochemical approach; levels of polyphenols were determined using the Folin Ciocalteu, total flavonoids with aluminum chloride, the antioxidant activity was performed by DPPH and evaluation giardicidal activity "in vitro" cytotoxicity by colorimetric method direct and indirect emoregando axenic strains of *Giardia lamblia* strain Portland-1 (ATCC30888). The profiles of the extractives were obtained by spectrometry UV / Vis, HPLC / UV / Vis and LC / MS. The results showed the presence of phenolic substances, and lack of triterpenoid steroids and alkaloids. The content of total polyphenols in the extracts and fractions ranged from 13.10 to 80.41% and flavonoids, 1.74 to 5.15%. The extracts and fractions showed antioxidant activities between EC50 ranges from 26.39 to 339.73 mg / mL. Extracts (M110, P108 and S112) were assessed giardicidal activity showed inhibitory activity against trophozoites of *Giardia lamblia*, and the values found between 17.10 to 18.92 ug / ml. The analysis of UV spectra showed similarities with maximum absorptions between 230 nm to 300 nm, indicating the presence of flavonoids. Analyzing the chromatograms, attributed to the percolation method in respect of 1:10 for the best extraction *Jacaranda decurrens*. Chromatogram obtained by HPLC / UV / Vis at a wavelength of 254 nm, it was found that the hexane fraction there was a peak coincident with the pattern of oleanolic acid with the same retention time (108.403), suggesting that this acid is one the chemical constituents of the plant. With mass spectrometry, we identified rutin, quercetin-pentosídeo-hexosídeo, quercetin-3- β -glucoside, arjunolic acid and acid-2 α hidroxioleanólico. We conclude that the

triterpenes (oleanolic acid) and flavonoids are likely responsible for giardicidal and antioxidant action.

Keywords: Antioxidant. Giardicidal activity. *Jacaranda decurrens*. Standardization. Chromatographic profile.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Jacaranda decurrens</i> Cham., A-B Aspectos gerais da planta, C – Folhas, D – Fruto.....	27
--	----

CAPÍTULO I

Figura 1. Rendimento (%) dos extratos hidroalcoólicos das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtidos por maceração, percolação e soxhlet com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12.	52
Figura 2. Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtidos por Maceração, Percolação e em Soxhlet em diferentes relações hidromódulo.....	52
Figura 3. Perfil cromatográfico dos extratos hidroalcoólicos das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm sobrepostos de acordo com o processo extrativo.....	53
Figura 4. Perfil cromatográfico dos extratos hidroalcoólicos das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 350 nm sobrepostos de acordo com o processo extrativo.....	54

CAPÍTULO II

Figura 1. Atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtido por Percolação na relação hidromódulo 1:10 e frações hexânica, diclorometânica e acetato de etila.....	71
Figura 2. Perfil cromatográfico do extrato obtido por percolação na relação de hidromódulo 1:10 (P110) de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).....	73
Figura 3. Perfil cromatográfico da fração hexânica (HP110) do percolado das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).....	74

Figura 4. Perfil cromatográfico da fração diclorometânica (DP110) do percolado das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).....	75
Figura 5. Perfil cromatográfico da fração acetato de etila do percolado das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).	76
Figura 6. Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico obtido por percolação na relação hidromódulo 1:10 (P110) das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> . Os números indicam os compostos identificados.	77
Figura 7. Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico obtido por percolação na relação hidromódulo 1:10 (P110) das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> . Os números indicam os compostos identificados.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies botânicas, uso popular, substâncias e classes de compostos de espécies de <i>Jacaranda</i>	24
---	----

CAPÍTULO I

Tabela 1 – Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroalcoólicos das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtidos por maceração, percolação e extração por Soxhlet com diferentes relações de hidromódulo.....	55
---	----

Tabela 2 – Teores de polifenóis e flavonoides totais nos extratos hidroalcoólicos das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtidos por maceração, percolação e extração por Soxhlet com diferentes relações de hidromódulo.....	55
--	----

Tabela 3 - Atividade <i>in vitro</i> contra trofozoítos de <i>Giardia lamblia</i> (cepa Portland-1 ATCC 30888) expressos e, percentuais de CI ₅₀ dos extratos hidroalcoólicos de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtidos por maceração, percolação e Soxhlet em diferentes relações de hidromódulo.....	56
--	----

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos no extrato hidroalcoólico das folhas de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham. obtido por percolação na relação hidromódulo de 1:10 (P110) e frações hexânica (HP110), diclorometânica (DP110) e acetato de etila (AP110).....	72
---	----

Tabela 2 - Teores de polifenóis e flavonoides totais no extrato hidroalcoólico e frações de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham.....	72
---	----

Tabela 3 - Compostos identificados no extrato hidroalcoólico de <i>Jacaranda decurrens</i> obtido por percolação na relação de hidromódulo 1:10 (P110) por CLAE-DAD-ESI-EM/EM.....	78
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
AP110	Fração acetato de etila
CE ₅₀	Concentração efetiva
CI ₅₀	Concentração necessária para inibir 50 % das cepas axênicas de <i>Giardia lamblia</i>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a Espectrometria de massa
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DP110	Fração diclorometânica
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a Espectrometria de massa
HP110	Fração hexânica
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
M108	Macerado na relação de hidromódulo (1:8)
M110	Macerado na relação de hidromódulo (1:10)
M112	Macerado na relação de hidromódulo (1:12)
P108	Percolado na relação de hidromódulo (1:8)
P110	Percolado na relação de hidromódulo (1:10)
P112	Percolado na relação de hidromódulo (1:10)
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse do Sistema Único de Saúde
S108	Extrato obtido por Soxhlet na relação de hidromódulo (1:8)
S110	Extrato obtido por Soxhlet na relação de hidromódulo (1:10)
S112	Extrato obtido por Soxhlet na relação de hidromódulo (1:10)
Tr	Tempo de retenção
TYI-S-33	Meio Trypticase Yeast Extract Iron Serum
UV-Vis	Ultravioleta - Visível
v/v	Relação volume/volume
λ_{\max}	Comprimento máximo de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 Gênero Jacaranda.....	19
2.2 <i>Jacaranda decurrens</i> Cham.....	26
3 OBJETIVO.....	29
3.1 Objetivo Geral.....	29
3.2 Objetivos Específicos.....	29
4 RESULTADOS.....	30
4.1 Capítulo I – Padronização de extrativos bioativos de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham.....	30
Resumo.....	31
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Materiais e Métodos.....	36
Resultados e Discussão.....	40
Conclusão.....	45
Agradecimentos.....	46
Contribuição dos autores.....	46
Referências.....	47
4.2 Capítulo II – Marcador químico de <i>Jacaranda decurrens</i> Cham.....	57
Resumo.....	58
Abstract.....	59
Introdução	60
Materiais e Métodos.....	61
Resultados e Discussão.....	64
Conclusão.....	67
Referências	67
Anexo.....	71
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS	
ANEXO	

1 INTRODUÇÃO

A utilização de recursos naturais, particularmente os de origem vegetal, para tratamento, prevenção e cura de doenças, é uma das práticas milenar protagonizado pelo homem (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). O uso de plantas ditas medicinais por populações rurais é norteado por diversos conhecimentos acumulados proveniente da relação direta dos seus membros com o meio ambiente e da propagação de informações sob o uso tradicional transmitido ao longo das gerações, que acreditam que as plantas são isentas ou possuem poucos efeitos adversos e que agem em casos onde a medicina tradicional não promoveu a cura (CASTELLUCCI et al., 2000).

No entanto, o uso terapêutico popular de plantas é considerado como alternativa para o tratamento de enfermidades e manutenção da vida sem comprovação científica de sua eficácia e segurança, por isso até hoje, mesmo em cidades grandes, plantas ditas medicinais são comercializadas em feiras livres e mercados municipais (MACIEL et al., 2002; AMOROZO, 2002; OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007; SOUSA et al., 2008).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas consideradas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação dos benefícios terapêuticos dos vegetais, sempre prescritos, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos (MACIEL et al., 2002).

Dessa forma, usuários de plantas com fins terapêuticos de todo o mundo, mantém a prática do consumo, tornando válidas essas informações que foram se acumulando durante séculos (MACIEL et al., 2002). Com a elevada densidade populacional, o aumento na incidência de doenças existentes e inúmeras formas de patógenos que debelam a saúde e o bem-estar do ser humano, tornam-se evidentes a dependência aos efeitos terapêuticos dessas plantas (BARRETO et al., 2007).

Com os avanços científicos, essa prática milenar cedeu espaço aos medicamentos sintéticos, porém os efeitos adversos juntamente com o alto custo para sua aquisição favoreceram o retorno do exercício da fitoterapia (CASALI; OLIVEIRA; AMARAL, 2001; BARRETO et al., 2007).

No Brasil, desde a década de 80, foi enfatizado o uso de fitoterápicos na atenção básica no sistema de saúde pública visando à melhoria dos serviços oferecidos, aumento na resolutividade assim como o acréscimo de outras abordagens terapêuticas na expectativa de melhoria da qualidade de vida (BATISTA; VALENÇA, 2012).

De maneira indireta, este tipo de cultura desperta o interesse de pesquisadores de diversas áreas, como por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial (MACIEL et al., 2002).

A garantia do uso seguro e eficaz de fitoterápicos requer análises físico-químicas e microbiológicas tanto da matérias-prima quanto do produto acabado, como etapa preliminar para alcançar um padrão de qualidade necessário a um medicamento (BARA et al., 2006).

Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução RDC 89/2004 (BRASIL, 2004), tenha publicado uma lista de fitoterápicos de registro simplificado tentando estabelecer padronização de marcadores químicos para diversas plantas e limite diário para seu uso, demonstrando a necessidade de estudos que visem padronizar extrações de plantas que tenham potencial fitoterápico.

Segundo Migliato et al. (2011), o estudo de padronização devem priorizar a avaliação de extrativos vegetais por meio de planejamento fatorial, enfatizando a definição das variáveis que influenciam na extração, sendo esta o alicerce, pois é a partir dela que as substâncias de interesse são separadas.

A concentração dos metabólitos secundários sofre influência de diversos fatores, dentre eles: sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento do vegetal, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes que por afetarem o conteúdo final desses metabólitos em plantas medicinais incidem diretamente no valor terapêutico do preparado fitoterápico. Sendo assim, de suma importância o controle de qualidade e a padronização de fitoterápicos para obtenção de produtos uniformes e com propriedades terapêuticas de elevada qualidade (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

No intuito de garantir à população brasileira, o uso racional e seguro desse recurso terapêutico, é que o governo federal, atendendo às diretrizes da Organização Mundial de Saúde, lançou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos (WHO, 2003).

A dificuldade que envolve a Fitoterapia é o estímulo na utilização desse recurso natural sem critérios. Sendo assim, os medicamentos fitoterápicos devem ser elaborados com extratos padronizados e a sua avaliação tem que superar a análise da constituição química da planta para poder alcançar a dose capaz de alcançar o efeito terapêutico (SILVA, 2006; ALMEIDA; SCHEFFER, 2012).

Jacaranda decurrens Cham., conhecida popularmente como caroba, carobinha, caroba-do-campo, é utilizada como estimulante do sistema nervoso (MAURO, 2007), infecções e reumatismo (VILA VERDE et al., 2003; VIEIRA et al., 2008), depurativo do sangue, cicatrizante de feridas uterinas e dos ovários (SANGALLI et al., 2002; SANGALLI et al., 2004; SANGALLI et al., 2012; VIEIRA et al., 2008), afecções cutâneas e úlceras externas (RODRIGUES; CARVALHO, 2001), no tratamento de giardíase (AMARAL, 2007), amebíase, infecções ginecológicas e como anti-sifilítico (CARRIM et al., 2006; VIEIRA et al., 2008).

A literatura evidencia a ação antioxidante de *Jacaranda decurrens* e de seus constituintes químicos, principalmente compostos polifenólicos e triterpênicos, indicando potencial para o desenvolvimento de novos agentes antioxidantes (CARVALHO et al., 2009).

Amaral (2007) demonstrou que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Jacaranda decurrens* tem ação giardicida.

Considerando o uso popular de *Jacaranda decurrens* Cham., para diarreia, os estudos científicos como giardicida e que a mesma integra a lista Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil, o presente trabalho objetiva padronizar extratos das folhas de *Jacaranda decurrens* para a produção de fitoterápicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Jacaranda*

O gênero *Jacaranda* contém aproximadamente 49 espécies espalhadas ao redor do mundo, com predominância na América Central, Sul e no Caribe. Em sua maioria as espécies são árvores, variando de 1 a 45 m de altura, porém são encontradas também arbustos e subarbustos (GAUCHET; SCHUNLY, 2009). Diversas espécies de *Jacaranda* foram objeto de estudo devido ao seu uso na prática popular.

Jacaranda caroba (Vell.) DC. tem como sinonímia *Bignonia caroba* Vell, *Jacaranda clauseniacia* Casaretto, *Jacaranda mendoncaeii* Bureau & K.Schum, conhecida popularmente caroba, carobinha, camboatá, camboatá-pequeno, camboté, caroba-do-campo, caroba-miúda, caroba-do-carrasco (BACCHI, 1986; CESAR et al., 2004).

Trata-se de uma árvore que pode atingir até 20 m de altura, com caule ereto de casca fina com escamas; folhas compostas com até 20 cm de comprimento e folíolos oblongolanceolados, coriáceos e glabros; flores tubulosas, roxas, dispostas em panículas; fruto capsular. A espécie é encontrada na região da Mata Atlântica, usada para ornamentação, possui crescimento rápido e é de fácil cultivo. Sua madeira é aproveitada na carvoaria, por ser mole e porosa (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

O banho com as folhas dessa planta é indicado para infecções; a infusão de suas folhas atua como anti-sifilítico e depurativo do sangue (DI STASI, HIRUMA-LIMA, 2002); o macerado das folhas em aguardente é usado como cicatrizante e no tratamento de úlceras (BACCHI, 1986). Sua casca é amarga e possui propriedades diuréticas, adstringente (AGRA et al., 2007, 2008). Também há relatos na literatura que associam essa planta no tratamento de feridas, dermatoses, frialdade e boubas (BAIDA; CHAMORRO, 2004).

Estudos químicos de Braga et al. (2003) detectaram a presença de iridoides, triterpenos, esteroides e ausência de cumarinas e alcalóides, e, ainda, isolaram os triterpenos ácido ursólico, ácido oleanólico e α -amirina. Guerreiro et al. (2006) isolaram ácido ursólico do extrato das raízes da *J. caroba* e demonstraram a ação anti-inflamatória, inibidora do HIV-1 e atividade antitumoral do ácido.

Jacaranda puberula Cham. é uma árvore caducifólia de porte pequeno com altura entre 2-8 m, com tronco de 30-40 cm de diâmetro com casca acinzentada, áspera e fissurada longitudinalmente (DARABAS et al., 2009). Folhas compostas bipinadas de 20-25 cm de comprimento, folíolos glabros, de até 6 cm de comprimento. Inflorescência tirso terminal;

flores tubulosas, pentâmeras, hermafroditas, de até 7 cm de comprimento; fruto do tipo capsular, elíptico-oblongo, lenhoso; sementes aladas e hialinas. Geralmente encontrado nas regiões que se estendem do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul, na mata pluvial da encosta atlântica. Conhecida popularmente como carobinha, caroba, carobeira, caroba-rocha, carobamauída, caroba pequena (LORENZI, 2001; MARTINS, 2008).

O chá das folhas de *J. puberula* é utilizado na medicina popular como depurativa do sangue, enquanto que a infusão das folhas é recomendada em casos de intoxicação pelo veneno da roça (MARTINS et al., 2008; SANTOS et al., 2010). As folhas são usadas para lavagem externa de feridas, alergias, frieira, doença de pele, sarna, enquanto que na forma de xarope é indicada para tosse e bronquite alérgica (TOMAZI; ROSSATO, 2008). Segundo Giraldi e Hanazaki (2010), essa espécie também é usada no tratamento de vermes, fungos, sarampo, malária, eczema, furúnculo, dor lateral direita no abdômen, dor no corpo, enxaqueca, inflamação, recaída de mulher grávida, fraqueza, ressaca, alergia, calor de figo, hemorróidas, amarelão (doença canina), dor de dente, antibiótico e febre, além de ser considerado cicatrizante e energético.

O extrato etanólico das folhas da *J. puberula* possui atividade antioxidante (SANTOS et al., 2010). Costa-Campos et al. (2012) descrevem sobre a ação antibacteriana e Passero et al. (2007) relatam a ação antiprotozoária contra cepas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Santos et al. (2012) identificaram através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GS-MS), triterpenos do tipo ácido ursólico e ácido oleanólico, enquanto que Martins et al. (2008) evidenciaram a presença de quinoides e flavonoides.

Jacaranda brasiliana (Lam.) Pers. conhecida popularmente como boca-de-sapo, jacarandá-boca-de-sapo ou caroba do cerrado. Uma árvore de 4 a 10 m de altura e 20 a 30 cm de diâmetro, folhas bipinadas, inflorescência em panículas abertas, frutos com margens onduladas. Floresce na coloração roxa nos meses de agosto-setembro e a maturação dos frutos que acontece de julho e agosto (LORENZI, 1998; MUNDIM, 2004). É decídua e heliófila, característica dos cerrados e campos cerrados do Brasil Central (LORENZI, 2002), podendo ocorrer também em florestas de galeria (GENTRY, 1992).

Existem relatos na literatura que essa planta é usada no tratamento de afecções, feridas e úlceras, erisipelas, herpes labial e verrugas (MACEDO; FERREIRA, 2005).

Jacaranda cuspidifolia Mart. conhecida popularmente como caroba, jacarandá-de-minas, jacarandá, caiué, jacarandá-branco, caroba-branca, pau-de-colher, pau-santo, carobeira, mulher-pobre e jacarandá-preto. É uma planta decídua, heliófila, pioneira, seletiva, xerófila,

característica de encostas rochosas da floresta latifoliada e transição para o cerrado, pode atingir 5 a 15 m de altura com diâmetros de 30 a 40 cm (GENTRY, 1992; COSTA, 2011). A árvore é extremamente ornamental, principalmente quando em flor; pode ser empregada com sucesso no paisagismo em geral e ser aproveitada para plantio em áreas degradadas juntamente com outras espécies, visando à recomposição arbórea de áreas de preservação permanente. Tem ocorrência nos Estados do Paraná, principalmente na floresta latifoliada semidecídua da bacia do Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, São Paulo Minas Gerais e Goiás (COSTA, 2011).

A madeira desta árvore é própria para marcenaria, útil para a confecção de brinquedos, caixas, instrumentos musicais, carpintaria e móveis em geral. Sua raiz é utilizada no tratamento de sarna, é depurativa do sangue e excelente contra disenteria (POTT; POTT, 1996; ARRUDA et al., 2010).

A madeira, cascas e folhas têm ação antitérmica, enquanto que as folhas têm atuação antibacteriana e inseticida (ARRUDA et al., 2009).

Estudos fitoquímicos demonstraram presença de taninos, flavonoides, terpenos, cumarinas e esteroides nesse vegetal (ARRUDA et al., 2009).

Jacaranda copaia (Aubl.) D. Don. também conhecida como caroba, encontra-se distribuída na região Amazônica, em matas com terra firme. Árvore com crescimento rápido podendo atingir de 20 – 30 m de altura com diâmetro de até 100 cm. Possuem flores azul-violáceas (LORENZI, 1992; CAMPOS; UCHIDA, 2002; BARBOSA et al., 2003).

Sua madeira é usada na confecção de molduras, divisórias, móveis, caixas, engradados e compensados (BARBOSA et al, 2003). Devido ao seu rápido crescimento, acredita-se que essa planta tem um bom potencial para reflorestamento na região amazônica.

Taylor et al. (2006) verificaram ação antitumoral e antiprotease na espécie, enquanto que Sauvain et al. (1993) identificaram ácido ursólico e jacaranona.

Jacaranda decurrens symmetrifoliata Farias & Proença, conhecida como carobinha ou carobinha-do-campo, é um xilopodífero. Ocorre na região sudoeste de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais na vegetação de Cerrado Campo Limpo. Possuem lenticelas esbranquiçadas nos ramos, folíolos simétricos e não decorrentes, cápsula oblonga-obovada (FARIAS; PROENÇA, 2003; SANGALLI, 2008).

O chá das raízes é usado como depurativo do sangue e cicatrizante de feridas uterinas e dos ovários (SANGALLI et al., 2002; SANGALLI et al., 2004; SANGALLI, 2008; SANGALLI et al., 2012).

Estudos químicos revelam que as raízes e folhas dessa espécie são fontes ricas em antioxidantes, sendo que os teores de flavonoides das folhas são superiores aos das raízes e o percentual de fenóis nas folhas e raízes são similares (SANGALLI et al., 2011).

Jacaranda mimosifolia D. Don também conhecida como jacarandá-mimoso, é muito usada na ornamentação da América tropical e sub-tropical ao norte até o México, na parte sul dos Estados Unidos e Antilhas. A arborização com essa espécie é frequente na região sul do Brasil (SOCOLOWSKI; TAKAKI, 2004). Ocorre ainda no noroeste da Argentina e no nordeste da Bolívia e do Paraguai. Chegam a atingir 15 m de altura (GENTRY, 1992). Possuem folhas bicompostas, paripinadas, sendo que os folíolos são imparipinados. A lâmina foliar dos foliólulos é oblonga e a do último foliólulo é falciforme. As flores são hermafroditas, hipóginas, cíclicas, zigomorfas, diclamídeas, com cálice gamossépalo e corolagamopétala, pedunculadas, com cálice de 5 sépalas e corola de 5 pétalas. O androceu é constituído de 4 estames e 1 estaminódio piloso e maior que os demais (COSTA et al., 2011).

Gouveia (2008) relata o uso de raízes como hipotensor, sendo também usado no tratamento de doenças infecciosas e como depurativo do sangue (GACHET; SCHUNLY, 2009).

Dentre as substâncias químicas isoladas e identificadas nessa espécie, tem-se a lupenona, ácido ursólico, ácido oleanólico (PRAKASK; GARG, 1980), hidroquinona (SAUVAIN et al., 1993); escutelareína (SANKARA-SUBRAMAIAN et al., 1972), escutelareína-7-glicuronídeo, isoquercitrina, isovitexina, apigenina-7-O- β -D-glicuronopiranosídeo, luteolina-7-O- β -D-glicopiranosídeo, escutelareína-7-O- β -D-glicopiranosídeo-metil-éster, apigenina-7-O- β -D-glicuronopiranosídeo-metil-éster, luteolin-7-O- β -D-glicuronopiranosídeo-metil-éster (MOHARRAM; MARZOUK, 2007).

Jacaranda caucana Pittier tem essa denominação, pois foi descrita pela primeira vez em 1917 por Pittier na Colômbia. Popularmente é usada no tratamento de leishmaniose (WENIGER et al., 2001). O extrato hidroalcoólico de suas folhas apresenta efeito antitérmico e hipotensivo (NICASIO; MECKES, 2005).

Estudos demonstraram atividade do extrato metanólico dessa planta, ação antiprotozoária de cepas de *Plasmodium falciparum* (WENIGER et al., 2001), antitumoral e citotóxica (OGURA et al., 1977a) antioxidante e antileucêmica (OGURA et al., 1977b).

Foram identificados ácidos betulínicos e ácido jacarândico no extrato metanólico de folhas e caules da espécie *Jacaranda caucana* (OGURA et al., 1977a), sendo isolado e elucidado a quinona jacaranona (OGURA et al., 1977b). Ogura et al. (1977a) isolaram os

ácidos jacourâmico, jacarádico, jacarândico, acorêndico e o ácido 2 α -hidroxiursólico das folhas de *Jacaranda caucana*.

Jacaranda acutifolia Humb. & Bonpl., também conhecida como jacarandá mimoso, é uma árvore de médio porte, empregada na ornamentação e arborização devido às suas flores arroxeadas. Possui dispersão anemocórica de suas sementes aladas (ETTORI et al., 1988).

A decocção de suas folhas e cascas (ROTH; LINDORF, 2002) têm sido utilizadas no tratamento de feridas e dermatites, servindo como anti-séptico e auxiliando a cicatrização (CORREA; BERNAL, 1989).

