

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

QUINAS AMARGAS BRASILEIRAS: HISTÓRICO, PERFIL FITOQUÍMICO E
ATIVIDADE ANTIHIPERGLICÊMICA E ANTIHIPERLIPIDÊMICA

GUSTAVO PEREIRA COSENZA

Belo Horizonte
2015

GUSTAVO PEREIRA COSENZA

QUINAS AMARGAS BRASILEIRAS: HISTÓRICO, PERFIL FITOQUÍMICO E
ATIVIDADE ANTIHIPERGLICÊMICA E ANTIHIPERLIPIDÊMICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências de Alimentos.

Orientação: Prof^a Maria das Graças Lins Brandão.

Belo Horizonte

2015

D585e Cosenza, Gustavo Pereira.
Quinas amargas brasileiras: histórico, perfil fitoquímico e atividade antihiperglicêmica e antihiperlipidêmica / Gustavo Pereira Cosenza. – 2015.
218 f. : il.

Orientadora: Maria das Graças Lins Brandão.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Quinas – Gosto amargo - Teses. 2. Quinas - Antihiperglicêmico - Teses. 3. Quinas - Antihiperlipidêmica Teses. I. Brandão, Maria das Graças Lins. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD:615.321



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS - PPGCA

GUSTAVO PEREIRA COSENZA

QUINAS AMARGAS BRASILEIRAS: HISTÓRICO, PERFIL FITOQUÍMICO E
ATIVIDADE ANTIHIPERGLICÊMICA E ANTIHIPERLIPIDÊMICA

TESE APROVADA EM 22 DE MAIO DE 2015


COMISSÃO EXAMINADORA


Profa. Dra. CAMILA CARVALHO MENEZES


Profa. Dra. JULIANA DE PAULA-SOUZA


Profa. Dra. DENISE CARMONA CARA MACHADO


Profa. Dra. JACQUELINE APARECIDA TAKAHASHI


Profa. Dra. MÁRIA DAS GRAÇAS LINS BRANDÃO
Orientadora e Presidente da Comissão

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Maria da Graças Lins Brandão pela oportunidade oferecida e pela orientação científica, ao longo destes anos de minha caminhada acadêmica, científica.

À Professora Dr^a Paula Campos e a aluna Luciana Xavier do Laboratório de Apoptose, Departamento de Morfologia do ICB/UFMG, pela elaboração das lâminas histológicas e auxílio na interpretação dos resultados.

As minhas novas amigas do Laboratório de Farmacognosia pela ajuda, companheirismo e paciência durante a etapa final do meu trabalho. Agradeço muito a todas pela grande ajuda nos levantamentos etnobotânicos e na formatação final do trabalho. São elas: Isabella, Mariane, Tamara, Bianca e Thalyta.

Aos meus grandes amigos Cristiano Cota (Bidu), Vinícius, Valdir Latorre e João Augusto, que sempre me apoiaram durante esta caminhada.

Aos meus colegas do Departamento de Fisiologia e Biofísica, e do Departamento de Farmacologia, ambos do ICB, UFMG. Agradeço, principalmente, ao Celso (Laboratório de Apoptose) pela amizade e sugestões durante a realização deste trabalho e pela ajuda no experimento biológico.

A Cintia Aparecida, do Laboratório de Helminologia Veterinária do ICB/UFMG, pela ajuda na execução do ensaio de citotoxicidade.

Aos pesquisadores Tânia Maria, Ezequias e Markus do LQPN, Centro de Pesquisas René Rachou/ CPqRR Fiocruz, pela ajuda na identificação das substâncias no LC MS/ MS e CG/ FID. Muito obrigado pelo comprometimento na execução das análises.

À secretaria da Pós-Graduação, em nome da Úrsula, pela competência nos serviços prestados a mim durante o curso.

Por último, à minha família Boanerges, Dirce, Braz, Maria e meus sobrinhos Eduardo e Bernardo. E também à minha querida esposa Celeste Cristina e meus filhos Mariana e Lucas. Vocês são a inspiração do meu viver; sei que sem o apoio de vocês não teria concluído este trabalho.

A ANVISA e CNPq pela bolsa concedida, e ao CNPq e FAPEMIG pelos recursos para a execução da pesquisa (Projetos REFLORA e SISBIOTA).

RESUMO

Quina é o nome atribuído originalmente às espécies de *Cinchona*, nativas do Peru e que são produtoras do alcaloide antimalárico quinino. Atualmente, além do uso da preparação de medicamentos, o quinino é usado como ingrediente amargo em águas tônicas e outros aperitivos. No Brasil, outras espécies amargas nativas são também conhecidas como quina, e foram usadas como substitutas das *Cinchonas* como amargo/tônico e no tratamento de febres e malária. O objetivo deste estudo foi conhecer as espécies de quinas amargas nativas do Brasil e avaliar o seu potencial antihiperlipidêmico e antihiperlicêmico. O primeiro passo foi fazer um levantamento na bibliografia histórica. Os estudos iniciaram-se a partir de minuciosa revisão em manuscritos e diários de viagens de naturalistas brasileiros e europeus, que descreveram a flora brasileira nos séculos XVIII e XIX. Foram também levantadas informações sobre as quinas amargas usadas nos séculos XX e XXI. Seis espécies foram selecionadas para os estudos químicos: *Baccharis trimera* (Asteraceae), *Esenbeckia febrifuga* (Rutaceae), *Hortia brasiliana* (Rutaceae), *Polyouratea hexasperma* (Ochnaceae), *Remijia ferruginea* (Rubiaceae) e *Strychnos pseudoquina* (Loganiaceae). Para cada planta, foi determinado o índice de amargor e a presença e teor de substâncias amargas, por meio de métodos cromatográficos e espectroscópicos. *B. trimera* e *S. pseudoquina* apresentaram elevado índice de amargor e a presença de substâncias bioativas importantes, principalmente flavonoides. As duas espécies citadas e *R. ferruginea* foram selecionadas para estudos biológicos. O levantamento histórico mostrou a existência de 29 espécies de quinas nativas do Brasil descobertas e usadas nos séculos XVIII e XIX como tônico amargo. No século XX, 47 quinas amargas foram descritas na bibliografia, sendo 21 usadas especificamente para tratar distúrbios digestivos. Na atualidade, apenas *Bathysa australis*, *S. pseudoquina* e *Drimys brasiliensis* são citadas como quinas e usadas como tônico/digestivos. Os resultados mostram uma modificação profunda nos nomes populares e usos tradicionais das plantas. *S. pseudoquina*, e *B. trimera* apresentaram maior amargor, apesar de todas as espécies apresentarem substâncias bioativas amargas. A *B. trimera* apresentou elevada toxicidade em ensaios *in vitro*, limitando seu uso na preparação de produtos comerciais de uso contínuo. Nos testes *in vivo*, grupos de animais que receberam dieta hipercalórica suplementada com os extratos preparados com *B. trimera* (50, 100 e 200mg/kg) e *S. pseudoquina* (50, 100 e 200 mg/kg) e *R. ferruginea* 200 mg/kg apresentou uma redução bastante significativa nos níveis de glicose, colesterol e triglicerídeos. O conjunto de resultados mostra que as cascas de *S. pseudoquina* apresentaram o maior potencial bioativo, e juntamente com *B. trimera*, *R. ferruginea* contribui para um futuro desenvolvimento de produtos farmacêuticos ou nutracêuticos, para uso na inapetência ou em outras desordens digestivas, além de aditivos amargos e suplementos alimentares.

Palavras-chaves: quinas, *S. pseudoquina*, gosto amargo, antihiperlipidêmica e antihiperlicêmico.

ABSTRACT

Quina is the name originally assigned to Cinchona species, native to Peru and are producing the antimalarial quinine alkaloid. Currently, besides the use for the preparation of drugs, quinine is used as bitter ingredient in tonic waters and other snacks. In Brazil, other native bitter species are also known as quina, and were used as substitutes for Cinchonas as bitter/tonic and to treat fever and malaria. The aim of this study was to know the species of native bitter quinas of Brazil and assess their potential antihyperglycemic and antihyperlipidemic. The first step was to survey the historical bibliography. The studies were started from thorough review in travel manuscripts and diaries of Brazilian and European naturalists who described the flora in the eighteenth and nineteenth centuries. They have also been raised about the bitter quinas used in the XX and XXI. Six species were selected for chemical studies: *Baccharis trimera* (Asteraceae), *Esenbeckia febrifuga* (Rutaceae), *Hortia brasiliiana* (Rutaceae), *Polyouratea hexasperma* (Ochnaceae), *Remijia ferruginea* (Rubiaceae) and *Strychnos pseudoquina* (Loganiaceae). For each plant, the bitterness index was determined and the presence and content of bitter substances, by means of chromatographic and spectroscopic methods. *B. trimera* and *S. pseudoquina* showed high level of bitterness and the presence of important bioactive substances, especially flavonoids. The two species mentioned and *R. ferruginea* were selected for biological studies. The historical survey showed the existence of 29 species of native quinas of Brazil discovered and used in the eighteenth and nineteenth centuries as a bitter tonic. In the twentieth century, 47 bitter quinas have been described in the literature, 21 used specifically to treat digestive disorders. Currently, only *Bathysa australis*, *Drimys brasiliensis* and *S. pseudoquina* are cited as quinas and used as a tonic/digestive. The results show a profound change in the popular names and traditional uses of plants. *S. Pseudoquina* and *B. trimera* showed greater bitterness, despite all the species being bitter bioactive substances. *B. trimera* showed high toxicity in vitro, limiting its use in the preparation of commercial products of continuous use. In in vivo tests, groups of animals who received hypercaloric diet supplemented with extracts prepared with *B. trimera* (50, 100 and 200mg/kg) and *S. pseudoquina* (50, 100 and 200 mg/kg) and 200 mg/kg of *R. ferruginea* showed a very significant reduction in glucose, cholesterol and triglycerides levels. The set of results shows that the peel *S. pseudoquina* bioactive showed the highest potential and together with *B. trimera*, *R. ferruginea* contribute to the further development of pharmaceuticals and nutraceuticals for use in appetite or other digestive disorders, as well bitter additives and dietary supplements.

Key words: quina, *S. pseudoquina*, bitter taste, antihyperglycemic and antihyperlipidemic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 A	Exemplo de substâncias amargas. (1) quercetina, (2) naringina, (3) quinina, (4) quassina, (5) gentilpicosídeo, (6) estriquinina	30
Figura 1 B	Exemplo de substâncias amargas: (7) humulona, (8) epicatequina, (9) cafeína, (10) haspargosídeo, (11) hesperidina e (12) epigalocatequina	31
Figura 2	Imagem de <i>Baccharis trimera</i> coletada no Museu de História Natural do Jardim Botânico da UFMG	35
Figura 3 A	Principais substâncias químicas encontradas em <i>B. trimera</i> : (13) ácido clorogênico, (14) ácido cafeico, (15) luteolina, (16) eupafolina, (17) apigenina (18) hispidulina, (19) quercetina, (20) rutina	37
Figura 3 B	Principais substâncias químicas encontradas em <i>B. trimera</i> : (21) δ -cadineno, (22) β -elemeno, (23), δ -calacoreno, (24) germacreno-B, (25) α -humuleno, (26) cariofileno, (27) carquejol, (28) acetato de carquejol e (29) diterpeno do tipo clerodano.	38
Figura 4	Imagem da <i>Esenbeckia febrifuga</i> coleta no Campus da Universidade Federal de Minas Gerais, na Pampulha	39
Figura 5	Principais substâncias químicas encontradas em <i>E. febrifuga</i> : (30) bergapteno, (31) aurapteno, (32) isopimpinelina, (33) kokusaginina, (34) fagarina, (35) acronicina, (36) dictamina e (37) flindersiamina.	41
Figura 6	Imagem da <i>Hortia brasiliana</i> , coletada próximo da Reserva Particular Natural do Caraça, no município de Catas Altas-MG	43
Figura 7	Principais substâncias químicas encontradas em <i>H. brasiliana</i> : (38) rutaecarpina, (39) skimmianina, (40) dictamina, (41) metilflindersiamina, (42) desidrorutaecarpina, (43) 5-metoxiseselina e (44) ácido diidroxicinâmico.	44
Figura 8	Imagem da <i>Polyouratea hexasperma</i> , coletada no Campus da Universidade Federal de Brasília	46
Figura 9	Principais substâncias químicas encontradas em <i>P. hexasperma</i> : (45) Ácido clorogênico, (46) ácido cafeico, (47) epicatequina, (48) amentoflavona e (49) 7-O-metilagastiflavona	47
Figura 10	Imagem de <i>Remijia ferruginea</i> coletada em São Gonçalo do Rios das Pedras, Município do Serro, MG	49
Figura 11	Principais substâncias químicas encontradas em <i>R. ferruginea</i> : (50) quinino, (51) cinchonina, (52) remijina, (53) epiremijina e (54) cupreína.	50

Figura 12	Imagem da <i>Strychnos pseudoquina</i> coletada no município de Curvelo, MG	52
Figura 13	Principais substâncias químicas encontradas em <i>S. pseudoquina</i> : (55) 3-metilquercetina, (56) isoramnetina, (57) estriquinobiflavona, (58) diabolina, (59) estricnobraisilina e (60) nor-dihidrotoxiferina	53
Figura 14	Fluxograma de extração e preparo do extrato bruto e frações enriquecidas	63
Figura 15	Fluxograma de extração e preparo da frações enriquecidas de alcaloides	64
Figura 16	Escala temporal do desenho experimental	81
Figura 17	Perfil cromatográfico em CLAE dos padrões de ácidos orgânicos e flavonoides	106
Figura 18	Perfil cromatográfico obtido em CLAE para o extrato bruto de <i>B. trimera</i> (Carq)	107
Figura 19	Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de <i>B. trimera</i>	107
Figura 20	Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de <i>E. febrifuga</i> (Esse)	108
Figura 21	Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de <i>E. febrifuga</i> (Ese)	108
Figura 22	Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de <i>H. brasiliiana</i> (Hort)	109
Figura 23	Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de <i>H. brasiliiana</i> (Hort)	110
Figura 24	Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de <i>P. hexasperma</i> (Pol)	111
Figura 25	Espectros no ultravioleta (330 nm) das principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de <i>P. hexasperma</i> (Pol)	111
Figura 26	Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de <i>R. ferruginea</i> (Rm)	112
Figura 27	Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de <i>R. ferruginea</i>	113
Figura 28	Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de <i>S. pseudoquina</i> (Spq)	114
Figura 29	Espectros no ultravioleta (330 nm) das principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de <i>S. pseudoquina</i> (Spq)	114

Figura 30	Perfil cromatográfico para padrões de alcaloides por LC/MS/MS	116
Figura 31	Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Esse) e fração enriquecida de alcaloides da cascas de <i>E. febrifuga</i> por LC/MS/MS	117
Figura 32	Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Hort) e fração enriquecida de alcaloides da cascas de <i>H. brasiliiana</i> por LC/MS/MS	118
Figura 33	Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Pol) e fração enriquecida de alcaloides da cascas de <i>P. hexasperma</i> por LC/MS/MS	119
Figura 34	Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Rm) e fração enriquecida de alcaloides da cascas de <i>R. ferruginea</i> por LC/MS/MS	120
Figura 35	Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Spq) e fração enriquecida de alcaloides da cascas de <i>S. pseudoquina</i> por LC/MS/MS	121
Figura 36	Perfil cromatográfico para extrato bruto de cascas de <i>P. hexasperma</i> por LC/MS/MS	122
Figura 37	Perfil cromatográfico para o óleo essencial de caules alados de <i>B. trimera</i> por CG/ FID	123
Figura 38	Curva dose resposta de citotoxicidade dos extratos brutos de <i>S. pseudoquina</i> (Figura A), <i>R. ferruginea</i> (Figura B) e <i>B. trimera</i> (Figura C) em células renais (BGM) isoladas de mamíferos.	129
Figura 39	Resultados obtidos na análise do peso corporal.	130
Figura 40	Resultados obtidos na análise da ingestão alimentar.	130
Figura 41	Resultados obtidos na análise do colesterol total.	131
Figura 42	Resultados obtidos na análise da glicose.	132
Figura 43	Resultados obtidos na análise dos triglicerídeos.	132
Figura 44	Resultados obtidos na análise do índice de adiposidade.	133
Figura 45	Imagens dos cortes histológicos do tecido adiposo epididimal.	134
Figura 46	Resultados obtidos da análise das áreas dos adipócitos.	135
Figura 47	Resultados obtidos da análise do peso do fígado e rins.	136
Figura 48	Perfil cromatográfico para flavonoides em <i>B. trimera</i> .	195
Figura 49	Perfil cromatográfico para flavonoides em <i>E. febrifuga</i> .	195

Figura 50	Perfil cromatográfico para flavonoides em <i>H. brasiliiana</i> .	196
Figura 51	Perfil cromatográfico para flavonoides em <i>P. hexasperma</i> .	196
Figura 52	Perfil cromatográfico para flavonoides em <i>R. ferruginea</i> .	197
Figura 53	Perfil cromatográfico para flavonoides em <i>S. pseudoquina</i> .	197
Figura 54	Perfil cromatográfico para alcaloides em <i>E. febrifuga</i> .	198
Figura 55	Perfil cromatográfico para alcaloides em <i>H. brasiliiana</i>	198
Figura 56	Perfil cromatográfico para alcaloides em <i>P. hexasperma</i> .	199
Figura 57	Perfil cromatográfico para alcaloides em <i>R. ferruginea</i> .	199
Figura 58	Perfil cromatográfico para alcaloides em <i>S. pseudoquina</i> .	200
Figura 59	Perfil cromatográfico para identificação de taninos em extratos brutos das drogas vegetais.	200
Figura 60	Perfil cromatográfico para identificação de taninos no extrato bruto de <i>P. hexasperma</i> ,	201
Figura 61	Perfil cromatográfico para identificação de iridoides em extratos brutos das drogas vegetais.	201
Figura 62	Perfil cromatográfico para de terpenos em extratos brutos das drogas vegetais	202
Figura 63	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Ese.	203
Figura 64	Perfil de fragmentação (MS2) para substância hesperidina identificados no Ese.	204
Figura 65	Perfil de fragmentação (MS2) para substância isochaftosídeo identificado no Ese.	204
Figura 66	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCHort.	205
Figura 67	Perfil de fragmentação (MS2) para substância 8-Metoxipsoraleno identificado no FALCEse	205
Figura 68	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Hort.	206
Figura 69	Perfil de fragmentação (MS2) para substância hesperidina identificado no	206

Hort

Figura 70	Perfil de fragmentação (MS2) para substância poncirina identificado no Hort	206
Figura 71	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCHort.	207
Figura 72	Perfil de fragmentação (MS2) para substância tetrahydroxipapaverolina identificado no FALCHort	207
Figura 73	Perfil de fragmentação (MS2) para substância epicatequina identificado no Pol.	208
Figura 74	Perfil de fragmentação (MS2) para substância cinchonina identificado no FALCPol.	208
Figura 75	Perfil de fragmentação (MS2) para substância atropina identificado no FALCPol.	209
Figura 76	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Rm.	209
Figura 77	Perfil de fragmentação (MS2) para substância ajmalicina identificado no Rm.	210
Figura 78	Perfil de fragmentação (MS2) para substância cinchonidina identificado no Rm.	210
Figura 79	Perfil de fragmentação (MS2) para substância ácida clorogênico identificado no Rm.	211
Figura 80	Perfil de fragmentação (MS2) para substância epicatequina identificado no Rm.	211
Figura 81	Perfil de fragmentação (MS2) para substância rutina identificado no Rm.	212
Figura 82	Perfil de fragmentação (MS2) para substância kaempferol-7-O-neohesperidosídeo identificado no Rm.	212
Figura 83	Perfil de fragmentação (MS2) para substância Isoramnetina-7-O-Rutinosídeo identificado no Rm.	213
Figura 84	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCRm.	213
Figura 85	Perfil de fragmentação (MS2) para substância cinchonina identificado no FALCRm.	214

Figura 86	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Spq.	214
Figura 87	Perfil de fragmentação (MS2) para substância ajmalicina identificado no Spq.	215
Figura 88	Perfil de fragmentação (MS2) para substância brucina identificado no Spq.	215
Figura 89	Perfil de fragmentação (MS2) para substância fisetina identificado no Spq.	216
Figura 90	Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCSpq.	217
Figura 91	Perfil de fragmentação (MS2) para substância ajmalicina identificado no FALCSpq.	218
Figura 92	Perfil de fragmentação (MS2) para substância estriquinina identificado no FALCSpq.	218

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Índice de amargor de espécies amargas.	33
Tabela 2	Informações sobre as espécies coletadas.	55
Tabela 3	Preparo das soluções padrões de cloridrato de quinino.	60
Tabela 4	Preparo das soluções teste.	61
Tabela 5	Preparo das soluções de C4.	61
Tabela 6	Condições de análise em CLAE para identificação de flavonoides.	66
Tabela 7	Gradiente de fase móvel utilizada no sistema	66
Tabela 8	Condições cromatográficas da CLAE/MS/MS para identificação de alcaloides	69
Tabela 9	Gradiente de fase móvel utilizada no sistema.	69
Tabela 10	Condições cromatográficas para identificação de óleos essenciais	70
Tabela 11	Tomada de amostra e diluições usadas no doseamento de flavonoides.	72
Tabela 12	Tomada de amostra do doseamento de polifenóis/taninos.	74
Tabela 13	Grupos experimentais e tratamento utilizado durante o experimento	80
Tabela 14	Espécies amargas usadas como substitutas das quininas (<i>Cinchona</i> spp.) descritas na bibliografia histórica.	87
Tabela 15	Espécies de plantas medicinais nativas do Brasil conhecidas como quininas e usadas como febrífuga e no tratamento de distúrbios digestivos.	92
Tabela 16	Espécies de quininas descritas em trabalhos de campo (levantamentos etnobotânicos) realizados no Brasil nas últimas décadas.	97
Tabela 17	Índice de amargor encontrado nas amostras das drogas vegetais.	101
Tabela 18	Rendimento de extração dos extratos brutos.	102
Tabela 19	Rendimento do fracionamento a partir do extrato bruto utilizando diferentes solventes de polaridade crescente.	103
Tabela 20	Rendimento das frações obtidas com o método de obtenção de	104

alcaloides.