Tem propriedades adstringente, diuréticas e anti-sifilíticas (GAUCHET; SCHUNLY, 2009).

Na Tabela 1 estão sumarizados as espécies, usos populares, classes e substâncias químicas isoladas das espécies de *Jacaranda*.

Tabela 1 – Espécies botânicas, uso popular, substâncias e classes de compostos de espécies de *Jacaranda*.

Espécie	Uso popular	Classe	Substância	Autores
<i>Jacaranda acutifolia</i> Humb. & Blompl.	Propriedades adstringentes, diuréticas, dermatites, ferimentos, distúrbios urinários e venéreos.	Flavonoides	7,2,3,4-tetraidroxiflavona-3-O-neoesperidosídeo	Ferguson; Lion, 1982
		Triterpeno	Ácido Ursólico Ácido Oleanólico	Guerreiro et al., 2006 Endringer et al., 2010
<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC.	Infecções, sífilis, depurativo do sangue, cicatrizante, ulcerações	Flavonoides	Isoramnetina-3-O-rhmanosídeo-7,40-di-O-hexosídeo Quercetina triglicosídeo Quercetina-3-O-2-pentosil-hexosídeo Quercetina-3-O-6-ramnosil-hexosídeo Campferol-3-O-6-ramnosil-hexosídeo Quercetina-3-O-hexosídeo Quercetina-3-O-galactosídeo Quercetina-3-O-glicosídeo Campferol-3-O-hexosídeo	Ferreres et al. 2013
			Triterpeno	Ácido betulínico Ácido jacarândico Ácido jacumárico Ácido 2- α -3- α -dihidroxi-12-em-oico Ácido 2- α -hidroxiursólico Ácido ursólico β sitosterol
<i>Jacaranda caucana</i> Pittier	Depuração do sangue, dermatites, reumatismo, ulcerações, constipações e doenças venéreas.	Triterpeno	Ácido ursólico	Sauvain et al., 1993
<i>Jacaranda copaia</i> (Aubl.) D. Don.	Feridas, cicatrização, resfriados, pneumonia, leishmanicida, reumatismo, repelente, purgativo.	Triterpeno	Ácido ursólico	Sauvain et al., 1993
		Quinona	Jacaranona	Sauvain et al., 1993

		Triterpeno	Ácido ursólico	Varanda et al., 1992
<i>Jacaranda decurrens</i> Cham.	Depurativo do sangue, problemas dermatológicos, reumatismo, inflamações, anti-sifilítico.	Flavonoides	Luteolina 6-hidroxi-luteolina-7-O-glicosídeo Quercetina-3-O-glicosídeo Quercetina-3-O-β-galactosídeo Quercetina-3-O-rutinosídeo	Blatt et al., 1998
		Triterpeno	Ácido ursólico Ácido oleanólico β sitosterol	Prakash; Garg, 1980
		Quinonas	Hidroquinona	Sauvain et al., 1993
<i>Jacaranda mimosifolia</i> D. Don	Doenças venéreas e depurativo do sangue.	Flavonoides	Escutelareína Escutelareína-7-glicuronídeo Isoquercitrina Isovitexina Apigenina-7-O-β-D-glicuronopiranosídeo Luteolina-7-O-β-D-glicopiranosídeo Escutelareína-7-O-β-D-glicopiranosídeo-metil-éster Apigenina-7-O-β-D-glicuronopiranosídeo-metil-éster Luteolin-7-O-β-D-glicuronopiranosídeo-metil-éster	Moharram; Marzouk, 2007
<i>Jacaranda puberula</i> Cham.	Depurativo do sangue, intoxicação, doenças de pele, bronquite, vermes, fungos	Triterpeno	Ácido oleanólico Ácido ursólico	Santos et al., 2012

Caracterização de espécies botânicas de *Jacaranda* quanto ao uso popular, substâncias, classes de compostos e os autores responsáveis pela identificação.

2.2 *Jacaranda decurrens* Cham.

Jacaranda decurrens Cham. tem como sinonímia *Jacaranda decurrens* var. *glabrata* Hassl., *Jacaranda pteroides* Silva Manso, *Jacaranda robertii* S. Moore, (Figura 1) também chamada de caroba, carobinha e carobinha-do-campo, é uma espécie endêmica do Cerrado Brasileiro, encontrada predominantemente nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão e São Paulo (VARANDA et al., 1992; MAURO et al., 2007; ZATTA et al., 2009).

J. decurrens Cham. é um subarbusto campestre de rizoma espesso ou tronco basal curto emitindo vários ramos caulinares que possuem pêlos quando jovens e os perdem na maturidade. Suas folhas compostas opostas cruzadas, bipinadas, curto-pecioladas, com 8-9 ou mais jugos folíolos de segunda ordem frequentemente alternos, lineares, na parte superior não possui pêlos e embaixo piloso, com margens revolutas; inflorescência racemosa de eixos pubescentes; cálices campanulados dividido até o meio ou mais alto em lobos oblongos, pubescentes em ambas as faces; corola campanulada, cerúlea ou violácea, com 3 – 4 cm de comprimento. Frutos são octaráceos com cápsula suborbicular, ápice reto e base fina, tendo em torno de 9 centímetros de comprimento e 7 de largura. Essa espécie pode alcançar até 50 cm de altura, considerada a única espécie anã do gênero *Jacaranda* (FERRI, 1969; CARVALHO, 2007; MAURO et al., 2007).

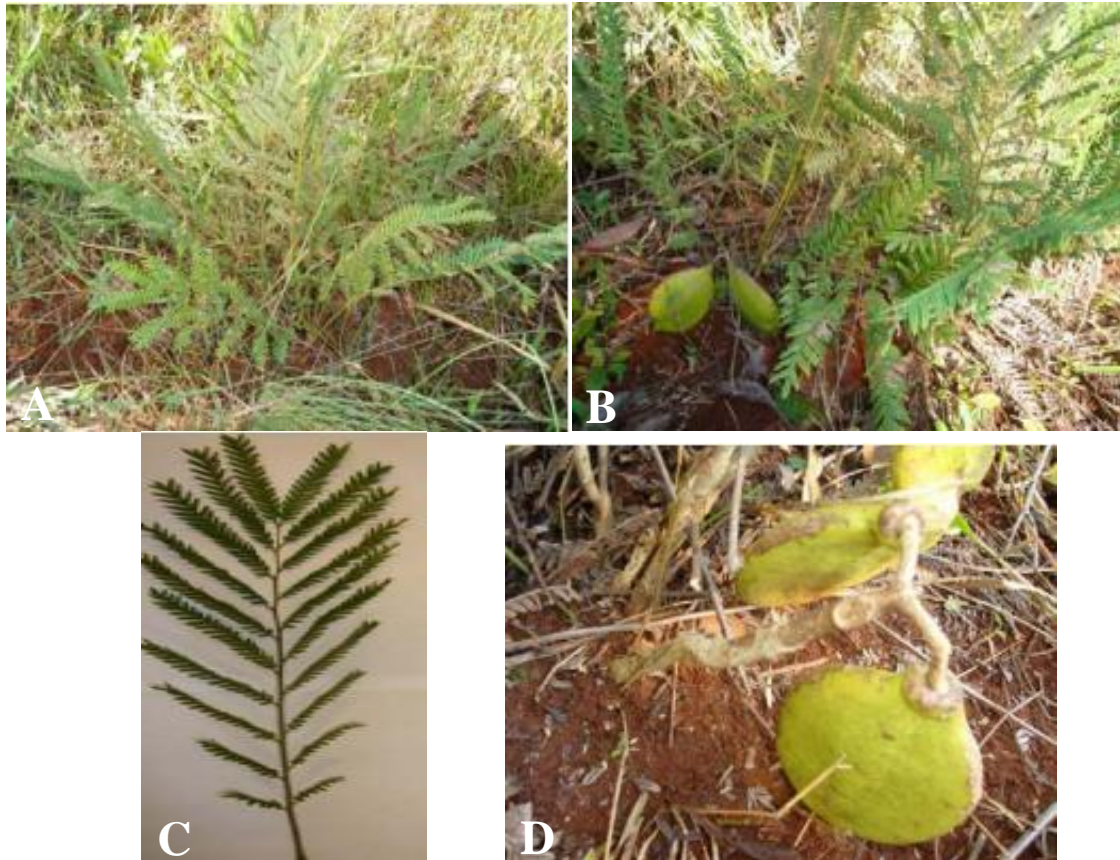


Figura 1. *Jacaranda decurrens* Cham.. A-B Aspectos gerais da planta. C – Folhas, D – Fruto.
Fonte: Zatta, 2008.

Estudos etnofarmacológicos da espécie indicam que a tintura da raiz de *J. decurrens* é empregada no tratamento de úlceras externas, afecções cutâneas e depurativo do sangue (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; TRESVENZOL et al., 2006), como estimulante do sistema nervoso (MAURO et al., 2007). Tratamento da diarreia, amebíase, giardíase (PRADO JUNIOR, 1949; AMARAL, 2007); de processos infecciosos, infecções ginecológicas (TRESVENZOL et al., 2006) e distúrbios hepáticos (DI STASI et al., 2002).

Estudos biológicos comprovaram ações giardicida (CARRIM et al., 2006; AMARAL, 2007), antifúngica, citotóxica (CARVALHO, 2007) e antioxidante (CARVALHO et al., 2009; SILVA, 2013); antimalárica (SANTOS et al., 2012); antibacteriana (ZATTA et al., 2009) e larvicida (PEREIRA, 2011).

Zatta (2008) comprovou em seus estudos que o extrato etanólico bruto da *Jacaranda decurrens* possui baixa toxicidade quando ocorre exposição aguda e que não foram observadas diferenças interespecie e entre machos e fêmeas.

Estudos químicos da espécie ainda são escassos, mas testes fitoquímicos das raízes da espécie demonstraram presença de esteroides, triterpenos, açúcares redutores, amido,

mucilagem e saponinas (OLIVEIRA et al., 2003; ZATTA et al., 2009). Mas Prado Junior (1949) já identificou glicosídeos como carobina e ácido carobico.

Varanda et al. (1992) isolaram o ácido ursólico do extrato hidroalcoólico de *J. decurrens*. Flavonoides, como luteolina, rutina, 6-OH-luteolina-7-O-glicosídeo e quercetina-3-O-galactosídeo foram isolados por Blatt et al (1998). Pereira et al (2007) isolaram da cera epicuticular das folhas, o ácido oleanólico.

J. decurrens faz parte das 71 espécies vegetais da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENISUS) (BRASIL, Portaria MS nº 2.960, 12/2008) do Ministério de Saúde, em consonância com a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos assegurando o uso sistemático da biodiversidade, com fortalecimento da cadeia e arranjos produtivos, na busca pela estruturação da Fitoterapia no Brasil.

Diante do exposto e considerando que a espécie vegetal *J. decurrens*, possui potencial para avançar na pesquisa e desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas, especialmente na obtenção de novos agentes giardicida, o presente trabalho objetiva estudos de padronização de extrativos de *Jacaranda decurrens* empregando ensaios físicos, físico-químicos e químicos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Padronizar extrativos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. com potencial giardicida e antioxidante como parâmetros de certificação de qualidade.

3.2 Objetivos Específicos

Determinar qualitativa e quantitativamente os teores de polifenóis totais e flavonoides nos extratos hidroalcoólicos de *Jacaranda decurrens*;

Avaliar a atividade giardicida dos extratos hidroalcoólicos de *Jacaranda decurrens*;

Avaliar o efeito antioxidante dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Jacaranda decurrens*;

Identificar os compostos ativos dos extratos hidroalcoólicos e frações em extrativos com melhor rendimento.

4 RESULTADOS

4.1 Capítulo I

Padronização de extrativos bioativos de *Jacaranda decurrens* Cham.

*Valéria J. M. Menezes^{*1}, Maria N. S. Ribeiro¹, Flávia M. M. Amaral¹*

Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia

(ISSN: 0102-695X)

Qualis Interdisciplinar: B1

Fator de impacto: 0.676

Padronização de extratos bioativos de *Jacaranda decurrens* Cham.

Valéria J. M. Menezes^{*1}, Maria N. S. Ribeiro¹, Flávia M. M. Amaral¹,

¹*Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão*

Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga, 65080-805. São Luís – MA, BRASIL

RESUMO: *Jacaranda decurrens* Cham., possui estudos biológicos comprovando atividade giardicida, bactericida, antifúngica, citotóxica e larvicida. O trabalho objetiva padronizar extratos de folhas de *Jacaranda decurrens* com potencial giardicida e antioxidante como parâmetros de certificação de qualidade. As folhas da espécie coletadas no município de São Raimundo das Mangabeiras, Maranhão foram extraídas por planejamento fatorial empregando como método extrativo (maceração, percolação, Soxhlet) em diferentes relações de hidromódulo (1:8, 1:10, 1:12) com etanol 70%; posteriormente foram filtradas, concentradas obtendo os extratos hidroalcoólicos que foram submetidos a abordagem fitoquímica, quantificação de polifenóis, flavonoides totais, atividade antioxidante e avaliação da atividade giardicida “*in vitro*”. Os perfis dos extratos foram obtidos por CLAE/UV/Vis. Os resultados demonstraram substâncias fenólicas, triterpenos. Os teores de polifenóis totais nos extratos variaram de 49,52 a 75,18% e os de flavonoides totais de 1,74 a 5,15%. A atividade antioxidante (DPPH) compreendeu os intervalos entre CE₅₀ 26,39 a 339,73 µg/mL. Os extratos submetidos à avaliação da atividade giardicida demonstraram atividade inibitória sobre os trofozoítos de *Giardia lamblia*, sendo os valores encontrados entre 17,10 a 18,92 µg/mL. Analisando os cromatogramas foi constatada a similaridade dos extratos, comprovando a mesma composição química. Concluímos que os triterpenos e os flavonoides são os prováveis responsáveis pela ação giardicida e antioxidante.

Palavras-chave: Antioxidante, Atividade giardicida, Padronização, Perfil cromatográfico.

ABSTRACT: *Jacaranda decurrens* Cham., have biological studies proving giardicidal, antibacterial, antifungal, cytotoxic and larvicidal activity. The work aims to standardize leaf extracts of *Jacaranda decurrens* with giardicidal and antioxidant potential as parameters of quality certification. The leaves of the species collected in São Raimundo Mangabeiras, Maranhão were extracted by factorial design employing as extraction method (maceration, percolation, Soxhlet) hydromodule in different ratios (1:8, 1:10, 1:12) with ethanol 70%; were then filtered, concentrated getting the hydroalcoholic extracts the phytochemical approach, quantification of polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity and evaluation of giardicidal activity "in vitro" were submitted. The profiles of the extracts were obtained by HPLC / UV / Vis. The results showed phenolic, triterpenes substances. The content of total polyphenols in the extracts ranged from 49.52 to 75.18% and the total flavonoid from 1.74 to 5.15%. The antioxidant activity (DPPH) understood the intervals between EC50 26.39 to 339.73 mg / mL. The extracts evaluated for giardicidal activity showed inhibitory activity against trophozoites of *Giardia lamblia*, and the values found from 17.10 to 18.92 mg / mL. Analyzing the chromatograms was observed similarity of the extracts, proving the same chemical composition. We conclude that the triterpenes and flavonoids are likely responsible for giardicidal and antioxidant action.

Keywords: Antioxidant. Giardicidal activity. Standardization. Chromatographic profile.

Introdução

O Brasil tem a maior diversidade biológica do mundo, incluindo uma flora abundante, despertando interesses de grupos científicos internacionais para o estudo, conservação e utilização correta destes recursos (Souza & Felfili, 2006).

Os recursos naturais, principalmente os de origem vegetal, usados no tratamento, prevenção e cura de doenças, são amplamente protagonizados pelo homem (Veiga Junior et al, 2005). O uso de plantas para fins terapêuticos por populações rurais é norteado por diversos conhecimentos acumulados proveniente da relação direta dos seus membros com o meio ambiente e da propagação de informações sob o uso tradicional transmitido ao longo das gerações que acreditam que as plantas são isentas ou possuem poucos efeitos adversos e que agem em casos onde a medicina tradicional não promoveu a cura (Castellucci et al, 2000).

No Brasil, embora as indústrias farmacêuticas incentivem o uso de medicamentos industrializados, a população ainda resiste e busca nas práticas complementares, a cura ou alívio de enfermidades (Badke et al, 2011). E mesmo em cidades grandes, essas plantas consideradas medicinais são comercializadas em feiras livres e mercados municipais (Maciel et al, 2002; Amorozo, 2002; Oliveira & Araújo, 2007; SOUSA et al, 2008).

Essa prática de consumo é responsável por tornar válidas informações sobre os fins terapêuticos de plantas e a disseminação da cultura popular ao longo das gerações (Maciel et al, 2002). Acredita-se que esse cuidado realizado por meio dessas plantas seja favorável à saúde humana, desde que o consumidor tenha conhecimento prévio de sua finalidade, riscos e benefícios (Badke et al, 2011).

No Brasil, desde a década de 80, foi destacado o uso de fitoterápicos na atenção básica no sistema de saúde pública visando à melhoria dos serviços oferecidos, aumento na resolutividade assim como o acréscimo de outras abordagens terapêuticas na expectativa de melhoria da qualidade de vida (Batista & Valença, 2012).

A garantia do uso seguro e eficaz de fitoterápicos requer análises físico-químicas e microbiológicas tanto da matérias-prima quanto do produto acabado, como etapa preliminar para alcançar um padrão de qualidade necessário a um medicamento (Bara et al, 2006).

Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução RDC 89/2004 (Brasil, 2004), tenha publicado uma lista de fitoterápicos de registro simplificado tentando estabelecer padronização de marcadores químicos para diversas plantas e limite diário para seu uso, nem todas as plantas medicinais foram inseridas nesta lista, demonstrando a necessidade de estudos que visem padronizar extrações de plantas que tenham potencial fitoterápico.

Segundo Migliato et al. (2011), o estudo de padronização devem priorizar a avaliação de extrativos vegetais por meio de planejamento fatorial, enfatizando a definição das variáveis que influenciam na extração, sendo esta o alicerce, pois é a partir dela que as substâncias de interesse são separadas.

A concentração dos metabólitos secundários sofre influência de diversos fatores, dentre eles: sazonalidade, ritmo circadiano, desenvolvimento do vegetal, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes que por afetarem o conteúdo final desses metabólitos em plantas medicinais incidem diretamente no valor terapêutico do preparado fitoterápico. Sendo assim, de suma importância o controle de qualidade e a padronização de fitoterápicos para obtenção de produtos uniformes e com propriedades terapêuticas de elevada qualidade (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

No intuito de garantir à população brasileira, o uso racional e seguro desse recurso terapêutico, é que o governo federal, atendendo às diretrizes da Organização Mundial de Saúde, lançou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos (OMS, 2003).

Visando incentivar pesquisas com plantas medicinais nativas e publicar essas informações, o Ministério da Saúde, publicou em fevereiro de 2009, a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS). Essa lista contém 71 espécies botânicas, consideradas prioritárias e

para as quais se tem uma maior disponibilidade de recurso na perspectiva de garantir a segurança e eficácia em sua utilização (Carvalho, 2011).

Jacaranda decurrens Cham. (Bignoniaceae), conhecida popularmente como caroba, carobinha, caroba-do-campo, é utilizada como estimulante do sistema nervoso (MAURO, 2007), infecções e reumatismo (Vila Verde et al, 2003; Vieira et al, 2008), depurativo do sangue, cicatrizante de feridas uterinas e dos ovários (Sangalli et al, 2002; Sangalli et al, 2004; Sangalli et al, 2012; Vieira et al, 2008), afecções cutâneas e úlceras externas (Rodrigues & Carvalho, 2001), no tratamento de giardíase (Amaral, 2007), amebíase, infecções ginecológicas como anti-sifilítico (Carrim et al, 2006; Vieira et al, 2008).

Carvalho (2007) constatou uma pronunciada atividade citotóxica em relação à linhagem tumoral B16 e em células normais de extratos brutos e frações de *Jacaranda decurrens*.

Na literatura encontram-se estudos demonstrando a ação antioxidante de *Jacaranda decurrens* e de seus constituintes químicos, principalmente compostos polifenólicos e triterpênicos, indicando potencial para o desenvolvimento de novos agentes antioxidantes (Carvalho et al, 2009).

Amaral (2007) evidenciou a ação giardicida do extrato hidroalcoólico das folhas de *Jacaranda decurrens*.

Considerando o uso popular de *Jacaranda decurrens* Cham. para diarreia, os estudos científicos como giardicida e antioxidante que a mesma integra a lista Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do sistema Único de Saúde do Ministério da Saúde do Brasil, o presente trabalho objetiva padronizar extratos das folhas de *Jacaranda decurrens* para a produção de fitoterápicos.

Materiais e Métodos

Material vegetal

As folhas de *Jacaranda decurrens* foram coletadas no povoado Sítio Novo pertencente ao município de São Raimundo das Mangabeiras, no estado do Maranhão, em janeiro de 2012 no início da manhã. A identificação botânica foi realizada pelo Herbário “Ático Seabra” da Universidade Federal do Maranhão, onde a exsicata está depositada sob número 1140/SLS017213.

São Raimundo das Mangabeiras é um município brasileiro do estado do Maranhão, pertencente à Mesorregião Sul Maranhense e à Microrregião da Chapada das Mangabeiras. Limita-se ao norte com o município de Mirador; ao sul, com os municípios de Balsas e Sambaíba; a leste, Sambaíba e ao oeste, com os municípios de Fortaleza dos Nogueiras e Formosa da Serra Negra. Está delimitado pelas coordenadas geográficas (7°01'19"S, 45°28'51"O) e possui uma altitude de 225m. Tem uma área de 3.522 Km², onde predomina o cerrado e uma população de aproximadamente 17.480 habitantes dos quais 12.540 constituem a população urbana e apenas 4.940 habitantes representam a população rural (IBGE,2010).

Obtenção dos extratos hidroalcoólicos de *Jacaranda decurrens*

O material vegetal foi submetido a secagem em estufa de circulação de ar, em temperatura média de 38 °C. Em seguida, foram trituradas em moinho de facas originando um pó moderadamente grosso (malha intermediária). 150 g do pó das folhas de *Jacaranda decurrens* foram submetidas separadamente a extração por planejamento fatorial empregado como variáveis o procedimento extrativo (maceração, percolação e extração em aparelho de Soxhlet) e relações de hidromódulo (1:8, 1:10 e 1:12), utilizado etanol 70% como solvente. As soluções extrativas foram filtradas separadamente, concentradas sob pressão reduzida em rotaevaporador para obtenção dos extratos

hidroalcoólicos que receberam as siglas M108, M110, M112, P108, P110, P112, S108, S110 e S112, respectivamente. Os extratos foram submetidos à determinação do rendimento.

Prospecção fitoquímica

Os extratos das folhas de *Jacaranda decurrens* (M108, M110, M112, P108, P110, P112, S108, S110 e S112) foram submetidos a métodos de avaliação qualitativo e semi-quantitativo de constituintes químicos, para as classes químicas de alcaloides (reação com Dragendorff, Hager e Mayer), flavonoides (reação de cianidina e ácido sulfúrico), cumarinas (observação sob a luz ultravioleta), esteroides e triterpenos (reação de Lieberman-Burchard) , saponina (reação de Lieberman-Buchard e o índice de espuma), resinas (reação de precipitação) , taninos e fenóis (reação de precipitação com cloreto férrico) (Matos, 2009).

Determinação dos teores de polifenóis totais dos extratos de *Jacaranda decurrens*

A concentração dos polifenólicos totais foi determinada utilizando reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35, PekinElmer) a 760nm, após 2h de reação. Os resultados foram expressos como equivalente de ácido gálico (%) (Abreu et al, 2006; Cunha, 2009).

Determinação dos teores de flavonoides totais dos extratos e frações de *Jacaranda decurrens*

A concentração de flavonoides totais foi determinada utilizando-se método fotocolorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio ($AlCl_3$) a 5%, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35, PerkinElmer) a 425 nm, após 30 min de reação. Foi empregado concentrações de quercetina (Merck) como padrão (Dutra et al, 2008).

Análise por Espectrometria de absorção na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis) dos extratos de *Jacaranda decurrens*

Os espectros de UV-Vis dos extratos foram obtidos por meio da adição de alíquota de 500 µL de cada extrato na concentração de 1mg/mL em 10 mL de metanol P.A. (Merck, grau espectrométrico) e determinados em comprimentos de onda de (λ) 200 a 600 nm utilizando espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer).

Perfil cromatográfico dos extratos de *Jacaranda decurrens* por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de UV-Vis (CLAE-UV-Vis)

Os extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de ultravioleta (CLAE-UV-Vis), em escala analítica, utilizando um sistema FinniganSurveyorAutosampler (Thermo), com coluna analítica C18 de fase reversa (250mm x 4,60 mm, 5 µm, Thermo) protegida por uma pré-coluna C-18 (4 x 3 mm, Gemini, Phenomenex). A composição da fase móvel utilizada foi: água Milli-Q (Millipore) com 0,1% de ácido fórmico (Merck) (eluente A) e acetonitrila (CLAE, Merck) (eluente C). A eluição foi realizada inicialmente com o gradiente de 95% A e 5% C, seguindo com 75% A e 25% C em 35 min, 50% A e 50% C em 60 min, 45% A e 55% C em 70 min, 40% A e 60 % C em 80 min e finalizando com 100% C em 90 min . As amostras foram diluídas em metanol e água Milli-Q com 0,1% de ácido fórmico e filtradas em filtro de Nylon (Allcrom, 0,22µm). O volume da amostra injetado foi de 25 µL, com fluxo de 1,0mL/min e detecção em 254 nm. Todas as análises foram realizadas sob as mesmas condições.

Avaliação da atividade antioxidante

Foi avaliada pelo método fotolorimétrico *in vitro* utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, Sigma) segundo Brand-Willians et al. (1995), com modificações. As amostras foram diluídas em diferentes concentrações em metanol P.A. (1 a 100µg/mL), em seguida adicionados a solução metanólica de DPPH (40µg/mL). Após 30 min de reação em

temperatura ambiente ao abrigo da luz, a absorbância de cada solução foi medida em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer) a 517nm. Padrões de quercetina foram usados como controle positivo e o DPPH em solução metanólica como controle negativo, nas mesmas condições das amostras. A percentagem de inibição foi obtida com a seguinte equação:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

Onde A_{DPPH} é a absorbância do DPPH (controle negativo) e A_{amostra} é a absorbância do radical na presença dos extratos ou dos padrões.

A atividade antioxidante das amostras foi expressa como CE_{50} (concentração efetiva), que foi definida como a concentração ($\mu\text{g/mL}$) da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais livres do DPPH.

Avaliação da atividade giardicida *in vitro*

Foram testadas três amostras obtidas do extrato hidroalcoólico de folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. , (P108, M110 e S112), sendo escolhidos três métodos extrativos diferentes e três relações de hidromódulo. O ensaio foi realizado segundo Cedillo-Rivera; Muñoz (1992), Cedillo-Rivera et al. (1992) e Calzada et al. (1999), com modificações de Amaral (2007), utilizando os extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* obtidos por planejamento fatorial (procedimento extrativo e relação de hidromódulo). As cepas axênicas utilizadas pertenciam à linhagem Portland-1 (ATCC 30888) e foram mantidas em tubos de vidro contendo o meio TYI-S-33 modificado, enriquecido com bile bovina e soro bovino inativado, mantidos em estufa a 37°C, conforme Diamond et al. (1978), Keister (1983) e De Carli (2001). As culturas foram examinadas diariamente em microscópio invertido, avaliando-se o crescimento, a atividade e o grau de aderência dos trofozoítos às paredes dos tubos. Foram feitos repiques a cada 96 horas de acordo com Rocha (2003) e Amaral (2007). A motilidade flagelar dos parasitos foi avaliada em microscópio invertido sempre antes da realização de cada experimento. Dos extratos das

folhas de *Jacaranda decurrens* (5 mg/mL) foram retiradas alíquotas de 1,5 mL das soluções estoque, colocadas em tubos eppendorf® e realizadas diluições seriadas em meio TYI-S-33 modificado, obtendo-se concentrações finais de 50,0; 20,0 e 4,0 µg/mL. O inóculo de 5×10^3 trofozoítos/mL, obtido de cultura em fase logarítmica de crescimento, foi distribuído nos tubos eppendorf® de 1,5 mL, a partir da determinação da curva de crescimento e definição das fases. As avaliações quantitativas foram realizadas pelos métodos direto (através da contagem do número total de trofozoítos vivos em câmara de Neubauer) e indireto (método colorimétrico com uso de brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólio - MTT). Os ensaios incluíram controle positivo (metronidazol) e controle negativo (meio TYI-S-33, água e/ou DMSO). Foram testados os extratos obtidos por maceração na relação hidromódulo 1:10 (M110); percolação na relação hidromódulo 1:8 (P108) e soxhlet na relação hidromódulo 1:12 (S112). Os resultados da atividade giardicida *in vitro* foram expressos como concentração inibitória que mata 50% das células (CI₅₀), calculados por regressão linear.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do Software *Graph Pad Prism*, versão 5.0, sendo o nível de significância de $p < 0,05$. Os dados da análise de variância (ANOVA), seguido do teste de *Tukey* e *Newman Keuls*, foram expressos com a média \pm desvio-padrão da média das amostras (M108, M110, M112, P108, P110, P112, S108, S110, S112) sendo os testes realizados em triplicata (n=3).

Resultados e Discussão

As análise dos rendimentos evidenciaram que dentre os métodos extrativos utilizados (maceração, percolação e soxhlet), a percolação apresentou o melhor rendimento extrativo principalmente na relação de hidromódulo 1:10 (Figura 1). As extrações realizadas por Soxhlet

mesmo em relações hidromódulos diferente (S108, S110 e S112) não apresentaram diferença significativa. Os extratos obtidos por percolação (P108, P110 e P112) obtiveram diferenciação estatística. Em relação aos macerados, foi constatado que não houve diferença estatística entre M110 e M112, porém se diferenciaram do M108.

Percolação foi o método com maiores teores de extrativos o que corrobora com os dados de Silva (2013), em estudos de padronização de *Jacaranda decurrens*.

Segundo Rodrigues et al. (2011), o cálculo do rendimento de extratos é essencial, uma vez que ele determina a quantidade de massa fresca necessária para alcançar, por um determinado processo de secagem, o teor pretendido de extrato, reduzindo assim custos e evitando perda na produção de plantas medicinais e fitoterápicos.

Dentre os aspectos fatoriais da padronização de extrato, o hidromódulo, obteve-se na percolação da droga com etanol 70% (1:10) o melhor rendimento (6,46%), enquanto que Silva (2013) em suas pesquisas conseguiu um melhor rendimento na relação de 1:8.

A definição da relação hidromódulo visa a extração eficiente evitando desperdício de solvente, uma vez que ao atingir o gradiente de concentração do meio o solvente deixa de extrair. O desafio da padronização de produto derivado de plantas é a reprodução dos efeitos terapêuticos. Para a preparação de extratos padronizados, é difícil generalizar, devido a heterogeneidade dos componentes, a diferença de polaridade e sua adaptação ao equipamento disponível. Por essa razão, solventes e sistemas de extração têm que ser adaptado a cada fitoterápico (Noriega, 2005).

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2010) a padronização de extratos deve ser realizada para ser conhecido o teor de um ou mais constituintes.

Uma solução extrativa é formada a partir da dissolução parcial de uma droga de composição heterogênea num determinado solvente. Esse solvente é capaz de carrear apenas alguns dos constituintes e diversos fatores podem interferir nesse processo extrativo, dentre eles: estado de divisão da droga, natureza e quantidade do solvente, tempo, temperatura, agitação, relação hidromódulo (droga vegetal: solvente) e outros (Fonseca, 2005).

Ao realizar o *screening* fitoquímico foi verificado em todos os extratos das folhas da espécie a predominância de fenóis e ausência de compostos das classes dos alcaloides, cumarinas, taninos hidrolisáveis, antocianidinas, antocianinas, xantonas, chalconas, leucoantocianidinas e catequinas. Taninos condensados, esteroides, flavononóis e flavononas foram encontrados, porém em concentrações diferenciadas pelo método extrativo e relação hidromódulo (Tabela 1).

Esses dados corroboram com os achados de Oliveira et al. (2003) em um estudo farmacognóstico das raízes de *Jacaranda decurrens* onde encontraram esteroides, triterpenos, saponinas. Zatta (2008) confirmou os metabólicos, ao observar presença de flavonoides, compostos fenólicos, triterpenos, resinas, saponinas e, cumarinas, sendo que esta última não foi encontrada nesse estudo. Carvalho et al. (2009) também pesquisando nas folhas dessa espécie detectaram triterpenos, flavonoides e, sendo esses últimos principalmente os glicosilados. Várias classes de compostos têm sido isolados da família Bignoniaceae como: taninos, flavonoides, ácidos graxos, açúcares, antocianinas, terpenos, lignanas, compostos fenólicos e iridoides (Mingarro et al., 2003). Assim, os resultados da prospecção fitoquímica vêm corroborar com estudos já descritos na literatura para espécies da família Bignoniaceae.

Esses metabólitos secundários além de favorecer a sobrevivência e perpetuação da espécie, são de suma importância, pois esses compostos originam muitas substâncias farmacologicamente ativa (Santos & Melo, 2004).

Os extratos obtidos por maceração e percolação apresentam valores semelhantes de polifenóis totais, com diminuição expressiva no S112 (Tabela 2). Silva (2013) também encontrou resultados similares de compostos fenólicos em seus extratos se sobressaindo a maceração na relação 1:10, enquanto que nessa pesquisa apesar do melhor valor ser na extração por maceração, a relação hidromódulo com maiores teores de compostos fenólicos foi 1:12. Em relação à quantificação dos teores de flavonoides, o extrato P112 apresentou resultado mais satisfatório, corroborando com os achados de Silva (2013).

Em relação à quantificação dos polifenóis totais dos extratos (Tabela 2), verificou-se semelhança estatística nos extratos M108, M110, M112, P112 e S108, sendo os extratos S110, S112, P108 e P110 estatisticamente semelhantes entre si.

Analisando os valores dos flavonoides dos extratos (Tabela 2), percebeu-se que os extratos M110, M112 e S108 foram semelhantes estatisticamente e os extratos M108, P108, P110, P112, S110 e S112 também não apresentaram diferença estatística.

Esses resultados comprovam que as variáveis empregadas na extração de uma planta como o método extrativo e a relação hidromódulo (solvente/droga vegetal) podem influenciar na composição química do extrato da espécie em estudo, logo, podendo alterar um efeito biológico.

Um extrato para apresentar um alto teor em sequestrar radicais livres é aquele que possui baixo valor de concentração efetiva (CE_{50}), que pode ser definida como a quantidade de antioxidante capaz de reduzir a concentração de DPPH em 50% (Arruda, 2009).

Sendo assim os menores valores de CE_{50} (Figura 2), portanto melhor atividade antioxidante foi o extrato M110 (26,39 $\mu\text{g/mL}$), seguido de M108 (55,92 $\mu\text{g/mL}$) e P110 (61,19 $\mu\text{g/mL}$). Porém, os extratos M108 e M110 não apresentaram diferença significativa. Os extratos M108, P110 e S110 estatisticamente eram semelhantes. Silva (2013) também encontrou uma maior atividade antioxidante no extrato das folhas de *J. decurrens* obtido por maceração na relação 1:10.

Compostos típicos que possuem atividade antioxidante incluem a classe de polifenóis totais (ácidos fenólicos e seus derivados e flavonoides), tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis (Roesler et al., 2007).

Os compostos polifenólicos são considerados a principal classe com ação antioxidante e dentre eles merece destaque os flavonoides, cuja atividade mais importante é a de sequestrar radicais livres (Arruda, 2009).

Os triterpenos também podem atuar como sequestradores de radicais livres tendo também ação antioxidante (Somova et al, 2002; Moon et al, 2006; Carvalho et al, 2009).

Provavelmente a atividade antioxidante dos extratos esteja relacionada à presença de compostos fenólicos, os flavonoides, como rutina, quercetina e triterpenos, como os ácidos ursólico e oleanólico. Recentemente tem sido comprovado que esses triterpenos apresentam atividade antioxidante não enzimática e que o ácido úrsólico também atua como inibidor da apoptose celular causada por hiperglicemia (Varanda et al, 1992; Pereira et al, 2007; Carvalho et al, 2009).

Os flavonoides têm despertado grande interesse em decorrência de seu potencial antioxidante e por inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), além de reduzirem significativamente as tendências a doenças trombóticas (Perez et al. 2005; Carvalho et al, 2009).

O ensaio com DPPH demonstrou que todos os extratos de *Jacaranda decurrens* exibiram atividade antioxidante.

Estudos etnofarmacológicos referem o emprego popular da tintura da raiz de *Jacaranda decurrens* como depurativa do sangue (Rodrigues & Carvalho, 2001; Tresvenzol et al, 2006), atribuindo dessa forma sua possível capacidade da espécie na eliminação dos radicais livres do sangue. Sendo assim, a comprovação da atividade antioxidante em todos os extratos analisados nesse estudo pode ser indicativo desse emprego popular.

Segundo critério de classificação, Amaral et al. (2006) relatam que a atividade giardicida é considerada fortemente ativa sempre que o extrato que possuir $CI_{50} \leq 100 \mu\text{g/ml}$. Sendo assim todos os extratos submetidos à avaliação da atividade giardicida, (M110, P108 e S112) demonstraram atividade inibitória sobre os trofozoítos de *Giardia lamblia* (Tabela 3).

Em todos os extratos das folhas de *Jacaranda decurrens* analisados nesse estudo foi constatada elevada concentração de compostos fenólicos (49,52 a 75,18), expressiva atividade antioxidante (26,39 a 339,73 $\mu\text{g/mL}$) e forte atividade giardicida (17,10 a 18,92 $\mu\text{g/mL}$). Esses resultados sugerem que a atividade giardicida pode ser atribuída a compostos fenólicos desencadeando reações de oxido-redução quando na presença dos trofozoítos de *Giardia lamblia*, a semelhança do mecanismo de ação definido para o metronidazol, droga de referência no tratamento da giardiase (MULLER, 1983; SAMUELSON, 1999; TRACY; WEBSTER-JR, 2005).

Estudo *in vitro* de investigação da atividade giardicida desenvolvidos com o produto Oleozon® evidenciou expressiva atividade citotóxica contra trofozoítos de *Giardia lamblia* comprovando reação de oxido-redução no meio intracelular (HERNANDÉZ et al., 2009).

Ao analisar os extrativos por maceração (Figura 3), verificou-se que embora a composição química seja a mesma, a diferença na relação hidromódulo alterou a concentração dessas substâncias. No extrato M112 ocorreu uma maior predominância dos compostos menos polares.

Nos extratos obtidos por percolação (Figura 3), verificou-se a presença de muitos compostos coincidentes embora a relação hidromódulo altere a concentração das substâncias presentes nos extratos, sendo extraídas tanto substâncias polares quanto as menos polares.

Para os extratos obtidos pelo Soxhlet (Figura 3), observa-se que no extrato S110 obteve um maior número de constituintes principalmente polares e exibiu um melhor perfil cromatográfico.

O perfil cromatográfico obtido por CLAE para extratos vegetais, em condições padronizadas, denominadas “impressão digital”, desvendando a constituição qualitativa e permite caracterizar o material analisado (Arruda et al, 2012).

Analisando os cromatogramas (Figura 3), atribui-se a percolação, o melhor método extrativo para *Jacaranda decurrens* e a relação hidromódulo que conseguiu extrair a maior quantidade de substâncias foi a 1:10.

Conclusão

Através da presente pesquisa foi possível constatar o poder antioxidante e giardicida de *Jacaranda decurrens* confirmando seu potencial para o avanço na pesquisa e desenvolvimento de alternativas terapêuticas principalmente na obtenção de agentes giardicida.

Demonstrou-se também que variáveis como, método extrativo e relação de hidromódulo, influenciaram diretamente na concentração de metabólitos secundários no vegetal. Sendo, portanto,

necessário a padronização para obtenção de produtos uniformes com propriedades terapêuticas de elevada qualidade e eficácia.

Dentre os extratos hidroalcoolicos obtidos a partir de folhas de *Jacaranda decurrens* Cham., evidenciou-se que o melhor método extrativo foi a percolação na relação hidromódulo de 1:10 conseguindo extrair maior quantidade de substâncias, além de obter um maior rendimento .

Por fim considerando o uso popular da *Jacaranda decurrens* no tratamento da diarreia, a comprovação científica do seu potencial giardicida e que a mesma integra a lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde, estudos com essa espécie são fundamentais como parâmetro de qualidade, garantindo ao usuário eficácia e segurança do produto.

Agradecimentos

À coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível superior (CAPES) pela bolsa de mestrado de Valéria de Jesus Menezes de Menezes. A FAPEMA pelos recursos financeiros. A Faculdade de Educação de Bacabal (FEBAC) pelo apoio e incentivo no desenvolvimento da pesquisa.

Contribuição dos autores

VJMM (Mestranda) contribuiu na coleta de amostras de plantas e identificação, a execução do trabalho de laboratório, a análise dos dados e elaboração do artigo. FMMA e MNSR projetaram o estudo, supervisionaram o trabalho de laboratório e contribuíram para leitura crítica do manuscrito. VMM contribui na elaboração do artigo. MSC e MCAB contribuíram para a execução do trabalho de laboratório, análise dos dados e cromatografia. RPD contribuiu para análise dos dados e na cromatografia. Todos os autores leram o manuscrito final e aprovou a apresentação.

Referências

- Abreu BVB, Batista MCA, Azevedo CC, Dutra RP, Nogueira AMC, Costa MCP, Ribeiro MNS 2006. Quantificação de polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith coletado no cerrado maranhense. *Rev Cienc Saud* 8: 18-24.
- Amaral FMM 2007. *Potencial giardicida de espécies vegetais: aspectos da etnofarmacologia e bioprospecção*. João Pessoa, 346p. Tese, Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba.
- Amaral FMM, Ribeiro MNS, Barbosa-Filho JM, Reis AS, Nascimento FRF, Macêdo RO 2006. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. *Rev Bras Farmacogn* 16:696-720.
- Amorozo MCM 2002. Uso e Diversidade de Plantas Medicinais em Santo Antonio de Leverger, MT, Brasil. *Acta Bot Bras* 16:189-203.
- Arruda ALA 2009. *Contribuição ao estudo da atividade biológica da Jacaranda cuspidifolia Mart. (Bignoniaceae)*. Brasília, 121f. Tese, Programa de Pós-Graduação em Produtos Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.
- Arruda ALA, Souza DG, Vieira CJB, Oliveira RF, Pavan RF, Fujimura CQL, Resende UM, Castilho RO 2012. Análise fitoquímica e atividade antimicobacteriana de extratos metanólicos de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae). *Rev Bras Pl Med* 14:276-281.
- Badke MR, Budó MLD, Silva FM, Ressel LB 2011. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. *Esc Anna Nery* (impr.) 15:132-139.
- Bara MTF, Ribeiro PAM, Arantes MCB, Amorim LLSS, Paula JR 2006. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. *Rev Bras Farmacogn* 16:211-215.
- Batista LM, Valença, AMG 2012. A Fitoterapia no âmbito da Atenção Básica no SUS: realidades e perspectivas. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 12:293-296.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Bersert C 1995. Use of a tree radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol* 28:25-30.
- Brasil 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RE nº 89, de 16 de março de 2004. Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos. Brasília.
- Calzada F, Cerda-Garcia-Rojas CM, Meckes M, Cedillo-Rivera R, Bye R, Mata R 1999. Geranins A and B, New Antiprotozoal A-Type Proanthocyanidins from *Geranium niveum*. *J Nat Prod* 62:705-709.
- Carrim AJI, Barbosa EC, Vieira JDG 2006. Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). *Braz Arch Biol Techn* 49:353-359.
- Carvalho ACB 2011. *Plantas Medicinais e Fitoterápicos: regimentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil*. Brasília, 318p. Tese, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

- Carvalho CA, Lourenço MV, Bertoni BW, França SC, Pereira PS, Fachin AL, Pereira AMS 2009. Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae. *Rev Bras Farmacogn* 19:592-598.
- Castellucci S, Lima, MIS, Nordi N, Marques JGW 2000. Plantas Mediciniais Relatadas pela Comunidade Residente na Estação Ecológica de Jataí, Município de Luís Antônio/SP: uma abordagem etnobotânica. *Rev Bras Plant Med* 3: 51-60.
- Cedillo-Rivera R, Ramírez A, Muñoz O 1992. A rapid colorimetric assay with the tetrazolium salt MTT and phenazine methosulfate (PMS) for viability of *Entamoeba histolytica*. *Arch Med Res* 23:59-61.
- Cedillo-Rivera R, Muñoz O 1992 O. In-vitro susceptibility of *Giardia lamblia* to albendazole, mebendazole and other chemotherapeutic agents. *J Med Microbiol* 37:221-224.
- Cunha MS, Dutra RP, Batista MCA, Abreu BVB, Santos JR, Neiva VA, Amaral FMM, Ribeiro MNS 2009. Padronização de extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (túba). *Card Pesq* 16:31-38.
- De Carli GA 2001. *Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas*. São Paulo: Atheneu.
- Diamond LS, Harlow DR, Cunnick CC 1978. A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. *T Roy Soc Trop Med H* 72:431-432.
- Dutra RP, Nogueira AMCM Marques RRO, Costa MCP, Ribeiro MNS 2008. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da Baixada Maranhense, Brasil. *Rev Bras Farmacogn* 18:557:562.
- Farmacopéia Brasileira* 2010 . São Paulo: Atheneu.
- Fonseca SGD 2005. *Farmacotécnica de fitoterápicos*. Fortaleza: FFOE/UFC.
- Gobbo-Neto L, Lopes N 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova* 30:374-381.
- Hernández F, Hernández D, Zamora Z, Díaz M, O Ancheta, Rodriguez S, D Torres 2009. *Giardia duodenalis*: efeitos de um produto de óleo de girassol ozonizado (Oleozon) em em trofozoítos *in vitro*. *Parasitol Exp* 121:208-212.
- Keister DB. Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile. *T Roy Soc Trop Med H* 77:487-488.
- Maciel MA, Pinto AC, Veiga JR, Grynberg NF 2002. Plantas Mediciniais: a necessidade dos estudos multidisciplinares. *Quim Nova* 25: 429-438.
- Matos FJA 2009. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. Fortaleza: UFC.
- Mauro C, Pereira MAS, Silva CP, Missima J, Ohnuki T, Rinaldi RB 2007 . Estudo anatômico das espécies de cerrado *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (catuaba), *Zeyheria*

Montana Mart. (bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba) – Bignoniaceae. *Rev Bras Farmacogn* 17:262-265.

Migliato KF, Corrêa MA, Salgado HRN, Tognolli JO, Sacramento LVS, Mello JCP, Giannini MJSM, Almeida AMF, Pizolitto AC 2011. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Quim Nova* 34:695-699.

Mingarro MD 2003. Biological activity of extracts from *Catalpa bignonioides* Walt.(Bignoniaceae). *J Ethnopharmacol* 87:163-167.

Moon HI, Kim EJ, Lee HK, Chung JH 2006. The effect of sativan from *Viola vercunda* A. Gray on the expressions of matrix metalloproteinase-1 cause by ultraviolet irradiated cultured of primary human skin fibroblasts. *J Ethnopharmacol* 104:12-17.

Muller M 1983. Mode of action of metronidazole on anaerobic bacteria and protozoa. *Surgery* 93:165-171.

Noriega P, Röpke CD, Camilo CM, Freitas PCD, Barros SBM 2005. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (L). *Miq. Rev Bras Cienc Farm* 41:261-269.

Oliveira CJ, Araújo TL 2007 Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. *Rev Eletron Enf* 9:93-105.

Oliveira TB, Bezerra Netto HJC, Xavier MA, Prado DS, Garrote CFD, Asquieri ER, Rezende MH, Ferreira HD, Paula JR 2003. Estudo farmacognóstico das raízes de *Jacaranda decurrens* Cham. (carobinha). *Rev Bras Farmacogn* 13:54-55.