Tabela 21	Resultado da análise em CCD para flavonoides/Ácidos fenólicos.	105
Tabela 22	Compostos identificados no óleo essencial de caules alados de <i>B. trimera</i> por CG/FID.	124
Tabela 23	Teor de flavonoides totais expressos em rutina.	125
Tabela 24	Resultado do teor de quercetina encontrados nos extratos brutos.	125
Tabela 25	Resultado de teor de polifenóis e taninos nas drogas vegetais.	126
Tabela 26	Resultado de teor de alcaloides totais expressos em quinino.	127
Tabela 27	Doseamento de óleos essenciais obtidos dos caules alados de <i>B. trimera</i> .	128
Tabela 28	Resumo do perfil fitoquímico e ensaios biológicos.	139

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CG	Cromatografia gasosa
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEPLAMT	Centro Especializado em Plantas Aromáticas, Medicinais e Tóxicas da UFMG
DL ₅₀	Dose necessária para matar 50% cobaias
DATAPLAMT	Banco de dados e amostras de plantas medicinais e tóxicas
DMSO	Dimetilsulfóxido
EB	Extrato Bruto
F BRAS	Farmacopeia Brasileira
FACET	Fração acetato de etila
FAL	Fração purificada de alcaloides
FA	Fração aquosa
FBUT	Fração n-butanólica
FSR	Fluxo sanguíneo renal
FD	Fator de diluição
HPLC	<i>High performance liquid chromatograph</i>
IC ₅₀	Metade das concentrações máximas
MTT	Cloreto de trifeniltetrazólio
SP	Solução padrão
SBV	Soro fetal bovino
RPMI	Meio de cultura para cultura de células humanas
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Gosto amargo	23
2.2 Plantas medicinais amargas	27
2.3 Espécies nativas amargas selecionadas para o estudo	34
2.3.1 <i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC. (Asteraceae)	34
2.3.2 <i>Esenbeckia febrifuga</i> (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. (Rutaceae)	39
2.3.3 <i>Hortia brasiliiana</i> Vand. ex DC. (Rutaceae)	42
2.3.4 <i>Polyouratea hexasperma</i> (A. St.-Hil.) Tiegh. (Ochnaceae)	45
2.3.5 <i>Remijia ferruginea</i> (A. St.-Hil.) DC. (Rubiaceae)	48
2.3.6 <i>Strychnos pseudoquina</i> A. St.-Hil. (Loganiaceae)	51
3 MATERIAIS E MÉTODOS	54
3.1 Materiais	54
3.1.1 Equipamentos	54
3.1.2 Reagentes e solventes	54
3.1.3 Padrões Analíticos	55
3.1.4 Outros Materiais	55
3.2 Métodos	56
3.2.1 Pesquisa bibliográfica de espécies vegetais amargas conhecidas como quina	56
3.2.2 Pesquisa de substâncias amargas em seis espécies de quinas brasileiras	58
3.2.2.1 Seleção das plantas para o estudo	58
3.2.2.2 Obtenção do material botânico	58
3.2.2.3 Índice de Amargor (teste preliminar)	59
3.2.2.4 Preparo de extratos brutos (EB)	62

3.2.2.5	Preparo de frações enriquecidas a partir do EB	62
3.2.2.6	Preparo de frações enriquecidas em alcaloides	63
3.2.2.7	Caracterização química das drogas vegetais	64
3.2.2.8	Pesquisa de flavonoides e ácidos orgânicos por CCD	65
3.2.2.9	Pesquisa de flavonoides por CLAE/DAD	65
3.2.2.10	Pesquisa de flavonoides por CLAE/MS/MS	66
3.2.2.11	Pesquisa de polifenóis/ taninos por CCD	67
3.2.2.12	Pesquisa de alcaloides por CCD	67
3.2.2.13	Pesquisa de alcaloides por CLAE/MS/MS	68
3.2.2.14	Pesquisa de iridoides/ terpenoides por CCD	69
3.2.2.15	Pesquisa de óleos essenciais por CG	70
3.3	Quantificação das substâncias detectadas	70
3.3.1	Quantificação de flavonoides totais por espectrofotometria no visível	70
3.3.2	Quantificação de flavonoides totais por CLAE/DAD	72
3.3.3	Quantificação de polifenóis/ taninos por espectrofotometria no visível	73
3.3.4	Quantificação de alcaloides por espectrofotometria no visível	74
3.3.5	Quantificação de substâncias voláteis por hidrodestilação	76
3.4	Ensaio biológico	76
3.4.1	Avaliação do potencial citotóxico de três espécies de quinas amargas	77
3.4.2	Avaliação da atividade antihiperlipidêmica e antihiperlipidêmica de três espécies de quinas	78
3.4.2.1	Animais	78
3.4.2.2	Preparo da dieta HC e suplementação com os extratos brutos	78
3.4.2.3	Esquema de tratamento	79
3.4.2.4	Desenho experimental	81
3.4.2.5	Eutanásia	82

3.4.2.6 Obtenção do soro	82
3.5 Análises bioquímicas e morfológicas	82
3.5.1 Dosagens sorológicas	82
3.5.2 Análise morfológica dos adipócitos do tecido adiposo epididimal	82
3.5.3 Aquisição de imagem no microscópio e mensuração da área do tecido adiposo epididimal	83
3.5.4 Análise do peso do fígado e rins	83
3.6 Análise estatística	83
4 RESULTADOS	84
4.1 Pesquisa bibliográfica de espécies vegetais amargas conhecidas como quina	84
4.1.1 Pesquisa na bibliografia histórica	84
4.1.2 Pesquisa em outras referências bibliográficas etnomédicas	86
4.1.3 Pesquisa em outras em trabalhos de campo (levantamentos etnobotânicos) realizados no Brasil nas últimas décadas.	86
4.2 Pesquisa de substâncias amargas	101
4.2.1 Índice de amargor (teste preliminar)	101
4.2.2 Rendimento dos extratos brutos	101
4.2.3 Rendimento das frações obtidas a partir do extrato bruto	102
4.2.4 Rendimento das frações enriquecidas em alcaloides	103
4.2.5 Pesquisa de flavonoides/ ácidos fenólicos por CCD	104
4.2.5.1 Pesquisa de flavonoides/ ácidos fenólicos por HPLC/DAD	105
4.2.6 Pesquisa de alcaloides por CCD	115
4.2.6.1 Pesquisa de alcaloides por CLAE/MS/MS	115
4.2.7 Pesquisa de polifenóis/ taninos por CCD	122
4.2.7.1 Pesquisa de polifenóis/ taninos por CLAE/MS/MS	122
4.2.8 Pesquisa de iridoides/ terpenoides por CCD	123
4.2.9 Pesquisa de óleos essenciais por CG/FID	123
4.3 Quantificação das Substâncias detectadas	124
4.3.1 Quantificação de flavonoides totais por espectrofotometria	124

4.3.2	Quantificação de flavonoides totais por CLAE/DAD	125
4.4	Quantificação de polifenóis/ taninos por espectrofotometria no visível	125
4.5	Quantificação de alcaloides por espectrofotometria no visível	126
4.6	Quantificação de substâncias voláteis por hidrodestilação	127
4.7	Ensaio biológicos	128
4.7.1	Avaliação do potencial citotóxico de <i>B. trimera</i> , <i>R. ferruginea</i> e <i>S. pseudoquina</i>	128
4.7.2	Avaliação do potencial antihiperlipidêmico e antihiperlipidêmico das três espécies de quininas em camundongos tratados com dieta rica em carboidratos (HC)	129
4.7.2.1	Ingestão alimentar, ganho de peso corporal	129
4.7.2.2	Parâmetros sorológicos	131
4.7.2.3	Análise morfológica dos adipócitos e índice de adiposidade do tecido adiposo epididimal	133
4.7.2.4	Análise do peso e morfologia do fígado	135
5	DISCUSSÃO	140
6	CONCLUSÕES	156
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
8	ANEXOS	197

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional para o tratamento de suas necessidades primárias de saúde, e a maior parte envolve o uso de plantas medicinais e seus derivados. A OMS ressalta a importância dos estudos das plantas usadas na medicina tradicional com o objetivo de verificar tanto seu possível efeito terapêutico, como também a possível presença de substâncias tóxicas (WHO, 2011).

No Brasil, atualmente, as plantas medicinais e seus derivados são amplamente utilizados, principalmente em programas de fitoterapia instituídos pelo Ministério da Saúde. Na área farmacêutica, as plantas medicinais e os extratos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e como fonte de matéria prima farmacêutica, tanto para a obtenção de alimentos funcionais, nutracêuticos, fitoterápicos, fitocosméticos, como para a obtenção de adjuvantes farmacêuticos. Entre os produtos comerciais, estão as substâncias naturais amargas, devido à sua aplicação tanto na indústria alimentícia quanto na farmacêutica.

As substâncias químicas que são denominadas amargas não compartilham de uma estrutura química similar. Entre elas podem ser incluídas peptídeos e seus sais e metabólitos secundários dos vegetais, como alcaloides, fenóis, flavonoides, taninos e catequinas. Estudos mostram que os seres humanos possuem uma multiplicidade de receptores de sabor amargo, e que a transdução deste sabor pode diferir entre uma substância e outra (DREWNOWSKI, 2001; CROUZET et al., 2015).

As espécies vegetais amargas são muito conhecidas e utilizadas desde a antiguidade, sendo consideradas eficazes na prevenção e no tratamento de diversas doenças. Na terapêutica, as substâncias amargas são usadas para abrir o apetite e melhorar a digestão. Estas substâncias são muito úteis, por exemplo, em casos de inapetência, digestão lenta, como também em processos não digestivos, tais como fraqueza, anemia e estados de convalescença (ALONSO, 2008).

O Brasil representa uma das mais ricas fontes de substâncias bioativas do mundo, devido a sua vasta biodiversidade. Calcula-se existir no Brasil cerca de 50 mil espécies distintas de plantas. No entanto, dificilmente encontramos na literatura espécies vegetais brasileiras exaustivamente estudadas. Poucas foram também às espécies cujos respectivos extratos tenham tido o potencial devidamente avaliado, por meio de ensaios farmacológicos. Além disso, muita informação relativa ao uso tradicional de plantas brasileiras está sendo perdida ao longo do tempo. O conjunto desses fatores revela a necessidade de se recuperar as plantas da biodiversidade brasileira, usadas na medicina tradicional, e avaliar o seu potencial bioativo. Somente assim é possível transformar as plantas em produtos de valor comercial (BRANDÃO et al., 2008).

O presente estudo teve como objetivo geral, conhecer as espécies de quininas amargas nativas do Brasil e avaliar o seu potencial antihiperlipidêmico e antihiperlipidêmico.

Os objetivos específicos foram:

- a) Identificar espécies de quininas amargas a partir de levantamentos bibliográficas;
- b) Avaliar o índice de amargor das espécies vegetais;
- c) Realizar a caracterização química das espécies por meio de métodos cromatográficos (CLAE-DAD, CLAE-MS/MS e CG-FID);
- d) Quantificar as principais classes de substâncias amargas;
- e) Selecionar três espécies para o estudo biológico *in vitro* e *in vivo*;
- d) Avaliar a citotoxicidade dos extratos de *B. trimera*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*;
- f) Avaliar a capacidade dos extratos de extratos de *B. trimera*, *R. ferruginea* e

S. pseudoquina em promover melhorias nas disfunções metabólicas induzidas por dieta hipercalórica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gosto amargo

O gosto é um dos cinco sentidos que dão aos mamíferos e outros animais uma consciência de seu ambiente, especialmente para a seleção de alimentos. O sentido do paladar, que reconhece o gosto doce, amargo, salgado, azedo e umami, é muitas vezes considerado de suma importância, pois é o último sentido em uso antes dos alimentos serem engolidos. O paladar desempenha assim um papel biológico fundamental em ajudar os animais e humanos para regular a ingestão de alimentos adequados, e rejeitar alimentos inadequados (GINANE et al., 2011). Os gostos básicos são codificados por receptores especializados em papilas gustativas presentes na superfície da língua e palato, que detectam substâncias químicas correspondentes a cada um deles (CROUZET et al., 2015).

Estudos recentes revelaram que os mecanismos moleculares para a recepção e transdução dos gostos doce, amargo e umami são mediados por receptores acoplados à proteína G (GPCRs), seguindo por um segundo mensageiro e por uma cascata de sinalização. Os gostos salgado e azedo são mediados por receptores do tipo canal de cátion. Em adição aos cinco sabores básicos, células receptoras gustativas podem ter a capacidade de detectar o gosto de gordura, que é induzida por ácidos graxos. Os compostos indutores de sabor de gordura, ou o sabor de cálcio, podem ser detectados por GPCRs específicos expressos em células receptoras gustativas. Esta avaliação incidirá sobre mecanismos de transdução e características celulares responsáveis por cada um dos gostos (IWATA et al., 2014). Estudos mostram que algumas substâncias que ativam tanto receptor de gosto amargo quanto umami, tem seu potencial amargo suprimido (KIM et al., 2015).

A saliva é o principal fluido do ambiente externo das células receptoras gustativas, e desempenha um papel importante na sensibilidade do gosto (MATSUO, 2000). A complexidade da composição da saliva, componentes das diferentes glândulas salivares, fluido gengival, microorganismos e de restos de alimentos, aumenta as possibilidades de interação com os alimentos e na percepção do gosto (NEYRAUD, 2014). A saliva, por exemplo, é hipotônica facilita o reconhecimento dos gostos básicos (DAWES et al., 2015).

No processo inicial de percepção do gosto, a saliva atua como um solvente para as substâncias gustativas. Elas dissolvem-se na saliva e depois são direcionadas para os sítios dos receptores. Durante este processo, alguns componentes salivares interagem quimicamente com substâncias gustativas. Por exemplo, os tampões salivares, que diminuem a concentração de hidrogênio livre (sabor azedo). Também existem algumas proteínas salivares, que pode ligar-se com as substâncias de gosto amargas (MATSUO, 2000)

As substâncias amargas, que são muitas vezes moléculas bastante hidrofóbicas, interagem com as proteínas salivares como a anidrase carbônica VI (CA VI), que é uma isozima secretora da família do gene α -CA. Ela é expressa nas glândulas mamárias e salivares, e secretada na saliva e leite. Embora CA VI tenha sido descrita pela primeira vez como uma proteína gustativa, seus papéis funcionais exatos permanecem de forma enigmática. O polimorfismo do gene CA VI, também conhecido como gustina, foi recentemente ligado à percepção de gosto amargo em seres humanos (PATRIKAINEN et al., 2014; FEENEY & HAYES, 2014)

Os genes de identificação de gostos amargos têm uma crescente atenção de biólogos evolucionistas, devido ao papel central dos receptores de gosto amargo, como alerta contra a ingestão de substâncias tóxicas.

Os 25 genes TAS2R estão localizados em cromossomas 5, 7 e 12, exceto para hTAS2R1, que está localizado no cromossoma 5, todos os outros genes são hTAS2R organizados em aglomerados densos nos cromossomos 7 e 12 (MEYERHOF, 2005).

A transdução do gosto amargo é realizado pelos receptores hTAS2R acoplados a subunidade α da proteína G (GPCRs), que são receptores que desempenham um papel fundamental na transmissão de um sinal de estímulos extracelulares. Em alguns casos, os GPCR ou os seus mutantes podem sinalizar na ausência de um agonista ou de um estímulo externo, referido como basal ou como atividade constitutiva, e estes mutantes são denominados mutantes constitutivamente ativos (PYDI et al., 2014).

Os receptores gustativos para gosto doce e umami são da família TAS1Rs, para o amargo são TAS2Rs, e para o salgado são canais de sódio. As variações nos genes receptores de gosto entre e dentro das espécies de vertebrados contribuem para diferenças de espécies individuais e em comportamentos relacionados com o gosto (BACHMANOV et al., 2014).

O gosto amargo é um dos cinco gostos básicos e é mediado pelos receptores de sabor amargo (T2RS), que pertencem à família GPCR. Os 25 T2RS presentes nos seres humanos não pertencem a nenhuma das principais classes de GPCR, e sua classificação é ambígua. OS T2RS são encontrados em muitos tecidos extraorais, incluindo as vias aéreas e trato respiratório superior (PYDI et al., 2014).

O tratamento de distúrbios digestivos com substâncias amargas é feito há milênios na medicina tradicional da Ásia (CHANG-LIAO et al., 2011), e na fitoterapia europeia (KNOSS & STOLTE, 2009; KOCH, 2009). No entanto, apesar da sua utilização generalizada, os mecanismos de ação dessas substâncias, bem como as suas ações por meio de estudos clínicos, não são muito elucidados (HEINRICH et al., 2012). No entanto, existem três mecanismos que podem auxiliar na explicação da ação destes compostos.

O modelo da resposta cefálica propõe que, com a ingestão de substâncias amargas, o apetite estimula os nervos gustativos e estes reflexivamente conduzem à dilatação dos vasos gástricos, produzindo um aumento das secreções biliares, gástricas e salivares. Uma descrição mais moderna desta hipótese é a de que o estímulo amargo passa em primeiro lugar através do nervo glossofaríngeo a um grupo especial de células no córtex cerebral. O sabor é interpretado como amargo, e

faz com que estímulos sejam transmitidos, através do nervo vago, tanto para as glândulas salivares como para as estomacais. Esta estimulação dos processos digestivos aumenta o apetite (KNOSS & STOLTE, 2009).

O modelo de resposta local propõe que as substâncias amargas atuam diretamente sobre a mucosa da parte superior do trato gastrointestinal e, especialmente, sobre os receptores amargos da língua, estimulando a liberação de saliva, bile e sucos gástricos (HEINRICH et al., 2012). Esta hipótese é apoiada por observações recentes de que células receptoras de gostos amargo, azedo, doce e umami estão presentes no estômago, duodeno, jejuno, íleo e cólon de ratos. Alguns defensores do modelo de resposta cefálica aceitam que o gosto amargo aumenta a estimulação local (KNOSS & STOLTE, 2009). Em contraste, outros defensores do modelo de resposta cefálica sustentam que não há provas suficientes de que a estimulação local produza efeitos e que as substâncias amargas sejam eficazes em distúrbios digestivos (MILLS & BONE, 2000).

A terceira hipótese é de que as substâncias amargas também provocam estimulação simpática. WEISS (1988) propôs que a ação de indução de apetite dos amargos é, provavelmente, devido à melhoria da circulação nos órgãos abdominais. Além disso, ele propôs que a ação geral tônica dos amargos foi devido à estimulação repetida do sistema nervoso simpático.

A intensidade do amargor pode ser medida pela variação do potencial elétrico de membrana, utilizando um sensor de gosto. Os sistemas de sensores de gosto têm recebido atenção, pois podem detectar vários gostos alimentares (CHIKUNI et al., 2010; FUJITA et al., 2010; MATSUO et al., 2012). Os métodos de avaliação para os gostos alimentares empregam um sistema de sensor de sabor comercialmente disponível que usa sondas de sensores, em que a informação sobre intensidades do gosto é detectada como uma mudança potencial de membrana (HAYASHI et al., 2006; HAYASHI et al., 2007; HAYASHI et al., 2008). Cada sonda do sistema foi projetada para responder preferencialmente as substâncias com gostos alvo (HABARA & TOKO, 2006; KOBAYASHI et al., 2010).

Na quantificação da intensidade de gosto dos alimentos e chás que utilizam o sensor de gosto, são utilizados padrões de referência para calibrar os sensores, como cafeína, quinino e catequinas. O gosto amargo é um fator importante para caracterizar os sabores dos chás, principalmente para avaliar o grau de oxidação da amostra (CHEN et al., 2012).

2.2 Plantas medicinais amargas

Na terapêutica, as substâncias amargas são usadas particularmente para abrir o apetite e melhorar a digestão, propriedades que se manifestam por via reflexa, pois de início promovem o aumento das secreções e acidez do estômago. Essas substâncias, administradas aproximadamente 30 minutos antes das refeições, produzem um aumento das secreções salivar e gástrica (via receptores de gosto amargo, situados nas papilas gustativas da parte posterior da língua) e biliar (via reflexo vagal). São muito úteis, por exemplo, em casos de inapetência, digestão lenta e meteorismo, como também em processos não digestivos, tais como fraqueza, anemia e estados de convalescença (ALONSO, 2008).

Estudos vêm confirmando o efeito benéfico dessas substâncias sobre o sistema digestivo (BEHRENS & MEYERHOF, 2010), uma vez que foram detectados receptores que expressam o gosto amargo fora da cavidade oral. As substâncias naturais amargas são também bastante empregadas na produção de bebidas aperitivas como vermute, campari, tônicos amargos como a “angustura bitters” e cervejas, revelando assim um amplo espectro de possibilidades comerciais.

Essas substâncias são encontradas em diversas classes de metabólitos secundários e são classificadas de acordo com sua estrutura química (Figura 1A e 1B). As principais classes de substâncias amargas são os terpenoides monoterpênicos como amarogenciano e genciopicrosídeo (5), lactonas sesquiterpênicas (absintina, matricina), diterpenos (marrubina), triterpenos como quassina (4); flavonoides como quercetina (1), naringina (2) e hesperidina (11), as catequinas epicatequina (8), epigallocatequina (12) e terpenos como humulona (7) e

alcaloides derivados do quinino (3) (ALONSO, 2008).

Em um estudo de correlação entre os sabores amargos e os princípios ativos vegetais, DREWNOWSKI & GOMEZ- CARNEROS (2000) descreveram outras classes de substâncias amargas, como flavonoides e taninos, organosulfurados e isotiocianatos. Esses últimos compostos são encontrados em alguns vegetais, como o brócolis, couve-flor, agrião e mostarda.

A distribuição das substâncias amargas no reino vegetal é desordenada, mas é possível verificar uma tendência para se concentrarem em plantas das famílias Gentianaceae, Asteraceae, Rutaceae, Simaroubaceae, Meliaceae e Umbeliferae. Nas Rutaceae, o amargor é proveniente dos flavonoides e nas Simarubaceae são os quassinoides os responsáveis por esse gosto. Algumas espécies são amplamente conhecidas e aproveitadas comercialmente, como é o caso da genciana (*Gentiana lutea* L., Gentianaceae) e lúpulo (*Humulus lupulus* L., Cannabaceae). O lúpulo é adicionado ao final da etapa de mosturação sob a forma de *pellets* ou essência e é o responsável pelo amargor da cerveja (SILVA & FARIA, 2008).

Os quassinoides são um tipo de triterpeno presente em espécies da família Simarubaceae, especialmente as plantas do gênero *Quassia* (ROY & SARAF, 2006; TADA et al., 2009). Os quassinoides são as substâncias naturais mais amargas conhecidas. Essas espécies são consideradas na medicina tradicional, úteis como tônicas e digestivas (COSTA, 2006). Outras atividades biológicas já foram descritas, como antidiabéticas (HUSAIN et al., 2011), antiulcerogênica (GARCIA-BARRANTES & BADILLA, 2011; TOMA et al., 2002) e antimalárica (MISHRA et al, 2010; HOUEL et al., 2009).

As espécies da família Simaroubaceae são usadas na medicina tradicional no norte da América do Sul e Caribe como “copos medicinais amargos”. Eles foram feitos de várias espécies, membros da Família Simaroubaceae, principalmente com a espécie *Simarouba excelsa* (Sw.) DC. conhecida como "Quassia jamaicana". Os copos artesanais são feitos a partir do tronco da espécie, eles têm uma pequena capacidade, são decorados e têm um forte gosto amargo (ODONNE et al., 2007).

Os iridoides são o segundo grupo de substâncias mais amargas encontradas

na natureza. Eles são os componentes majoritários das raízes da *Genciana lutea* L. e da *Centaurium minus* Moench. Os iridoides são as substâncias responsáveis também pela atividade anti-inflamatória do *Harpagophytum procumbens* (Burch). DC. (HOSTANSAKA et al., 2014).

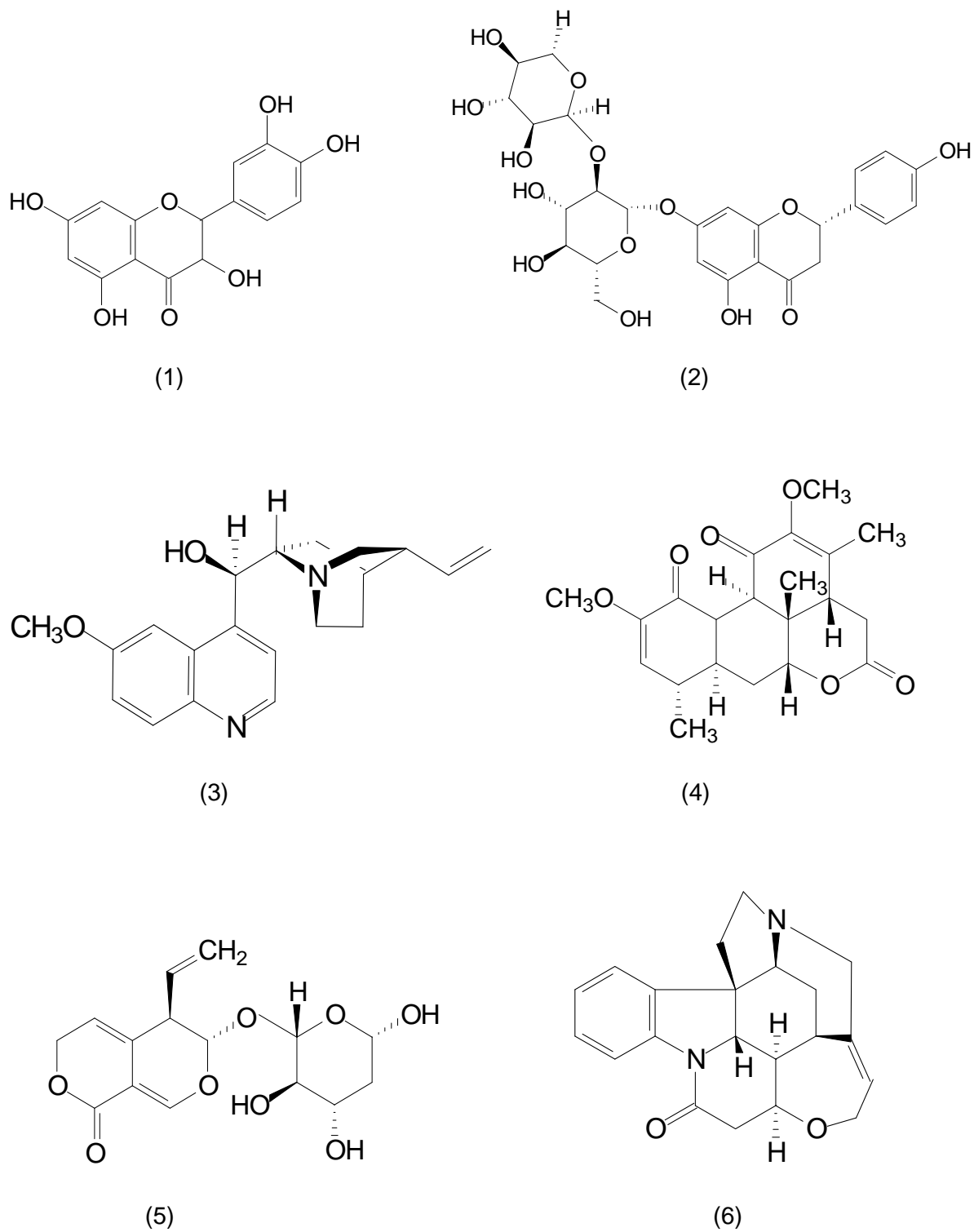


Figura 1A: Exemplo de substâncias amargas. (1) quercetina, (2) naringina, (3) quinina, (4) quassina, (5) gentiopicrosído, (6) estriquinina

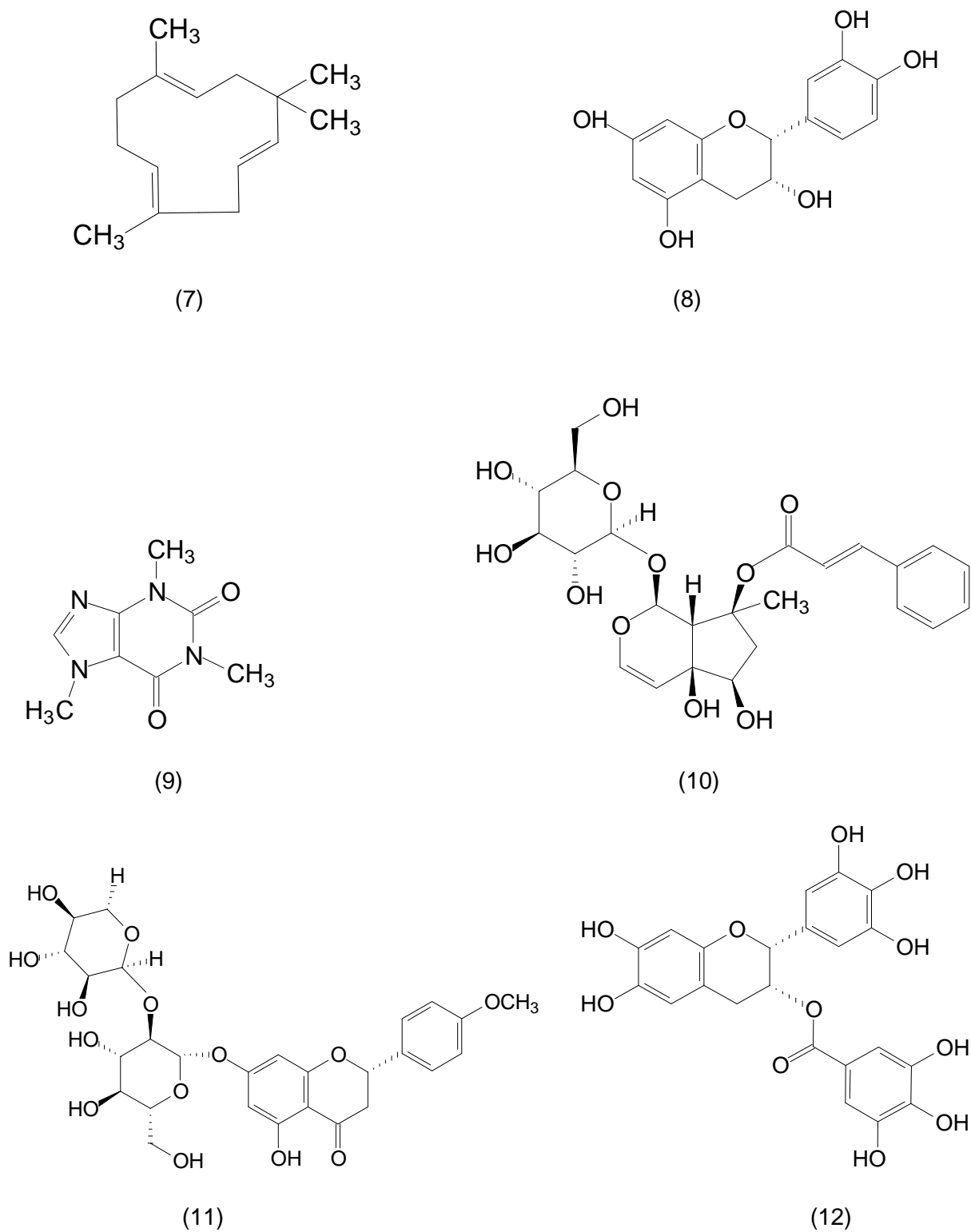


Figura 1B: Exemplo de substâncias amargas: (7) humulona, (8) epicatequina, (9) cafeína, (10) haspargosídeo, (11) hesperidina e (12) epigalocatequina.