Pereira AMS, Lourenço MV, Malosso MG, Bertoni BW, Ming CM, Guerreiro CPV, Pereira JO, França SC 2007. *Jacaranda decurrens* In: *Recursos genéticos conservação de plantas medicinais do cerrado*. Pereira MAS (ed.). Legis Summa: Ribeirão Preto.

Perez Y, Legleu CC, Cuellar CG, Carreón JP, García SH, Neyoy, MS, Lazarini LA, Treviño SV 2005. Oxidative stress in carcinogenesis. Correlation between lipid peroxidation and induction of preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 217:25-32.

Rocha MO 2003. *Giardia duodenalis: axenização e caracterização de três isolados do Brasil, empregando parâmetros biológicos, bioquímicos, imunológicos e moleculares*. Minas Gerais, 112 p. Tese, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais.

Rodrigues VEG, Carvalho DA 2001. *Plantas medicinais no domínio dos cerrados*. Lavras: UFLA.

Rodrigues TS, Guimarães SF, Rodrigues-das-Dores RG, Gabriel JV 2011. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). *Rev Bras Pl Med* 13:587-590.

Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Sousa CAS, Pastore GM 2007. Atividade antioxidante de frutas do Cerrado. *Ciencia Tecnol Alime* 27:53-60.

Samuelson J 1999. Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. *Antimicrob Agents Che* 43:1533-1541.

- Sangalli A, Scalon SPQ, Vieira MC 2004. Cor, temperatura e pré-embebição na germinação de sementes de carobinha (*Jacaranda decurrens* sub. *symmetrifoliolata* Farias & Proença) Bignoniaceae. *Rev Bras Plant Med* 7:79-85.
- Sangalli A, Vieira MC, Scalon SPQ, Zárata NAH, Silva CB, Ribeiro IS 2012 Morfometria de frutos e sementes e germinação de carobinha (*Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença), após o armazenamento. *Rev Bras Plant Med* 14:267-275.
- Sangalli A, Vieira, MC, Zárata NAH 2002. Levantamento e caracterização de plantas medicinais nativas com propriedades medicinais em fragmentos florestais e de cerrado, em Dourados-MS, numa visão etnobotânica. *Acta Horti*, 569:173-184.
- Santos SC, Mello JCP 2004. Taninos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Porto Alegre: UFRGS, p 615-656.
- Silva EC 2013. *Jacaranda decurrens* Cham.: ensaios químicos e biológicos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos. São Luís, 49p. Monografia, Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Maranhão.
- Somova , LI, Shode SO, Ramnanan P, Nadar A 2002. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves. *J Ethnopharmacol* 84:299-305.
- Sousa FCF, Melo CTV, Citó MCO, Félix FHC, Vasconcelos CMM, Fonteles MMF, Barbosa-Filho JM, Viana, GSB 2008. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. *Rev Bras Farmacogn* 18:642-654.
- Souza CD, Felfili JM 2006. Uso de Plantas Medicinais na região de Alto do Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta bot bras* 20: 135-142.
- Tracy JW, Webster JR 2005. Fármacos usados na quimioterapia das infecções por protozoários: amebíase, giardíase, tricomoníase, tripanossomíase, leishmaniose e outras infecções causadas por protozoários. In: *Goodman & Gilman, As Bases Farmacológicas na Terapêutica*. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, p.823-840.
- Tresvenzol LM, Paula JR, Ricardo AF, Ferreira HD, Zatta DT 2006. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. *Rev Eletron Farmacia* 3:23-28.
- Varanda EM, Zuniga GE, Salatino A, Roque NF, Corcuera LJ 1992. Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. *J Nat Prod* 55:800-803.
- Veiga Júnior VF, Pinto AC, Maciel MA 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Quim Nova* 28: 519-528.
- Vieira, MC, Heredia Z, Nestor A, Bottega SM, Padilha NS, Pessoa SM 2008. Análise de crescimento de *Jacaranda decurrens* Cham. ssp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença em função de espaçamentos entre plantas. *Rev Bras Agroecol* 3:103-106.

Vila Verde GM, Paula GR, Carneiro, DM 2003. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). *Rev Bras Farmacogn* 13:64-66.

Zatta DT, Bara MTF, Garrote CFD, Pimenta C, Tresvenzol LMF, Fiuza TS, Paula JR 2009. Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. *Lat Am J Pharmacol* 28:485-489.

***Correspondência**

Profa. Dra. Maria Nilce de Sousa Ribeiro
Universidade Federal do Maranhão
Email: mnsousaribeiro@gmail.com

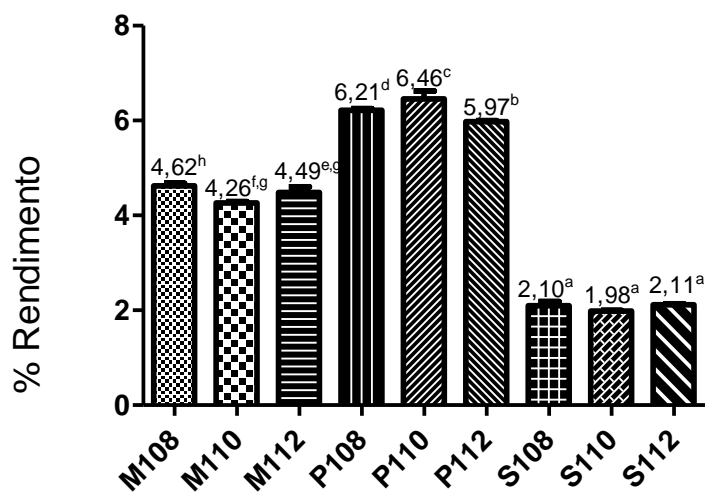


Figura 1. Rendimento (%) dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtidos por maceração com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (M108, M110 e M112), percolação com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (P108, P110 e P112) e Soxhlet com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (S108, S110 e S112). As colunas verticais indicam as médias \pm desvio padrão. As letras a, b, c, d, e, f, g e h indicam diferenças significativas comparando o método extrativo e a relação hidromódulo ($p < 0,0001$), análise de variância ANOVA, seguido de *Tukey*.

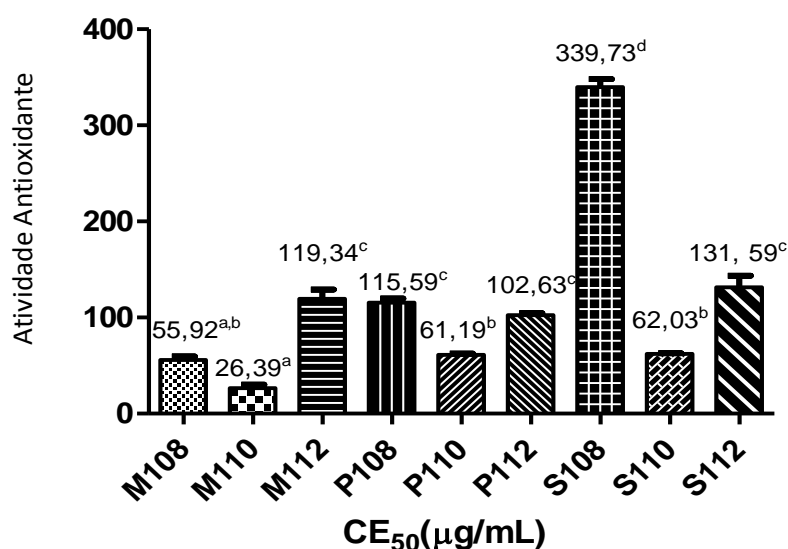


Figura 2. Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtidos por maceração com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (M108, M110 e M112), percolação com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (P108, P110 e P112) e Soxhlet com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (S108, S110 e S112).

* Resultados expressos como média dos ensaios de atividade antioxidante realizados em triplicata nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtido por maceração, percolação e em soxhlet em diferentes relações hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (proporção droga vegetal: etanol 70%). Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,0001$), ANOVA (Newman-Keuls).

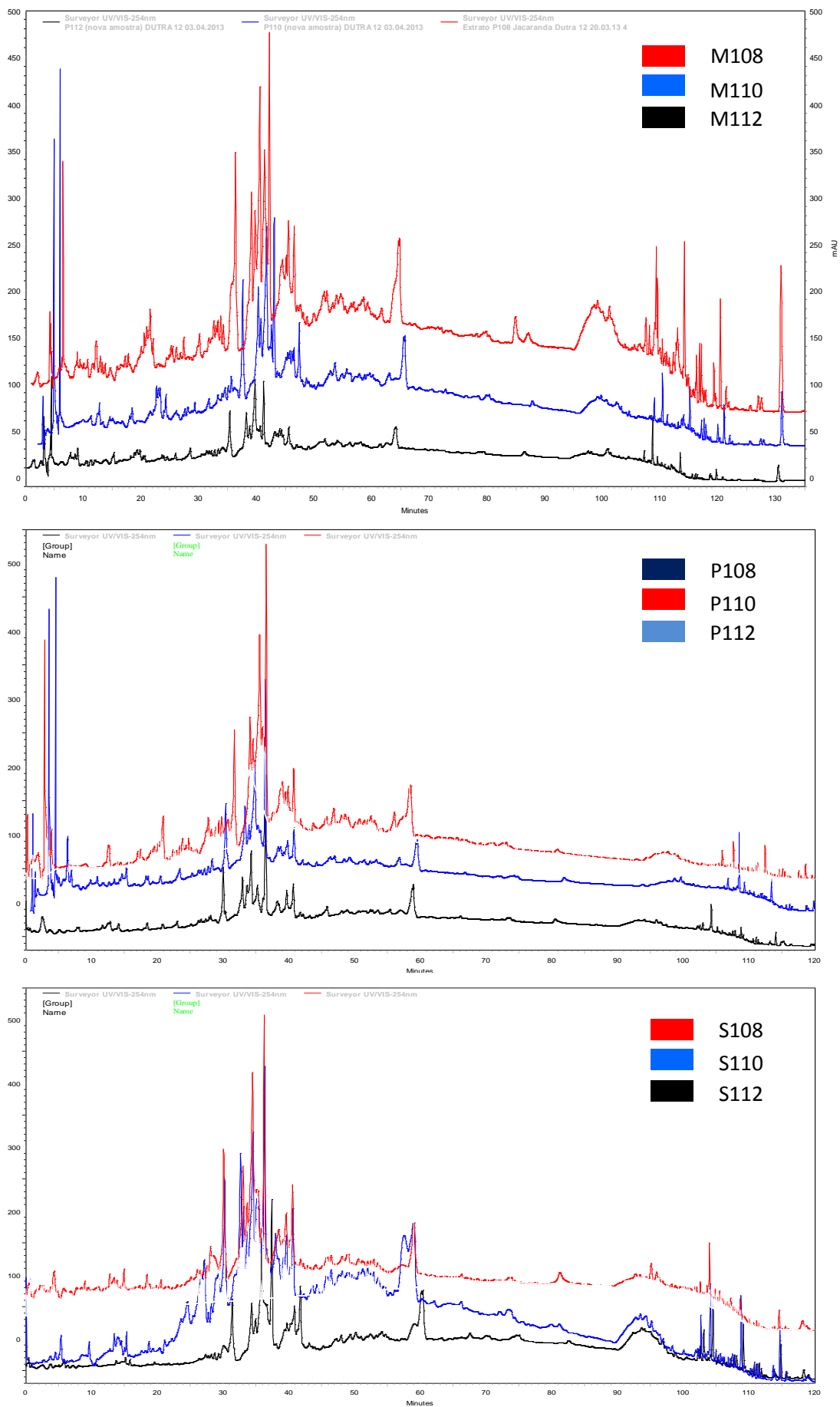


Figura 3. Perfil cromatográfico dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm sobrepostos de acordo com o processo extrativo.

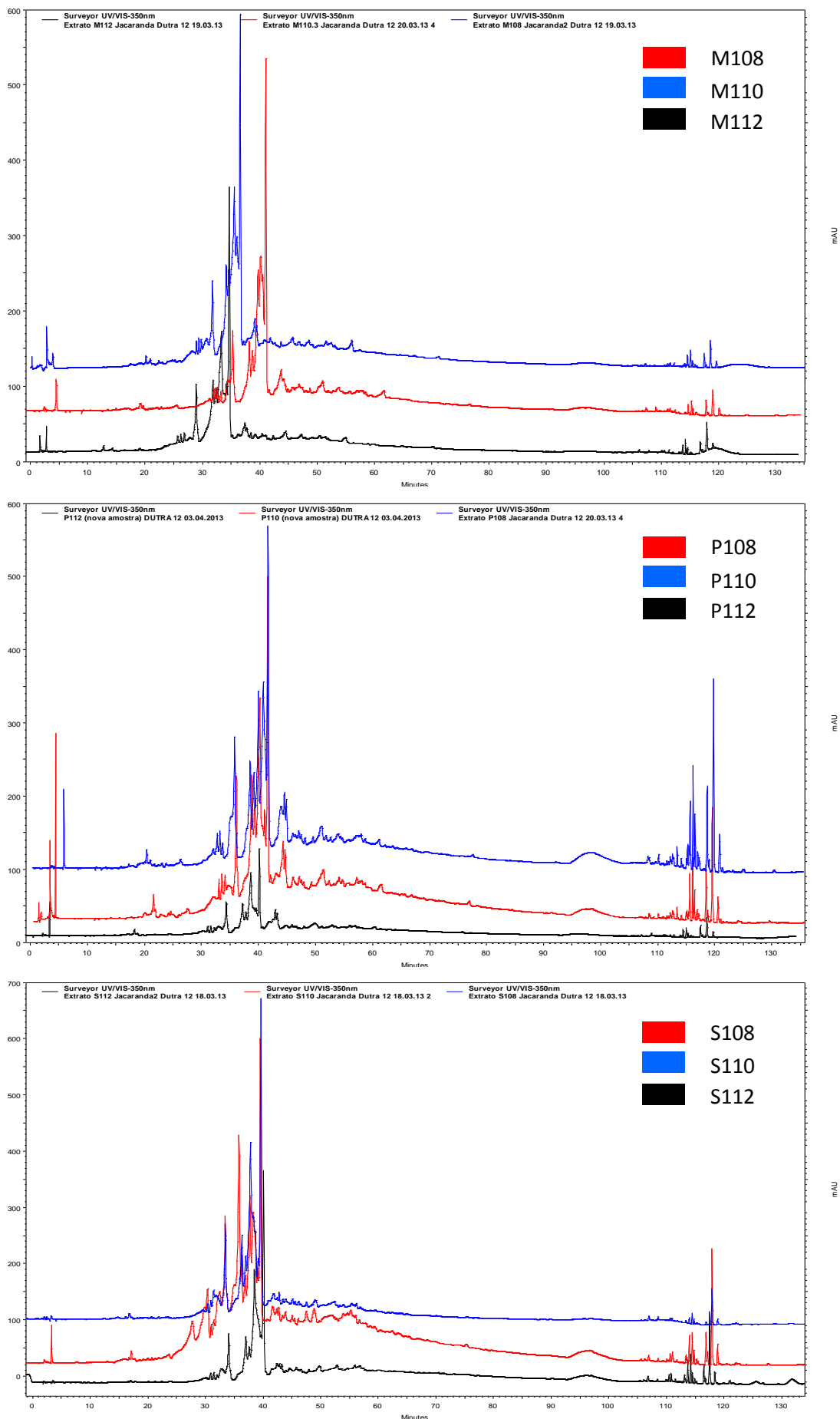


Figura 4. Perfil cromatográfico dos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 350 nm sobrepostos de acordo com o processo extrativo.

Tabela 1. Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtidos por maceração, percolação e extração por Soxhlet com diferentes relações de hidromódulo.

RELAÇÃO PROCESSO EXTRATIVO/HIDROMÓDULO/SOLVENTE									
METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	M 108	M 110	M 112	P108	P110	P112	S108	S110	S112
	Alcaloides *	- ^a	-	-	-	-	-	-	-
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenóis	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
Resinas	+	++	+	+	++	++	+	++	+
Saponinas	+	++	+	-	++	++	+	++	+
Taninos condensados	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Esteroides	+++	+++	+++	++	+	++	++	+	+
Triterpenos	+	+	+	+	+	+	++	+	+
Flavononóis	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++
Flavononas	+++	++	++	++	+++	+++	++	+++	+++

^a Critérios adotados para expressar intensidade de resultados: +++ reação fortemente positiva; ++ reação moderadamente positiva; + reação fraca; - negativo.

*Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação qualitativa e semi-quantitativa de constituintes químicos realizados em duplicata nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham obtidos por maceração com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (M108, M110 e M112), percolação com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (P108, P110 e P112) e Soxhlet com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (S108, S110 e S112).

Tabela 2. Teores de polifenóis e flavonoides totais nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtidos por maceração, percolação e extração por Soxhlet com diferentes relações de hidromódulo.

EXTRATOS	POLIFENÓIS TOTAIS (%)^{a,b}	FLAVONOIDES TOTAIS (%)^{a,c}
M108	69,11 ± 0,06 ^d	4,48 ± 0,04 ^h
M110	69,59 ± 0,01 ^d	1,74 ± 0,04 ⁱ
M112	75,18 ± 0,02 ^d	2,09 ± 0,01 ⁱ
P108	57,58 ± 0,05 ^e	3,89 ± 0,05 ^h
P110	57,82 ± 0,03 ^e	4,77 ± 0,04 ^h
P112	74,80 ± 0,04 ^d	5,15 ± 0,04 ^h
S108	70,64 ± 0,04 ^d	2,33 ± 0,02 ⁱ
S110	58,01 ± 0,07 ^e	4,37 ± 0,08 ^h
S112	49,52 ± 0,01 ^e	3,62 ± 0,02 ^h

(a) Resultados expressos como médias ± desvio padrão dos ensaios de avaliação quantitativa para flavonoides totais e polifenóis totais dos extratos de *Jacaranda decurrens* Cham. obtidos por maceração com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (M108, M110 e M112), percolação com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (P108, P110 e P112) e Soxhlet com hidromódulo 1:8, 1:10 e 1:12 (S108, S110 e S112), (n:3), (b) expresso como equivalente de ácido gálico; (c) expresso como equivalente de quercetina. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$), ANOVA (Tukey).

Tabela 3 – Atividade *in vitro* contra trofozoítos de *Giardia lamblia* (cepa Portland-1 ATCC 30888) expressos e, percentuais de CI₅₀ dos extratos hidroalcoólicos de *Jacaranda decurrens* Cham. obtidos por maceração, percolação e Soxhlet em diferentes relações de hidromódulo.

ESPECIE VEGETAL	EXTRATO	ATIVIDADE GIARDICIDA
	HIDROALCOOLICO	CI ₅₀ (ug/mL)
<i>Jacaranda decurrens</i> Cham.	Maceração (M110)	17,10 ± 0,387 ^a
	Percolação (P108)	17,42 ± 0,411 ^{a,c}
	Soxhlet (S112)	18,92 ± 0,523 ^{b,c}

Resultados expressos como médias ± desvio padrão dos ensaios de atividade giardicida realizados em triplicata nos extratos hidroalcoólicos das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtido por maceração na relação hidromódulo 1:10 (M110), percolação na relação hidromódulo 1:8 (P108) e em Soxhlet na relação hidromódulo 1:12 (S112)

4.2 Capítulo II

Identificação de Substancias Químicas de *Jacaranda decurrens* Cham

Artigo a ser submetido ao Journal of Agricultural and Food Chemistry
(ISSN: 0021-8561)

Qualis Interdisciplinar: A1

Fator de impacto: 2.816

RESUMO

Jacaranda decurrens Cham., é uma planta endêmica do Cerrado, conhecida popularmente como carobinha, caroba ou caroba-do-campo. Estudos biológicos comprovaram atividade giardicida, bactericida, antifúngica, citotóxica e larvicida e os químicos indicaram a presença de compostos fenólicos, triterpenos e iridoides glicosilados. O presente trabalho teve como objetivo identificar os constituintes químicos de *Jacaranda decurrens*, como parâmetro de certificação de qualidade. As folhas da espécie foram coletadas no município de São Raimundo das Mangabeiras, estado do Maranhão, Brasil e extraída por percolação com etanol 70% na relação de hidromódulo 1:10. Foi realizada partição líquido/líquido do percolado 1:10 em hexano, diclorometano e acetato de etila para a obtenção das frações. O extrato e frações foram submetidos à abordagem fitoquímica; os teores de polifenóis foram determinados com reagente de Folin Ciocalteu; os flavonoides totais com cloreto de alumínio; a atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH. Os perfis dos extrativos foram obtidos por espectrometria de UV/Vis, CLAE/UV/Vis e LC/MS. Os resultados demonstraram presença de substâncias fenólicas, triterpênicas e ausência de esteroides e alcaloides. Os teores de polifenóis totais no extrato e frações variaram de 13,10 a 80,41% e os de flavonoides, 2,00 a 4,77%. O extrato e frações apresentaram atividades antioxidantes entre os intervalos de CE₅₀ 43,38 a 305,76 µg/mL. As análises dos espectros de UV demonstraram semelhanças com absorções máximas entre 230 a 300 nm, indicando a presença de flavonoides. Pelo cromatograma obtido por CLAE/UV/Vis no comprimento de onda de 254 nm, identificou que na fração hexânica houve um pico coincidente com o padrão ácido oleanólico com o mesmo tempo de retenção (108.403 min), sugerindo então que esse ácido seja um dos constituintes químicos da planta. Com o espectrômetro de massas, identificou-se a rutina, quercetina-pentosídeo-hexosídeo, quercetina-3-β-glicosídeo, ácido arjunólico e o ácido 2α-hidroxioleanólico. Concluímos os triterpenos (ácido oleanólico) e os flavonoides são os principais constituintes químicos de *Jacaranda decurrens* e que são eles que estão relacionados a atividade antioxidante dessa espécie.

Palavras-chave: Antioxidante. Espectrometria de massa. *Jacaranda decurrens*. Perfil cromatográfico.

ABSTRACT

Jacaranda decurrens Cham., Is a plant native to the Cerrado, popularly known as carobinha, carob or carob-of-field. Biological studies have shown giardicidal activity, antibacterial, antifungal, and cytotoxic and larvicidal chemicals indicated the presence of phenolic compounds, iridoid glycosides and triterpenes. This study aimed to identify the chemical constituents of *Jacaranda decurrens* as a parameter for quality certification. The leaves of this species were collected in São Raimundo Mangabeiras, state of Maranhão, Brazil and extracted by percolation with 70% ethanol in the ratio of 1:10 hydromodule. Partition was held liquid / liquid leachate 1:10 hexane, dichloromethane and ethyl acetate to obtain the fractions. The extract and fractions were subjected to phytochemical approach; levels of polyphenols were determined using the Folin Ciocalteu, total flavonoids with aluminum chloride, the antioxidant activity was performed by DPPH. The profiles of the extractives were obtained by spectrometry UV / Vis, HPLC / UV / Vis and LC / MS. The results showed the presence of phenolic substances, and lack of triterpenoid steroids and alkaloids. The content of total polyphenols in the extract and fractions ranged from 13.10 to 80.41% and flavonoids, 2.00 to 4.77%. The extract and fractions showed antioxidant activities between the ranges of EC50 43.38 to 305.76 mg / mL. The analysis of UV spectra showed similarities with maximum absorptions between 230 nm to 300 nm, indicating the presence of flavonoids. Chromatogram obtained by HPLC / UV / Vis at a wavelength of 254 nm in hexane fraction identified that there was a peak coincident with the pattern with oleanolic same retention time (108.403 min), suggesting that this acid is then one of the constituents chemical plant. With mass spectrometry, we identified rutin, quercetin-pentosídeo-hexosídeo, quercetin-3- β -glucoside, arjunolic acid and acid-2 α hidroxioleanólico. We conclude the triterpenes (oleanolic acid) and flavonoids are the main chemical constituents of *Jacaranda decurrens* and it is they who are related to antioxidant activity of this species.

Keywords: Antioxidant. Mass spectrometry. *Jacaranda decurrens*. Chromatographic profile.

Introdução

Jacaranda decurrens Cham., pertencente à família Bignoniaceae, é um subarbusto campestre de rizoma espesso ou tronco basal curto emitindo vários ramos caulinares, folhas compostas cruzadas, bipinadas, curto-pecioladas (FERRI, 1969). Esta é uma planta endêmica do Cerrado Brasileiro, encontrada predominantemente nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão e São Paulo, onde é conhecida como caroba, carobinha, caroba-do-campo e carobinha-do-campo (VARANDA et al., 1992; MAURO et al., 2007; ZATTA et al., 2009).

Estudos etnofarmacológicos indicam que a tintura da raiz de *J. decurrens* é empregada no tratamento de úlceras externas, afecções cutâneas e depurativo do sangue (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; TRESVENZOL et al., 2006); estimulante do sistema nervoso (MAURO et al., 2007); tratamento da diarreia, amebíase, giardíase (PRADO JÚNIOR, 1949; AMARAL, 2007); processos infecciosos infecções ginecológicas (TRESVENZOL et al., 2006) e distúrbios hepáticos (DI STASI et al., 2002).

Estudos biológicos comprovaram ações giardicida (CARRIM et al, 2006; AMARAL, 2007), antifúngica, citotóxica (CARVALHO, 2007) e antioxidante (CARVALHO et al., 2009; SILVA, 2013); antimalárica (SANTOS et al., 2012); antibacteriana (ZATTA et al., 2009) e larvicida (PEREIRA, 2011) .

Estudos químicos dessa espécie ainda são poucos, porém a abordagem fitoquímica de raízes dessa planta demonstrou esteroides, triterpenos, açúcares redutores, amido, mucilagem e saponinas (OLIVEIRA et al., 2003; ZATTA et al., 2009), enquanto que Prado Junior (1949) já identificou glicosídeos como carobina e ácido carobico.

Varanda et al. (1992) isolaram o ácido ursólico do extrato hidroalcoólico de *J. decurrens*. Flavonoides, como luteolina, rutina, 6-OH-luteolina-7-O-glicosídeo e quercetina-3-O-galactosídeo foram isolados por Blatt et al. (1998). Pereira et al. (2007) isolaram da cera epicuticular das folhas, o ácido oleanólico.

J. decurrens faz parte das 71 espécies vegetais da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENISUS) (BRASIL, Portaria MS nº 2.960, 12/2008) do Ministério de Saúde, em consonância com a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos assegurando o uso sistemático da biodiversidade, com fortalecimento da cadeia e arranjos produtivos, na busca pela estruturação da Fitoterapia no Brasil. O objetivo do presente estudo foi identificar os constituintes químicos de *Jacaranda decurrens* como parâmetro de certificação de qualidade.

Materiais e Métodos

Material vegetal. As folhas de *Jacaranda decurrens*, foram coletadas no povoado Sítio Novo pertencente ao município de São Raimundo das Mangabeiras, no estado do Maranhão, em janeiro de 2012 no início da manhã. A identificação botânica foi realizada pelo Herbário “Ático Seabra” da Universidade Federal do Maranhão, onde a exsicata está depositada sob número 1140/SLS017213.

Obtenção do extrato hidroalcoólico e das frações das folhas de *Jacaranda decurrens*. O material vegetal foi submetido a secagem em estufa de circulação de ar, em temperatura média de 38 °C. Em seguida, foram trituradas em moinho de facas originando um pó moderadamente grosso. 150 g do pó das folhas de *Jacaranda decurrens* foi submetido a extração por percolação na relação droga/solvente 1:10, com o solvente etanol 70%. A solução extrativa foi filtrada, concentrada sob pressão reduzida em rotaevaporador para obtenção do extrato hidroalcoólico P110. Posteriormente, 4 g do extrato seco (P110) foi ressuspendido em metanol:água (8:2, v/v) sob agitação mecânica e essa solução foi submetida à partição líquido-líquido com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila. As fases hexânica, diclorometânica e acetato de etila foram filtradas e concentradas em evaporador rotativo, sob pressão reduzida a 50°C, obtendo-se as frações hexânica (HP110), diclorometânica (DP110) e acetato de etila (AP110).

Prospecção fitoquímica do extrato e das frações das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. O extrato P110 e frações (HP110, DP110 e AP110) foram submetidos a métodos de avaliação qualitativo e semi-quantitativo de constituintes químicos, para as classes químicas de alcaloides (reação com Dragendorff, Hager e Mayer), flavonoides (reação de cianidina e ácido sulfúrico), cumarinas (observação sob a luz ultravioleta), esteroides e triterpenos (reação de Lieberman-Burchard), saponina (reação de Lieberman-Buchard e o índice de espuma), resinas (reação de precipitação) , taninos e fenois (reação de precipitação com cloreto férrico) (MATOS, 2009).

Determinação dos teores de polifenóis totais do extrato e das frações de *Jacaranda decurrens* Cham. A concentração dos polifenólicos totais foi determinada utilizando reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-

Vis Lambda 35, PekinElmer) a 760nm, após 2h de reação. Os resultados foram expressos como equivalente de ácido gálico (%) (ABREU et al., 2006; CUNHA, 2009).

Determinação dos teores de flavonoides totais do extrato e frações de *Jacaranda decurrens* Cham. A concentração de flavonoides totais foi determinada utilizando-se método fotocolorimétrico com solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl₃) a 5%, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35, PerkinElmer) a 425 nm, após 30 min de reação. Foi empregadas concentrações de quercetina (Merck) como padrão (DUTRA et al., 2008).

Análise por espectrofotometria de absorção na região do Ultra-Violeta/Visível (UV-Vis) do extrato e frações de *Jacaranda decurrens* Cham. Os espectros de UV-Vis dos extratos foram obtidos por meio da adição de alíquota de 500 µL de cada extrato na concentração de 1mg/mL em 10 mL de metanol P.A. (Merck, grau espectrométrico) e determinados em comprimentos de onda de (λ) 200 a 600 nm utilizando espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer).

Perfil cromatográfico do extrato e frações de *Jacaranda decurrens* por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de UV-Vis (CLAE-UV-Vis). O extrato e as frações foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de ultravioleta (CLAE-UV-Vis), em escala analítica, utilizando um sistema Finnigan Surveyor Autosampler (Thermo), com coluna analítica C-18 de fase reversa (250mm x 4,60 mm, 5 µm, Ace) protegida por uma pré-coluna C-18 (4 x 3 mm, Gemini, Phenomenex). A composição da fase móvel utilizada foi: água Milli-Q (Millipore) com 0,1% de ácido fórmico (Merck) (eluente A) e acetonitrila (CLAE, Merck) (eluente B). A eluição foi realizada inicialmente com o gradiente de 95% A e 5% B, seguindo com 60% A e 40% B em 90 min, 40% A e 60% B em 100 min, 0% A e 100% B em 110 min, e finalizando com 100% B em 135 min. As amostras foram pesadas em frascos da marca eppendorf® e diluídas em metanol grau CLAE e água Milli-Q com 0,1% de ácido fórmico e filtradas em filtro de Nylon (Allcrom, 0,22µm). O volume da amostra injetado foi de 25 µL, com fluxo de 1,0mL/min e detecção em 254 nm e 350 nm. Todas as análises foram realizadas sob as mesmas condições.

Análise do extrato de *Jacaranda decurrens* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de fase reversa acoplada a Detecção de Díodos e Espectrometria de Massa com Ionização por Spray de Eletrons (CLAE/DAD/ESI-EM). O extrato P110 foi analisado por CLAE (LC-10AD, Shimadzu) equipado com um detector de arranjo de diodos, acoplado a um espectrômetro de massas (Esquire 3000 Plus, Bruker Daltonics), com analisador tipo íon trap quadrupolo em modo *tandem*, com ionização por eletronebulização (*electrospray ionization*, ESI). As condições para a diluição da amostra e composição da fase móvel foi a mesma descrita anteriormente. As condições de ionização foram as seguintes: voltagem de electrospray com fonte de íons a 40 V, um potencial de 4,0 kV e temperatura a 320°C. Hélio ultrapuro (He) foi usado como gás de colisão e nitrogênio (N₂) como gás de nebulização. A nebulização foi auxiliada por um gás de azoto a uma pressão de 27 psi. A dessolvatação foi facilitada utilizando uma corrente de fluxo de 7,0 L/min. A análise foi realizada no modo *full scan*, com ionização negativa, na faixa de 100 a 3000 *m/z*. As identificações foram obtidas com base na massa do íon molecular, na fragmentação do íon molecular, espectros de UV-Visível encontrados na literatura ou com co-injeção de padrões.

Determinação da atividade antioxidante do extrato e das frações de *Jacaranda decurrens*. A atividade antioxidante do extrato P110 e das frações (AP110, HP110, DP110) foi avaliada pelo método fotocolorimétrico *in vitro* utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH, Sigma) segundo Brand-Willians et al., (1995), com modificações. As amostras foram diluídas em diferentes concentrações em metanol P.A (1 a 100µg/mL), em seguida adicionados a solução metanólica de DPPH (40µg/mL). Após 30 min de reação em temperatura ambiente ao abrigo da luz, a absorbância de cada solução foi medida em espectrofotômetro UV-Vis (Lambda 35, PerkinElmer) a 517nm. Padrões de quercetina foram usados como controle positivo e o DPPH como controle negativo, nas mesmas condições das amostras. A percentagem de inibição foi obtida com a seguinte equação: **Atividade antioxidante (%) = [(A_{DPPH} - A_{amostra})/ A_{DPPH}] x 100.** Onde A_{DPPH} é a absorbância do DPPH (controle negativo) e A_{amostra} é a absorbância do radical na presença dos extratos ou dos padrões. A atividade antioxidante das amostras foi expressa como CE₅₀ (concentração efetiva), que foi definida como a concentração (µg/mL) da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais livres do DPPH.

Análise estatística. A análise estatística foi realizada com auxílio do Software *Graph Pad Prism*, versão 5.0, sendo o nível de significância de $p < 0,05$. Os dados da análise de variância (ANOVA), seguido do teste de *Tukey* e *Newman Keuls*, foram expressos com a média \pm desvio-padrão da média do extrato P110 e das frações (AP110, DP110 e HP110) e, sendo os testes realizados em triplicata ($n=3$).

Resultados e Discussão

Nesta pesquisa, extrato e frações de *Jacaranda decurrens*, foram submetidos à análise da atividade antioxidante *in vitro* pelo método de DPPH, além da caracterização e identificação química de componentes.

A amostra vegetal, coletada no povoado Sítio Novo no município de São Raimundo das Mangabeiras, pertencente à Mesorregião Sul Maranhense e à Microrregião da Chapada das Mangabeiras (7°01'19"S, 45°28'51"O), apresentou-se em forma de subarbusto sendo suas folhas compostas opostas, bipinadas com a disposição dos folíolos alternadamente, conforme descrição encontrada na literatura. O município de São Raimundo das Mangabeiras está inserido no Bioma Cerrado do estado do Maranhão, sua vegetação também é formada por árvores de pequeno e médio porte e arbustos de caule com formatos tortuosos e grossos, com folhas grossas. Estas características são convenientes para que as mesmas possam suportar os períodos de estiagem e o fogo sem serem danificadas e/ou mortas. Nos espaços vazios tem-se também a presença de capim-agreste e outras plantas de sub-bosque (FEITOSA, 1996).

A partir da análise dos resultados da atividade antioxidante do extrato e das frações dessa espécie (Figura 1), constata-se que todas as amostras são consideradas antioxidantes. P110, DP110 e AP110 apresentaram resultados semelhantes. A fração HP110 mesmo com valores superiores as demais amostras também é considerada antioxidante já que o valor encontrado está dentro os limites considerados para avaliação de uma atividade antioxidante, ou seja, valores inferiores a 500 $\mu\text{g/mL}$ (RIBEIRO, 2011).

Segundo Arruda (2009), um extrato para apresentar um alto teor em sequestrar radicais livres deve possuir baixo valor de concentração efetiva (CE_{50}), definida como a quantidade de antioxidante capaz de reduzir a concentração de DPPH em 50%.

Análises químicas do extrato P110 demonstraram a presença de compostos fenólicos, triterpenos, esteroides (Tabela 1) e ausência de alcaloides e cumarinas, em testes de abordagem fitoquímica. Dados esses semelhantes aos achados de Oliveira et al. (2003) em um

estudo farmacognóstico das raízes de *Jacaranda decurrens* onde encontraram esteroides, triterpenos e saponinas. Zatta (2008) também confirmou os metabólicos, ao observar presença de flavonoides, compostos fenólicos, triterpenos, resinas, saponinas e, cumarinas, sendo que esta última não foi encontrada nesse estudo. Carvalho et al. (2009) ao pesquisarem nas folhas dessa espécie detectaram triterpenos e flavonoides e, sendo esses últimos principalmente os glicosilados.

Os teores de polifenóis totais nos extratos e frações variaram de 13,10 a 80,41% e os de flavonoides, 1,74 a 5,15% (Tabela 2). Dados esse que reforçaram que os principais componentes presentes no extrato são os compostos fenólicos. Já em relação a fração tem-se uma distribuição de acordo com o solvente empregado na partição, sendo mais abundante os compostos fenólicos na fração AP10.

As análises dos espectros obtidos por varredura na região ultravioleta (UV) do extrato P110 e das frações AP110, DP110 e HP110 (figura 2), foram semelhantes com absorções máximas de comprimentos de onda em 221, 279-284, 329 e 405-410nm.

O cromatograma do extrato P110 por CLAE/UV está representado na Figura 3, o qual reforça as substâncias encontradas na abordagem fitoquímica, sendo os compostos fenólicos em maiores concentrações. A partição desse extrato resultou nas frações: hexânica (HP110), diclorometânica (DP110) e acetato de etila (AP110), as quais além de serem submetidas a abordagem fitoquímica também foram analisadas por CLAE/UV-Vis (Figura 4, 5 e 6) demonstrando que de acordo com a polaridade do solvente houve uma redistribuição das substâncias presentes no extrato. A fração hexânica (HP110) em sua prospecção fitoquímica apresentou-se fortemente positiva para triterpenos (Reação Liberman-Buchard) e quando submetida a análise por CLAE/UV-Vis (Figura 4) apresentou um pico com Tempo de retenção (Tr) em 108,403 min o qual foi idêntico ao padrão do ácido oleanólico. Sendo assim, sugerimos que o ácido oleanólico seja um dos componentes químicos presentes na fração hexânica. Uma vez que triterpenos, como ácido ursólico e ácido oleanólico já foram isolados de partes de *Jacaranda decurrens* (PEREIRA et al., 2007; CARVALHO et al., 2009) e possuem atividade antioxidante (LIU, 1995), o ácido oleanólico é um dos componentes que contribui para atividade antioxidante desse vegetal.

O extrato P110 foi submetido à análise por CLAE-DAD-ESI-EM/EM para identificação química dos seus constituintes baseados na fragmentação dos íons no modo negativo $[M - H]^-$ comparados aos descritos na literatura. Os compostos identificados foram destacados no cromatograma do extrato P110 ilustrado na Figura 7.

Conforme demonstrado na Tabela 3, o espectrômetro de massas demonstrou picos com Tempo de retenção (Tr) em 21,1; 23,8; 29,6; 30,1; 32,5; 35; 36,1; 36,7; 38,9; 42,5; 43; 43,7; 62,1; 108,9; 109; 110,9; 111; 113,6; 113,8; 114,0; 117,4 min. Foram denominados respectivamente de compostos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22, conforme ilustrado na Tabela 2. Alguns compostos foram identificados por meio da interpretação de seus padrões de fragmentação do espectro de massa obtido no modo negativo $[M - H]^-$.

O composto 1 exibiu íon molecular m/z 639 que provavelmente devido a perda de uma molécula de H_2O (18 δ) gerou o íon fragmento m/z 621 perdendo posteriormente 32 δ e originando outro íon fragmento m/z 459 sendo denominado de ácido cafeoil que é compatível com os resultados de Ferreres et al. (2013) quando identificou essa substância em folhas de *Jacaranda caroba*.

O espectro de massas do composto 2 apresentou no espectro de massa íon molecular m/z 595 $[M - H]^-$ que se fragmentou a m/z 299,8 e 342,9, sendo característico de quercetina pentosídeo-hexosídeo.

O composto 3, observou-se a presença de uma substância que deu origem a um íon desprotonado m/z 609, o qual perdeu provavelmente uma glicona (308 δ) resultando no surgimento de um fragmento 301 (aglicona) possivelmente pela perda de uma glicose e uma ramnose, sendo então identificado como rutina (quercetina-O-rutinosídeo) (BASTOS et al., 2007; MAGNANI, 2007). Myjavcová et al. (2010) encontraram o mesmo padrão de fragmentação característico da rutina em frutos da *Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*.

O composto 4 foi identificado como quercetina-hexosídeo, já que o íon molecular m/z 463 gerou o íon fragmento m/z 301 provavelmente pela perda de uma hexose (162 δ), o que poderia corresponder a uma glucosídeo ou galactosídeo, já o íon m/z 151 é característico da fragmentação de um padrão da quercetina (SANTOS, 2012). Esse tipo de fragmentação também foi encontrado por Mena et al. (2012) no suco de Romã e por Chen et al. (2012) na erva medicinal chinesa *Taraxacum formosanum* Kitam, descrita na literatura por sua ação anti-inflamatória, antioxidante e antiproliferativa. O fruto da *Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*. estudado por Myjavcová et al. (2010) também apresentou dentre os seus constituintes a quercetina-hexosídeo, assim como alguns membros do gênero *Rhododendron* (JAISWAL, JAYASINGHE, KUHNERT, 2012).

O espectro de massas do composto 5 apresentou íon molecular m/z 487 $[M - H]^-$ compatível com a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_5$ que gerou o íon fragmento m/z 469

provavelmente pela perda de uma molécula de água ($H_2O - 18 \delta$) sofrendo uma descarboxilação (CO_2) resultou no íon fragmento m/z 425 sendo característico do ácido arjunólico (ácido 2α , 3β , 23-triidroxiolean-12-em-28-oico) conforme literatura pesquisada (DJOUKENG et al., 2005; SONG et al., 2006).

O espectro de massas do composto 6 exibiu íon fragmento m/z 471 compatível a fórmula $C_{30}H_{48}O$, sendo identificado como ácido 2α -hidroxioleanólico de acordo com os achados de Djoukeng et al. (2005).

Conclusão

O extrato P110 e frações (AP110, DP110 e HP110) das folhas de *Jacaranda decurrens* demonstraram ter atividade antioxidante, sendo seus resultados bem semelhantes com exceção da fração HP110. A fração AP110 apresentou o maior teor de compostos fenólicos (80,41%). Na fração HP110 houve um pico em 108,403 min coincidente com o padrão do ácido oleanólico, sugerindo assim que esse composto faz parte da composição química do vegetal. A análise dos espectrômetros de massa constatou a presença de derivado do ácido dicafeoil, quercetina-pentosideo-hexosídeo, rutina, quercetina- β -glicosídeo, ácido arjunólico e ácido 2α -hidroxioleanólico que comprovam a presença de compostos fenólicos e flavonoides na espécie estudada e destina a eles a ação antioxidante do vegetal.

Referências

ABREU, B. V. B. et al. Quantificação de polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith coletado no cerrado maranhense. **Revista de Ciências da Saúde**, v.8, n.1, p.18-24, Jun. 2006.

AMARAL, F.M.M. **Potencial giardicida de espécies vegetais: aspectos da etnofarmacologia e bioprospecção**. 2007. 346f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

ARRUDA, A. L. A. **Contribuição ao estudo da atividade biológica da *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae)**. 2009. 121f. Tese (Doutorado em Produtos Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

BASTOS, D. H. M. et al. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. **Molecules**, v.12, p. 423-432, 2007.

BLATT, C. T. T.; SANTOS, M. D. ; SALATINO, A. Flavonoids of *Bignoniaceae* from the "cerrado" and their possible taxonomic significance. **Plant Systematics and Evolution**, v.210, p. 289-292, 1998.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSERT, C. Use of a tree radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRAGA, F. C. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.v. 13, supl. 2, p.28-31, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Interministerial n. 2.960 de 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 Dez. 2008.

CARRIM, A. J. I.; BARBOSA, E. C.; VIEIRA, J. D. G. Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n. 3, p. 353-359, May, 2006.

CARVALHO, C. A. **Avaliação do potencial antifúngico, antioxidante e citotóxico dos extratos de *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha)**. 2007. 79f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo, 2007.

CARVALHO, C.A. et al. Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2B, p. 592-598, Abr./Jun. 2009.

CHEN, H. J. Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. **International Journal Molecular Sciences**, v. 13, p. 260-285, 2012.

CUNHA, M. S. et al. Padronização de extrativos de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba). **Cadernos de Pesquisa**, v. 16, n. 3, p. 31-38, 2009.

DJOUKENG, J. D. et al. Antibacterial triterpenes from *Syzygium guineense* (Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.101, p.283-286, 2005.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. rev. amp. São Paulo: Unesp, 2002, 604 p.

DUTRA, R. P. et al. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (Tiúba) em municípios da Baixada Maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 4, p. 557-562, 2008.

ENDRINGER, D.C., et al. Evaluation of Brazilian plants on cancer chemoprevention targets in vitro. **Phytotherapy Research.**, v.24, p. 928–933. 2010.

FEITOSA, Antonio Cordeiro. **Dinâmica dos processos geomorfológicos da área costeira a nordeste da ilha do Maranhão**. Rio Claro: IGCE-cp-UNESP, 1996. 249p.

FERRERES, F. Phenolic compounds from Jacaranda caroba (Vell.) A. DC.: Approaches to neurodegenerative disorders. **Food and Chemical Toxicology**, v. 57, p. 91-98, Mar. 2013.

FERRI, M.G. **Plantas do Brasil: espécies do Cerrado**. Ed. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, Brasil, 1969. 239 p.

JAISWAL, R.; JAYASINGHE, L.; KUHNERT, N. Identification and characterization of proanthocyanidins of 16 members of the Rhododendron genus (Ericaceae) by tandem LC-MS. **Journal of Mass Spectrometry**, v.47, n.4, p.502-515, 2012.

LIU, J. Oleanolic acid and ursolic acid: Research perspectives. **Journal of Ethnopharmacology**. v.100, p. 92-94, 2005.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3 ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009, 148 p.

MAURO, C. et al. Estudo anatômico das espécies de cerrado *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (catuaba), *Zeyheria Montana* Mart. (bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba) – Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.2, p. 262-265, Abr./Jun. 2007.

MYJAVCOVA, R. Analysis of anthocyanin pigments in Lonicera (Caerulea) extracts using chromatographic fractionation followed by microcolumn liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1217, p. 7932-7941, 2010.

OLIVEIRA, T.B. et al. Estudo farmacognóstico das raízes de *Jacaranda decurrens* Cham. (carobinha). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p. 54-55, 2003.

PEREIRA, A. M. S. *Jacaranda decurrens* In: **Recursos genéticos conservação de plantas medicinais do cerrado**. Ed. Ana Maria Soares Pereira. Legis Summa: Ribeirão Preto-SP, 360 p. 2007.

PEREIRA, Y. N. O. **Avaliação da atividade larvicida de produtos naturais contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)**. 2011. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

PRADO JUNIOR, F. Ação dos extratos de *Jacaranda decurrens*, de *Nectandra pichury* e de *Simaruba officinalis* sobre *Entamoeba histolytica*. **Brasil Médico**, n. 6, 1949.

RIBEIRO, E. M. G. **Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca**. 2011. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001.

SANTOS, J. A. et al. Anti-inflammatory effects and acute toxicity of hydroethanolic extract of *Jacaranda decurrens* roots in adult male rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.144, p. 802-805, 2012.

SANTOS, S. A. O. Compostos fenólicos a partir de subprodutos da indústria florestal. 2012. 262f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de Aveiro, Portugal, 2012.

SILVA, E. C. *Jacaranda decurrens* Cham.: ensaios químicos e biológicos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos. 2013. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

SILVA, M.I.G.et al. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 455-462, 2006.

SONG, M. et al. Determination of oleanolic acid in human plasma and study of this pharmacokinetics in chinese healthy male volunteers by HPLC tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, p.190-196, 2006.

TRESVENZOL, L. M. et al. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n.1, p. 23-28, 2006.

VARANDA, E. M. et al. Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphys graminum*. **Journal of Natural Products**, v.55, n. 6, p. 800-803, Jun. 1992.

ZATTA, D. T. et al. Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. **Latin American Journal of Pharmacology**, v. 28, n. 4, p.485-489, 2009.