Os alcaloides são considerados uma importante classe de compostos amargos. Eles representam cerca de 20% das substâncias naturais descritas, e são classificados de acordo com sua origem biogenética (HENRIQUES et al., 2001). De um modo geral, todos os alcaloides possuem sabor amargo. Os alcaloides amargos mais conhecidos são alcaloides derivados do quinino. Esses alcaloides são encontrados em cascas de espécies de *Cinchona* e *Remijia*. O quinino é um padrão aceito e muito utilizado para a verificação de gosto amargo, com o limiar de detecção de 10 mg/kg (FENNEMA et al., 2008). Os principais alcaloides quinolínicos são a quinina, quinidina, cinchonina e cinchonidina (McCALLEY, 2002).

As substâncias amargas e adstringentes encontradas nos taninos são as catequinas, denominadas epicatequina (EC), epicatequinagalato (ECG), epigalocatequina (EGC) e epigalocatequinagalato (EGCG). Elas compõem o chá verde ou Chá da China, *Camelia sinensis*. As catequinas, possuem ação antihipertensiva (GALLEANO et al., 2010), anti-oxidante (CYBORAM et al., 2015), antiarterioclerose (CYBORAM et al., 2015), anticarcinogênica (PRASAD & KATIAR, 2015) e propriedades hipocolesterolêmicas (CYBORAM et al., 2015).

Os flavonoides também são conhecidos pelo seu potencial amargo, as principais substâncias amargas desta classe são naringina, hesperidina e quercetina, encontradas principalmente em espécies do gênero *Citrus*. Os flavonoides e isoflavonoides têm um gosto amargo indesejável, o que dificulta a sua utilização em alimentos funcionais. Os flavonoides amargos, atuam na ativação de receptores amargos hTAS2R14 e hTAS2R39 (ROLAND et al., 2013).

A intensidade do amargor das plantas é medido pelo índice de amargor, que é descrito em várias farmacopeias . O ensaio é baseado na maior diluição de um planta ou de um extrato, que tem ainda um gosto amargo. O índice é determinado por comparação com o padrão de cloridrato de quinina. O valor do amargor do padrão é fixado em 200.000. Em estudo recente, OLIVER & WYK (2013) avaliaram o índice de amargor de quinze espécies que são utilizadas na medicina tradicional sul africana como tônicos amargos. Os resultados demonstraram que, aproximadamente, 30% das espécies são consideradas muito

amargas, com índice de amargor acima de 10.000 quando comparadas com padrões como *Gentiana lutea* e *Artemisia absinthium*. A tabela 1 traz alguns valores de índice de amargor de plantas usadas em várias partes do mundo.

Tabela 1. Índice de amargor de espécies amargas.

Espécie vegetal	Índice de Amargor
Quinino	200.000
<i>Quassia</i> spp.	40.000 a 60.000
<i>Gentiana lutea</i> L.	20.000 a 25.000
<i>Artemisia absinthium</i> L.	10.000
<i>Menyanthes trifoliata</i> L.	1.500 a 9.000
<i>Erythraea centaurium</i> (L) Pers.	2.000 a 3.500
<i>Citrus aurantium</i> L.	1.000 a 2.000

Fonte (COSTA, 2006)

No Brasil, várias plantas amargas recebem o nome popular de “quinas”. Na verdade, “quina” é o nome tradicional originalmente atribuído às espécies de *Cinchona* (Rubiaceae), nativas do Peru, e de onde se obtém o alcaloide quinino, empregado há séculos no tratamento da malária. As *Cinchona* são conhecidas também pelas suas propriedades tônicas. O quinino é o principal alcaloide amargo da casca da cinchona (BRASIC, 1999), sendo inclusive adicionado como aditivo amargo na composição da água tônica. O uso das cascas amargas dessa planta para tratar a malária foi copiado dos ameríndios pelos espanhóis, ainda no século XVI. A planta é hoje cultivada em escala comercial na ilha de Java e na Ásia, de onde o quinino é extraído para a produção dos medicamentos e usado na indústria de bebidas como flavorizante amargo. Já houve bastante interesse do Brasil no cultivo comercial da quina, devido a seu amplo emprego e sua importância comercial, mas todas as tentativas fracassaram (COSENZA et al., 2013).

O gosto amargo da água tônica, na qual é incorporado o quinino, é

fundamental para a aceitação do produto. A concentração utilizada de cloridrato de quinino pode chegar até 85 mg/litro de produto (MINIM et al., 2009). O quinino também é indicado no o tratamento de cólicas (DIENER et al., 2002).

O quinino e o seu diastereoisomero quinidina inibem o citocromo P450 2D6 (CYP2D6), uma enzima hepática envolvida no metabolismo de muitas drogas antiarrítmicos, incluindo os antagonistas dos receptores b-adrenérgicos, antidepressivos tricíclicos, inibidores de recaptção da serotonina, antipsicóticos, opiáceos, agentes anticancerígenos e anfetaminas. A quinina e quinidina são amplamente reconhecidas como uns dos inibidores mais potentes da CYP2D6 em humanos (KOBAYASHI et al., 1989).

Espécies de *Cinchona* não ocorrem no Brasil, mas várias plantas amargas recebem esse nome popular, às quais também são atribuídas propriedades febrífugas, sintoma típico da malária, e tônica (COSENZA et al, 2013). Nessa pesquisa foram estudadas espécies de plantas nativas do Brasil conhecidas como quinas, visando avaliar seu potencial como amargo e farmacológico. Seis espécies foram pré-selecionadas a partir de dados da literatura histórica sobre o uso de plantas brasileiras, que vem sendo amplamente estudada pelo nosso grupo na última década.

2.3 Espécies nativas amargas selecionadas para o estudo

2.3.1 *Baccharis trimera* (Less.) DC (Asteraceae)

A *B. trimera*, conhecida sob o nome popular de carqueja, é um arbusto ou subarbusto, que cresce até um metro de altura (Fig. 2). A espécie é nativa do sul e do sudeste do Brasil.

B. trimera possui folhas dispostas ao longo do caule e ramos como expansões aladas. As inflorescências são dispostas ao longo dos ramos, de cor esbranquiçada (LORENZI, 2002). Essa planta é amplamente utilizada no Brasil, hábito herdado de povos indígenas, que há séculos já faziam uso da planta para o tratamento de

várias doenças. O uso foi difundido na medicina tradicional como: tônica, febrífuga e estomática. Em algumas publicações populares, recomenda-se o uso dessa planta para o tratamento de problemas hepáticos (remove obstruções da vesícula e fígado), contra disfunções estomacais (digestivo) e intestinais (LORENZI, 2002).

A espécie *B. trimera* encontra-se descrita na RDC 10/10 (ANVISA) e na FBRAS e 5ª edição, confirmando assim a importância atual dessa planta para o emprego em produtos farmacêuticos. Devido a seu amargor pronunciado, a carqueja recebe o nome popular também de carqueja-amarga. O naturalista francês Auguste de Saint-Hilaire descreveu no seu livro *Plantas Usuais dos Brasileiros* (1824), uma comparação entre o amargor da espécie e da genciana.

*“Toda a planta é muito amarga e o amargor supera o da genciana.
Muito usado contra as febres intermitentes”*



Figura 2: Imagem de *B. trimera* coletada no Museu de História Natural do Jardim Botânico da UFMG.

Outra referência importante, na bibliografia histórica, foi descrita pelo naturalista inglês Richard Burton em seu livro *Viagem do Rio de Janeiro a morro velho* (1869), onde ele revela o uso da planta na preparação de cerveja

*“a Composta carqueja (*Baccharis, Nardum rusticum*, Mart.), de folhas triangulares alongadas e bagas esbranquiçadas nos ângulos, tônico amargo, aromático e antifebril, muito usado na fabricação da cerveja teuto-brasileira”*

COSTA (2006) também indicou o uso da planta na fabricação de cervejas baratas, substituindo o lúpulo. Em relação à composição química de *B. trimera*, várias classes de substâncias foram isoladas e caracterizadas: GENÉ et al., (1996) identificaram flavonoides, entre eles luteolina (15), eupafolina (16), apigenina (17), hispidulina (18), quercetina (19) e rutina (20).

SIMÕES-PIRES et al. (2005) isolaram e identificaram compostos polifenólicos como ácido clorogênico (13) e ácido cafeico (14) por HPLC-UV-MS-MS; ZDERO et al. (1991) caracterizaram o gênero *Baccharis* pela ocorrência de diversas classes de óleos essenciais, como os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, sendo as principais δ -cadineno (21), β -elemeno (22), δ -calacoreno (23), germacreno-B (24), α -humuleno (25), cariofileno (26), carquejol (27), acetato de carquejol (28) e diterpeno do tipo clerodano (29).

Vários estudos descreveram que os principais componentes químicos da espécie *B. trimera* são os compostos fenólicos, flavonoides, saponinas e os óleos essenciais (Fig 3A e 3B) (HERZ et al., 1977; GENÉ et al., 1996; EMERENCIANO, 2001; VERDI et al., 2005; ABOY et al., 2012). *B. trimera* já foi submetida a vários estudos buscando determinar suas eficácias farmacológicas. Extratos e substâncias isoladas da planta foram confirmadas como antihelmínticos (OLIVEIRA et al., 2014; LAZARO et al., 2013), ação de sinergismo com antifúngico terbinafina (RODRIGUEZ et al., 2013), antioxidantes (PÁDUA et al., 2010), imunomoduladores (PAUL et al., 2009), antimicrobianos (BETONI et al., 2006), antidiabéticos (OLIVEIRA et al., 2005), anti-hemorragicos (JANUÁRIO et al., 2004), vasodilatadores e relaxantes da musculatura lisa (TORRES et al., 2000), anti secretores (BIONDO et al., 2011), adaptogênicos (MENDES et al., 2007), analgésicos e antiinflamatórios (GENÉ et al., 1992). Extratos da planta induziram, por outro lado, genotoxicidade (RODRIGUES et al., 2009) e toxicidade em ratas prenhas que após a descontinuidade do uso o efeito é suprimido, evidenciando necessidade de cautela no uso da espécie (GRANCE, 2008). *B. trimera* possui diversas substâncias químicas e atividades farmacológicas conhecidas e acredita-se que os compostos amargos são os óleos essenciais e compostos fenólicos que são compostos majoritários presentes na espécie.

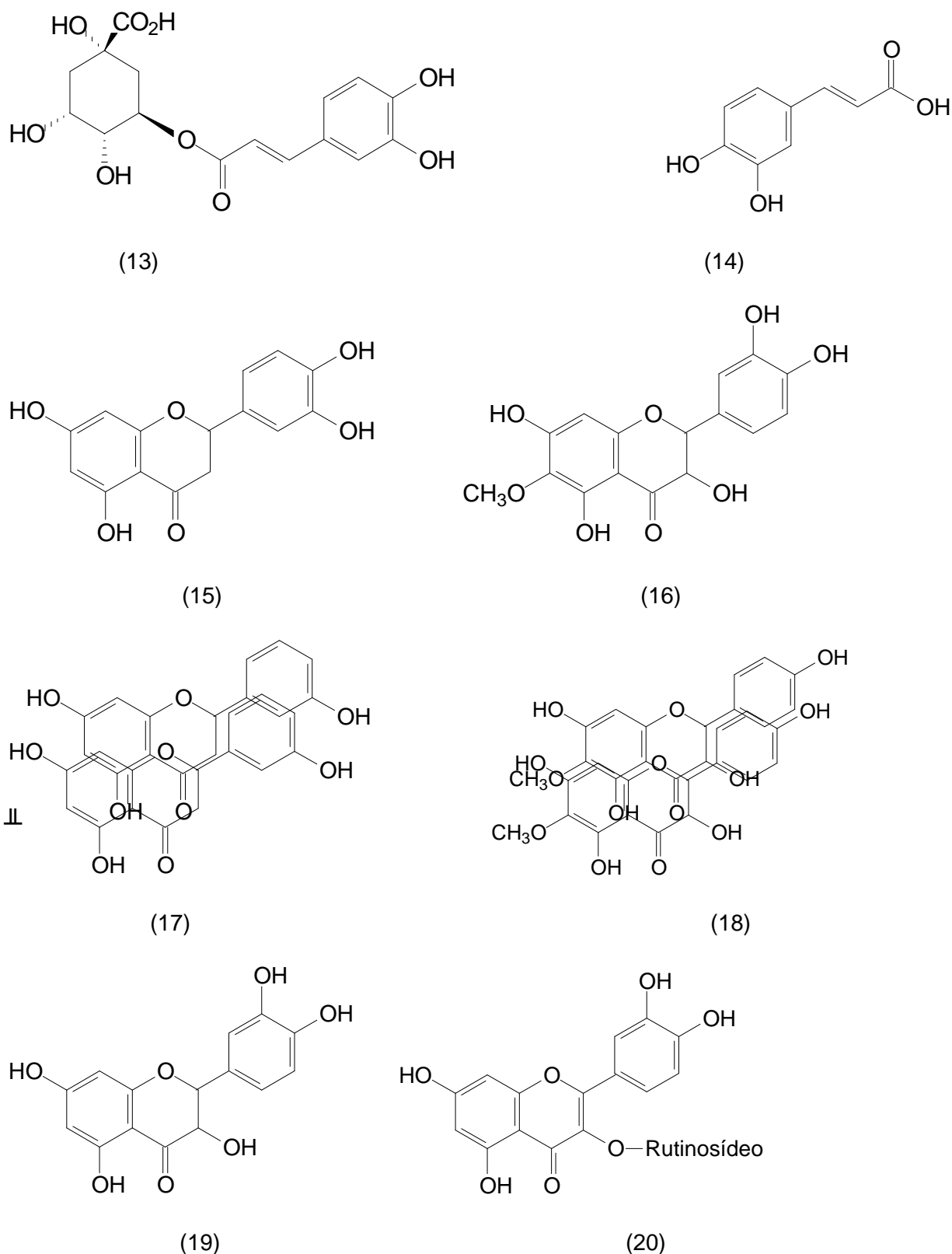


Figura 3 A: Principais substâncias químicas encontradas em *B. trimera*: (13) ácido clorogênico, (14) ácido cafeico, (15) luteolina, (16) eupafolina, (17) apigenina (18) hispidulina, (19) quercetina, (20) rutina

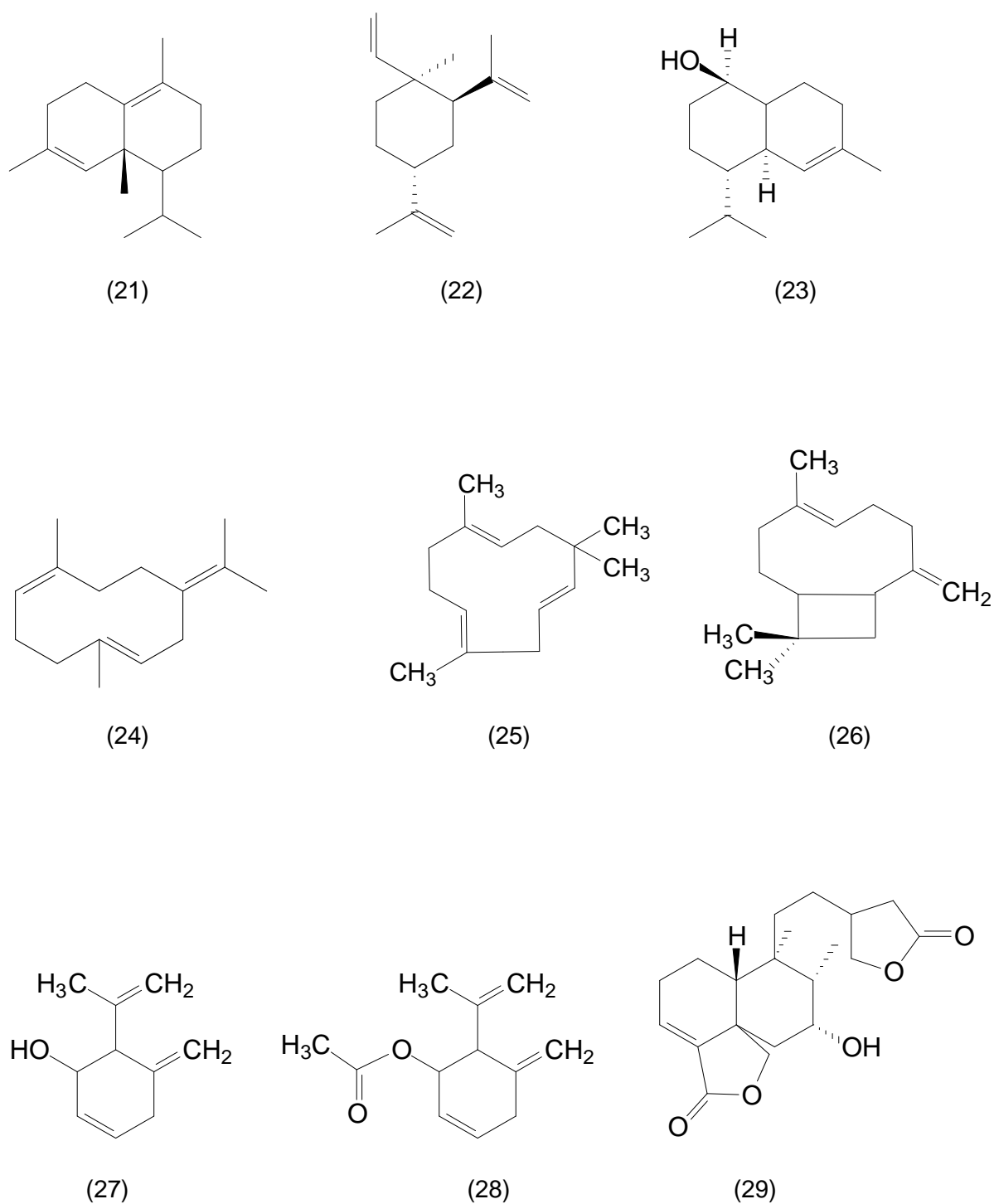


Figura 3 B: Principais substâncias químicas encontradas em *B. trimera*: (21) δ -cadineno, (22) β -elemeno, (23) δ -calacoreno, (24) germacreno-B, (25) α -humuleno, (26) cariofileno, (27) carquejol, (28) acetato de carquejol e (29) diterpeno do tipo clerodano.

2.3.2 *Esenbeckia febrifuga* (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. (Rutaceae)

Esenbeckia febrifuga (Fig 4), é conhecida por três folhas vermelhas, laranjeira do mato ou quina. Trata-se de uma árvore grande que ocorre nos estados brasileiros de São Paulo, de Minas Gerais e do Espírito Santo. As folhas são alternas, pecioladas, glabras, composta de três folíolos. Na medicina popular, o decocto das cascas amargas é usado para tratar febres, inclusive às intermitentes.

O naturalista Saint-Hilaire, em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros* (1824), compara o amargor e eficácia da planta com as cascas da angustura, espécie amarga usada na época.

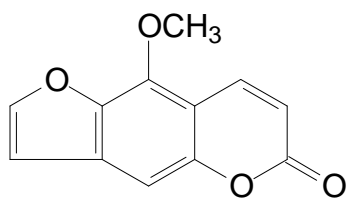
“A casca e mesmo a madeira dessa planta são extremamente amargas e adstringentes e substituem com muito sucesso a quinquina do Peru, sobretudo como febrífugo. A eficácia desse remédio não deve ser colocada em dúvida, tanto mais que suas propriedades se encontram no mesmo grau em uma planta da mesma família, o famoso Cusparé (Galipea febrifuga N. Vulg.: Cortex angusturae); e Evodia febrifuga pode-se tornar para os habitantes da parte oriental da província de Minas, o que é a casca da angustura para os das margens do Orenoco. Suponho que a Evodia febrifuga que é uma casca muito elogiada que alguns mineiros trazem ao Rio de Janeiro, com o nome de Casca da laranjeira da terra, e na qual o doutor Bernardino Antonio Gomez diz ter encontrado a cinchonina.”



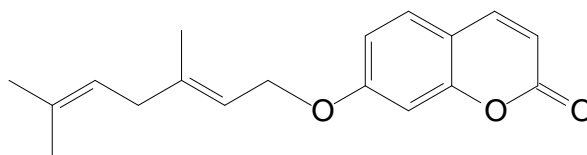
Figura 4: Imagem da *E. febrifuga* coletada no Campus da Universidade Federal de Minas Gerais, na Pampulha.

O extrato aquoso da casca da planta foi estudado em ratos infectados com *Plasmodium berghei* na dose de 1,0 g/kg. Os resultados mostraram uma atividade parcial do extrato, causando 43% de inibição da multiplicação do parasita (CARVALHO et al., 1991; BRANDÃO et al., 1992).

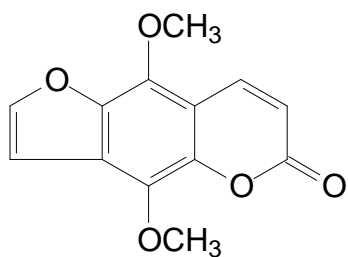
DOLABELA et al.(2008) confirmaram a atividade antimalárica do extrato etanólico das cascas contra *Plasmodium falciparum* e isolaram cumarinas: bergapteno (30), aurapteno (31), isopimpineline (32); alcaloides do tipo quinolínicos: kokusaginine (33), fagarina (34), acronicina (35), dictamina (36) e flindersiamina (37) e quassinoides (Fig 5). É possível que a propriedade amarga seja devido à presença dos alcaloides e quassinoides. Uma nova cumarina denominada de 7-geranyloxycoumarina, chamada foi extraída das folhas da *E. febrifuga*, e foi purificada a partir de uma fração hexânica. O composto isolado mostrou a inibição do crescimento significativa, com um DL50 de 30 uM contra *Leishmania major* (GUIDUGLI, 2012).



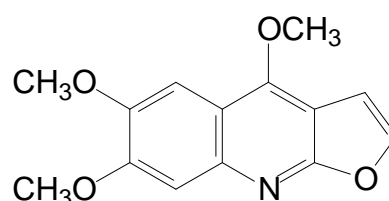
(30)



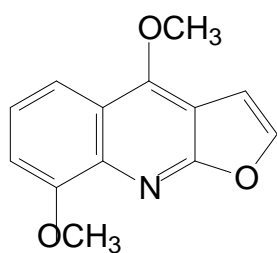
(31)



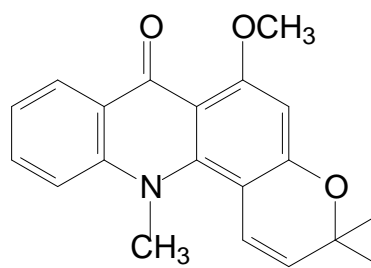
(32)



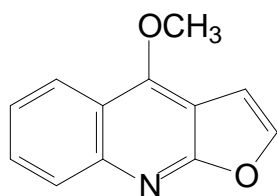
(33)



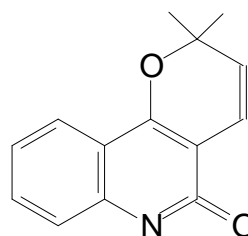
(34)



(35)



(36)



(37)

Figura 5: Principais substâncias químicas encontradas em *E. febrifuga*: (30) bergapteno, (31) aurapteno, (32) isopimpineline, (33) kokusaginina, (34) fagarina, (35) acronicina, (36) dictamina e (37) flindersiamina.

2.3.3 *Hortia brasiliiana* Vand. ex DC. (Rutaceae)

O gênero *Hortia* pertence à família Rutaceae, é composto por dez espécies, considerada neotropical com distribuição, no Brasil, desde o Paraná até os estados de Minas Gerais e de São Paulo, com grande predominância de espécies na região Amazônica. A espécie *H. brasiliiana* (Fig.6) é uma árvore de quatro a trinta metros de altura, possui flores de cor rósea e consistência coriácea, suas folhas são grandes, simples e lisas com comprimento médio de aproximadamente 30 cm (GROPPO, 2010). É a única espécie do gênero encontrada no leste do Brasil, ocorre dos estados de Pernambuco e Bahia até o Rio de Janeiro. Ao longo da costa brasileira, essa espécie cresce na Mata Atlântica. Em Minas Gerais é encontrada na Serra do Espinhaço e é muito frequente em faixas de Mata Atlântica, presente na bacia do Rio Doce (GROPPO et al., 2005; GROPPO, 2010).