Anexo A – ILUSTRAÇÕES REFERENTES ÀS FIGURAS E TABELAS

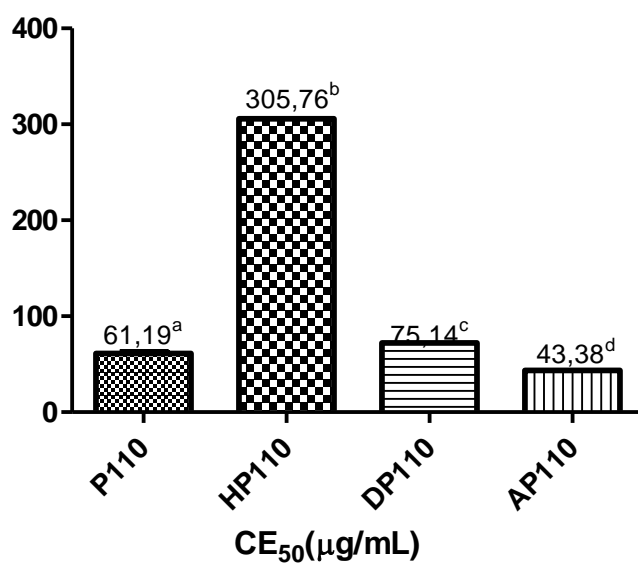


Figura 1. Atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtido por Percolação na relação hidromódulo 1:10 e frações hexânica, diclorometânica e acetato de etila.

* Resultados expressos como média dos ensaios de atividade antioxidante realizados em triplicata nos extrato hidroalcoólico do percolado na relação de hidromódulo 1:10 (P110) e frações com hexano (HP110), diclorometano (DP110) e acetato de etila (AP110). Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,0001$), ANOVA (Newman-Keuls).

Tabela 1- Avaliação qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos no extrato hidroalcoólico das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. obtido por percolação na relação hidromódulo de 1:10 (P110) e frações hexânica (HP110), diclorometânica (DP110) e acetato de etila (AP110).

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	RELAÇÃO PROCESSO EXTRATIVO/HIDROMÓDULO/SOLVENTE			
	P110	HP110	DP110	AP110
	Alcaloides*	- ^a	-	-
Cumarinas	-	-	-	-
Fenóis	+++	-	-	+++
Resinas	++	-	-	+
Saponinas	++	-	++	++
Taninos condensados	+++	-	-	-
Esteroides	+++	+++	+++	-
Triterpenos	+	-	-	-
Flavononóis	+++	-	-	++
Flavononas	+++	-	-	+++

^a Critérios adotados para expressar intensidade de resultados: +++ reação fortemente positiva; ++ reação moderadamente positiva; + reação fraca; - negativo.

*Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação qualitativa e semi-quantitativa de constituintes químicos realizados em duplicata no extrato hidroalcoólico das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham obtidos por percolação na relação de hidromódulo 1:10 (P110) empregados neste estudo e frações hexânica (HP110), diclorometânica (DP110) e acetato de etila (AP110).

Tabela 2 - Teores de polifenóis e flavonoides totais no extrato hidroalcoólico e frações de *Jacaranda decurrens* Cham.

EXTRATO E FRAÇÕES	POLIFENÓIS TOTAIS (%) ^{a,b}	FLAVONOIDES TOTAIS (%) ^{a,c}
P110	57,82 ± 0,03 ^d	4,77 ± 0,04 ^d
HP110	13,10 ± 0,01 ^e	2,00 ± 0,75 ^e
DP110	44,21 ± 0,01 ^f	4,43 ± 0,41 ^d
AP110	80,41 ± 0,03 ^g	3,07 ± 0,32 ^f

(a) Resultados expressos como médias ± desvio padrão dos ensaios de avaliação quantitativa para flavonoides totais e polifenóis totais do percolado na relação de hidromódulo de 1:10 (P110) e das frações hexânica (HP110), diclorometânica (DP110) e acetato de etila (AP110) de *Jacaranda decurrens* Cham. do município de São Raimundo das Mangabeiras, Maranhão, (n:3), (b) expresso como equivalente de ácido gálico; (c) expresso como equivalente de quercetina. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$), ANOVA (Tukey).

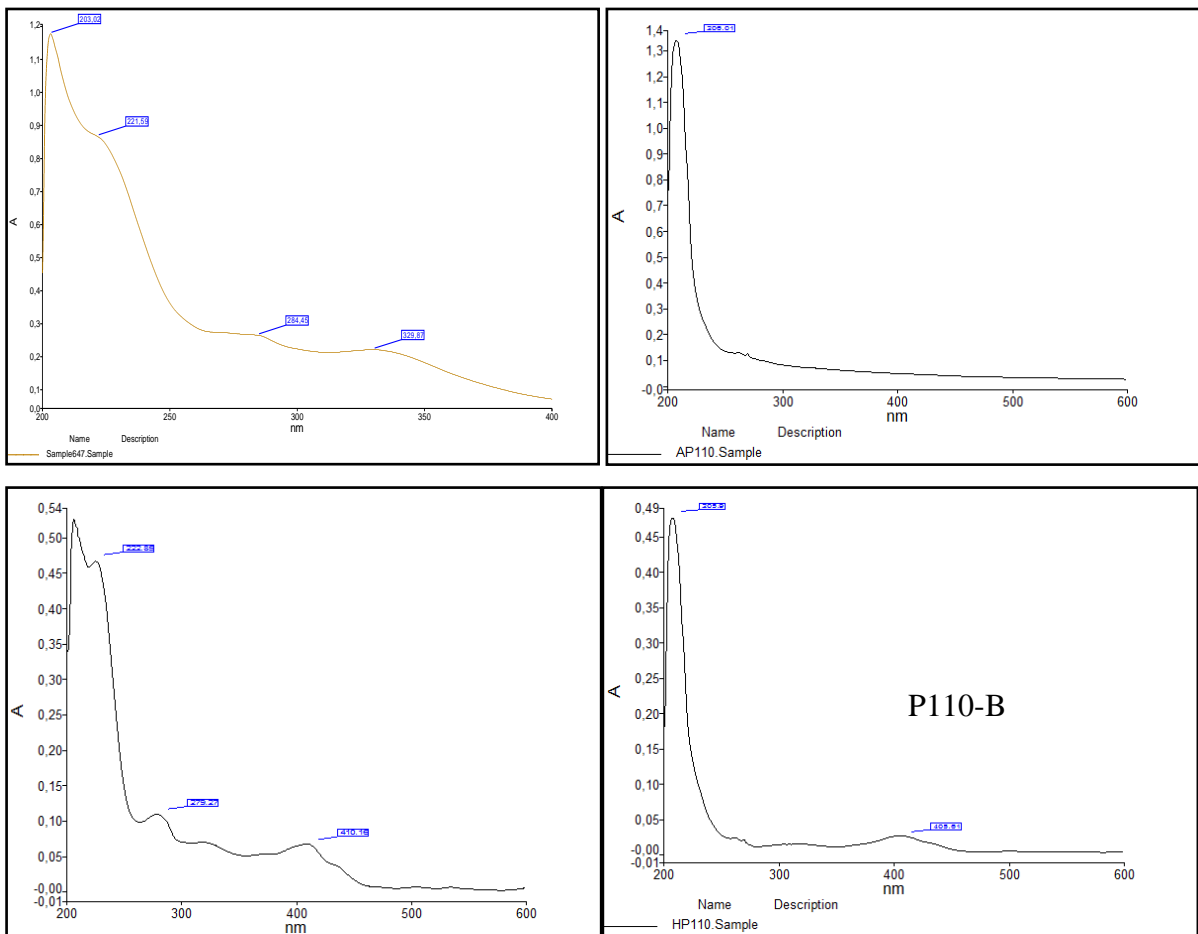


Figura 2 - Espectros de absorção na região do UV-Vis do extrato hidroalcoólico e das frações acetato, diclorometano e hexânica das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. do município de São Raimundo das Mangabeiras Maranhão, Brasil. A(absorbância) e λ_{max} (comprimento de onda máximo em nm).

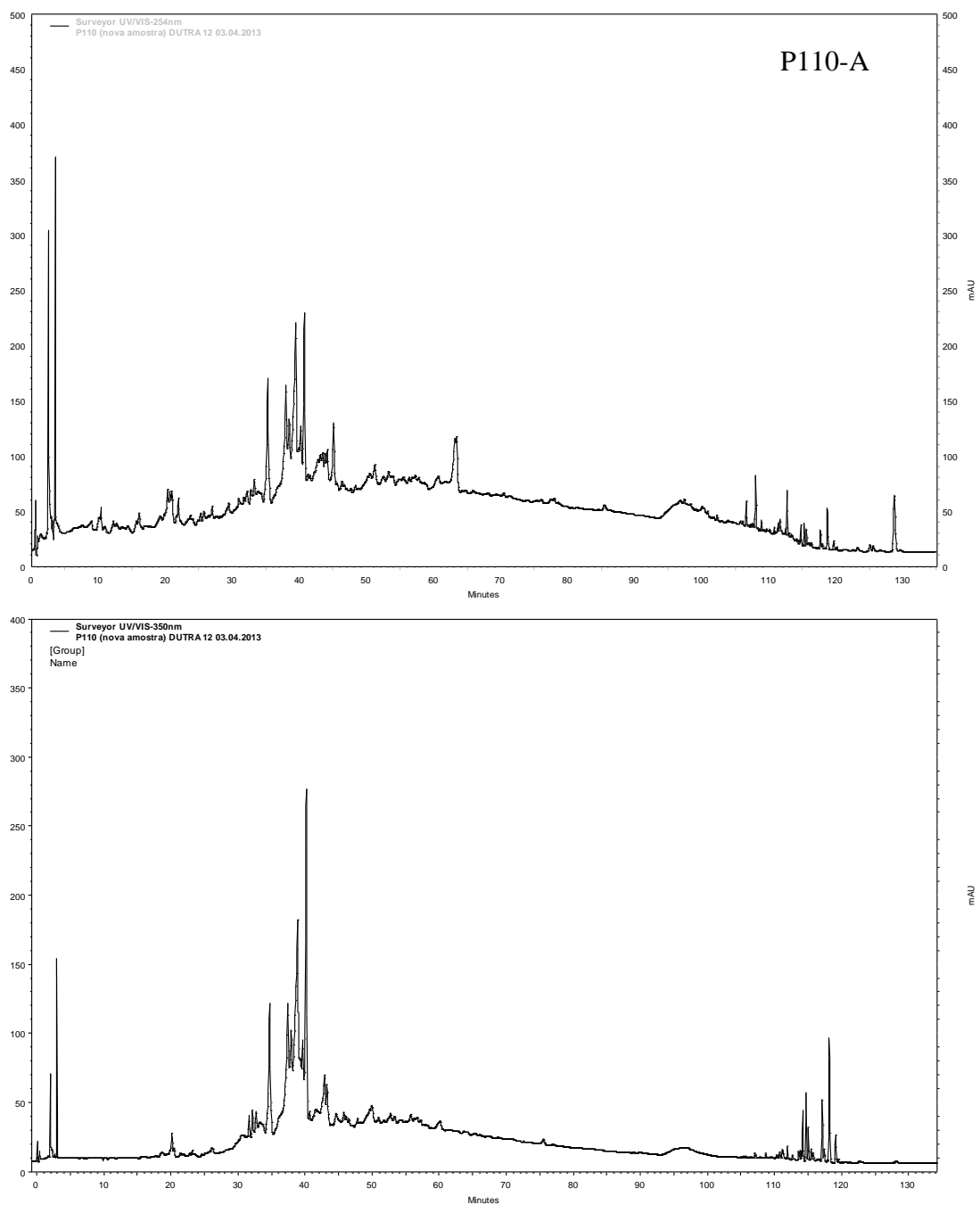


Figura 3. Perfil cromatográfico do extrato obtido por percolação na relação de hidromódulo 1:10 (P110) de *Jacaranda decurrens* Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).

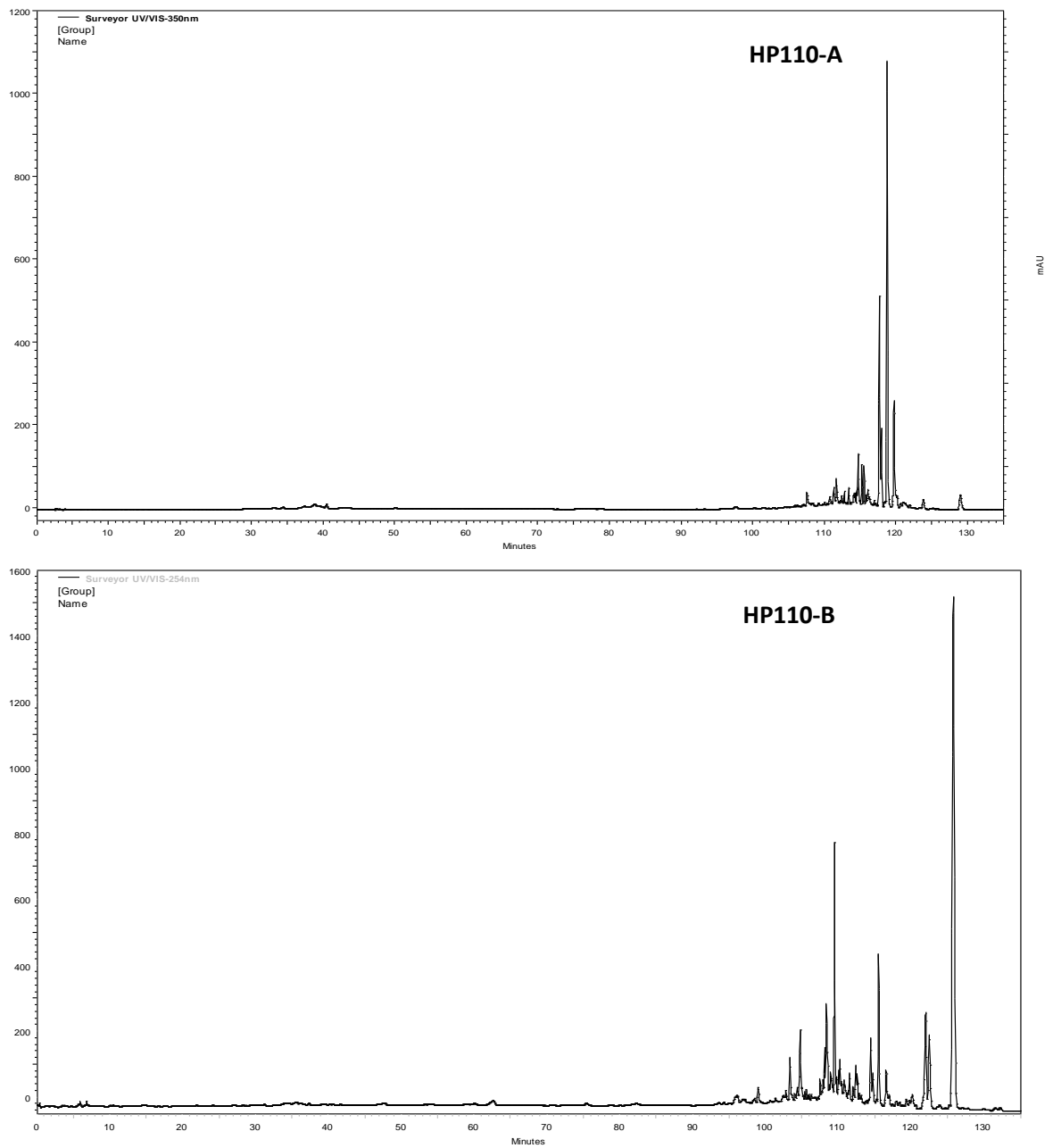


Figura 4. Perfil cromatográfico da fração hexânica (HP110) do percolado das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).

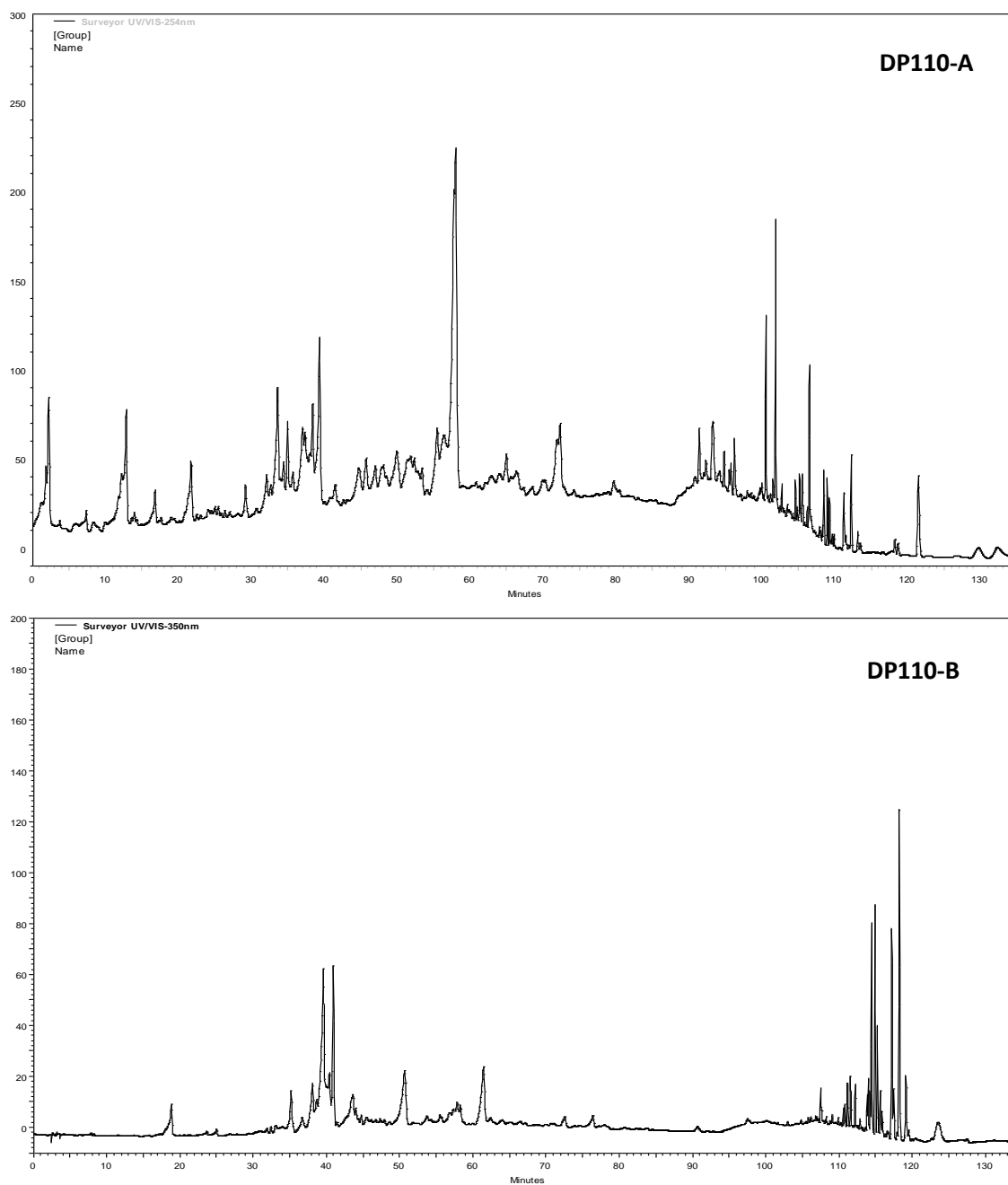


Figura 5. Perfil cromatográfico da fração diclorometânica (DP110) do percolado das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).

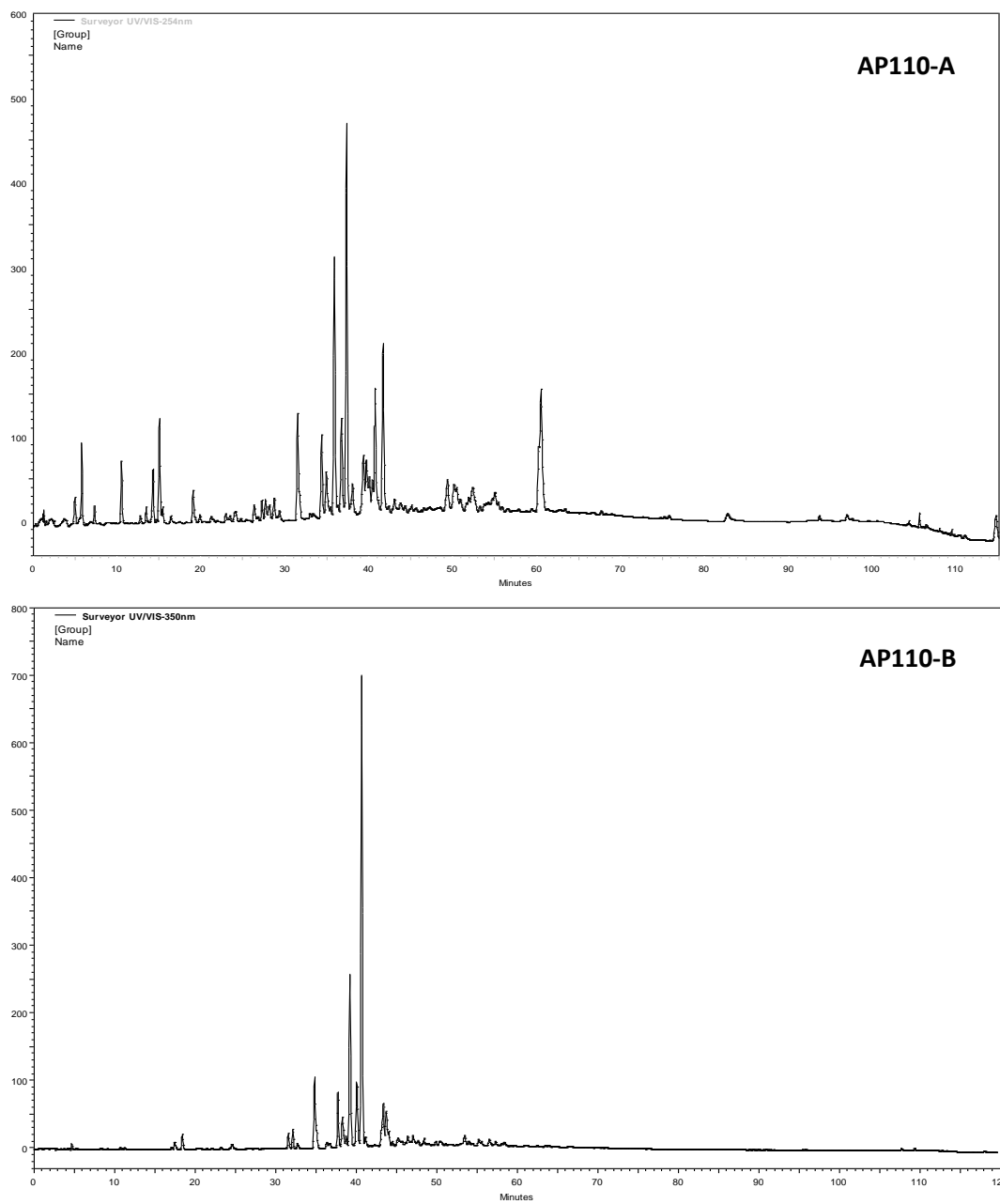


Figura 6. Perfil cromatográfico da fração acetato de etila (AP110) do percolado das folhas de *Jacaranda decurrens* Cham. por CLAE-UV-Vis. nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 350 nm (B).