São encontradas poucas informações sobre o uso tradicional das espécies do gênero *Hortia*. MARCONDES (2012) realizou um levantamento no município de Mariana (MG) e observou que a população local utiliza as cascas de *H. brasiliiana*, conhecida pela população como “paratudo”, para o tratamento de disfunções estomacais e no controle de diabetes. Outras espécies de *Hortia* são usadas pela população para o tratamento de distúrbios gástricos. A família Rutaceae possui espécies frequentemente utilizadas para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, como dor abdominal, náuseas, diarreias, hérnias e gastrite.

Estudos fitoquímicos recentes com as espécies *Hortia brasiliiana*, *Hortia oreadica*, *Hortia superba* identificaram algumas classes de metabólitos secundários como derivados de ácidos dihidroxicinâmico (44), cumarinas como a 5-metoxiseselina (43), flavonoides e alcaloides do grupo b-indoloquinazolínicos e quinolínicos, como rutaecarpina (38), skimmianina (39), dictamina (40), metilflindersiamina (41) e desidrorutaecarpina (42) (Fig. 7) (BRAGA, 2005; BRAGA et al., 2012; SEVERINO, 2008). Existem várias atividades farmacológicas relacionadas aos alcaloides indolopiridoquinazolínico, incluindo a atividade

gastroprotetora e antiúlcera, principalmente para o alcaloide ruteorcapina (39) (WHITTLE et al., 1990; TEPPERMAN & WHITTLE, 1992; JANUÁRIO et al., 2000).

Os alcaloides furoquinolínicos, que são presentes em plantas do gênero *Hortia*, possuem atividade contra patógenos bucais, que podem ser utilizados para reduzir a cárie dentária e a formação de placas (SEVERINO et al., 2009).

O naturalista francês A. de Saint-Hilaire descreveu em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros* (1824) o relato sobre o amargor da *Hortia*.

“Essa planta, cuja casca é amarga e febrífuga, não pode, no entanto, ser considerada senão um sucedâneo bastante inútil, uma vez que o Strychnos pseudoquina cresce mais ou menos nos mesmos lugares que ela. De qualquer modo, deve-se ver na Hortia brasiliana a confirmação das propriedades febrífugas das Rutaceas”.



Figura 6: Imagem da *Hortia brasiliana*, coletada próximo da Reserva Particular Natural do Caraça, no município de Catas Altas-MG.

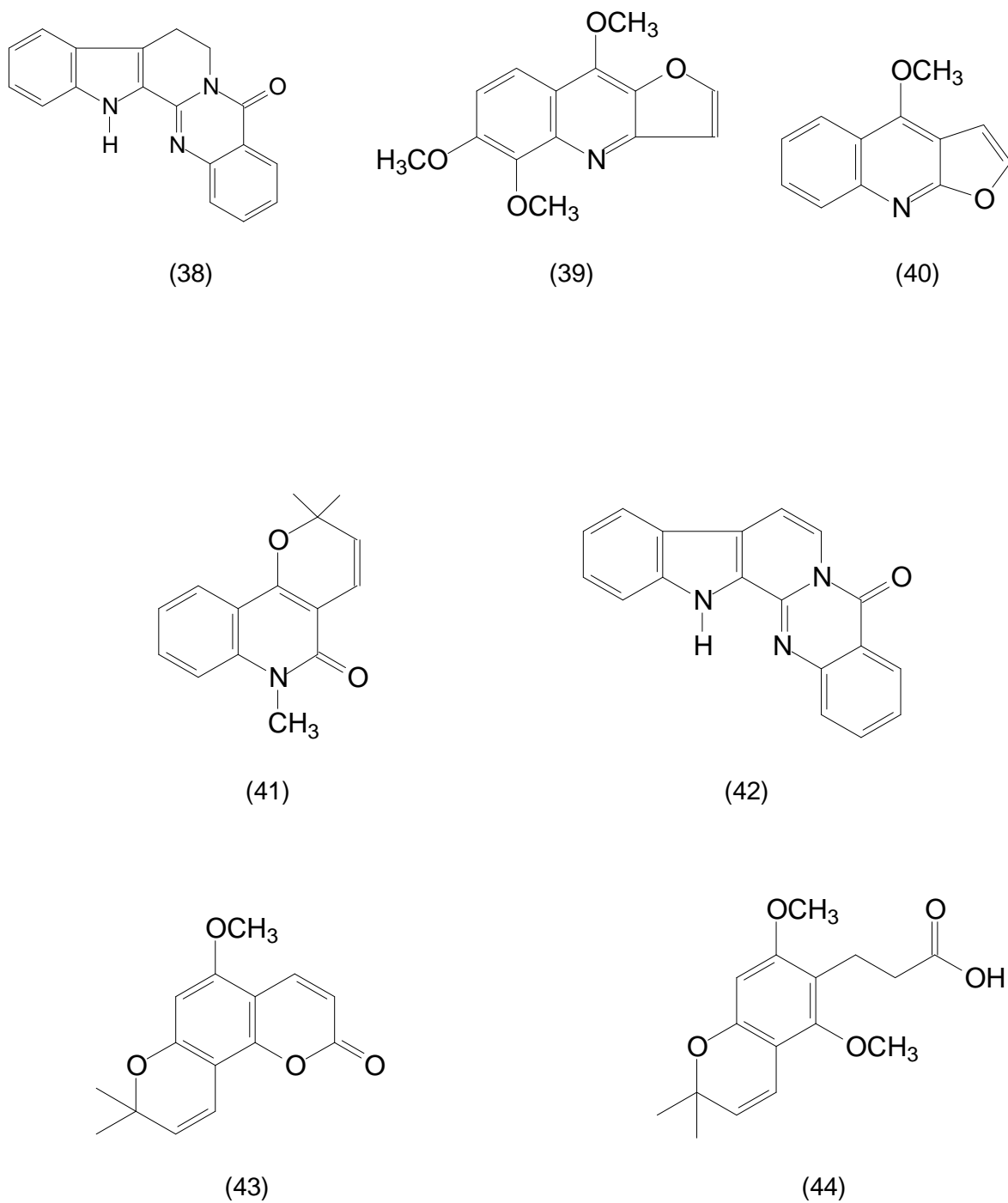


Figura 7: Principais substâncias químicas encontradas em *H. brasiliiana*: (38) rutaecarpina, (39) skimmianina, (40) dictamina, (41) metilflindersiamina, (42) desidrorutaecarpina, (43) 5-metoxiseselina e (44) ácido dihidroxicinâmico.

2.3.4 *Polyouratea hexasperma* (A. St.-Hil) Tiegh (Ochnaceae)

A espécie *Polyouratea hexasperma* A. St.-Hil. (Fig 8) é uma árvore pequena medindo de dois a três metros, nativa do cerrado brasileiro e encontrada também na Bolívia e no Paraguai (KILLEEN et al., 1998) e conhecida na medicina tradicional como quina ou gomphia. As cascas dessa espécie no passado eram usadas para curar machucados provocados por picada de insetos, e era muito utilizada como adstringente. O gênero *Polyouratea* compreende em torno de 300 espécies tropicais e ocorre principalmente na América do Sul, e algumas espécies são usadas na medicina tradicional como tônicos adstringentes (*P. castanefolia*, *P. parviflora*), como antiinflamatórios e em doenças de pele (*P. parviflora*) e para doenças gástricas (*P. spectabilis*) (CORRÊA, 1984; PAULO et al., 1986; FELÍCIO et al., 1995).

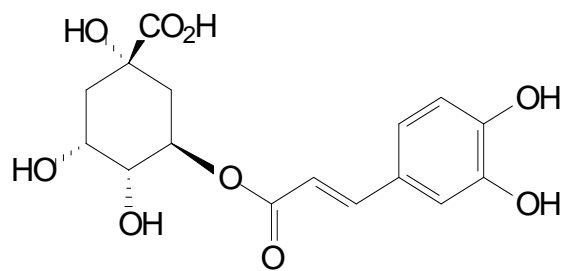
O naturalista francês, A. de Saint-Hilaire, descreveu em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros* (1824) para a espécie *P. hexasperma*.

“Essa planta é comum no distrito de Minas Novas, e na parte da província de Minas, chamada de deserto de São Francisco. Ela cresce no meio das pastagens semeadas de árvores retorcidas e mirradas (tabuleiros cobertos). Os habitantes da região onde se acha essa planta empregam sua casca para curar as feridas dos animais provocadas pelas picadas de insetos. Parece que essa casca age como adstringente, e, nesse caso, poderia provavelmente usá-la para as feridas dos homens, assim como nosso país serve-os da casca das quinas.”

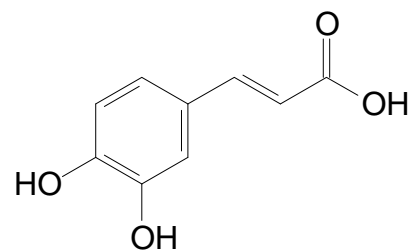


Figura 8: Imagem da *P. hexasperma*, coletada no Campus da Universidade Federal de Brasília.

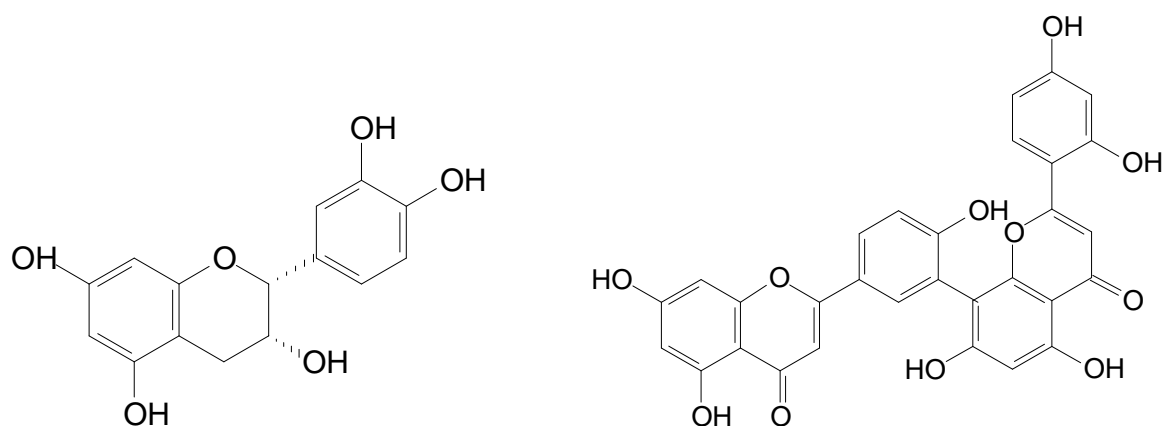
Os biflavonoides amentoflavona (48) e 7- O-metil-agathisflavona (49) (Fig.9) foram isolados das plantas brasileiras *Polyouratea hexasperma* e *P. semiserrata*. Esses biflavonoides são inibidores de topoisomerasas I, os quais são considerados agentes antitumorais. Os biflavonoides mostraram atividades inibidoras do crescimento dependentes de concentração em células de carcinoma de Ehrlich em 45 h de cultura. Os biflavonoides foram testados contra células K562 de leucemia humana em cultura de 45 h, mas só mostraram atividade inibidora do crescimento de 42 %. Os resultados sugerem que biflavonoides são alvos para as topoisomerasas de DNA, e a sua citotoxicidade é dependente do tipo de células de tumor (GRYNBERG, 2002). SOMALAVILLA et al. (2013), descreveram as características morfoanatômicas e a composição química da espécie *Polyouratea hexasperma*, destacando características importantes para identificação macro e microscópica das cascas. A identificação fitoquímica evidenciou a presença de ácidos fenólicos, como ácido clorogênico (45) e ácido cafeico (46) que são marcadores importantes para controle de qualidade dessa espécie.



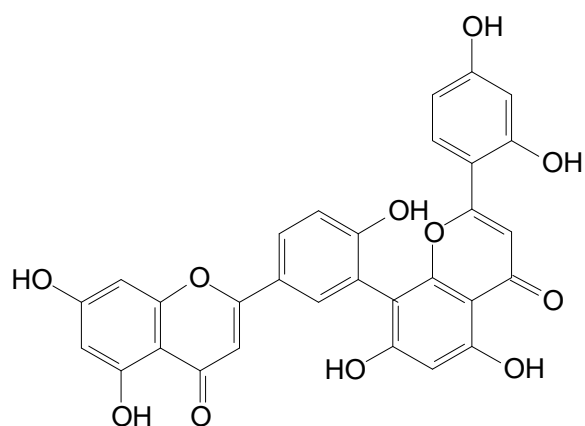
(45)



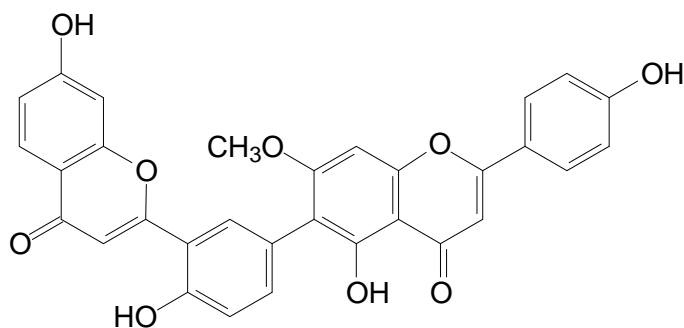
(46)



(47)



(48)



(49)

Figura 9: Principais substâncias químicas encontradas em *P. hexasperma*: (45) Ácido clorogênico, (46) ácido cafeico, (47) epicatequina, (48) amentoflavona e (49) 7-O-metilagastiflavona

2.3.5 *Remijia ferruginea* (A. St.-Hil.) DC. (Rubiaceae)

A *Remijia ferruginea* (A.St.-Hil.) DC. é uma árvore com folhas opostas, pálidas, grandes (Fig 10). Essa espécie é encontrada no Brasil, da Bahia até São Paulo, e fornece cascas que substituem a verdadeira quina, como tônica e amarga. É denominada popularmente como quina de remíjio, quina brasileira, quina do campo, quina da serra e quina mineira (CORREA, 1984).

O naturalista francês Saint-Hilaire descreveu em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros* (1824) sobre a Quina mineira.

“Usos. Entre tantas plantas às quais os brasileiros atribuem erradamente o nome de Quina verdadeiras quinquinas. Sua casca, amarga e adstringente, parece-se particularmente, quanto ao sabor, à da quinquina da América espanhola. Não duvido de que ela ofereça os mesmos princípios, e foi empregada com sucesso como febrífugo pelo habitantes das regiões“

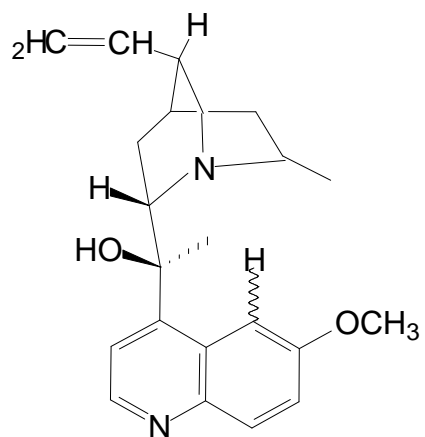
A composição química da espécie *Remijia ferruginea* é pouco conhecida, sabe-se que existe a presença de alcaloides, DIAZ et al. (2004) e RUIZ-MESIA et al.(2005) identificaram alcaloides do tipo quinino das cascas da *Remijia peruviana*, entre eles podemos citar quinino (50), cinchonina (51), remijinina (52), epiremijinina (53) e cupreína (54).

Essas espécies de *Remijia* são tradicionalmente usadas na Amazônia como preventivo de malária. ANDRADE-NETO et al. (2003) verificaram que o extrato etanólico das cascas dessa espécie desencadeia atividade antimalárica em experimento cobaias, reduzindo a parasitemia e a mortalidade dos animais. As análises fitoquímicas verificaram a presença de alcaloides (Fig.11), mas não evidenciaram a presença de quinino. A quina mineira é utilizada em um fitoterápico conhecido como ierobina[®], indicado para o tratamento de dispepsia. Além da quina mineira, esse produto é composto de extratos-fluidos de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae, jurubeba), *Jacaranda caroba* DC. (Bignoniaceae, carobinha) e *Erythraea centaurium* (L) Pers. (Gentianaceae, centaurea). Essas espécies são utilizadas tradicionalmente para tratamento de

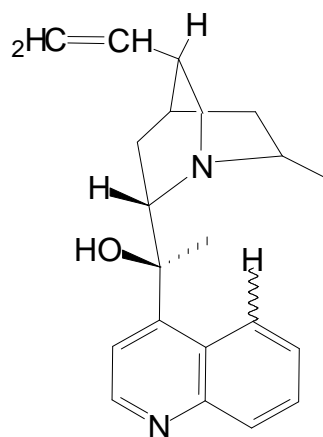
desordens gastrointestinais. O produto foi testado em animais e não afetou os níveis de glicose, colesterol e triglicerídeos (BOTION et al., 2005).



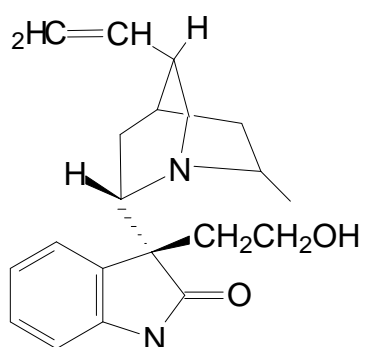
Figura 10: Imagem de *Remijia ferruginea* coletada em São Gonçalo do Rio das Pedras, Município do Serro, MG.



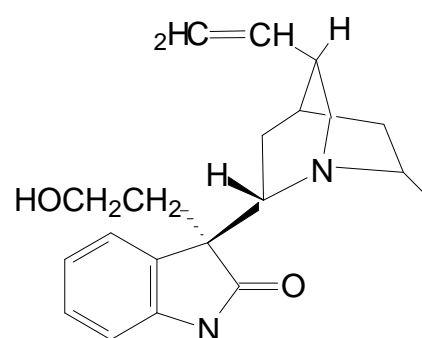
(50)



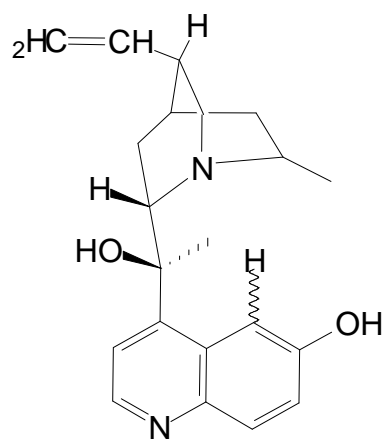
(51)



(52)



(53)



(54)

Figura 11: Principais substâncias químicas encontradas em *R. ferruginea*: (50) quinino, (51) cinchonina, (52) remijina, (53) epiremijina e (54) cupreína.

2.3.6 *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. (Loganiaceae)

A espécie *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. (Fig. 12) é uma planta nativa do Brasil, conhecida popularmente como quina branca, quina do cerrado ou quina do campo. É encontrada nos cerrados brasileiros dos estados de Minas Gerais, de São Paulo, de Goiás, de Mato Grosso do Sul e de Tocantins (ALMEIDA et al., 1998). As cascas dessa espécie são popularmente utilizadas para o tratamento de doenças hepáticas e gástricas (CORREA, 1984; SANTOS et al., 2006), febres e malária (ANDRADE-NETO et al., 2003). A monografia da espécie é descrita na Farmacopeia Brasileira 1ª Edição (F.Bras, 1926).

Alguns trabalhos já determinaram os principais metabólitos secundários da espécie. A investigação fitoquímica demonstrou a presença de flavonoides e de alcaloides nas cascas de *S. pseudoquina* (Fig.13) (NICOLETTI et al., 1984; SILVA et al., 2005). Os alcaloides indólicos encontrados foram: a bisnorhidroxitixiferina (60), diabolina (58) e a 11- metoxidiabolina (DELLE-MONACHE et al.,1969; FRANCO et al., 1969; SILVA et al., 2005). Em relação aos flavonoides encontrados estão a 3-O-metilquercetina (55), isoramnetina (57), estricnobilflavona (58) (NICOLETTI et al., 1984; BOTELHO et al., 2009; LAGE et al., 2013).

O naturalista francês Saint-Hilaire descreveu em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros* (1824) sobre a Quina do campo.

"Eles se servem dela em quase todas as doenças para as quais os médicos da Europa administram a quinquina, e principalmente para febres intermitentes, tão comuns todos os anos nas margens do rio São Francisco e dos chamados rio do Sono, da Prata e Abaité, etc. Um dos médicos mais esclarecidos do Brasil, que havia feito experiências com a S. pseudoquina comparando com a quinquina do Peru, assegurou-me que achara a casca da planta de Minas pelo menos igual, quanto às propriedades, a das verdadeiras cinchonas da América espanhola".

Em relação às atividades farmacológicas, diversos estudos já foram conduzidos. BONAMIN et al. (2011) demonstraram a atividade gastroprotetiva da espécie de extrato metanólico e de uma fração enriquecida de alcaloides em

modelo de gastrite crônica induzida por ácido acético. O estudo confirmou que o extrato e a fração provocaram aumento da proliferação celular e ação antibacteriana contra *H. pylori*, confirmando a eficácia da espécie contra gastrite. Outros autores já confirmaram a atividade gastroprotetora da espécie (SILVA et al., 2005; SANTOS et al., 2006). Estudo de SANTOS (2006) avaliou o potencial genotóxico de extratos e fração enriquecida de alcaloides testados em *Salmonella typhimurium* e realizaram o teste de micronúcleos em células de sangue periférico de camundongos. Os resultados mostraram que o extrato de metanólico das folhas de *S. pseudoquina* é mutagenica para o TA98 (-S9) e TA100 (+ S9-S9), em estirpes de *Salmonella*, e os ensaios da fração enriquecida com alcaloides ou flavonoides não foram mutagênicos. *In vivo*, foram realizados testes com o extrato bruto metanólico em ratos Swiss albinos, os quais foram tratados, por gavagem, com três doses. A dose mais elevada testada (1800 mg/kg/dia.) demonstrou o potencial mutagênico do extrato das folhas de *S. pseudoquina*. Em estudos de atividade hipoglicêmica, o extrato aquoso de *S. pseudoquina* apresentou efeito hipoglicemiante significativo. Enquanto isso, a utilização tópica da microemulsão de *S. pseudoquina* não apresentou efeito significativo sobre a cura de feridas em ratos diabéticos (HONÓRIO- FRANCA, 2008).



Figura 12: Imagem da *S. pseudoquina* coletada no município de Curvelo, MG.

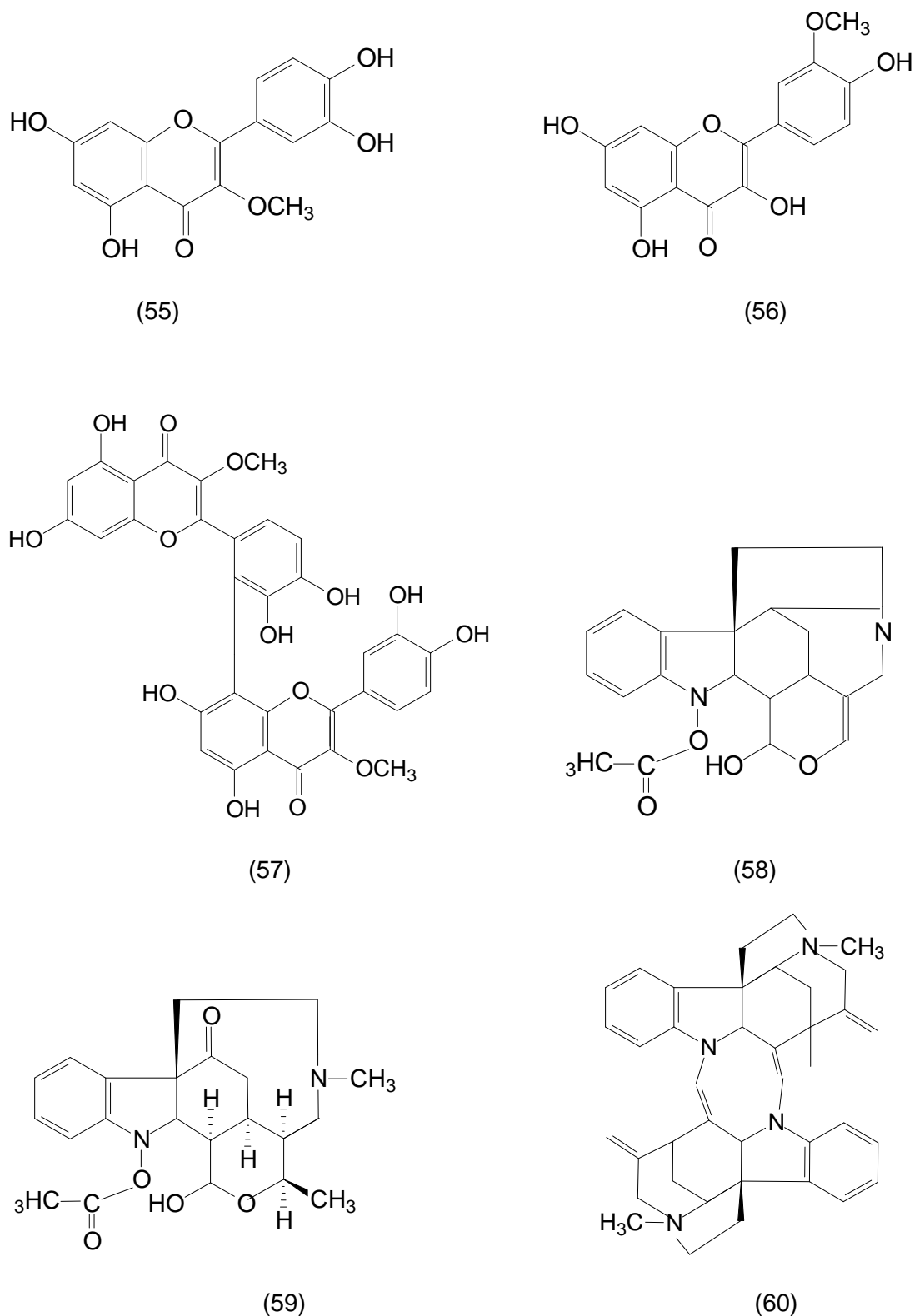


Figura 13: Principais substâncias químicas encontradas em *S. pseudoquina*: (55) 3-metilquercetina, (56) isoramnetina, (57) estriquinobiflavona, (58) diabolina, (59) estricnobrasilina e (60) nor-dihidrotoxiferina

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Equipamentos

- Aparelho de GPS (Etrex)
- Balança analítica (Shimadzu, AY220)
- Banho maria (Fisatom, 550)
- Bomba de vácuo (Tecnal, TE0581)
- Câmera fotográfica digital (Sony DSC-W550)
- Cromatógrafo líquido (Shimadzu) CLAE-DAD
- CLAE-Nexera (Shimadzu) acoplado ao Maxis ETD espectrômetro de massa ESI-QTOF de alta resolução (Bruker)
- Cromatógrafo Gasoso (Shimadzu) CG-FID
- Espectrofotômetro UV- Visível (Bioespectra, EL800)
- Estufa para secagem de plantas (Sociedade Fabbe)
- Homogeneizador (Omni Internacional, TH)
- Microscópio, equipado com uma câmera digital (Motican 2500)
- Moinho de facas (Tecnal, TE-625)
- Pipeta automática multicanal e de volume variável (HTL, Multimate)
- Rotavapor (Fisatom, 802)
- Sistema de purificação de água (MILLI-Q, Plus)
- Ultrassom (Unique)
- Vórtex (Phoenix, AP56)

3.1.2 Reagentes e solventes

- Acetato de etila (Ecibra)
- Acetonitrila (Merck)
- Ácido acético glacial (Tedia)
- Ácido fórmico (Synth)
- Ácido fosfórico (Tedia)
- Ácido sulfúrico (Synth)
- Ácido nítrico (Synth)
- Álcool etílico (Synth)
- Anisaldeído (Synth)
- Bromo (Synth)
- Carbonato de sódio (Synth)
- Cloreto de alumínio hexahidratado (Synth)
- Cloreto de Trifeniltetrazólico (Merck)
- Diclorometano (Synth)

- Dietilamina (Synth)
- Dimetilsulfóxido (Synth)
- Difenilboratoetilamina (Sigma)
- Formaldeído (Synth)
- Metanol (Tedia)
- n-butanol (Synth)
- Molibdato de sódio (Synth)
- Nitrito de sódio (Synth)
- Polietilenoglicol (Synth)
- Pó de pele (Sigma)
- Soro fetal bovino (Cultilab)
- Subnitrato de bismuto
- Sulfito de sódio (Synth)
- Tampão Fosfato (Synth)
- Tiuréia (Synth)
- Tripsina (Inlab)
- Tungstato de sódio (Synth)

3.1.3 Padrões Analíticos

- Ácido clorogênico (Aldrich Lote: SLBB6914V)
- Ácido cafeico (Sigma Lote: SLBB5479V)
- Cloridrato de quinino (Sigma Lote: BCB3224V)
- Cinchonidina (Sigma- Aldrich Lote: BCB9 9930V)
- Cinchonina (Aldrich Lote: STBB1223)
- Epicatequina (Sigma Lote: BDET 1321)
- Quercetina (Sigma Aldrich Lote: SLBD8415V)
- Quinidina (Sigma Lote: BCBF 1345V)
- Rutina (Sigma Aldrich Lote: BCBH6323V)

3.1.4 Outros Materiais

- Alcoômetro (Alla France)
- Coluna para CLAE NST, C18 (150 mm x 4,6 mm) 4,6 µm
- Membrana filtrante (Milipore)
- Meio de cultura RPMI (Sigma)
- Tubo ependorff de 1,5 mL (Axygen)
- Ketamina (Fagra)
- Xilasina (Fagra)
- Kit enzimático para dosagem de glicose, triglicerídeos e colesterol (Bioclin)

3.2 Métodos

3.2.1 Pesquisa bibliográfica de espécies vegetais amargas conhecidas como quina

Informações sobre as plantas amargas conhecidas e usadas como substitutas da quina verdadeira (*Cinchona* spp.) foram obtidas na bibliografia histórica e etnomédica brasileira. É importante enfatizar que várias espécies são descritas na literatura como sendo úteis como amargas, tônicas e febrífugas, mas no presente estudo, foram extraídos dados apenas daquelas espécies denominadas quinas.

Inicialmente, foram feitos estudos em referências históricas, publicadas por botânicos, médicos e farmacêuticos naturalistas que percorreram ou viveram no Brasil nos séculos XVIII e XIX. Entre os documentos históricos pesquisados está o livro *Quinografia Portuguesa, ou Coleção de Memórias de 22 Espécies de Quinas Descobertas nos Vários Domínios do Brasil*, escrita em 1799 pelo naturalista brasileiro, Frei Mariano da Conceição Vellozo. Dados sobre as plantas foram extraídos também dos diários de viagem de naturalistas europeus que percorreram o Brasil no século XIX. Os diários do botânico austríaco JE Pohl (POHL, 1976), dos alemães GH von Langsdorff (SILVA, 1997), JB von Spix e KP von Martius (SPIX & MARTIUS, 1981), dos ingleses J. Mawe (1978), CJF Bunbury (BUNBURRY, 1981) e R. Burton (BURTON, 1976; 1977), e do francês Auguste de Saint-Hilaire (SAINT-HILAIRE, 1975) foram estudados. Livros escritos por esses autores especificamente sobre as plantas usadas pelos brasileiros foram também cuidadosamente estudados em busca de informações sobre as quinas amargas. Um deles foi o *Sistema de Materia Medica Vegetal Brasileira*, publicado por von Martius, em 1843. Outras obras importantes foram o *Plantas Usuais dos Brasileiros e História das Plantas mais notáveis do Brasil e do Paraguai*, publicados por A. de Saint-Hilaire em 1824 (e traduzidos para o português pelo nosso grupo (CEPLAMT) em 2009 e 2013, respectivamente). Outros dados foram também obtidos a partir de manuscritos de A. de Saint-Hilaire, depositados no Museu de História Natural da França, em Paris (BRANDÃO et al., 2012) e do botânico inglês John Miers, depositado no Museu de História Natural de Londres.

Outros livros estudados foram escritos por médicos e farmacêuticos Europeus que viveram no Brasil no século XIX, e passaram a incorporar espécies medicinais nativas em suas práticas. Uma das obras mais importantes é o *Formulário ou Guia Médico*, escrito pelo polonês naturalizado francês, P.L.N. Chernoviz, cuja primeira edição foi publicada em 1842. Este livro foi amplamente usado por médicos e boticários no Brasil, até a publicação da Farmacopeia Oficial Brasileira, em 1926. Outros livros estudados foram o *Dicionário de Medicina Popular e Doméstica* escrito pelo dinamarquês T. Langgaard (LANGGAARD, 1865), *Dicionário de Botânica ou Compêndio sobre as Plantas do Brasil, Indígenas e Climatizadas* (PINTO, 1873), e *Elementos de Botânica Geral e Médica* redigido pelo médico baiano J.M. Caminhoá, em 1877. Outras referências importantes, organizadas no século XIX, mas publicadas no início do século XX, foram a *Monografia das Falsas-quinhas Brasileiras*, redigida em 1916 pelo farmacêutico W. Peckolt, como também a primeira edição da *Farmacopeia Oficial Brasileira* (1926). Os dados sobre as plantas foram posteriormente confrontados com estudos farmacológicos em artigos, indexados no PubMed e Scopus, relacionados com o uso tradicional da planta como amargo, febrífugo e tônico (COSENZA et al., 2013). Os resultados deste estudo estão na tabela 14.

Várias bibliografias clássicas sobre o uso de plantas no Brasil, publicadas no século XX, também foram estudadas, entre as mais importantes estão às obras *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e Exóticas Cultivadas*, de M. Pio Correa (1984), *Arquiclamideas Medicinais de Ouro Preto* (BADINI, 1940), *A Flora Nacional na Medicina Doméstica* (BALBACH, 1974), *Amazônia Brasileira III, Árvores e Plantas Úteis* (LE COINTE, 1947) e *Plantas e suas Substâncias Tóxicas e Medicinais* (HOEHNE, 1939). A relação das quinhas amargas obtidas a partir desse levantamento encontra-se na tabela 15. Os dados sobre as plantas foram também confrontados com estudos farmacológicos do PubMed e Scopus.

O uso atual das quinhas amargas foi verificado a partir de levantamento em 190 artigos sobre estudos etnobotânico, realizados em várias partes do Brasil, e publicados em periódicos nacionais e estrangeiros a partir do ano 2000. Os resultados desse levantamento encontram-se na tabela 16.

Os nomes científicos das espécies nativas foram verificados nos website, floradobrasil.jbrj.gov.br, complementado por www.theplantlist.org e www.mobot.org

para as espécies exóticas.

3.2.2 Pesquisa de substâncias amargas em seis espécies de quinas brasileiras

3.2.2.1 Seleção das plantas para o estudo

Para este estudo, foram selecionadas cinco espécies de quinas que ocorrem em Minas Gerais, descritas na bibliografia histórica, e que foram citadas pelo botânico francês A. de Saint-Hilaire em sua obra *Plantas Usuais dos Brasileiros: Esenbeckia febrifuga* (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. (Rutaceae), *Hortia brasiliana* Vand. ex DC. (Rutaceae), *Polyouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Tiegh (Ochnaceae), *Remijia ferruginea* (A.St.-Hil.) DC. (Rubiaceae) e *Strychnos pseudoquina* A.St.-Hil. (Loganiaceae). O estudo dessas plantas foi parte integrante dos projetos REFLORA (Plantas do Brasil: Resgate histórico e herbário virtual para o conhecimento e conservação da flora Brasileira) e SISBIOTA (Sistema nacional de pesquisa em biodiversidade), financiado pelo CNPq e FAPEMIG e executados pelo CEPLAMT (Centro especializado em plantas aromáticas, medicinais e tóxicas da UFMG). A sexta espécie incluída no estudo foi a *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae), amplamente distribuída por todo o Brasil e atualmente conhecida como “carqueja”.

3.2.2.2 Obtenção do material botânico

As amostras das quinas selecionadas foram coletadas em várias localidades do estado de Minas Gerais e no Distrito Federal. Informações sobre a coleta das plantas encontram-se na tabela 2.

As cascas de *E. febrifuga*, *H. brasiliana*, *P. hexasperma*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*, e caules alados de *Baccharis trimera*, após coleta, foram secadas em estufa a 40 °C, para a obtenção das drogas vegetais. Após este procedimento, os materiais foram reduzidos a pó em moinho de facas. As amostras moídas foram acondicionadas em frasco de vidro, ao abrigo da luz, até o momento do uso. As identificações taxonômicas foram feitas pelo Prof. Christopher Fagg, da Universidade de Brasília.

Tabela 2: Informações sobre as espécies coletadas.

Espécies	Mês de coleta	Local	Coordenadas GPS	Vouchers
<i>B. trimera</i>	Fev 2012	Belo Horizonte	S 19° 53' 40" W 043° 54' 48"	DAT-105-2011
<i>E. febrifuga</i>	Fev 2012	Belo Horizonte	S 19° 55' 107" W 043° 57' 29"	Fagg CW & Lins Brandão MG 2196
<i>H. brasiliana</i>	Jun 2012	Catas Altas- MG	S 20° 04' 55" W 043° 23' 26"	Fagg CW& Lins BrandãoMG 2182 (UB)
<i>P. hexasperma</i>	Jul 2012	Brasília	S 15° 46' 12.9" W 047° 52' 06"	Fagg CW 2191 (UB)
<i>R. ferruginea</i>	Jan 2012	Serro- MG	S 18°25' 41" W 043°30' 03"	(DAT-134)
<i>S. pseudoquina</i>	Jan 2012	Curvelo- MG	S 19°53' 40.2" W 043°54' 48"	(DAT-135)

3.2.2.3 Índice de amargor (teste preliminar) (Farm. Europeia 6ª edição)

A determinação do índice de amargor das plantas em estudo foi feito de forma muito preliminar, apenas com o objetivo de orientar os estudos químicos e biológicos. O ensaio foi realizado com oito provadores não treinados, estudantes de iniciação científica e pós-graduandos do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da UFMG.

O índice de amargor é equivalente à maior diluição de uma substância que é capaz de apresentar um sabor amargo. O índice foi determinado por comparação com o padrão de cloridrato de quinino, cujo valor é fixado em 200.000. O método usado foi o descrito na Farmacopeia Europeia, sexta edição.

- Determinações do fator de correção

Para corrigir as diferenças individuais na sensação de amargor, foi necessário determinar um fator de correção para cada participante, utilizando uma solução padronizada de cloridrato de quinino.

- **Preparo da solução padrão estoque e solução padrão teste:** 100 mg de cloridrato de quinino foram dissolvidos em 100 mL de água destilada. Uma alíquota de 1 mL dessa solução foi então diluída para 100 mL de água, considerada a solução estoque (SP), com a concentração de 0,01mg/ mL.

Preparou-se uma série de diluições, pipetando quantidade conhecida de acordo com a tabela 3:

Tabela 3: Preparo das soluções padrões teste de cloridrato de quinino para determinação do fator de correção.

Tubos	1	2	3	4	5	6	7	8
Solução padrão	3,6 mL	3,8 mL	4,0 mL	4,2mL	4,4 mL	4,6 mL	4,8 mL	5,0 ml
Água	6,4 mL	6,2 mL	6,0 mL	5,8 mL	5,6 mL	5,4 mL	5,2 mL	5,0 mL

O ensaio foi iniciado a partir da avaliação sensorial do tubo 1, ou seja, o que continha a menor concentração de cloridrato de quinino (3,6 mL de SP). 10 mL desta solução foram introduzidos na boca e passadas, de lado a lado, sobre o dorso da língua, por 30 segundos. Após este tempo, o provador avaliava se sentiu algum amargor. Caso a sensação não tenha acontecido, a boca era enxaguada com água, sendo o ensaio reiniciado, com o segundo tubo, após 10 minutos. O teste foi realizado utilizando os tubos em ordem crescente de concentração de cloridrato de quinino, em triplicata.

O cálculo do fator de correção k para cada participante foi feito de acordo com a expressão abaixo:

$$k = n / 5,00$$

$$n = \text{número de mL da solução de estoque}$$

Os participantes que são incapazes de sentir amargor com o tubo que utiliza a solução de referência preparada a partir de 5 mL de solução estoque, foram excluídos do teste. No ensaio realizado nenhum participante foi excluído.

- **Preparo da amostra:** O teste foi realizado a partir do chá preparado com as drogas vegetais de cada planta por infusão. A 1 g da droga vegetal moída foram

adicionados 100 mL de água fervente. A amostra foi deixada em banho maria por 30 minutos, agitando continuamente. As soluções foram então esfriadas, filtradas e transferidas para um balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com água destilada. Esta solução foi denominada de C-1 e possui um fator de diluição (FD) de 100, em seguidas foram feitas diversas soluções mais diluídas (C-2, C-3, C-3A e C-4), que são apresentadas de acordo com a tabela 4:

Tabela 4: Preparo das soluções

Soluções	Diluições	Diluyente	Fator de diluição (FD)
C-1	-	100 mL de água destilada	100
C-2	10mL de C-1	90 mL de água destilada	1.000
C-3	10mL de C-2	90 mL de água destilada	10.000
C-3 A	20mL de C-3	80 mL de água destilada	50.000
C4	10mL de C-3	90 mL de água destilada	100.000

O ensaio foi iniciado com as soluções de amostra C4, que possui o fator de diluição 100.000. As amostras foram preparadas de acordo com os tubos apresentados na tabela 5.

Tabela 5: Preparo das soluções a partir de C4.

Tubos	1	2	3	4	5	6
Solução C4	1,2 mL	1,5 mL	2,0 mL	3,0mL	6,0 mL	8,0 mL
Água	8,8 mL	8,5 mL	8,0 mL	7,0 mL	4,0 mL	2,0 mL

O teste foi realizado utilizando os tubos na ordem crescente de concentração dos chás, da mesma forma que anteriormente, até que o participante verificasse uma sensação de amargor. O cálculo do índice de amargor para cada participante foi feito de acordo com a expressão abaixo:

$$\text{Índice de amargor} = (\text{FD} \times \text{K} / \text{Z} \times 0,1)$$

Legenda:

- FD = Fator de diluição da solução
- K= Fator de correção encontrado com o padrão
- Z = número de mL da solução D (Amostras C1 a C4)

3.2.2.4 Preparo de extratos brutos (EB)

O primeiro procedimento realizado com os materiais botânicos moídos para determinação dos perfis fitoquímicos foi à preparação dos extratos brutos (EB). O processo utilizado foi a percolação a frio, utilizando uma mistura de álcool etílico 80° GL, como solvente extrator. As plantas foram extraídas até a exaustão, sendo os líquidos obtidos reunidos e concentrados a vácuo (máximo 60°C), até a obtenção dos extratos brutos.

3.2.2.5 Preparo de frações enriquecidas a partir do extrato bruto

O objetivo desta etapa foi a obtenção de frações enriquecidas em determinadas classes de substâncias amargas, especialmente os flavonoides e os alcaloides. Cada um dos extratos brutos foi submetido a um fracionamento líquido-líquido, com solventes de polaridade crescentes. Um grama de cada extrato bruto foi diluído em 50 mL de água e transferido para um funil de separação. Em seguida, foi adicionado e agitado com o acetato de etila. Esta operação foi feita com três porções de 30 mL. O acetato de etila tem a capacidade de extrair substâncias de polaridade intermediária, entre elas, os flavonoides. Esta fração foi denominada FACET. Em seguida, adicionou-se à fase aquosa o n-butanol saturado com água, para a extração de glicosídeos, saponinas e outras substâncias de alta polaridade (fração FBUT). A fração aquosa resultante foi denominada FA. Todas as frações obtidas foram concentradas a vácuo, até secagem completa, e armazenadas a 4 °C até o momento de sua utilização. As frações foram submetidas a testes de identificação das substâncias amargas por métodos cromatográficos. O procedimento executado está sumarizado na Figura 14.

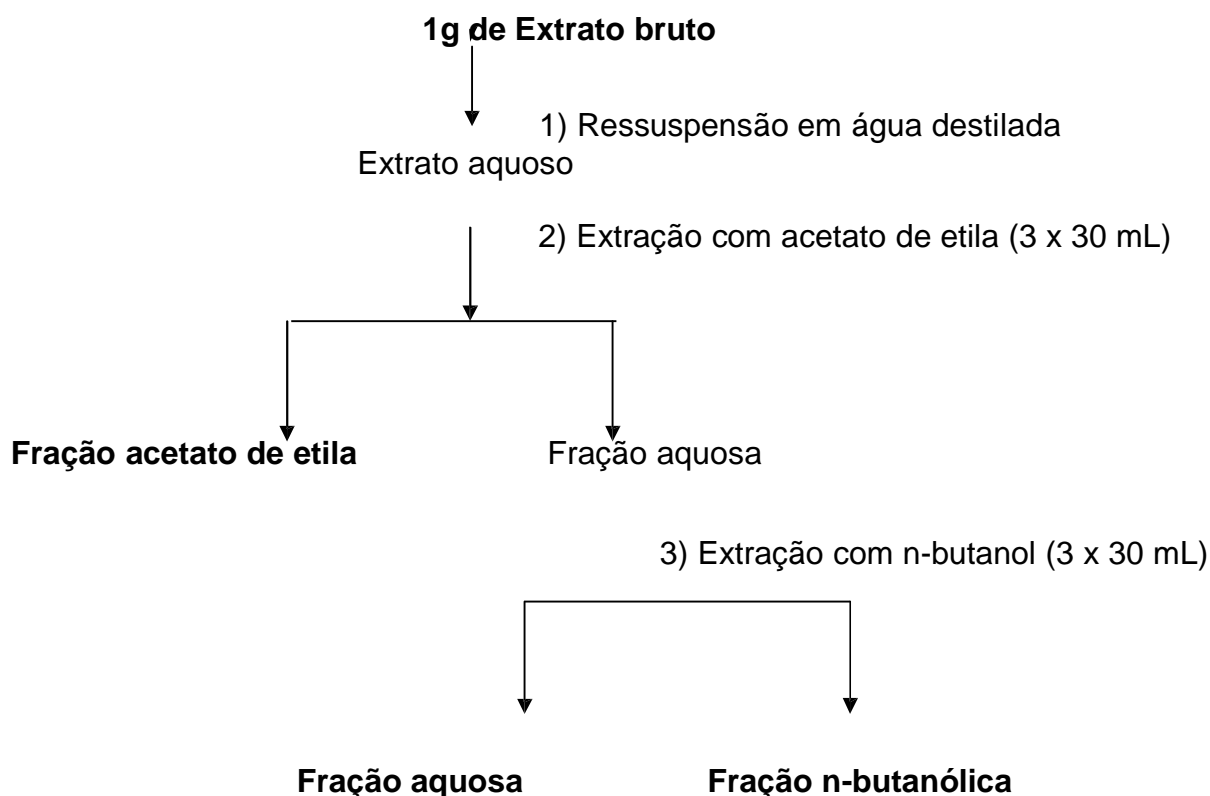


Figura 14: Fluxograma de extração e preparo do extrato bruto e frações enriquecidas.

3.2.2.6 Preparo de frações enriquecidas em alcaloides

As drogas vegetais foram submetidas a um processo de extração ácido-base, específico para alcaloides. Três gramas de cada uma das drogas vegetais foram extraídas, sob refluxo, com 20 mL de HCl 0,1 M por 30 minutos. Em seguida, cada amostra foi filtrada em papel de filtro e alcalinizada com NH_4OH 6M, até pH 9,0. A solução foi transferida para um funil de separação, adicionou-se éter etílico, e agitaram-se as duas fases com o objetivo de extrair os alcaloides. Após a extração, a fase orgânica foi reunida e concentrada até *secura* em rotavapor, e armazenadas a 4°C até o momento do uso. Todas as frações foram submetidas a testes de identificação das substâncias amargas por métodos cromatográficos. A Figura 15 ilustra o procedimento realizado para a obtenção das frações de alcaloides.

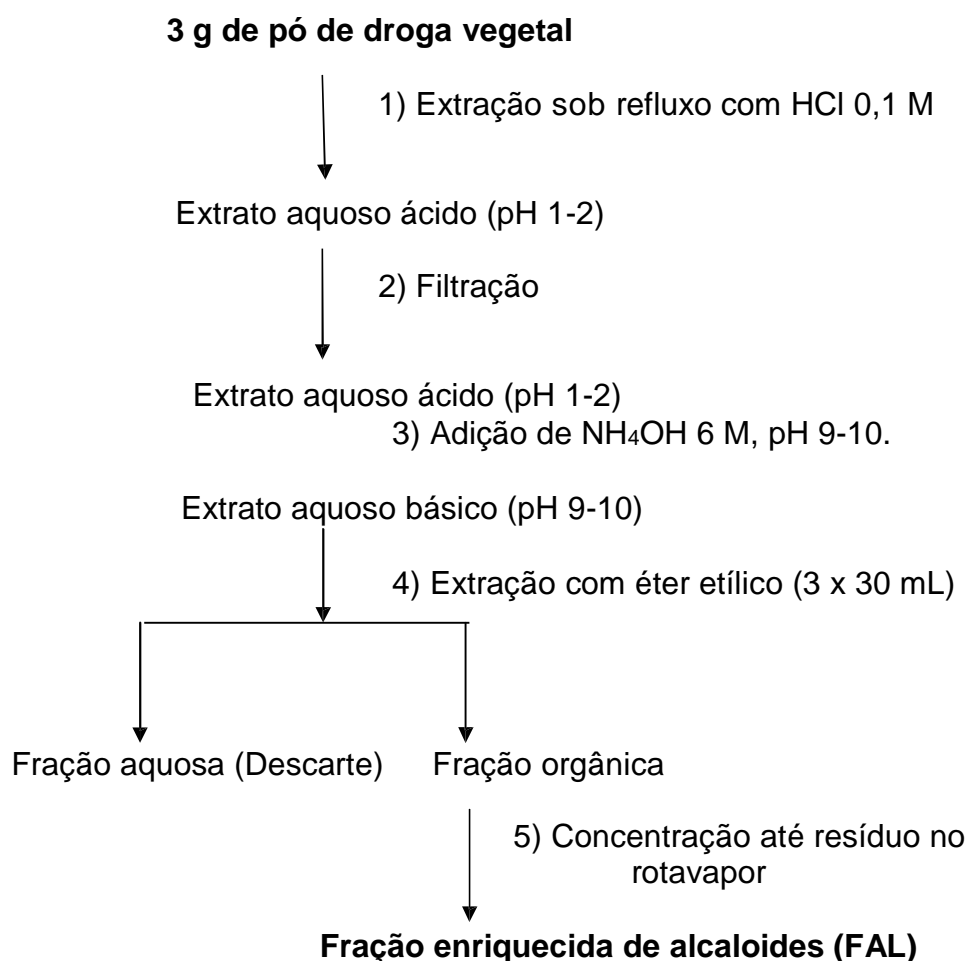


Figura 15: Fluxograma de extração e preparo das frações enriquecidas de alcaloides.