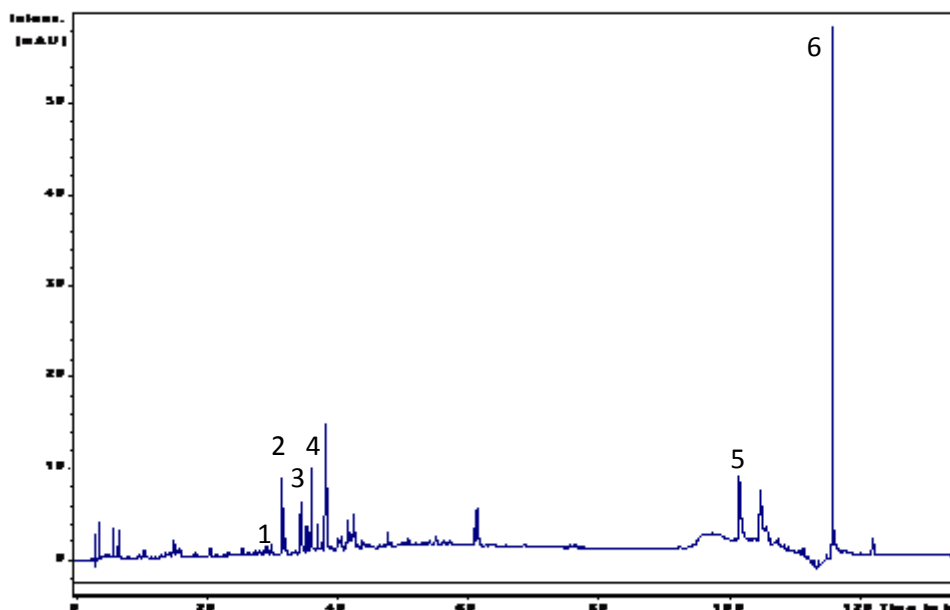


Figura 7. Perfil cromatográfico do extrato hidroalcoólico obtido por percolação na relação hidromódulo 1:10 (P110) das folhas de *Jacaranda decurrens*. Os números indicam os compostos identificados.

Tabela 3- Compostos identificados no extrato hidroalcoólico de *Jacaranda decurrens* obtido por percolação na relação de hidromódulo 1:10 (P110) por CLAE-DAD-ESI-EM/EM.

Composto	Tr	[M - H] ⁻ m/z	MS ² fragmentação	Compostos Identificados
1	29,6 min	638,9	457,4; 620,9	Ácido cafeoil
2	32,5 min	595,0	299,8; 342,9	Quercetin-pentoside-hexoside
3	35 min	609,0	242,9; 271,0; 300,9; 342,8	Rutina
4	36,7 min	462,9	150,6; 300,9	Quercetin-3-β-glicosideo
5	101,8 min	487,3	424,9; 469,0	Ácido arjunólico
6	117,4 min	613,3	283,1	Ácido 2α-hidroxioleanolico

^a Abreviação usada na tabela: [M-H]⁻ íon molecular; Tr, tempo de retenção.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através do presente estudo foi possível constatar a atividade antioxidante e giardicida de *Jacaranda decurrens* evidenciando seu potencial para o avanço na pesquisa e desenvolvimento de alternativas terapêuticas especialmente na obtenção de agentes giardicida.

Verificou-se também que as variáveis como, método extrativo e relação de hidromódulo, empregados influenciam diretamente a concentração de metabólitos secundários no vegetal. Sendo, portanto, necessário a padronização para obtenção de produtos uniformes com propriedades terapêuticas de elevada qualidade.

Enfim considerando o uso popular da *Jacaranda decurrens* no tratamento da diarreia, a comprovação científica do seu potencial giardicida e que a mesma integra a lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde, estudos com essa espécie são fundamentais como parâmetro de qualidade, garantindo ao usuário eficácia e segurança do produto.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.18, n.3, p. 472-508, Jul./Set. 2008.
- ALMEIDA, R. P.; SCHEFFER, T. P. Estudo sobre a utilização de recursos vegetais com potencial terapêutico. **Revista de Saúde Pública de Santa Catarina**, Florianópolis, v. 5, n. 1, jan./abr. 2012.
- AMARAL, F.M.M. **Potencial giardicida de espécies vegetais: aspectos da etnofarmacologia e bioprospecção**. 2007. 346f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.
- AMOROZO, M. C. M. Uso e Diversidade de Plantas Medicinais em Santo Antonio de Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasileira**, v. 16, p.189-203, 2002.
- ARRUDA, A. L. A. **Contribuição ao estudo da atividade biológica da *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae)**. 2009. 121f. Tese (Doutorado em Produtos Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- BACCHI, E. M. Ação anti-úlceras e cicatrizante de algumas plantas brasileiras. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.1, n.1, 1986.
- BAIDA, R.;CHAMORRO, C. G. A. Doenças entre indígenas do Brasil nos séculos XVI e XVII. **Revista História em Reflexão**. v. 5, n.9, p. 1-24, Jan./ Jun., 2011.
- BARA, M. T. F. et al. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.211-215, 2006.
- BARBOSA, A. P. O crescimento de duas espécies florestais pioneiras, pau-de-balsa (*Ochromalagopussw.*) e caroba (*Jacaranda copaia* D. Don), usadas para recuperação de áreas degradadas pela agricultura na Amazônia Central, Brasil. **Acta Amazônica**. v. 33, n.3, p. 477-482, 2003.
- BARRETO, B. B.; et al. Uso de Fitoterápicos em Medicina Popular. **Interagir: pensando a extensão**, Rio de Janeiro, n. 11, p. 57-62, jan./jul. 2007
- BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A Fitoterapia no âmbito da Atenção Básica no SUS: realidades e perspectivas. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr** v. 12, p.293-296, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RE nº 89, de 16 de março de 2004. **Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos**. Brasília, 2004.
- _____. _____. Portaria Interministerial n. 2.960 de 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 Dez. 2008.

- CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.37, n.3, p. 281-288, Mar. 2002.
- CARRIM, A. J. I.; BARBOSA, E. C.; VIEIRA, J. D. G. Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.49, n. 3, p. 353-359, May, 2006.
- CARVALHO, C. A. **Avaliação do potencial antifúngico, antioxidante e citotóxico dos extratos de *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha)**. 2007. 79f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo, 2007.
- CARVALHO, C.A. et al. Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2B, p. 592-598, Abr./Jun. 2009.
- CASALI, V.W.D., OLIVEIRA, J.E.Z., AMARAL, C.L.F. *Plantas Mediciniais e Aromáticas: Avanços no Melhoramento Genético*. Viçosa. UFV, Departamento de Fitotecnia, 2001. 155p.
- CASTELLUCCI, S.; LIMA, M. I. S.; NORDI, N.; MARQUES, J. G. W. Plantas Mediciniais Relatadas pela Comunidade Residente na Estação Ecológica de Jataí, Município de Luís Antônio/SP: uma abordagem etnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** , v.3, p.51-60, 2000.
- CESAR, A. T. et al. *Jacaranda caroba*, medicamento de Mure. **Cultura Homeopática**, v.3, n.6, Jan./Fev./Mar. 2004.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. rev. amp. São Paulo: Unesp, 2002, 604 p.
- CORREA, J. E.; BERNAL, H. Y. **Especies vegetales promisorias de los países Del Convenio André Bello**. Secretaria Ejecutiva Del convenio André bello (SECAB), v. 2. Ed. Guadalupe, Bogotá, 195-196, 1989.
- COSTA, R. S. et al. Caracterização morfológica de folhas e flores de espécies de *Jacaranda* (Bignoniaceae), cultivadas em Jaboticabal – SP. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v.11, n. 1, Set. 2011.
- COSTA-CAMPOS, L. et al. Antibacterial activity of hydroalcoholic extracts of *Jacaranda puberula* Cham. (Bignoniaceae) and *Sorocea bonplandii* Baill. (Moraceae). **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 6, n.21, p. 3705-3710, 9 Jun. 2012.
- DARABAS, A. M. et al. *Casearia sylvestris* SW. (Salicaceae) e *Jacaranda puberula* Cham. (Bignoniaceae): uso popular versus literatura científica. **Visão acadêmica**. v. 10, n.1, Jan./Jun. 2009.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. rev. amp. São Paulo: Unesp, 2002, 604 p.
- ETTORI, L.C.; et al. **Index seminum**. São Paulo: Instituto Florestal, 1988, 42 p.

FARIAS, R. PROENÇA, C. *Jacaranda decurrens* subs. *Symmetrifoliata* FARIAS & PROENÇA (Bignoniaceae), novo táxon para o Bioma Cerrado. **BRADEA – Boletim do Herbarium Bradeanum**, Rio de Janeiro, v. 11, n.2 , p. 5 – 9, 2003.

FERGUSON, N. M.; LIEN, E. J. A flavonol neoherperidoside from *Jacaranda acutifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 523-524, 1982

FERRERES, F. et al. Phenolic compounds from *Jacaranda caroba* (Vell.) A. DC.: approaches to neurodegenerative disorders. **Food and Chemical Toxicology**, mar. 2013.

FERRI, M.G. **Plantas do Brasil: espécies do Cerrado**. Ed. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, Brasil, 1969. 239 p.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae - Part I. Flora neotropica, 25**. New York Botanical Garden New York, 1980. p.38-39.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae - Part II-(Tribe Tecomeae).Flora neotropica, 25**. New York Botanical Garden: New York, 1992. 370 p.

GUERREIRO, C.P.V.; MING, L.C.; MARCHESE, J.A. Production of aerial and underground biomass of carobinha (*Jacaranda decurrens* Cham. – Bignoniaceae) at different harvest times. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.esp., p.80-82, 2006.

GACHET, M. S. et al. Jacaranone-Derived Glucosidic Esters from *Jacaranda glabra* and Their Activity against *Plasmodium falciparum*. **Journal of Natural Products**. v. 73, p. 553–556, 2010.

GACHET, M. S.; SCHUHLY, W. *Jacaranda*—An ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 121, p.14–27, 2009.

GIRALDI, M.; HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 24, n.2, p. 395-406, 2010.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, p.374-381, 2007.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Nova Odessa: Editora Plantarum, v. 1, p. 41, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. São Paulo: Plantarum, 2002.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas medicinais usadas para tratamentos dermatológicos, em comunidades da Bacia do Alto Paraguai, Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.14, p. 40-44, 2005.

MACIEL, M. A.; PINTO, A. C.; VEIGA, J. R.; GRYNBERG, N. F. Plantas Mediciniais: a necessidade dos estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25: 429-438, 2002.

MARTINS Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.600-607, out./dez. 2008.

MAURO, C. et al. Estudo anatômico das espécies de cerrado *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza (catuaba), *Zeyheria Montana* Mart. (bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba) – Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.2, p. 262-265, abr./jun. 2007.

MIGLIATO, K. F. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Química Nova** v.34, p.695-699, 2011.

MOHARRAM, F. A.; MARZOUK, M. S. A. A novel phenylethanoid dimer and flavonoids from *Jacaranda mimosaeifolia*. **Zeitschrift für Naturforschung B**, v. 62, p. 1213-1220, 2007.

MUNDIM, T. G. **Avaliação de espécies nativas usadas na revegetação de áreas degradadas no Cerrado**. 2004. 100f. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

NICASIO, P.; MECKES, M. Hypotensive effect of the hydroalcoholic extract from *Jacaranda mimosaeifolia* leaves in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 301-304, 2005.

OGURA, M. et al.. Jacoumaric acid, a new triterpene ester from *Jacaranda caucana*. **Phytochemistry**, v.16, p. 286 – 287, 1977a.

OGURA, M.; CORDELL, G.A.; FARNSWORTH, R. Potential anticancer agents. IV. Constituents of *Jacaranda caucana* Pittier (Bignoniaceae). **Lloydia**, v. 40, n.2, p. 157-168, 1977b.

OLIVEIRA, C.J.; ARAÚJO, T. L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, p.93-105, 2007.

OLIVEIRA, T.B. et al. Estudo farmacognóstico das raízes de *Jacaranda decurrens* Cham. (carobinha). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p. 54-55, 2003.

PASSERO, L.F. et al. Anti-leishmania activity of semi-purified fraction of *Jacaranda puberula* leaves. **Parasitology Research**, v.101, n.3, p.677-680, mar. 2007.

PEREIRA, A. M. S. *Jacaranda decurrens* In: **Recursos genéticos conservação de plantas medicinais do cerrado**. Ed. Ana Maria Soares Pereira. Legis Summa: Ribeirão Preto-SP, 2007. 360 p.

PEREIRA, Y. N. O. **Avaliação da atividade larvicida de produtos naturais contra *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)**. 2011. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2011.

PRADO JUNIOR, F. Ação dos extratos de *Jacaranda decurrens*, de *Nectandra pichury* e de *Simaruba officinalis* sobre *Entamoeba histolytica*. **Brasil Médico**, n. 6, 1949.

PRAKASH, L.; GARG, G. Chemical examination of the root barks of *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don and *Tabebuia pentaphylla* (Linn.) Hemsl. **Pharmazie**, v.35, p. 649, 1980.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: Embrapa, 1994, 320 p.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001.

ROTH, L. ; LINDORF, H. South American medicinal plants. **Springer**, New York, p. 45-46, 2002.

SANGALLI, A.; SCALON, S. P. Q.; VIEIRA, M. C. Cor, temperatura e pré-embebição na germinação de sementes de carobinha (*Jacaranda decurres* sub. *symmetrifoliolata* Farias & Proença) Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, p.79-85.

SANGALLI, A.; VIEIRA, M.C.; ZÁRATE, N.A.H. Levantamento e caracterização de plantas medicinais nativas com propriedades medicinais em fragmentos florestais e de cerrado, em Dourados-MS, numa visão etnobotânica. **Acta Horticulturae**, n.569, p.173-84, 2002.

SANGALLI, A. et al . Cor, temperatura e pré-embebição na germinação de sementes de carobinha (*Jacaranda decurres* sub. *symmetrifoliolata* Farias & Proença) Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.1, p.79-85, 2004. SANGALLI, A. et al . Desenvolvimento e produção da carobinha (*Jacaranda decurrens* Cham. subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença) cultivada sob dois arranjos de plantas, com ou sem cobertura de cama-de-frango no solo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p.439-446, 2011.

SANGALLI, A et al. Morfometria de frutos e sementes e germinação de carobinha (*Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença), após o armazenamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.2, p.267-275, 2012.

SANKARA-SUBRAMANIAN, S.; NAGARAJAN, S.; SULOCHANA N. Hydroquinone Fromm the leaves of *Jacaranda mimosaeifolia*. **Phychemistry**, v. 12, 220-221, 1972.

SANTOS, P. M . L. e tal. Antioxidant activity from the leaf extracts of *Jacaranda puberula* Cham., Bignoniaceae, a Brazilian medicinal plant used for blood Depuration. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.20, n.2, p.147-153, Abr./Mai. 2010.

SANTOS, J. A. et al. Anti-inflammatory effects and acute toxicity of hydroethanolic extract of *Jacaranda decurrens* roots in adult male rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v.144, p. 802-805, 2012.

SAUVAIN, M. *In vitro* and *in vivo* leishmanicidal activities of natural and synthetic quinoids. **Phytotherapy Research**, v.7, p.167-171, 1993.

SILVA, E. C. ***Jacaranda decurrens* Cham.:** ensaios químicos e biológicos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos. 2013. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2013.

SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germination of *Jacaranda mimosifolia* (D Don – Bignoniaceae) seeds: effects of light, temperature and water stress. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, p. 785 – 792, 2004.

SOUSA, F. C.F. et al. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 642-654, out./dez. 2008.

TAYLOR, P.G. et al. Evaluation of Venezuelan medicinal plant extracts for antitumor and antiprotease activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, p. 349-362, 2006.

TOMAZI, L.B.; ROSSATO, A.E. **Estudo etnobotânico das árvores medicinais do Parque Ecológico Municipal José Milanese**. 2008. 29p. Trabalho de Conclusão de Curso. Departamento de Farmácia, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma.

TRESVENZOL, L. M. et al. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 3, n.1, p. 23-28, 2006.

VARANDA, E. M. et al. Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. **Journal of Natural Products**, v.55, n. 6, p. 800-803, Jun. 1992.

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

VIEIRA, M. C. et al. Análise de crescimento de *Jacaranda decurrens* Cham. ssp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença em função de espaçamentos entre plantas. **Revista Brasileira de Agroecologia**.v. 3, supl., p. 103-106, 2008.

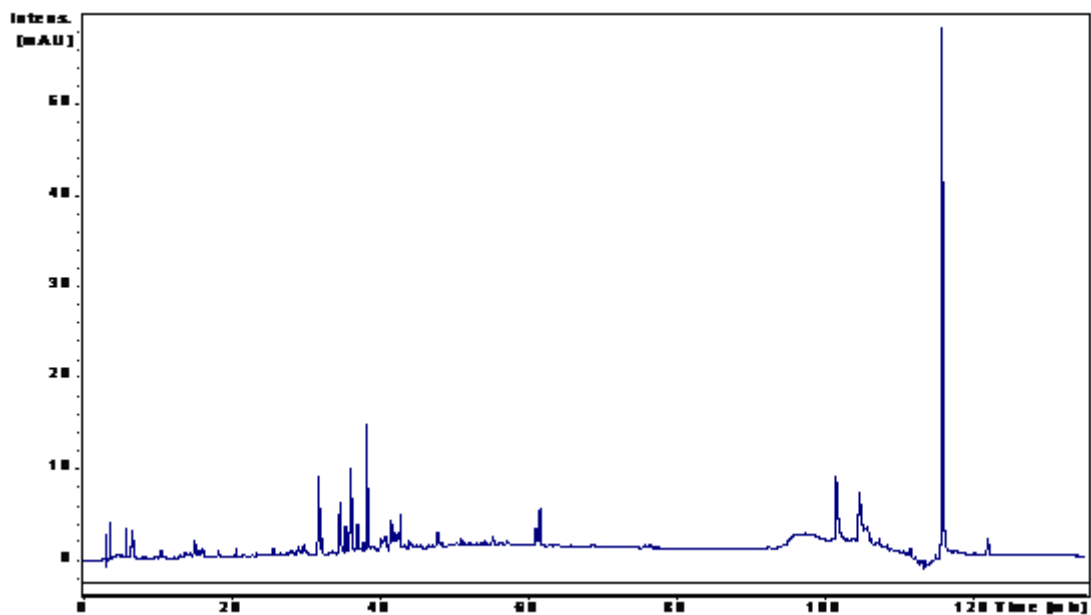
VILA VERDE, G. M.; PAULA, G. R.; CARNEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 64-66, 2003.

WENIGER, B. et al. 1986. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.78, p.193-200, 2001.

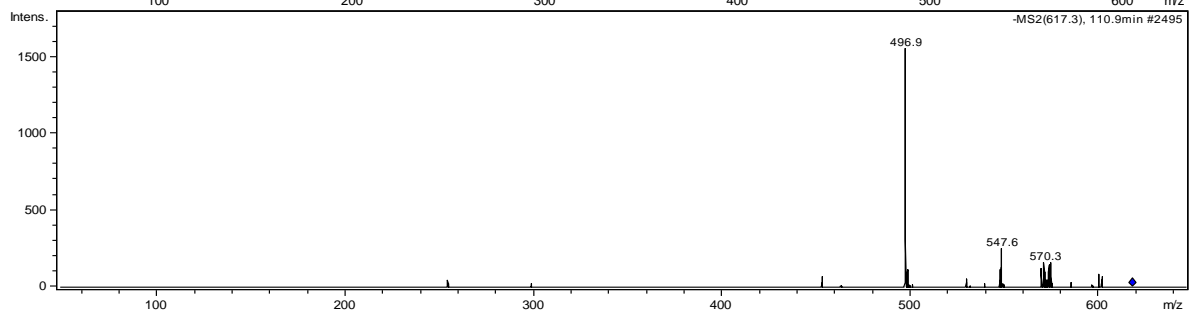
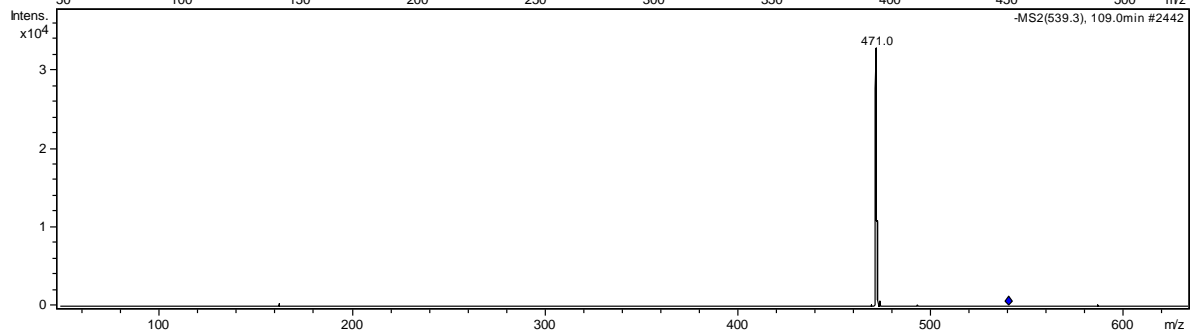
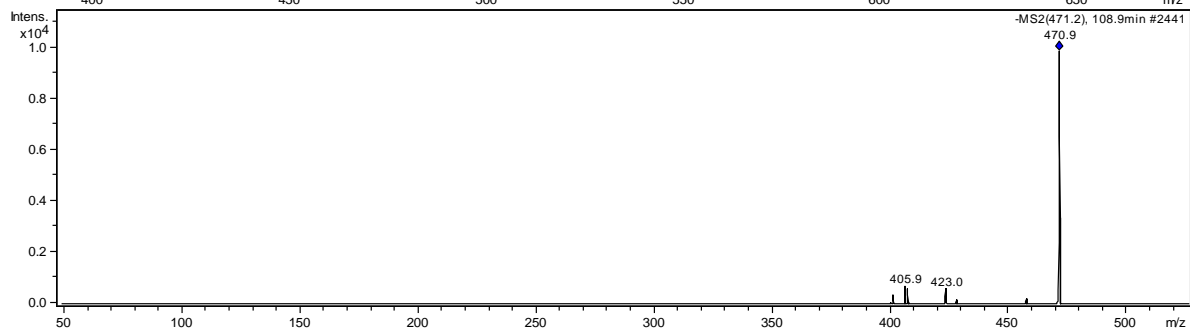
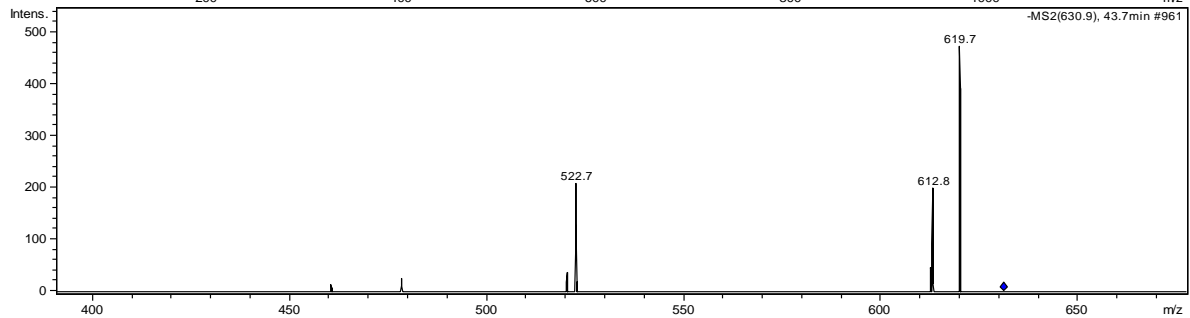
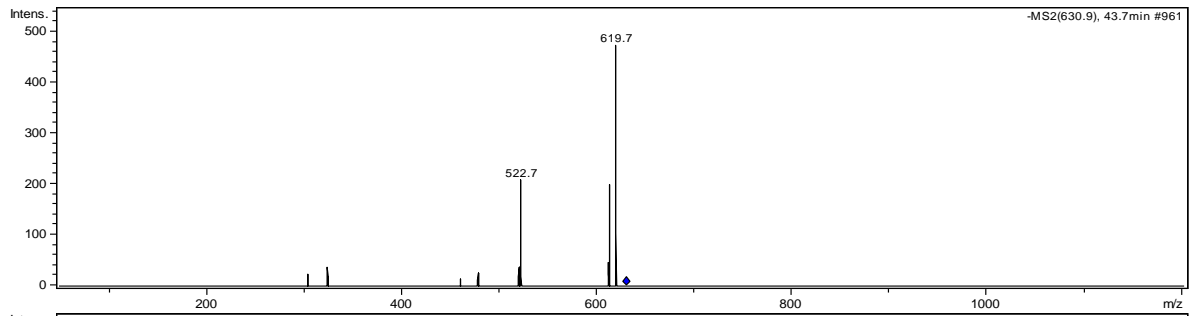
WORLD HEALTH ORGANIZATION. Traditional medicine. Genebra: WHO, 2003. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>>. Acesso em: 2 fev. de 2013.