3.2.2.7 Caracterização química das drogas vegetais

A caracterização química dos extratos brutos e frações obtidas de cada uma das seis espécies de quininas foi feita por meio de métodos cromatográficos. Inicialmente, foram feitas análises por cromatografia em camada delgada (CCD) com o objetivo de se ter uma noção preliminar das substâncias presentes. Em seguida, os extratos e frações foram submetidos à análise por cromatografia líquida de alta eficiência, acopladas aos detectores DAD e Massa (CLAE/ DAD e CLAE/ MS). As classes químicas estudadas foram flavonoides e ácidos orgânicos, polifenóis/ taninos, alcaloides, iridoides/ terpenoides e óleos essenciais.

3.2.2.8 Pesquisa de flavonoides e ácidos orgânicos por CCD

Alíquotas de 20 µL dos EBs e frações foram aplicados em placa de alumínio contendo sílica gel (60 UV 254_{nm}), seguido de eluição com a mistura de acetato de etila:tolueno:ácido fórmico:água (60:20:20:15). Como revelador foi usado o reagente difenilboratoetilamina 1% em metanol (NP), seguido de polietilenoglicol 4000 1% em etanol (PEG). A placa foi aquecida por 5 min, a 105°C e visualizada em luz ultravioleta (UV) a 365 nm. Os padrões utilizados foram ácido clorogênico, ácido cafeico, rutina e quercetina (WAGNER & BLADT, 1996).

3.2.2.9- Pesquisa de flavonoides por CLAE/DAD

As análises foram realizadas a partir da adaptação de uma metodologia para a *Cynara scolymus* (Alcachofra), desenvolvida pelo nosso grupo para a Farmacopeia Brasileira 5ª Edição.

- **Preparo das amostras:** Foram pesados, aproximadamente, 100 mg de cada um dos EBs. Cada amostra foi diluída em 10 mL de metanol. As soluções foram filtradas e injetadas no equipamento.

- **Preparo dos padrões:** sete mg de ácido clorogênico, ácido cafeico, rutina e quercetina foram pesados, separadamente. Os padrões foram diluídos em metanol, para balão volumétrico de 100 mL, obtendo assim a concentração final de 0,07 mg/mL de cada padrão de referência. A concentração foi padronizada no desenvolvimento e validação do método.

Tabela 6: Condições de análise em CLAE para identificação de flavonoides.

Especificação	
Pré-coluna	C18, 4,6 µm
Coluna	Coluna C18 com 250mm de comprimento por 4,6mm de diâmetro e 5µm de tamanho de partícula interna.
Temperatura	40 °C
Fluxo da fase móvel	1,5 mL/min
Volume de injeção	10 µL
Tempo de análise	73 minutos
Detector	Ultravioleta UV/VIS (330nm)

A fase móvel encontra-se descrito na abaixo e o gradiente encontra-se na tabela 7.

Fase móvel:

Fase A: Acetonitrila:ácido fosfórico:água (7:0,4:92,6) (v/v)

Fase B: Acetonitrila:ácido fosfórico 85% (99,6:0,4) (v/v)

Tabela 7: Gradiente de fase móvel utilizada no sistema.

Tempo (min.)	Eluente A (%)	Eluente B (%)
0	10	0
17	10	0
50	80	20
51	0	10
61	0	10
62	10	0
72	10	0

3.2.2.10 Pesquisa de flavonoides por CLAE/MS/MS

A CLAE/MS/MS foi utilizada com o objetivo principal de identificar alcaloides, mas por meio dela também foram detectados os flavonoides. As condições de

análise estão descritas na parte referentes aos alcaloides.

- **Preparo das amostras:** 10 mg de cada EB e frações foram solubilizadas em balão volumétrico de 10 mL com uma mistura de metanol 50% e água milli-Q, contendo 0,1% de ácido fluorídrico. As amostras foram filtradas através de unidade filtrante de 0,45 µm antes da injeção no equipamento.

- **Preparo dos padrões:** 1 mg do padrão de referência quercetina foi diluída em balão volumétrico de 10 mL, com uma mistura de metanol 50% e água milli-Q, contendo 0,1% de ácido fluorídrico. Obteve-se, assim, a concentração final de 0,1 mg/mL. A amostra foi filtrada através de unidade filtrante de 0,45µm e injetada.

3.2.2.11 Pesquisa de polifenóis/ taninos por CCD

Alíquotas de 20 µL dos EBs foram aplicados em placa de alumínio contendo sílica gel (60 UV 254_{nm}) e eluída com acetato de etila:ácido fórmico:água (90:5:5). Em seguida, a placa foi borrifada com o revelador reagente anisaldeído sulfúrico, aquecida a 105 °C e observada no visível. Os padrões utilizados foram catequina e epicatequina, nas concentrações de 0,5 mg/mL (WAGNER & BLADT, 1996).

3.2.2.12 Pesquisa de alcaloides por CCD

Alíquotas de 20 µL das frações enriquecidas em alcaloides foram aplicadas em uma placa de alumínio contendo sílica gel (60 UV 254_{nm}) que foi eluída com mistura de tolueno:metanol:dietilamina (80:10:10). Em seguida, a placa foi revelada com reagente de Dragendorff, seguido de solução aquosa de nitrito de sódio 10%. Os padrões utilizados foram quinino, quinidina, cinchonina e cinchonidina (WAGNER & BLADT, 1996).

3.2.2.13 Pesquisa de alcaloides por CLAE/MS/MS

A CLAE/MS/MS foi utilizada, principalmente, para identificar os alcaloides nos EBs e

frações enriquecidas das plantas. Foram priorizadas as amostras obtidas de *E. febrifuga*, *H. brasiliana*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*. As condições cromatográficas e o gradiente utilizado encontram-se nas tabelas 8 e 9.

- **Preparo das amostras:** 10 mg de cada EB e frações foram solubilizadas em balão volumétrico de 10 mL com uma mistura de metanol 50% e água milli-Q, contendo 0,1% de ácido fluorídrico. As amostras foram filtradas através de unidade filtrante de 0,45 μm antes da injeção no equipamento.

- **Preparo dos padrões:** 1 mg dos padrões de referência de quinina, quinidina, cinchonina, cinchonidina, epicatequina e brucina foram diluídos, separadamente, em balões volumétricos de 10 mL, com uma mistura de metanol 50% e água milli-Q, contendo 0,1% de ácido fluorídrico. Obteve-se, assim, a concentração final de 0,1 mg/mL de cada padrão de referência. As amostras foram filtradas através de unidade filtrante de 0,45 μm , antes da injeção no equipamento.

Os espectros de massa foram adquiridos em modo positivo a uma taxa de 2 espectros por segundo. Os dados da fragmentação foram realizados com a energia de colisão de 40 eV. As configurações de íons foram otimizadas para a sensibilidade média de 40-1000 m/z. A detecção foi realizada por identificação dos picos cromatográficos com determinação da fórmula subsequente de acordo com a massa do isótopo do padrão exato (MS_1) e comparação com o banco de dados de espectros e fragmentos dos compostos (MS_2). Foi utilizado um banco de espectros de massas do equipamento de compostos comerciais isoladas e identificadas, bem como a base de dados de espectros público do KnapSack (HORAI et al., 2010)

Tabela 8: Condições cromatográficas da CLAE/MS/MS para identificação de alcaloides

Especificação	
Pré-coluna	C18, 2,2 µm
Coluna	Coluna Shimadzu Shim-pack ODS-XR II, C18, um 2.2µm, 2,2 mm x 200 mm
Temperatura	40 °C
Fluxo da fase móvel	0,2 mL/min
Volume de injeção	5 µL
Tempo de análise	60 minutos
Detector	Ultravioleta UV/VIS (214nm e 254 nm)
Detector	Espectrômetro de Massa/Massa TOF (Bruker)

A fase móvel encontra-se descrito na abaixo e o gradiente encontra-se na tabela 9

Fase móvel:

Fase A: Água milli-Q adicionada de 0,1% de ácido fluorídrico (v/v)

Fase B: Metanol adicionado de 0,1% de ácido fluorídrico (v/v)

Tabela 9: gradiente de fase móvel utilizada no sistema

Tempo (min.)	Eluente A (%)	Eluente B (%)
5	95	5
45	100	0
50	100	0
60	5	95

3.2.2.14 Pesquisa de iridoides/ terpenoides por CCD

Alíquotas de 20 µL dos EB foram aplicadas em uma placa de alumínio contendo sílica gel (60 UV 254_{nm}) e eluídas com mistura de acetato de etila: metanol:água (77:15:8), para o caso de iridoides e tolueno:acetato de etila (93:7), para os terpenoides. Em seguida, a placa foi borrifada com o revelador anisaldeído sulfúrico, aquecida por 10 min, a 105 °C, e observada no visível. O padrão de iridoides foi o gentilpicrosídeo, substância amarga encontrada na espécie européia

Gentiana lutea e o monoterpeno mentol (WAGNER & BLADT, 1996).

3.2.2.15 Pesquisa de óleos essenciais por CG

A CG foi utilizada com o objetivo de identificar os componentes presentes no óleo essencial da espécie *B. trimera*. Os resultados foram avaliados pelo índice de Kovats, em comparação com os dados da literatura. A mistura de alcanos (C₈-C₂₀) foi utilizada como padrão para o cálculo do índice de Kovats. As condições cromatográficas encontram-se descritas na tabela 10.

- **Preparo da amostra:** O óleo essencial da *B. trimera* foi obtido por hidrodestilação. Cinco µL do óleo essencial foram diluídos em 5 µL de hexano, sendo que 2 µL foram injetados manualmente no cromatógrafo a gás.

- **Preparo do padrão de alcanos (C₈- C₂₀):** 1 µL da mistura de alcanos foi diluída em 5 µL de hexano, sendo 1 µL da mistura injetado manualmente no cromatógrafo.

Tabela 10: Condições cromatográficas para identificação de óleos essenciais.

Especificação	
Gás de arraste	Hélio
Coluna	Coluna CBP-5 com 30 metros de comprimento por 0,32mm de diâmetro.
Temperatura inicial	60 °C (tempo de equilíbrio 1 minuto)
Temperatura final	250 °C
Temperatura do Injetor	230 °C
Fluxo da fase móvel (gás)	5 mL/min
Pressão	115,4 kpa
Volume de injeção	2 µL (Split 7:1)
Tempo de análise	70 minutos
Detector	FID

3.3 Quantificação das substâncias detectadas

3.3.1 Quantificação de flavonoides totais por espectrofotometria no visível (Farm. Bras 5° Ed)

Para a quantificação de flavonoides utilizou-se a técnica preconizada pela Farmacopeia Brasileira 5° edição, para quantificar flavonoides totais em drogas vegetais.

- Preparo da curva de calibração de rutina: 5 mg de rutina foram diluídos em 10 mL de metanol. A solução foi mantida em ultrasom por 5 minutos. Após esse tempo, alíquotas de 0,1 mL, 0,25 mL, 0,5 mL, 2,0 mL e 2,5 mL foram transferidas separadamente para balões volumétricos de 25 mL. Adicionou-se então 0,6 mL de ácido acético glacial e, em seguida, 2,5 mL de solução de cloreto de alumínio a 8%, completando o volume final com metanol. A leitura foi realizada em 420 nm, após 30 minutos da adição dos reagentes, construindo assim a curva de calibração. Os dados foram submetidos à análise de regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, sendo calculada a equação da reta e o coeficiente de correlação (r^2).

- Preparo da amostra

Foram pesados de 1 a 5 g de drogas vegetais. As amostras foram transferidas para um balão de fundo redondo de 125 mL e adicionados 20 de metanol. As soluções foram deixadas em refluxo por 30 minutos, resfriadas e filtradas em algodão. O resíduo e o algodão foram transferidos para o balão de fundo redondo de 125 mL e adicionado entre 30 mL de metanol. As soluções foram deixadas em refluxo por 15 minutos, resfriadas e filtradas em papel de filtro para balão volumétrico de 50 ou 100 mL (tabela 11) e o volume foi completado com metanol (Solução Mãe- SM). Alíquotas de 5 mL desta solução mãe foram retiradas e transferidas, separadamente, para um balão volumétrico de 25 mL. Adicionou-se 0,6 mL ácido acético glacial, 2,5 mL de solução de cloreto de

alumínio a 8% sendo o volume final completado com metanol (SA- Solução Amostra). A leitura da absorbância foi feita a 420 nm, após 30 minutos da adição dos reagentes. As tomadas de amostras e as diluições de cada droga vegetal encontram-se descritas na tabela 11. O branco foi preparado em outro balão volumétrico de 25 mL, adicionando uma quantidade utilizada da 5 mL da solução amostra, com 0,6 mL de ácido acético e completando o volume com metanol. O teor foi calculado utilizando a curva de calibração em flavonoides totais expressos em rutina.

Tabela 11: Preparo da amostra e diluições usadas no doseamento de flavonoides

Droga vegetal	Amostra (g)	(SM- mL)	(SA- mL)
<i>B. trimera</i>	1	100	5
<i>E. febrifuga</i>	1	100	5
<i>H.brasiliana</i>	5	50	5
<i>P. hexasperma</i>	5	50	5
<i>R. ferruginea</i>	1	100	5
<i>S. pseudoquina</i>	1	100	5

3.3.2 Quantificação de flavonoides totais por CLAE/DAD

A análise foi feita para verificar o teor de quercetina detectada nas amostras de *B. trimera* e *S. pseudoquina*. Após a integração dos cromatogramas, foi realizada a comparação dos espectros e o cálculo do teor, comparando a área do padrão de quercetina com a área encontrada nas amostras. O teor foi expresso em porcentagem em relação a 100 g de extrato bruto.

3.3.3 Quantificação de polifenóis/ taninos por espectrofotometria no visível

Para a quantificação de polifenóis/ taninos utilizou-se a técnica preconizada pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, para quantificar polifenóis /taninos em várias drogas vegetais

- **Preparo das amostras:** 1 a 5 g das drogas vegetais foram pesadas (ver tabela 12 com os valores das tomadas de amostra) e transferidas para um balão de fundo redondo de 250 mL, e adicionou-se 150 mL de água. A mistura foi colocada em banho-maria, por 30 minutos. A mistura foi então resfriada, filtrada e transferida para um balão volumétrico de 250 mL. Posteriormente, a solução foi diluída para 250 mL com água. O balão foi deixado em repouso para que os sólidos precipitassem, sendo a solução filtrada em papel de filtro. Os primeiros 50 mL do filtrado foram descartados.

- **Polifenóis totais:** 5 mL do filtrado foram diluídos para 25 mL com água destilada. Uma alíquota de 2 mL dessa solução foram então transferidas para balão volumétrico de 25 mL. Adicionou-se então 1 mL do reagente fosfomolibdotungstíco, e 10 mL de água. Esta solução foi então diluída para 25 mL com uma solução 10,6% de carbonato de sódio anidro. Após 30 minutos, a absorvância foi medida em 760 nm (A1), ao abrigo da luz, e usando água como branco.

- **Polifenóis não absorvidos por pó de pele:** 10 mL das soluções obtidas anteriormente foram adicionados 0,10 g de pó de pele. A amostra foi agitada vigorosamente por 60 minutos. Após a agitação, a solução foi filtrada, sendo 5 mL do filtrado diluídos para 25 mL, com água. A 2 mL dessa solução foram adicionados 1 mL do reagente fosfomolibdotungstíco e 10 mL de água. A mistura foi então diluída para 25 mL, com uma solução de carbonato de sódio anidro 10,6%. Após 30 minutos, no escuro, a absorvância foi medida em 760 nm (A2), e usando água como branco.

- **Preparo do padrão:** 50 mg de ácido gálico foram dissolvidos em 100 mL de água. Uma alíquota de 5 mL dessa solução foi diluída em 100 mL de água. Em seguida, 2 mL dessa nova solução foi misturado com 1 mL do reagente fosfomolibdotungstíco e 10 mL de água e, posteriormente, diluídos para 25 mL com uma solução de carbonato de sódio anidro 10,6%. Após 30 minutos, a absorvância foi medida em 760 nm (A3), ao abrigo da luz, usando água como branco.

O teor foi calculado em porcentagem de taninos, expressos em ácido gálico,

usando a expressão:

$$T = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1}$$

em que:

A₁ = absorvância da solução amostra para polifenóis totais;

A₂ = absorvância da solução amostra para polifenóis não adsorvidos em pó de pele;

A₃ = absorvância da solução padrão;

m₁ = massa (g) da amostra, considerando a determinação de água;

m₂ = massa de ácido gálico, em gramas.

Tabela 12: Tomada de amostra do doseamento de polifenóis/taninos.

Droga vegetal	Tomada de amostra (g)
<i>B. trimera</i>	1
<i>E. febrifuga</i>	5
<i>H. brasíliana</i>	5
<i>P. hexasperma</i>	1
<i>R. ferruginea</i>	1
<i>S. pseudoquina</i>	1

3.3.4 Quantificação de alcaloides por espectrofotometria no visível

Foi utilizado um método para o doseamento de alcaloides totais, baseado na precipitação dos mesmos com reagente de Dragendorff e leitura das absorvâncias no visível. O método foi desenvolvido e descrito inicialmente por SREEVIDYA & MEHROTRA (2003) e modificado por OLIVEIRA et al. (2006). Este método foi utilizado devido à dificuldade de executar a quantificação por outros métodos mais sensíveis, pois não existem padrões de alcaloides dessas espécies disponíveis no mercado.

- Preparo da curva de calibração do padrão cloridrato de quinina

Transferiram-se 300 mg de cloridrato de quinino para balão de 25 mL, sendo o volume completado com água destilada (solução mãe - SM). Dez mL foram transferidos para um becker, sendo a solução acidificada com gotas de HCl 1 M, até pH igual a 2 a 2,5. Alíquotas de 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL e 0,5 mL desta solução foram colocadas em tubos ependorff de 1,5 mL. Adicionou-se em cada tubo 0,5 mL do reagente de Dragendorff (subnitrato de bismuto) .

As soluções foram centrifugadas por 15 minutos e o sobrenadante foi retirado com pipeta e descartado. Ao resíduo adicionou-se 0,5 mL de álcool etílico e 1 mL de sulfito de sódio, centrifugando a mistura por mais 15 minutos. O sobrenadante foi novamente descartado. Adicionou-se ao resíduo 1,5 mL de ácido nítrico concentrado e transferiu-se o conteúdo para balão volumétrico de 50 mL. O volume do balão foi completado com água destilada. Um mL desta solução foi colocada em balão de 5 mL e adicionou-se solução de tioureria a 3% (p/v). A absorbância do padrão foi obtida a 435 nm utilizando uma mistura de ácido nítrico e solução de tiureia a 3% como branco.

- Preparo das amostras

Cinco gramas das drogas vegetais foram extraídas, sob refluxo, com 150 mL de HCl 0,1 M por 30 minutos. Em seguida, a amostra foi filtrada em algodão. O resíduo e o algodão foram retornados ao refluxo por mais 10 minutos, com mais 120 mL de HCL 0,1 M. Após resfriamento, a solução foi filtrada e alcalinizada com NH_4OH 6M até pH 9,0. A solução foi então transferida para um funil de separação sendo, em seguida, extraída com três porções de 30 mL de éter etílico. As fases orgânicas foram reunidas e concentradas até secura, em rotavapor. O resíduo foi diluído em 2 mL de HCl 0,1 M sendo 1 mL transferido para um ependorff, adicionando-se 0,5 mL do reagente de Dragendorff.

As soluções foram centrifugadas por 15 minutos e o sobrenadante foi descartado. Tratou-se o resíduo com 0,5 mL de álcool etílico. Em seguida adicionou-se 1 mL de sulfito de sódio e centrifugou-se por mais 15 minutos, descartando o sobrenadante. Adicionou-se em seguida, 1,5 mL de ácido nítrico

concentrado e transferiu-se o conteúdo para balão volumétrico de 50 mL. O volume do balão foi completado com água destilada. Em 1 mL da solução foram adicionados solução de tiouréia a 3% (p/v). A leitura da absorbância foi feita a 435 nm, utilizando solução de ácido nítrico com solução de tiuréia a 3% como branco.

3.3.5 Quantificação de substâncias voláteis por hidrodestilação

Foi utilizado o método preconizado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, utilizando o aparelho tipo Clevenger. Foram introduzidas no balão de 500 mL 25 g de caules alados de *B. trimera*, previamente trituradas, juntamente com 200 mL de água destilada. A droga vegetal foi destilada pelo processo de hidrodestilação por 4 horas. Terminada a operação, o sistema foi esfriado e o volume do óleo essencial verificado, descontando o valor de xilol adicionado no sistema. O teor foi calculado em gramas de óleo essencial por 100 g da droga vegetal

3.4 Ensaio biológicos

Foram realizados testes biológicos *in vitro* e *in vivo*, com o objetivo de se avaliar o potencial bioativo das espécies. Serão selecionadas três espécies para os estudos bioógicos e a escolha será baseada nos resultados encontrados n o índice de amargor e perfil fitoquímico das substâncias amargas.

3.4.1 Avaliação do potencial citotóxico de três espécies de quinas amargas

Foi preparado um meio com 10 mL do meio de cultura RPMI (Meio de cultura de células humanas), 10% de soro fetal bovino (SFB, 1 mL) e 1 % de antibiótico (penicilina /estreptomicina a 0,1 mL). Os recipientes foram acondicionados em estufas de CO₂ a 37°C. As garrafas foram observadas diariamente, pois o surgimento de coloração amarela é indicativo da necessidade de se trocar o meio. Após as células renais isoladas, já terem confluído no fundo da

garrafa, foi adicionado no meio 1 mL de tripsina. As células foram lavadas no meio da tripsina por centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos a 4 °C.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células ressuspensas em RPMI, utilizando vortex. A solução de células foi dividida em partes iguais entre as garrafas previamente preparadas. Foi acondicionado as garrafas foram acondicionadas em estufas de CO₂ a 37 °C, sendo observadas diariamente. Após as células já terem tomado toda a garrafa, foi adicionado no meio 1 mL de tripsina. As células foram lavadas do meio da tripsina em RPMI por centrifugação a 3000 rpm por 10min a 4 °C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em RPMI. A contagem das células foi feita então na câmara de Neubauer. O número de células contado foi multiplicado por 1×10^4 e fator de diluição. A viabilidade metabólica das células foi monitorizada por meio de cloreto de trifeniltetrazólio (MTT), por ensaio colorimétrico.

As células epiteliais renais (BGM) foram cultivadas em RPMI (Sigma) contendo 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina, e 10% de soro fetal bovino (FBS). As células BGM foram plaqueadas a 5×10^4 células por poço. Seis poços sem células foram utilizados como controles (branco). Em seguida, 100 µL de cada extrato foram adicionados em cada poço, sendo incubados durante 48 h, a 37° C, em 5% de CO₂. Os produtos foram testados em concentrações variando de 1,10,100 e 1000 µg/mL.

Após a incubação, 10 µL de MTT a 5 mg /mL foram adicionados a cada poço. O formazan (produto metabólico MTT) foi ressuspendido em 20 mL de DMSO, e a intensidade da cor foi medida por espectrofotometria a 560 nm, leitor de ELISA. Os poços não-tratados foram usados como controles negativos. Os valores das doses letais (DL₅₀) foram calculados para cada extrato bruto.

Todos os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão (DP) de quatro repetições. Os valores da metade das concentrações máximas (IC₅₀) e doses letais (DL₅₀) foram obtidos a partir de análise de regressão não linear das curvas de dose-resposta.

3.4.2 Avaliação da atividade antihyperglicêmica e antihyperlipidêmica de três espécies de quinas

Os estudos foram realizados em três espécies selecionadas, considerando os resultados obtidos nos ensaios anteriores. Foram analisados os extratos preparados com os caules alados da *B. trimera*, além das cascas de *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*. Os testes buscaram verificar algum efeito benéfico no trato digestivo, especificamente no metabolismo de açúcares e gorduras, que justifique o uso dessas plantas como amargas e tônicas. Animais foram tratados com dieta hipercalórica que foi, em seguida, suplementada com três doses dos extratos brutos das três plantas selecionadas. Este modelo experimental já vem sendo usado no nosso laboratório em estudos com outras plantas (ALMEIDA, 2011; OLIVEIRA, 2013; PEREIRA, 2013).

3.4.2.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos da linhagem BALB/c, idade aproximada de 4 a 5 semanas, provenientes Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO – ICB/UFMG). Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico, contendo, oito animais por gaiola, no Biotério da Faculdade de Farmácia.

Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram executados de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (CEUA/UFMG). Os procedimentos foram aprovados conforme CERTIFICADO Nº 305/2014

3.4.2.2 Preparo da dieta HC (dieta rica em carboidratos) e suplementação com os extratos brutos

Os camundongos foram alimentados por 60 dias com dieta rica em carboidratos (HC), com o objetivo de induzir alterações metabólicas. Em seguida, suplementou-se a dieta HC com o extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *R. ferruginea*

(Rm) e *S. pseudoquina* (Spq), para verificar os efeitos desta suplementação. Durante todo o experimento, os animais tiveram livre acesso à água e dieta.

O modo de preparo da dieta HC consiste em peneirar o pó da ração comercial e acrescentar, a esta a mistura, água, açúcar e leite condensado, até a obtenção de uma massa homogênea. Em seguida, pellets são confeccionados manualmente. Esta dieta é composta por 45% de leite condensado, 45% de ração Labina® em pó e 10% de açúcar. Para incorporação dos produtos em teste na ração, quantidades definidas dos extratos (50, 100 ou 200 mg/ kg de peso/dia) foram suspensos em água. Essas soluções foram acrescentadas ao pó da ração Labina® e peneirados três vezes, para garantir a total homogeneidade dos extratos na dieta. Em seguida, adicionou-se açúcar e leite condensado, até a formação de uma massa, com a qual manualmente se confeccionou os pellets. O protocolo experimental, que utiliza uma dieta rica em carboidrato para promover alterações metabólicas, foi desenvolvido pela Professora Adaliene V.M. Ferreira do Departamento de Nutrição da Escola de Enfermagem da UFMG. Este modelo já vem sendo utilizado e reproduzido por diversos trabalhos (FERREIRA et al., 2011; ALMEIDA, 2011; OLIVEIRA et al., 2012; OLIVEIRA, 2013; PEREIRA, 2013).

3.4.2.3 Esquema de tratamento

A indução das alterações metabólicas por dieta ocorre durante as oito primeiras semanas do experimento. Até a oitava semana, os camundongos foram divididos em dois grupos: 80 animais foram alimentados com a dieta HC e os 8 restantes receberam a dieta controle (C) (Tabela 13). Da 9^a a 12^a semana de estudo, os animais que recebiam dieta HC foram realocados em outros 9 novos grupos, que passaram a se alimentar de dieta HC, adicionada de três concentrações diferentes (50, 100 e 200 mg/kg de peso/dia) de cada extrato bruto (Carq, Rm e Sp). A relação de todos os tratamentos realizados e os respectivos grupos de animais é descrita na tabela 13.

A ingestão alimentar média foi determinada a cada 4 dias, por meio da diferença entre a quantidade de ração ofertada e a quantidade restante na gaiola dos animais. Este procedimento foi realizado durante todo o experimento. O valor

obtido foi dividido pelo número de animais que estavam na caixa e pelo número de dias. O mesmo foi realizado para avaliar o consumo e verificar as doses de tratamento, quando os animais passaram a receber dieta HC suplementados com os extratos. A mensuração do peso corporal foi realizada a cada 4 dias, em balança semi-analítica, com capacidade para 500 gramas e variação de 0,01 gramas.

Tabela 13: Grupos experimentais e tratamento utilizado durante o experimento.

Grupos	Tratamento
C	Ração comercial durante 12 semanas
HC	Dieta HC durante 12 semanas
Carq I	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 50 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>B. trimera</i>
Carq II	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 100 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>B. trimera</i>
Carq III	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 200 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>B. trimera</i>
Spq I	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 50 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>S. pseudoquina</i>
Spq II	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 100 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>S. pseudoquina</i>
Spq III	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 200 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>S. pseudoquina</i>
Rm I	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 50 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>R. ferruginea</i>
Rm II	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 100 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>R. ferruginea</i>
Rm III	Dieta HC durante 8 semanas. Da 9 ^a a 12 ^a semana foi adicionada na dieta HC 200 mg/kg peso/dia de extrato bruto de <i>R. ferruginea</i>

O índice de adiposidade (IA) foi calculado pela relação entre a somatória em gramas dos pesos do tecido adiposo visceral, compostos pelo tecido adiposo epididimal (TAE), mesentérico (TAM) e retroperitoneal (TAR), e o peso de cada

animal (g), seguido de multiplicação por 100. O IA foi calculado a partir da fórmula abaixo:

$$IA = \frac{(TAE + TAM + TAR) \times 100}{PC}$$

PC

3.4.2.4 Desenho experimental

O desenho experimental, com a escala temporal seguida durante o período de estudo (12 semanas), pode ser visualizado na figura 16. Da primeira à oitava semana, os animais receberam dieta controle ou HC. Ao início da 9ª semana de experimento, parte dos animais (n=80), que recebiam a dieta HC, foram suplementados com duas concentrações diferentes do Carq, Spq e Rm e, assim, permaneceram até a 12ª semana. Nessa semana todos os animais foram eutanasiados.

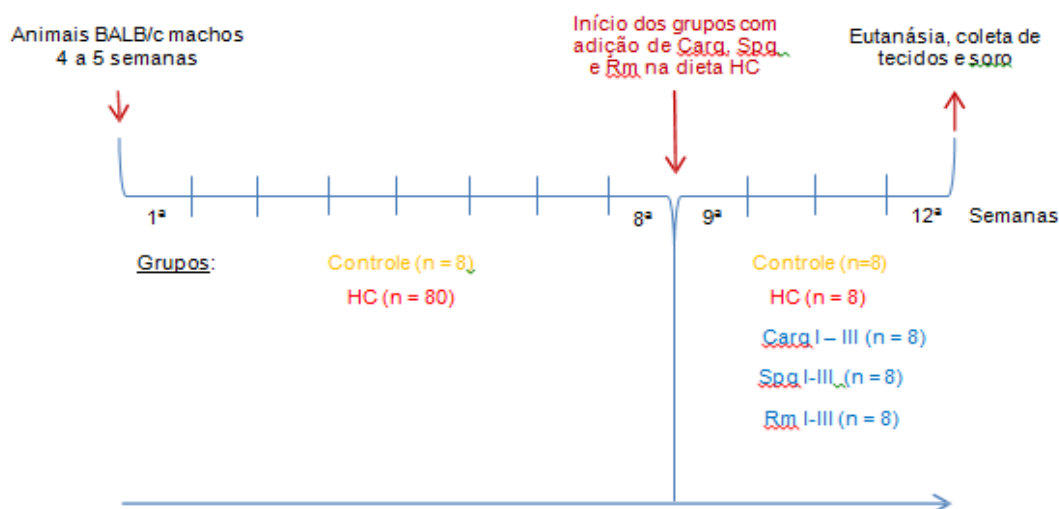


Figura 16: Escala temporal do desenho experimental. Grupos de animais alimentados com dieta controle, dieta rica em carboidratos (HC) e dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg/dia de extrato bruto de *B. trimera*, *S. pseudoquina* e *R. ferruginea*.

3.4.2.5 Eutanásia

Após 12 semanas, os animais foram mantidos em jejum, por aproximadamente 12 horas, e então submetidos à eutanásia por exsanguinação do plexo axilar, após terem sido anestesiados com solução de ketamina (60 mg/kg) e xilazina (8 mg/kg). Os tecidos adiposos epididimal, mesentérico e retroperitoneal e o fígado foram removidos e conservados em freezer a – 20 °C.

3.4.2.6 Obtenção do soro

O sangue foi coletado do plexo axilar dos animais, colocado em tubos e centrifugado (3000 rpm) durante 10 minutos à 4 °C, para obtenção do soro. Em seguida, o material foi aliquoteado em tubos individuais e congelados (-20 °C) para posterior dosagem sérica de glicose, triglicérides e colesterol total.

3.5. Análises bioquímicas e morfológicas

3.5.1 Dosagens sorológicas

Foram priorizadas as análises de glicose, colesterol total e triglicérides plasmáticas. Estes metabólitos foram quantificados por Kit enzimático Bioclin, segundo as instruções do fabricante.

3.5.2 Análise morfológica dos adipócitos do tecido adiposo epididimal

Foram também realizadas as análises morfológicas do tecido adiposo epididimal, com o objetivo de verificar o tamanho dos adipócitos e a influência dos extratos das plantas no seu metabolismo. Fragmentos do tecido adiposo epididimal, com cerca de 50-100 mg, foram removidos e imersos em solução fixadora de formaldeído à 10% em tampão fosfato 0,1 mol/L, pH 7,4, por um período de 48 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, procedeu-se a etapa de desidratação com o álcool 70°, seguida de diafanização com xilol e a inclusão em parafina. Foram obtidas, no micrótomo, secções histológicas de 5 µm de espessura. As secções foram colocadas em lâminas e coradas com hematoxilina, contrastada com eosina e,

em seguida avaliadas por microscopia. As lâminas histológicas foram preparadas no Laboratório de Morfologia (ICB/UFMG).

3.5.3 Aquisição de imagem no microscópio e mensuração da área do tecido adiposo epididimal

Para a determinação do tamanho dos adipócitos, as lâminas foram analisadas em microscópio, equipado com uma câmera digital (Motican 2500). Imagens de cinco campos de cada animal foram capturadas e a área seccional obtida por meio da medida aleatória de 50 adipócitos por animal (n=3). Em seguida realizou-se a análise com o programa Image J para o processamento de imagens digitais e cálculo da área média dos adipócitos (OLIVEIRA et al., 2012).

3.5.4 Análise do peso do fígado e rins

Para avaliar se os tratamentos com os extratos brutos estariam causando algum dano hepático, foi avaliado o peso do fígado destes animais (n=8). De acordo com CHAN et al. (2010), a hepatotoxicidade pode ser verificada através do percentual do peso do fígado, sobre o peso corporal final dos animais.

3.6 Análises estatísticas

Após ter sido realizado o teste de normalidade e verificado que as amostras apresentavam distribuição gaussiana, as comparações estatísticas entre os vários grupos foram feitas por ANOVA “one way”, seguida de pós-teste Newman-Keuls. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ (5% de significância). Para a realização de todas as análises, foi utilizado o software GraphPad PRISM, GraphPad software Inc. (San Diego, CA, USA).

4 - RESULTADOS

4.1 Pesquisa bibliográfica de espécies vegetais amargas conhecidas como quina

4.1.1 Pesquisa na bibliografia histórica

O levantamento na bibliografia e outros documentos históricos mostraram a ocorrência de 29 plantas amargas, nomeadas como quina, que foram utilizadas como substitutos da quina verdadeira (*Cinchona* spp.) no Brasil nos séculos XVIII e XIX. As espécies levantadas, suas famílias, nomes populares, autores que citaram as plantas estão na tabela 14. A tabela mostra também resultados obtidos com as pesquisas farmacológicas recentes, que mostraram algum efeito relacionado ao uso como tônico e no tratamento de distúrbios digestivos.

Entre os naturalistas, Von Martius foi quem descreveu a maior parte das espécies: 22 plantas foram registradas em seu livro *Systema de Materia Medica* (von Martius, 1843). Ele ainda redigiu, nesta sua obra, um capítulo especial sobre os remédios amargos, estando lá descrito o uso da *Baccharis genistelloides* sbp. *crispa* (Spreng.) Joch. Müll., *Cestrum euanthes* Schldl., *Discaria febrifuga* Mart., *Esenbeckia febrifuga* (A. St.-Hil.) A. Juss. Ex Mart., *Hortia brasiliana* Vand. Ex DC., *Solanum pseudoquina* e *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. O naturalista Saint-Hilaire registrou a utilização de 11 espécies, e foi responsável pela primeira descrição botânica de oito delas: *Bathysa australis* A.St.-Hil., *Bathysa cuspidata* A.St.-Hil., *Esenbeckia febrifuga* A.St.-Hil. (Rutaceae), *Polyouratea hexasperma* A. St.-Hil., *Remijia ferruginea* A.St.-Hil., *Remijia vellozii* (A. St.-Hil.) DC., e *Solanum pseudoquina* A.St.-Hil. e *Strychnos pseudoquina* A.St.-Hil. Todas estas espécies foram publicadas em seu livro *Plantas usuais dos Brasileiros* (Saint-Hilaire, 1824). O uso de *Galipea jasminiflora* (A.St.-Hil.) Engl. (= *Ticorea febrifuga* A. St.-Hil.) como substituto para a quina verdadeira, foi mencionado por Saint-Hilaire várias vezes em seu caderno de viagens (BRANDÃO et al., 2012). O naturalista John Miers descreveu em seu manuscrito oito espécies de quina, e o uso de *Cheilochlinium cognatum* (Miers) A.C.Sm. (Celastraceae) e *Quiina guianensis* Aubl. (Ochnaceae) foi registrado apenas por este autor (Tabela 14).

Entre os médicos e farmacêuticos, Langgaard (1865), descreveu mais espécies (13), seguido por Câmara (Pinto, 1873), que mencionou o uso de 12. Curiosamente, Langgaard distribuiu as espécies em seu livro em três categorias: (i) as que pertencem ao gênero *Cinchona*, como *C. bergeniana* Mart. e *C. lambertiana* A. Braun ex Mart. (ii) outras espécies de Rubiaceae, como *Bathysa australis* (A.St.-Hil.) K. Schum, *Bathysa cuspidata* (A.St.-Hil.) Hook. F. ex K. Schum, *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum. e *Ladenbergia hexandra* (Pohl). Klotzsch e *R. ferruginea* (A.St.-Hil.) DC. e (iii) espécies de outras famílias botânicas. Peckolt (1916) incluiu dados de várias espécies, sendo vinte quininas, também citado pelos outros autores estudados. As outras espécies são *Hortia arborea* Engler (Rutaceae), *Colletia cruciata* Gill & Hook. (Rhamnaceae), *Strychnos triplinervia* Mart. (Loganiaceae), *Tachia guianensis* Aubl. e *Dejanira erubescens* Cham & Schlcht. (Gentianaceae), *Plumeria lancifolia* Müll. Arg. *Aspidosperma peroba* Saldanha, *Sickingia rubra* (Mart.) K. Schum. *Macrocnemum grandiflorum* Weddel (Rubiaceae), *Alseis floribunda* Schott. e *Basanacantha Annae* Schum. (Rubiaceae).

As plantas listadas na Tabela 14 são distribuídas em nove famílias botânicas, sendo a Rubiaceae a mais representativa, com 14 espécies. Destas, quatro pertencem aos gêneros *Ladenbergia* e *Remijia* e duas pertencem a *Bathysa*. As outras famílias mais representativas em número com mais espécies são Rutaceae (4 espécies), Apocynaceae (3 espécies), Ochnaceae e Solanaceae (2 espécies) e Asteraceae, Celastraceae, Loganiaceae, Rhamnaceae e Simaroubaceae (1 espécie). Com a exceção de *Aspidosperma illustris* (Vell.) Kuhl. & Pirajá, *Baccharis genistelloides* subsp. *crispa* (Spreng.) Joch.Müll. e *Chiococca alba* (L.) Hitsch., todas as espécies mencionadas são arbustos e árvores, e as suas cascas são utilizadas para a preparação de remédios caseiros.

A espécie mais frequentemente mencionada foi a *Remijia ferruginea* (A. St. Hil.) DC., descrita por 11 dos 13 autores estudados. A segunda espécie mais citada foi a *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil., citado por nove deles. *Bathysa cuspidata* (A. St.-Hil.) Hook. f. ex K. Schum foi citada por oito autores e *Coutarea hexandra* (Jacq.) K. Schum. por sete, seguido de *Solanum pseudoquina* A. St.-Hil., que foi citada por seis. *Hortia brasiliana* Vand. ex DC. e *Galipea jasminiflora* (A.St.-Hil.) Engl. foram

citadas por cinco autores, e o uso de *Baccharis genistelloides* subsp. *crispa* (Spreng.) Joch. Müll. foi citado por três autores. Todas as demais espécies foram citadas por apenas um ou dois autores.

4.1.2 Pesquisa em outras referências bibliográficas etnomédicas

No estudo das espécies nos dez livros do século 20, foi identificada a presença de 48 plantas amargas, chamadas quina e usadas contra febres, malária e problemas do trato digestivo (Tabela 15). Entre essas, apenas 18 (37,5%) estão presentes na relação dos naturalistas/pesquisadores do século XIX. Espécies de Rubiaceae foram também as que apareceram em maior número: *Bathysa australis*, *Coutarea hexandra*, *Landenbergia cujabensis*, *L. hexandra*, *L. lambertiana* e *L. oblongifolia*, *Remijia ferruginea*, *R. firmula* e *R. macrocnemia*. Outras espécies citadas em ambas as tabelas pertencem às famílias Apocynaceae, Asteraceae, Loganiaceae, Rutaceae e Solanaceae. Várias outras espécies são indicadas como quina e usadas para o tratamento de febres ou problemas digestivos.

4.1.3 Pesquisa em trabalhos de campo (levantamentos etnobotânicos) realizados no Brasil nas últimas décadas.

Um total de 190 artigos descrevendo levantamentos etnobotânicos foi obtido em periódicos nacionais e estrangeiros e, entre eles 35 (18,40%), citaram alguma planta chamada quina. Dezesete plantas são descritas nesta bibliografia, mas algumas apresentaram problemas de identificação, e foram excluídas deste estudo. Alguns exemplos são uma espécie indeterminada citada por ALMEIDA et al. (2010), e espécies de *Cinchona*, inclusive *C. calisaya*, que não ocorrem no nordeste do Brasil, descritas por MEDEIROS e ALBUQUERQUE (2012) e MONTELES et al., (2007). Entre as doze espécies restantes citadas nos levantamentos, apenas *Bathysa australis*, *Strychnos brasiliensis*, *Strychnos pseudoquina* e *Drimys brasiliensis* foram indicadas para o tratamento de problemas digestivos (Tabela 16).

Tabela 14: Espécies amargas usadas como substitutas das quinas (*Cinchona* spp.) descritas na bibliografia histórica.

Nome científico	Nome popular	Autores do século 19 th	Estudos farmacológicos
APOCYNACEAE			
<i>Aspidospema illustris</i> (Vell.) Kuhlmann & Pirajá (<i>Coutinia illustris</i> Vellozo; <i>Dipladenia illustris</i> Müll. Arg.) ¹	Quina-de-camamú	Langgaard, Martius, Pinto (A.Câmara), Vellozo	Não estudada
<i>Geissospermum laeve</i> (Vell.) Miers. (<i>Geissospermum vellosii</i> Allemão) ^{1,3a,4b}	Quina-amargosa, quina-de-pobre	Burton, Mawe	Antimalárica (MUÑOZ et al., 2000; VIGNERON et al., 2005; MBEUNKUI et al., 2012)
<i>Geissospermum sericeum</i> Miers ^{3a,4b,c}	Quina, quinarana	Chernoviz	Não estudada
ASTERACEAE			
<i>Baccharis genistelloides</i> subsp. <i>crispa</i> (Spreng.) Joch.Müll. (<i>B. trimera</i> (Less.) DC., <i>B. crispa</i> Spreng) ^{4b}	Quina-de-condamine	Martius, Saint-Hilaire ^a , Vellozo	Desordens digestivas (BIONDO et al., 2011); presença de flavonoides com atividade antihepatotóxica (SOICKE & LENG-PESCHLOW, 1987)
CELASTRACEAE			
<i>Cheiloclinium cognatum</i> (Miers) A.C.Sm. (<i>Kippistia cognata</i> Miers)	Quina-do-matto	Miers	Não estudada
LOGANIACEAE			
<i>Strychnos pseudoquina</i> A. St.-Hil. ^{1,2,3b 4b}	Quina-do-campo, quina-de-vellozo, Quina-falsa, quina-do-cerrado, quina de Mendanha	Bunbury, Caminhoá, Chernoviz, Langgaard, Martius, Miers, Pinto (A.Câmara), Pohl, Saint-Hilaire ^{a,b,c,d} .	Antiúlcera (BONAMIM et al., 2011; SILVA et al., 2005); antimalárica (ANDRADE-NETO et al., 2003)

OCHNACEAE	Quina		
<i>Polyouratea hexasperma</i> (A. St-Hil.) Tiegh. (<i>Gomphia hexasperma</i>) A. St.-Hil. <i>Ouratea hexasperma</i> (A. St-Hil.) Baill.		Saint-Hilaire ^c	Não estudada
<i>Quiina guianensis</i> Aubl	Quina	Miers	Não estudada
RHAMNACEAE	Quina-do-campo, quina-do-brasil, quina-do-rio-grande		
<i>Discaria febrifuga</i> Mart. ¹		Langgaard, Pinto (A. Câmara), Martius	Não estudada
RUBIACEAE			
<i>Bathysa australis</i> (A.St.-Hil.) K. Schum. (<i>Exostema australe</i> A.St.-Hil.) ¹	Quina-de-santa-catarina, quina-do-Paraná	Chernoviz, Langgaard, Martius, Pinto (A. Câmara), Saint-Hilaire ^b	Não estudada
<i>Bathysa cuspidata</i> (A.St.-Hil.) Hook. f. ex K.Schum. (<i>Exostema cuspidatum</i> A.St.-Hil., <i>Schoenleinia cuspidata</i> (A.St.-Hil.) Klotzsch.) ¹	Quina-do-mato, quina-do-piauí	Caminhoá, Chernoviz, Langgaard, Martius, Miers, Pinto (A. Câmara), Saint-Hilaire ^{a,c} , Spix	Hepatoprotetiva (Gonçalves et al., 2012)
<i>Chiococca alba</i> (L.) Hitschc. (<i>C. anguifuga</i> Mart.) ¹	Quina-preta	Martius	Não estudada
<i>Coutarea hexandra</i> (Jacq.) K. Schum. (<i>C. speciosa</i> Aubl., <i>Exostema souzanum</i> Mart., <i>Portlandia hexandra</i> Jacq.) ^{1,3a,4b,c}	Quina-quina, quina-do-pará, quina-de-dom-diogo, quina-do-brasil, Quina-do-mato, quina-de-pernambuco, quina-de-cabo-frio	Langgaard, Martius, Miers, Pinto (A. Câmara), Pohl, Spix, Vellozo	Não estudada
<i>Ladenbergia hexandra</i> (Pohl) Klotzsch, (<i>Buena hexandra</i> Pohl., <i>Cascarilla riedeliana</i> (Casar) Wedd.) ¹	Quina-vermelha, quina-de-folha-Larga, quina-quina, quina-do-rio-de-janeiro	Chernoviz, Langgaard, Martius, Pohl, Spix	Não estudada

<i>Ladenbergia lambertiana</i> (Mart.) Klotzsch (<i>C. lambertiana</i> A. Br.ex Mart.)	Quina	Langgaard, Martius, Vellozo	Não estudada
<i>Ladenbergia oblongifolia</i> (Mutis) L.Andersson (<i>Cinchona lutescens</i> Vell.)	Quina-amarela	Vellozo	Presença de alcaloides do tipo cinchonidina (OKUNADE et al., 2001)
<i>Macrocnemum roseum</i> (Ruiz & Pav.) Wedd. (<i>Cinchona fusca</i> Vell.)	Quina-parda	Vellozo, Martius	Não estudada
<i>Remijia ferruginea</i> (A. St.-Hil.) DC. (<i>Cinchona ferruginea</i> A.St.-Hil.) ^{1,2,3c}	Quina-mineira, quina-de-remijo, quina-rosa, quina-da-serra, quina- do-campo, quina-de-vellozo	Bunburry, Burton, Caminhoá, Chernoviz, Langgaard, Martius, Miers, Pinto (A. Câmara), Pohl, Saint- Hilaire ^{a,b,c,d} , Spix	Atividade antimalárica <i>in vivo</i> (ANDRADE-NETO et al., 2003)
<i>Remijia firmula</i> (Mart.) Wedd. (<i>C.</i> <i>bergeniana</i> Mart., <i>C. firmula</i> Mart.) ¹	Quina-do-Amazonas	Langgaard, Martius, Vellozo	Não estudada
<i>Remijia macrocnemia</i> (Mart.) Wedd. (<i>Cinchona macrocnemia</i> Mart.) ¹	Quina-do-norte	Martius	Não estudada
<i>Remijia vellozii</i> DC.	Quinquina de vellozo	Saint-Hilaire ^c	Não estudada
<i>Rustia formosa</i> (Cham. & Schltdl.) Klotzsch (<i>Exostema formosum</i> Cham. & Schltdl.) ¹	Quina-do-rio-de-janeiro, Quina- do-sul	Martius	Não estudada
RUTACEAE			
<i>Esenbeckia febrifuga</i> (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. (<i>Evodia febrifuga</i> A. St.-Hil.) ^{1,3a,4b}	Quina-laranjeira, quina-do-mato, quina, quina-molle	Martius, Miers, Saint-Hilaire ^{b,c} , Langgaard	Antimalárica (DOLABELA et al., 2008; CARVALHO et al., 1991)

<i>Galipea jasminiflora</i> (A.St.-Hil.) Engl. (<i>G. multiflora</i> Schult., <i>Ticorea febrifuga</i> A.St.-Hil.) ^{1, 3a}	Quina-das-três-folhas, quina, quina	Martius, Saint-Hilaire ^{a,b,c,d}	Não estudada
<i>Hortia brasiliana</i> Vand. ex DC. ^{1,4b}	Quina-do-campo	Langgaard, Martius, Miers, Pinto (A. Câmara), Saint-Hilaire ^{a,b}	Não estudada
SOLANACEAE			
<i>Cestrum euanthes</i> Schltl. (<i>C.pseudoquina</i> Mart.) ¹	Quina-do-Pará, quina-do-mato, quina-da-terra, quina-de-porto-alegre, quina-da-mata, quina-branca	Langgaard, Martius, Pinto (A.Câmara)	Não estudada.
<i>Solanum pseudoquina</i> A. St.-Hil. ^{1,4b}	Quina-de-São-Paulo, quina-branca, Quina-de-Curitiba, quina-de-Surrogat	Caminhoá, Chernoviz, Langgaard, Martius, Pinto (A. Câmara), Saint-Hilaire ^{a,b,c,d}	Não estudada.

Autores do século 19th (e o ano da primeira edição): Bunburry (1835); Burton (1869); Caminhoá (1877), Chernoviz (1842); Langgaard (1865), Von Martius (Systema Materia Medica 1843); Mawe (1812); Miers (manuscritos 1832-1838); Saint-Hilaire (a = manuscritos 1816-1822, b = diário de viagem 1830, c= Plantes Usuelles des Brasiiliens 1824, d=Histoire de plants plus remarquables du Brésil et Paraguay 1824), Pinto (= Arruda Câmara, 1873), Pohl (1832), Spix (1823) (= Spix and Martius, 1981), Vellozo (1799).

Outros dados: (1) Monografia sobre as falsas quinas Brasileiras (Peckolt, 1916); (2) Primeira edição de Farmacopeia Oficial Brasileira (1926); (3) usados na preparação de medicamentos pelos laboratórios farmacêuticos: 3a=Flora Medicinal (Botsaris, 2007), 3b= Silva Araujo (Araújo, 1930), 3c= outros (Brandão et al., 2010); (4) estudos etnobotânicos recentes especificamente sobre efeitos antimalárico: 4a = Brandão et al., 1992; 4b = Milliken, 1997, 4c = Oliveira et al., 2003.

Tabela 15: Espécies de plantas medicinais nativas do Brasil conhecidas como quinas e usadas como febrífuga e no tratamento de distúrbios digestivos.