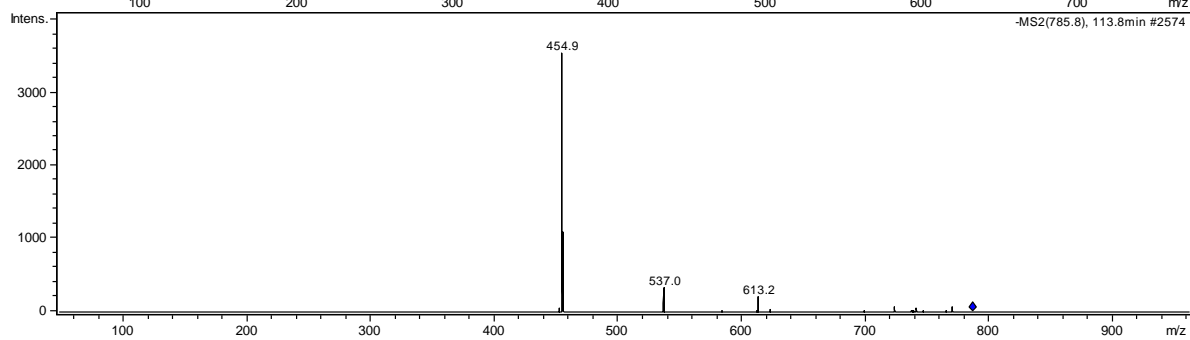
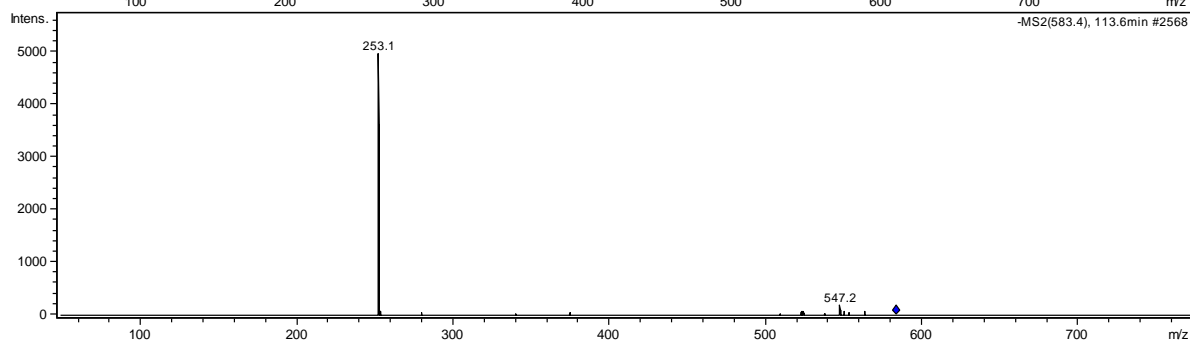
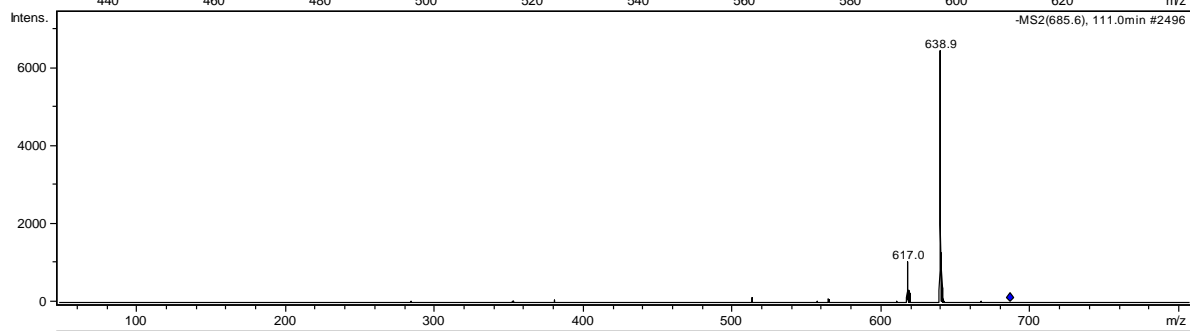
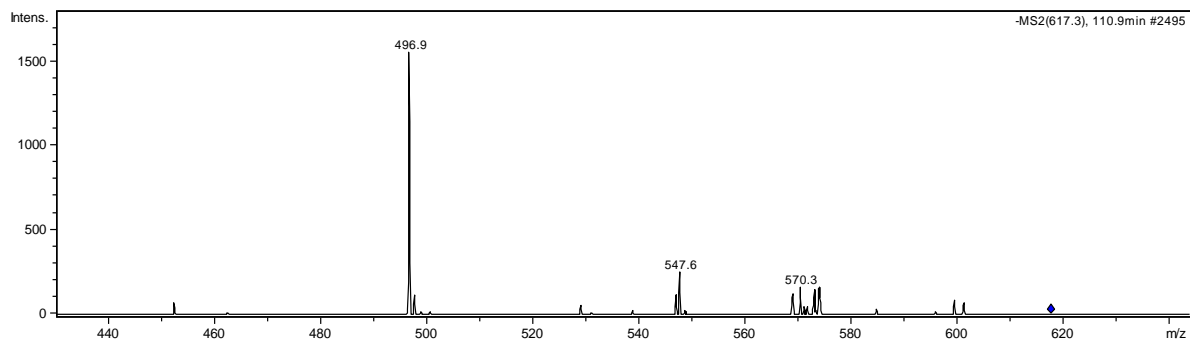
ZATTA, D. T. et al. Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. **Latin American Journal of Pharmacology**. v. 28, n. 4, p.485-489, 2009.

ANEXO A – ESPECTROMETRIA DE MASSA DO EXTRATO P110 DE *Jacaranda decurrens* Cham.
ANALISADO POR CLAE/DAD/ESI-EM.



ESI-





ANEXO B - INSTRUÇÃO AOS AUTORES DO PERIÓDICO “REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA”

1. Normas gerais

1.1 Todos os manuscritos apresentados devem ser inéditos. A apresentação simultânea de manuscritos descrevendo o mesmo trabalho em outras revistas não é recomendado. A Revista aceitará contribuições no entendimento de que o autor tenha obtido a autoridade necessária para a publicação, no caso de vários autores, cada um deles deveria ter consentido o autor correspondente.

1.2 A Revista Brasileira de Farmacognosia aceita para publicação trabalhos científicos originais, revisões e artigos de comunicação escrita apenas em Inglês. O conteúdo do texto é de inteira responsabilidade do autor (s), e não reflecte necessariamente a opinião do Editor, Conselho Editorial ou membros do Conselho Consultivo.

1.3 Os manuscritos escritos por autores cuja língua materna não é o Inglês deve ser verificada por um falante nativo ou um serviço de edição de linguagem profissional antes da apresentação. Assistência de serviços de edição independentes podem ser encontradas em <http://www.sbfgnosia.org.br/revista/englishassistance.html>. Todos os serviços são pagos e organizados pelo autor, bem como a utilização de um desses serviços não garante a aceitação ou preferência para publicação.

1.4 A Revista Brasileira de Farmacognosia reserva-se o direito de submeter todos os manuscritos recebidos para *ad hoc* árbitros, cujos nomes serão mantidos em sigilo, e terá a autoridade para decidir sobre a pertinência de aceitação. Árbitros podem enviar de volta manuscritos para o Editor-in-Chief, ou para Editores de Seção, para a transmissão ao autor (es) com sugestões de alterações necessárias, que devem ser feitas, a fim de estar em conformidade com as normas e regras editoriais da revista.

1.5 Todos os artigos envolvendo estudos com humanos ou animais devem ter a aprovação e autorização dos Comitês de Ética em Pesquisa em Seres Humanos ou em Animais das instituições a que o autor (s) pertencem.

1.6 Toda planta, microorganismo, materiais organismo marinho utilizadas na pesquisa descrita deve ser suportado por uma indicação do local (incluindo as coordenadas GPS, se possível) e país de origem, o nome da pessoa a identificar o material biológico, e a localização da o espécime voucher.

1.7 Os autores devem estar preparados para fornecer provas documentais de que a aprovação para a coleta foi dada a partir de uma autoridade competente do país de colheita e, se for o caso, seguir as regras relativas aos direitos da biodiversidade.

1.8 É manuscritos desejáveis que lidam com óleos essenciais que contêm colheita sazonal e mecanismos biológicos que exploram atividade de ação ou sinergismo.

1.9 A revista não se responsabiliza por trabalhos de pesquisa que não cumpram com o país de uma legislação residência do autor.

1,10 Nós recomendamos que os autores evitar afirmar que a utilização popular ou tradicional de uma certa erva foi confirmada por pré-clínica, *in vitro* ou *in vivo*, ensaios com animais.

1.11 Os seguintes **critérios de rejeição imediata** aplicam:

- i. o manuscrito não cair nas áreas de interesse da Revista;

- ii. manuscritos não formatado de acordo com as normas da revista (ver Seção 3);
- iii. os resultados são preliminares do manuscrito;
- iv. manuscritos relatando dados de atividade, sem comparação com uma referência, ou sem um controle positivo, ou não controles adequados, e não com base em estatísticas adequadas;
- v. a origem biológica (*por exemplo*, plantas, microorganismos, organismos marinhos, etc) não está claramente identificado, autenticados e documentado;
- vi. trabalho experimental sobre a actividade antioxidante dos extractos em bruto, sem isolamento, identificação e estimativa do teor dos compostos activos;
- vii. trabalho experimental sobre a actividade antimicrobiana com extractos em bruto sem o isolamento e identificação de compostos activos, com grandes valores de CIM (ug / mL) para a actividade antimicrobiana (≥ 250 ug / ml para os extractos vegetais e ≥ 50 ug / ml para compostos puros) e sem a devida identificação de coleções de culturas / códigos de designação da estirpe;
- viii. trabalho experimental sobre os óleos essenciais com apenas uma amostra de um único espécime de plantas com uma análise cromatográfica único e sem análise estatística adequada, sem produção de óleo (%) e componentes de caracterização e quantificação não feita por GC-MS-FID e a análise da retenção índices de os componentes não calculador usando *n* -alcano série homóloga em conjunto com a análise de alguns dos componentes naturais isolados. Resultados da actividade biológica sem caracterização química dos compostos.
- ix. Dados muito preliminares com *in-vitro* ensaios não será aceitável, quando i) não há informações sobre o tipo de atividade é dada; ii) dose única ou concentrações muito elevadas (deve mostrar estudos de dose-resposta), iii) a repetição de um bioensaio simples (geralmente um ensaio com réplicas); iv) a falta de controles adequados (solventes, substâncias positivas ou negativas, de acordo com o estudo), v) não IC50 quando for o caso.
- x. manuscritos com repetição de um único bioensaio para mais um extrato ou vegetal;
- xi. usar apenas o ensaio de camarão de água salgada (*Artemia salina*) para acessar a toxicidade dos extratos;
- xii. isolamento e bioensaios de compostos conhecidos com pequena ou nenhuma relação com a atividade ou o uso medicinal de plantas sem qualquer justificação,
- xiii. manuscritos relatando atividades farmacológicas ou biológicas de extratos brutos, sem padronização química e técnica.

2. Regras para a elaboração de contribuições

2.1 O (s) autor deve manter uma cópia (eletrônico e papel) do manuscrito submetido, no caso da perda ou dano ao original enviado à revista.

2.2 As figuras (fotografias, gráficos, desenhos , *etc*) e as tabelas devem ser inseridas perto do ponto em que são discutidas e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. As respectivas legendas deverão ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas abaixo das figuras. Sua respectiva posição no texto devem ser indicadas, preferencialmente, logo após sua citação no corpo do manuscrito. *Quando números são de uma outra fonte, é necessária uma autorização formal.*

2.3 As tabelas devem ser apresentados após as Referências e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. Tabelas (dados numéricos) não devem ser fechadas por linhas laterais. As respectivas legendas devem ser claras, concisas, sem abreviaturas e localizadas acima da tabela. Deve haver uma indicação da posição aproximada no texto onde as tabelas devem ser colocados, preferencialmente, logo após sua citação no corpo do manuscrito.

2.4 As legendas das ilustrações botânicas (abreviaturas descrição anatômica) deve estar de acordo com as regras adotadas pela revista. Por favor, normas de solicitação por e-mail para revista@sbfgnosia.org.br .

3. Formatação de texto e conteúdo da obra

3.1 Artigos originais : artigos originais são artigos científicos que descrevem os resultados experimentais originais. O manuscrito deve ser organizado na seguinte ordem: Título, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Agradecimentos, Referências, Figuras com legendas, tabelas, fórmulas estruturais. Resultados e Discussão podem aparecer como um combinado de "Resultados e Discussão" seção. A duração normal do texto principal de um artigo original, excluindo referências, tabelas, figuras e legendas, é de cerca de 3000 palavras. Em casos excepcionais e devidamente justificados poderão ser aceites mais manuscritos. Ao submeter tais manuscritos, os autores devem fornecer uma justificativa na carta, dando razões para o comprimento do papel.

3.2 curtas comunicações : Esta seção irá cobrir principalmente o isolamento de compostos conhecidos a partir de novas fontes neotropicais, ou resultados complementares de um trabalho contínuo. O texto deve ser organizado da seguinte forma: título, resumo de 200 palavras, palavras-chave, observações introdutórias, Material e Métodos, com detalhes experimentais breves, sem subtítulos, Resultados e Discussão, como um corpo de texto sem manchetes, agradecimentos, referências até 20 citações, Figuras e / ou tabelas de até 3. Os autores devem limitar o texto e não deve exceder 2.000 palavras.

3.3 Comentários geralmente serão convidados pelo Editor-in-Chief, e só serão considerados aqueles com mais de uma centena de referências. O principal objetivo das revisões é fornecer uma introdução concisa, precisa para o assunto, e informar o leitor de forma crítica sobre os últimos desenvolvimentos no campo. Eles devem ser o mais conciso possível e não incluem detalhes experimentais.

3.4 . Além dessas orientações, um modelo (para artigos originais) e uma amostra de carta de apresentação estão disponíveis no www.sbfqnosia.org.br / [revista](#) . Autores são fortemente recomendados a seguir esses formatos ao preparar um manuscrito.

3.5 Os originais devem ser em papel de tamanho A4, espaço duplo com fonte Times New Roman tamanho 12 da fonte, totalmente justificado, com margens de 2 cm.

3.6 Título e subtítulo : Eles devem estar em letras minúsculas, utilizando fonte Times New Roman tamanho 14 da fonte, e de acordo com o conteúdo do artigo, levando em consideração o alcance e os objetivos da Revista.

3.7 Autores : os nomes dos autores devem ser centralizadas sob o título. O primeiro eo último nomes devem aparecer por extenso, seguido pelas iniciais de todos os outros nomes (*por exemplo*, Carlos NU Silva). No caso dos vários autores, os nomes devem ser separados por vírgulas.

3.8 afiliação dos autores : Após o nome de cada autor deve haver números arábicos sobrescritos, indicando a instituição a que estão filiados. A lista de instituições deve aparecer logo abaixo da lista de autores. O nome do autor correspondente deve ser identificado com um asterisco sobrescrito indicando o endereço para o qual toda a correspondência deve ser enviada. O endereço eletrônico institucional, telefone e número de fax do autor principal deve aparecer após as referências. O jornal não publica comercial e endereço de email.

3.9 Resumo : Um resumo breve e conciso com 200 ou menos palavras destacando as informações mais importantes, incluindo a metodologia, resultados e conclusões que permitem ao leitor avaliar o seu interesse no artigo, e evitando assim a leitura da obra completa.

3.10 Palavras-chave: muito importante para pesquisas em bases de dados, validando, assim, o artigo, os autores devem identificar um máximo de seis palavras-chave, em ordem alfabética e separados por vírgulas, para representar o conteúdo do artigo.

3.11 Introdução : A introdução deve estabelecer claramente os objetivos do trabalho e sua relação com outros trabalhos na mesma área. Extensas revisões de literatura devem ser substituídas por referências de publicações mais recentes, onde estas revisões foram publicadas e estão disponíveis.

3.12 Materiais e Métodos : A descrição do material e os métodos usados deve ser breve e claro o suficiente para tornar possível a compreensão ea reprodutibilidade da obra. Processos e técnicas já publicados, a menos que extensivamente modificado, deve ser referenciado. Nomes de plantas devem ser completas, incluindo o nome do autor e da família, de acordo com <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/> ; www.theplantlist.org/ ou www.tropicos.org .

3.13 Resultados : Os resultados devem ser apresentados com um mínimo de discussão ou interpretação pessoal, e sempre que possível, ser acompanhados de tabelas e figuras adequadas. Os dados, quando for o caso, devem ser submetidos à análise estatística.

3.14 Discussão : A discussão deve ser restrita ao significado dos dados apresentados, evitando conclusões não baseadas nelas. Alternativamente, a critério do autor, os Resultados e Discussão poderão ser apresentados em uma seção.

3.15 Agradecimentos : Este é um item opcional. Por favor, reconhecer quem contribuiu para o artigo de fazer contribuições substanciais para o artigo.

3.16 Contribuições dos autores: o papel de cada autor para o desenvolvimento do estudo e / ou a elaboração do manuscrito deve ser claramente descrito, conhecido por suas iniciais. Por favor, veja modelo, por exemplo.

4. Referências

A formatação das referências deve ser padronizada em conformidade com os requisitos da revista, conforme descrito. *Preferencialmente usar referências que podem ser acessados pelos leitores em todo o mundo.*

4.1 As referências dentro do texto: no início da citação: autor em caixa baixa, seguido do ano de publicação entre parênteses, *por exemplo*, Pereira (1999), no final da citação: autor em caixa baixa e ano, tanto entre parênteses. *por exemplo*, (Silva, 1999) ou (Silva & Souza, 1998) ou (Silva et al, 1999.) ou (Silva et al, 1995a, b).; citação textual: a página deve ser fornecido, *por exemplo*, (Silva, 1999, p. 24).

4.2 As referências devem ser apresentadas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor, em letras minúsculas, em ordem de data de publicação ascendente. Leve em consideração as seguintes possibilidades:

4.2.1 Artigo de um periódico: Título do periódico em itálico abreviado conformar *Chemical Abstracts Service Source Index* (<http://www.cas.org/sent.html> ou <http://library.caltech.edu/reference/abbreviations/>). No caso de uma abreviatura autorizada de um determinado jornal não pode ser localizado e não é óbvio, o título deve ser citado completo (*por exemplo*) . Kumar D, Bhujbal SS, RS Deoda, Mudgade SC 2010 *In-vitro* e *in- vivo* estudos antiasmáticos de *Ailanthus excelsa* Roxb. em cobaias. *J Sci Resolução* 2 : 196-202.

No caso de o referido jornal não pode ser facilmente acessíveis, recomenda-se a apresentar o seu Número *Chemical Abstract* , como se segue: Qu W, Li J., Wang M 1991. Estudos químicos sobre *Helicteres Isora* L. *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao* 22 : 203-206, apud *Chemical Abstracts* 116: 124855r .

Em uma citação das fontes deve ser mostrado em itálico: *Wax ET 1977* . Atividade antimicrobiana de plantas medicinais brasileiras. *Braz J Biol Res* 41 : 77-82, apud *Nat Prod Abs* 23 : 588-593, 1978.

4.2.2 Livro:

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

4.2.3 Capítulo

de

livro:

EISohly MA, Stanford DS, Murphy TP 2007. Compostos propriedades e qualidade dos medicamentos. Em EISohly MA (org.) *Forensic Science and Medicine: Marijuana e os canabinóides* . New Jersey: Humana Press, p. 51-66.

4.2.4 tese

ou

dissertação

materiais:

Singab ANBI 1996. *Estudo fitoquímico de alguns potenciais plantas bioativas egípcios. Tóquio* , 173p. PhD Thesis, Meiji College of Pharmacy.
Romero MAV 1997. *Estudo químico de Brunfelsia hopeana Benth e faça 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 As

reuniões

científicas :

Oliveira RMMW, Lolli LF, Santos CAM 2006. Possível envolvimento do receptor GABAA-benzodiazepínico no efeito ansiolítico induzido por *Passiflora actinia* extraí em camundongos. *19o Congresso ECNP* . Paris, na França.

4.2.6

Patentes: Devem ser identificadas conforme indicado a seguir, sempre que possível, o *Chemical Abstracts Service* número deve ser informado. Ichikawa M, Ogura M, Lijima T 1986. Flavonas antialérgicos glicosídeo de *Kalanchoe pinnatum*. *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 61118396* , apud *Chemical Abstracts* 105 : 178423q.

4.2.7 páginas da Internet:

Taylor L 2000. *medicamentos à base de plantas e medicamentos* .<http://www.raintree.com/plantdrugs.htm>, acesso em outubro de 2009.

5. Abreviaturas

Unidades será de acordo com o Sistema Internacional (SI), adoptado pela Conferência Geral 11 de Pesos e Medidas. Abreviações comuns a serem utilizados são m metros, centímetros cm; milímetros milímetros; micrômetro m; nanômetros nm; kg kg; g grama; mg miligrama; micrograma mg; nanograma ng; mL mililitro, microlitro mL; s segundos; mínimo de minutos; h horas , N normal; M molar; mM milimolares; mM micromolar; desvio padrão SD, erro padrão SE; X significa; Ci Curie; mp ponto de fusão; bp ponto de ebulição; TLC cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa GC; RMN de ressonância magnética nuclear; espectrometria de massa MS; ultravioleta UV; CD dicroísmo circular e infravermelho IR; g em vez rpm; ppm partes por milhão; cpm contagem por minuto; dpm desintegrações por minuto; Hz hertz; DL50 dose letal medial; LC50 medial concentração letal; limite limite TLV valor. Ao usar uma palavra que é afirmado ser um termo de propriedade ou marca, os autores devem utilizar o símbolo ®.

6. Ilustração

6. 1 A qualidade das ilustrações depende da qualidade dos originais previstas. As figuras não podem ser modificadas ou reforçadas pela equipe de produção do jornal. Os gráficos devem ser apresentadas como parte do arquivo do manuscrito. O contraste é importante.

6.2 Remova todas as cores a partir de gráficos, exceto para os gráficos que o autor (s) que considerar para publicação em cores (ver secção Custos para detalhes).

6.3 Estruturas químicas deve ser elaborado de acordo com o estilo de ACS (American Chemical Society). Preferências de desenho de estruturas pode ser encontrado como estilo predefinido em softwares apropriados.

6.4 Envio de cada figura em qualquer um. tiff. formato. eps, o número da figura e na parte superior da figura indicada jpg ou. Lettering deve ser com fonte Arial de tamanho razoável que ainda seria claramente legíveis após redução e consistente dentro de cada figura e um conjunto de números. Quando for necessária uma chave para os símbolos, por favor, inclua isto na legenda da figura.

7. Envio de manuscritos

7.1 Os trabalhos que não atendam aos padrões aceitáveis serão devolvidos aos autores.

7.2 submissões de artigos serão processadas exclusivamente on-line em <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbfar-scielo> . Por favor, siga atentamente as orientações para os autores. As inscrições por e-mail não será aceito.

7.3 Importante: Todos os autores, com suas respectivas e endereços de correio electrónico, devem ser inseridos no sistema.

7.4 A qualificação do manuscrito será certificado por pelo menos dois árbitros indicados pelo Conselho Editorial.

8. Custos

8.1. A revista irá cobrir totalmente os custos de publicação dos manuscritos de até quinze páginas, incluindo tabelas e figuras. Como a revista utiliza papel reciclado, imagens a cores são aceitas e apenas estará disponível on-line, a não ser que o autor (s) concorda em cobrir as despesas extras para a publicação impressa, independente do número de páginas do artigo.

8.2. autores podem ser solicitados a fornecer um apoio financeiro voluntário após a aceitação.

9. Provas e reimpressões

9.1. provas finais serão enviadas a todos os autores como um arquivo PDF. Reformulação de sentenças, ou adições, não é permitido na fase de prova página. É da responsabilidade do autor correspondente para garantir que todos os autores listados no manuscrito de acordo com as alterações feitas nas provas. As provas devem ser devolvidos no prazo de cinco dias após o recebimento, a fim de garantir a publicação atempada do manuscrito.

9.2 Antes da publicação, os artigos estarão disponíveis antes da impressão no Portal Scielo.