Nome científico	Nome popular	Usos relacionados a febres e trato-gastrointestinal	Estudos farmacológicos
APOCYNACEAE			
<i>Geissospermum sericeum</i> Miers ⁷	Quina-Rana	Casca amarga, empregada contra febres palustres	Não estudada
<i>Himatanthus lancifolius</i> (Müll.Arg.) Woodson ⁹	Quina Branca, Quina Mole	Constipação intestinal, digestão difícil, febres intermitentes	Gastroproteção (BAGGIO et al., 2005)
ASTERACEAE			
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC., <i>B. crispa</i> Spreng., <i>B. genistelloides</i> var. <i>trimera</i> (Less) Baker ⁸	Quina-De-Condamine	Aperiente, febrífuga, obesidade, problemas gastrointestinais e hepáticos, tônico	Efeito protetor em lesão hepática aguda (PÁDUA, et al., 2014); uso em distúrbios digestivos (BIONDO et al., 2011)
BERBERIDACEAE			
<i>Berberis laurina</i> Billb., <i>B. glaucescens</i> A. St. Hil., <i>B. coriacea</i> A. St. Hil. ^{2,15}	Quina-Cruzeiro	Chá empregado contra a malária	Não estudada
GENTIANACEAE			
<i>Tachia guianensis</i> Aubl ⁷	Quina Amargosa	Infusão antidispéptica, antifebril, tônica	Não estudada
<i>Deianira erubescens</i> Cham.& Schltl ⁹	Herva-Quina, Quina-De-Raiz	Amarga, estomáquica, febrífuga e tônica	Não estudada
LAMIACEAE			
<i>Leonotis nepetifolia</i> (L.) R.Br ^{9*}	Quina-Do-Pasto	Antiespasmódica, febrífuga	Tratamento de <i>H. pylori</i> (VALE & OLEASTRO, 2014)

<i>Leonurus sibiricus</i> L. ^{1*}	Quinino-Dos-Pobres	Distúrbios gastrointestinais, febres intermitentes	Não estudada
LOGANIACEAE			
<i>Strychnos gardneri</i> A.DC. ⁹	Quina-De-Cipó	Febrífuga	Não estudada
<i>Strychnos pseudoquina</i> A. St.-Hil. ^{4,5,6,9,15}	Quina De Manda, de-Velozo, - Mineira, Do-Cerrado, -Grossa, - Cruzeiro, -De-Chapada, -De-Periquito, -Do-Mato- Grosso, - Branca, -Do- Campo	Casca é empregada como anti-malárica, febres, moléstias do baço e estômago, fígado, tônico	Agente anti-ulceroso (BONAMIN et al., 2011)
<i>Strychnos rubiginosa</i> A. DC. ⁹	Quina-Branca	Cascas tônico-amargas	Não estudada.
<i>Strychnos trinervis</i> (Vell.) Mart. ⁹	Quina-Cruzeiro, Quina De Cipó	Febrífugo, moléstias do estômago	Efeito espasmolítico (DINIZ et al., 1994); atividade antidiarreica (MELO et al., 1988)
MELASTOMATACEAE			
<i>Miconia willdenowii</i> Klotzsch ex Naudin ⁹	Quina-Brava	Cascas tônico-amargas	Não estudada
MORACEAE			
<i>Naucleopsis macrophylla</i> Miq. ⁷	Quina	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Ogcodeia amara</i> Ducke(<i>Naucleopsis amara</i> Duke). ^{3,9,7}	Quina	Contra as febres palustres, látex muito amargo	Não estudada
OPILIACEAE			
<i>Agonandra brasiliensis</i> Miers ex Benth. & Hook.f. ⁶	Quina-Branca, Quina-De-Veado	Aperiente, cólicas intestinais em recém nascidos	Não estudada
PHYLLANTHACEAE			
<i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão ⁹	Quina-Do-Pará	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Margaritaria nobilis</i> L.f. ¹⁰	Quina	Antimalárica	Não estudada

RHAMNACEAE

<i>Colletia paradoxa</i> (Spreng.) Escal. ⁹	Quina-De-Porto-Alegre, Quina-Do-Rio-Grande	Febres, tônico	Não estudada
<i>Discaria americana</i> Gillies ex Hook ⁹	Quina-Do-Campo, Quina -Do-Brasil, Quina-Do-Rio-Grande	A casca é acre, febrífuga e tônica	Não estudada

RUBIACEAE

<i>Alseis floribunda</i> Schott ⁹	Quina-De-São-Paulo	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Basanacantha annae</i> K.Schum. ^{5,9,10}	Quina-Dos-Pobres	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Bathysa australis</i> (A.St.-Hil.) K.Schum. ^{5,7,9}	Quina-De-Santa-Catarina, Quina-Do-Paraná, Quina-Do-Mato	Cascas amargas e tônicas, empregadas contra febre intermitentes e febrífugas	Não estudada
<i>Ciliosemina pedunculata</i> (H.Karst.) Antonelli ⁹	Quina-Nacional	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Coutarea hexandra</i> (Jacq.) K.Schum. ^{1,4,5,7,9,}	Quina-De-Pernambuco, Quina-Quina, Quina-Do-Pará, -Quina-Branca, Quina-De-Dom-Diogo, Quina-Do-Brasil, Quina-Do-Rio-de-Janeiro, Quina-Do-Mato	Cascas tônicas e amargas. Empregada contra cálculos biliares. Sucedâneas da verdadeira quina no tratamento de febres intermitentes.	Não estudada
<i>Ladenbergia cujabensis</i> Klotzsch ⁹	Quina-De-Cuiabá, Quina-De-Mato-Grosso.	Estomáquica e impotência	Não estudada
<i>Ladenbergia hexandra</i> (Pohl) Klotzsch ⁹	Quina Do Rio De Janeiro	Tônico, não possui propriedades antifebris como a quina verdadeira	Não estudada
<i>Randia armata</i> (Sw.) DC. ⁹	Quina Dos Pobres	A casca da raiz tem ação febrífuga e tônica	Não estudada
<i>Remijia ferruginea</i> (A.St.-Hil.) DC. ^{5,9,10}	Quina-De-Remijo, Quina-Rosa, Quina -Da-Serra, Quina-	Cascas substituem a verdadeira Quina. Como tônicas e amargas	Não estudada

	brasileira, Quina-Do-Campo		
<i>Schizocalyx cuspidatus</i> (A.St.-Hil.) Kainul. & B.Bremer ⁹	Quina-Do-Mato	Contra febres intermitentes, convalescências, tônicos amargos	Não estudada
<i>Ladenbergia chapadensis</i> S.Moore ⁹	Quina-De-São-Paulo	Empregada contra febres e no tratamento dos males do estômago e dos intestinos	Não estudada
<i>Ladenbergia hexandra</i> (Pohl) Klotzsch ^{5,9}	Quina-De-Folha-Larga, Quina- Quina, Quina-Do-Rio-De-Janeiro	Casca é sucedânea das Quinas legítimas, tônica e amarga, mas não febrífuga. Usada no preparo de medicamentos tonificantes tais como vinhos quinados.	Não estudada
<i>Ladenbergia lambertiana</i> (Mart.) Klotzsch ⁹	Quina-Do-Rio-Negro	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Ladenbergia oblongifolia</i> (Mutis) L.Andersson ⁹	Quina-De-Goiás	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Macrocnemum grandiflorum</i> (Wedd) Wedd. ⁹	Quina-De-São-João	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Remijia amazonica</i> K. Schum. ⁹	Quina-Do-Amazonas	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Remijia firmula</i> (Mart.) Wedd. ⁹	Quina-Do-Rio-Negro	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Remijia macrocnemia</i> (Mart.) Wedd. ⁹	Quina-Do-Pará, Quina-Do-Rio- Negro	Cascas tônico-amargas	Não estudada
<i>Simira glaziovii</i> (K.Schum.) Steyer ⁹	Quina-Vermelha, Quina-Do-Mato	Cascas tônico-amargas.	Não estudada.

RUTACEAE			
<i>Esenbeckia febrifuga</i> (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart. ^{3,9}	Quina Laranjeira, Quina-Do-Mato	Casca é amarga, combate as febres intermitentes, dispepsia, tônica	Não estudada
<i>Galipea jasminiflora</i> (A.St.-Hil.) Engl. ⁹	Quina-Das-Três-Folhas, Quina-Falsa, Quina-Quina	Casca amarga, sucedânea da Quina verdadeira no combate às febres intermitentes, tônica	Não estudada
<i>Hortia brasiliiana</i> Vand. ex DC. ⁹	Quina-Do-Campo	Casca amarga, estomáquica e febrífuga, sucedânea da Quina verdadeira, tônica	Não estudada
SALICACEAE			
<i>Casearia decandra</i> Jacq. ⁹	Quina-Do-Pará	Adstringente e tônico	Não estudada
SIMAROUBACEAE			
<i>Quassia amara</i> L. ^{2,7}	Quina Cayenna, Quina	Madeira é amarga, aperitiva, excelente digestivo (dispepsias), estomáquica, febrífugo, problemas hepáticos, tônico energético	Efeito antiulcerogênico (RAJI & OLOYEDE, 2012)
SMILACACEAE			
<i>Smilax fluminensis</i> Steud. ⁹	Quina-De-Cipó, Cipó-Quina	Cascas tônico-amargas	Não estudada
SOLANACEAE			
<i>Cestrum euanthes</i> Schltld. ^{3,5,9}	Quina-Do-Pará, Quina-Do-Mato, Quina-Da-Terra, Quina-De-Porto-Alegre, Quina-Da-Mata, Quina-Branca.	A casca é tônica, considerada sucedânea da Quina verdadeira. Empregada contra febres intermitentes. Estomáquicas, febrífuga	Não estudada
<i>Solanum pseudoquina</i> A. St.-Hil. ^{5,9}	Quina-De-São-Paulo, Quina-Branca, Quina-De-Mendana.	Casca com amargor extremo, contra febres intermitentes, desobstruente, tônico, icterícias e ingurgitamento do fígado, inflamações do baço	Não estudada

Referências: (1) Araújo (1930), (2) Badini (1940), (3) Balbach (1962), (4) Cruz (1982), (5) Hoehne (1939), (6) Siqueira (1998), (7) Le Cointe (1947), (8) Martins (1994) (9) Correa (1984) e (10) Rizini e Mors (1976).

*Existem indicativos que não sejam nativas.

Tabela 16: Espécies de quinas descritas em trabalhos de campo (levantamentos etnobotânicos) realizados no Brasil a partir do século 21.

Nome Científico	Nome Popular	Indicação	Local	Referência
APOCYNACEAE <i>Geissospermum sericeum</i> Miers	Quinarana	Doenças da pele, febres do pântano, inflamação, tônico amargo	Brasil	BOTSARIS, 2007
ASTERACEAE <i>Vernonia condensata</i> Baker	Quina	Estômago, dor de cabeça	Cruz Alta (RS)	GARLET et al., 2001
FABACEAE <i>Acosmium subelegans</i> (Mohl). Yak.	Quina-genciana	Problemas de ovário e útero	Cuiabá (MT)	PASA, 2011
FLACOURTIACEAE <i>Casearia decandra</i> Jacq.	Quina-do-pará	Úlceras sórdidas	Brasil	FENNER et al. 2006
LOGANIACEAE				
<i>Strychnos brasiliensis</i> Mart.	Quina-cruzeiro	Para o estômago	Luís Antônio (SP)	CASTELLUCCI et al. 2000
<i>Strychnos pseudoquina</i> A. St.-Hil.	Quina, quina-branca, quina-de-Goiás, quina-do-campo, quina-do-cerrado, quina-grossa, quineira	Afecções gástricas, afecções hepáticas, afecções neurais, antianêmico, anti-inflamatório, antiúlceras, astenia, baço, banho facilita o parto, cólicas, depurativo do sangue, diarreia, dor de estômago, dor no corpo, esplenomegalia, estimulante do	Alto Paraíso de Goiás (GO), Anápolis (GO), Brasil, Cuiabá (MT), Currais (PI), Goiânia (GO), Indianópolis (MG), Nossa Senhora do Livramento (PI), Nova Xavantina (MT), Oeiras	BAPTISTEL et al., 2014; MEDEIROS et al., 2013; PASA, 2011; SILVA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010; JESUS et al., 2009; MOREIRA et al., 2009; CALÁBRIA et al., 2008; BOTSARIS 2007; SOUZA et

		apetite, estômago, febre intermitente, febrífuga, fígado, hepatomegalia, hipolipidêmica, indigestão, malária, problemas estomacais, problemas gástricos, queda de cabelo, tônico amargo, tônico capilar e vermífugo	(PI), Rosário do Oeste (PI).	al. ,2006; TRESVENZOL et al. 2006; MORAIS et al., 2005; CARVALHO 2004
<i>Strychnos trinervis</i> (Vell.) Mart.	Quina, quina-cruzeiro	Depurativa no tratamento da sífilis, diarreia, doenças do SNC febres intermitentes, vermífugo	Nordeste do Brasil	AGRA et al., 2008
<i>Strychnos triplinervia</i> Mart.	Quina-cruzeiro	Dor geral e febre	Vale do Ribeira (SP)	DI STASI et al., 2002
RUBIACEAE				
<i>Bathysa australis</i> (A. St.-Hil.) K. Schum.	Quina-do-mato	Febrífugo e tônico	Ouro Preto (MG)	MESSIAS et al. 2015
<i>Bathysa cuspidata</i> (A. St.-Hil.) Hook.f. ex K.Schum.	Quina do mato	Eupéptico utilizado como um substituto para o quinino na malária, febrífugo, tônico amargo	Brasil	BOTSARIS, 2007
<i>Coutarea hexandra</i> (Jacq). K. Schum	Quina-brava, quina-de-pernambuco,	Abortivo, amenorreia, antimalárico, anticoagulante,	Aiuaba (CE), Araripe (CE), Assaré (CE),	SILVA et al., 2015; RIBEIRO et al., 2014;

	quina-quina, quineira.	antiinflamatório, antitérmico, bronquite, cólica, desordens menstruais, diabetes, doenças do aparelho respiratório, dor de cabeça, febre, febre intermitente, febrífugo, fígado, fortalecer o sangue, gripe, hepatite, inflamação da boca, inflamação dos dentes, inflamações em geral, inflamação do nariz, pedras ou problemas na vesícula biliar, problemas digestivos, utilizado contra a malária.	Milagres (CE), Brasil, Campina Grande (PB), Caruaru (PE), Itapetim (PE), Nordeste do Brasil, Serra da Raiz (PB)	CORDEIRO et al., 2014; SOUZA et al., 2014; LOPES et al., 2012; CARTAXO et al., 2010; MONTEIRO et al., 2010; AGRA et al., 2008; ALBUQUERQUE et al., 2007; ALVES et al., 2007; BOTSARIS 2007
<i>Guettarda angelica</i> Mart. ex Müll. Arg.	Quina-da-serra	Febre	Caicó (RN)	ROQUE et al., 2010
<i>Remijia ferruginea</i> A. St.-Hil.	Quina mineira	Febre intermitente e malária	Brasil	BOTSARIS, 2007
RUTACEAE				
<i>Esenbeckia febrifuga</i> (A. St.-Hil.) A. Juss. ex Mart.	Quina do mato	Adenite, constipação, dispepsia, febre intermitente, febrífugo, malária e tônico amargo	Brasil	BOTSARIS, 2007
<i>Galipea multiflora</i> Schult	Quina falsa	Antidiarreico, atonia gástrica, dispepsias, eupéptico, febre, febrífugo, infecções, malária e tônico adstringente	Brasil	BOTSARIS, 2007

SIMAROUBACEAE <i>Quassia amara</i> L.	Quina	Diabetes, febre, febre intestinal, malária, ovários, serve para qualquer problema de saúde	João da Ponte (MG), Marapanim (PA), Santa Bárbara do Pará(PA), São Luís (MA)	SILVA et al., 2012; MADALENO, 2011; COELHO-FERREIRA et al., 2009; LEÃO et al. 2007
WINTERACEAE <i>Drimys brasiliensis</i> Miers	Quina	Doenças infecciosas, doenças do sistema gastrointestinal e doenças do sistema respiratório.	Parque Estadual de Cabeça do Cachorro, PECC, (PR).	BOLSON et al., 2015

4.2 Pesquisa de substâncias amargas

4.2.1 Índice de amargor (teste preliminar)

O índice de amargor foi realizado em todas as plantas, por meio da avaliação do chá preparado por infusão, por oito provadores não treinados. A tabela 17 mostra os resultados de índice de amargor encontrado para as seis espécies estudadas. A espécie que apresentou o maior amargor foi a *S. pseudoquina*, com resultado de $46.250,000 \pm 130,1069$ e DPR de 28,13%.

Tabela 17. Índice de amargor encontrado nas amostras das drogas vegetais.

Espécies	Índice de amargor	DPR (%)
<i>B. trimera</i> (caules alados)	41.250	27,86
<i>E. febrifuga</i> (cascas)	38.333	24,13
<i>H. brasiliiana</i> (cascas)	17.533	25,74
<i>P. hexasperma</i> (cascas)	27.666	29,90
<i>R. ferruginea</i> (cascas)	20.600	28,28
<i>S. pseudoquina</i> (cascas)	46.250	28,13
Padrão de Cloridrato de Quinino	200.000	-

4.2.2 Rendimento dos extratos brutos

O processo de extração foi realizado por percolação a frio, até a exaustão, com subsequente eliminação do solvente e os resultados deste procedimento estão na Tabela 18. Observa-se que o extrato obtido a partir dos caules alados de *B. trimera* apresentaram maior rendimento de extração (26,3%), em relação aos obtidos a partir das cascas. A *P. hexasperma* apresentou o maior rendimento (18,44%), seguido por *R. ferruginea* (18,14%), *S. pseudoquina* (17,74%), *H. brasiliiana* (16,89%) e *E. febrifuga* (14,16%).

Tabela 18: Rendimento de extração dos extratos brutos.

Espécie vegetais	Pó da planta (g)	Sigla	Peso obtido (g)	Rendimento (%)
<i>B. trimera</i>	37,30	Carq	9,75	26,13
<i>E. febrifuga</i>	30,00	Ese	4,25	14,16
<i>H. brasiliiana</i>	600,00	Hort	101,36	16,89
<i>P. hexasperma</i>	32,25	Pol	5,95	18,44
<i>R. ferruginea</i>	200,00	Rm	36,29	18,14
<i>S. pseudoquina</i>	100,00	Spq	17,74	17,74

Legenda: As siglas encontradas na coluna 3 são correspondentes as espécies vegetais.

4.2.3 Rendimento das frações obtidas a partir do extrato bruto

Cada um dos extratos brutos foi submetido a extração líquido-líquido, com solventes de polaridades crescentes, com o objetivo de se obter frações enriquecidas em substâncias de polaridade semelhante. A Tabela 19 mostra que o maior rendimento foi obtido para as frações acetato de etila das espécies *B. trimera* (23,75%), *R. ferruginea* (13,55%) e *S. pseudoquina* (10,15%), indicativo da presença de substâncias de polaridade intermediária, como os flavonoides. Já a espécie *P. hexasperma* (13,42%) apresentou maior rendimento para fração aquosa, indicativo da presença de compostos polares, como os taninos.

Tabela19: Rendimento do fracionamento a partir do extrato bruto utilizando diferentes solventes de polaridade crescente.

Espécie	Extrato bruto e Frações	Sigla	Rendimento (%)
<i>B. trimera</i>	Extrato bruto	Carq	nsa
	acetato de etila	FACETCarq	23,75
	n-butanol	FBUTCarq	7,14
	aquosa	FACarq	9,09
<i>E. febrifuga</i>	Extrato bruto	Ese	nsa
	acetato de etila	FACETEse	5,08
	n-butanol	FBUTEse	1,41
	aquosa	FAEse	6,05
<i>H. brasiliiana</i>	Extrato bruto	Hort	nsa
	acetato de etila	FACETHort	1,44
	n-butanol	FBUTHort	6,96
	aquosa	FAHort	4,39
<i>P. hexasperma</i>	Extrato bruto	Pol	nsa
	acetato de etila	FACETPol	9,10
	n-butanol	FBUTPol	1,20
	aquosa	FAPol	13,42
<i>R. ferruginea</i>	Extrato bruto	Rm	nsa
	Acetato de etila	FACETRm	13,55
	n-butanol	FBUTRm	4,72
	aquosa	FARm	5,09
<i>S. pseudoquina</i>	Extrato bruto	Spq	nsa
	Acetato de etila	FACETSpq	10,15
	n-butanol	FBUTSpq	3,70
	aquosa	FASpq	4,89

Legenda: As siglas encontradas na coluna 3 (Sigla) são correspondentes ao extrato bruto ou fração da coluna 2 (Extrato bruto e frações). A sigla (nsa) na tabela para todos extratos brutos significa não se aplica.

4.2.4 Rendimento das frações enriquecidas em alcaloides

As drogas vegetais foram submetidas a uma extração ácido-base para a possível obtenção dos alcaloides. As espécies que apresentaram maior rendimento de extração foram a partir das cascas de *S. pseudoquina* (0,45%) e *H. brasiliiana* (0,30%) e *R. ferruginea* (0,15%), estes resultados encontram-se descritos na tabela 20.

Tabela 20: Rendimento das frações obtidas com o método de obtenção de alcaloides

Espécie	Droga vegetal e frações	Sigla	Peso (g)	Rendimento (%)
<i>B. trimera</i>	Droga vegetal	Carq	3,0003	nsa
	Fração de alcaloides	FALCCarq	0,0038	0,12
<i>E. febrifuga</i>	Droga vegetal	Ese	3,0009	nsa
	Fração de alcaloides	FALCEse	0,0042	0,14
<i>H. brasiliiana</i>	Droga vegetal	Hort	3,0012	nsa
	Fração de alcaloides	FALCHort	0,0091	0,30
<i>P. hexasperma</i>	Droga vegetal	Pol	3,0012	nsa
	Fração de alcaloides	FALCPol	0,0021	0,07
<i>R. ferruginea</i>	Droga vegetal	Rm	3,0000	nsa
	Fração de alcaloides	FALCRm	0,0045	0,15
<i>S. pseudoquina</i>	Droga vegetal	Spq	3,0018	nsa
	Fração de alcaloides	FALCSpq	0,0135	0,45

Legenda: As siglas encontradas na coluna 3 (Sigla) são correspondentes a droga vegetal ou fração da coluna 2 (Droga vegetal e frações). A sigla (nsa) na tabela para todos extratos brutos significa não se aplica.

4.2.5 Pesquisa de flavonoides/ ácidos fenólicos por CCD

Inicialmente, foram feitas análises em CCD para verificar a presença de substâncias integrantes das principais classes de substâncias amargas: flavonoides, polifenóis/ taninos, alcaloides, iridoides e óleos essenciais. A Tabela 21 apresenta o conjunto de resultados encontrados na análise por CCD para flavonoides e ácidos fenólicos. As imagens das placas encontram-se no anexo 8.1.1.

Tabela 21: Resultado da análise em CCD para flavonoides/Ácidos fenólicos

Espécie	Parte	Ácido clorogênico	Ácido cafeico	Rutina	Quercetina
<i>B. trimera</i>	Caules alados	Carq, FACETCarq, FBUTCarq e FACarq	-	-	Carq, FACETCarq, FBUTCarq
<i>E. febrifuga</i>	Cascas	-	-	-	-
<i>H. brasiliana</i>	Cascas	-	-	-	-
<i>P. hexasperma</i>	Cascas	-	-	-	-
<i>R. ferruginea</i>	Cascas	Rm, FBUTRm e FARm	-	Rm, FACETRm e FBUTRm	-
<i>S. pseudoquina</i>	Cascas	FACETSpq, FBUTSpq	-	-	Spq, FACETSpq, FBUTSpq e FASpq

Legenda: Extrato bruto de *B. trimera* (Carq), fração acetato de etila de *B. trimera* (FACETCarq), fração n-butanol de *B. trimera* (FBUTCarq), fração aquosa de *B. trimera* (FACCarq), extrato bruto de *R. ferruginea* (Rm), fração acetato de etila de *R. ferruginea* (FACETRm), fração n-butanol de *R. ferruginea* (FBUTRm), fração aquosa de *R. ferruginea* (FACRm), extrato bruto de *S. pseudoquina* (Spq), fração acetato de etila de *S. pseudoquina* (FACETSpq), fração n-butanol de *S. pseudoquina* (FBUTSpq), fração aquosa de *S. pseudoquina* (FACSpq). A sigla (-) na tabela para todas as substâncias significa não foram encontradas.

4.2.5.1 Pesquisa de flavonoides/ ácidos fenólicos por CLAE/DAD

A CLAE foi utilizada com a finalidade de detectar a presença de flavonoides/ ácidos fenólicos nas amostras. Foram utilizados o ácido clorogênico (T_R 10,01) e o ácido cafeico (T_R 12,08), como referência de ácidos fenólicos e rutina (T_R 35,20) e quercetina (T_R 49,74) como referência de flavonoides. A figura 17 apresenta os cromatogramas e respectivos espectros no UV para os padrões.

Na figura 18, encontram-se o cromatograma obtido para o extrato bruto de *B. trimera* (**Carq**), e na figura 19 encontram-se os principais espectros no ultravioleta. É possível observar a presença de vários picos referentes a substâncias de elevada polaridade, entre tempos de retenção (T_R) de 10 a 15 min, enquanto outro grupo de substâncias foi detectado em T_R de 27 a 50 min. A partir da análise dos espectros foi possível identificar a presença de ácido clorogênico (T_R 10,02), e ácido cafeico (T_R 12,34) e o flavonoide quercetina (T_R 49,03). Os demais picos podem ser atribuídos a substâncias com estrutura química semelhante a esses.

Na figura 20 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto de *E. febrifuga* (**Ese**), na figura 21 os principais espectros no ultravioleta encontrados na espécie. É possível observar a presença de várias substâncias de elevada polaridade, entre tempos de retenção (T_R) de 28 a 50 min. Os espectros no UV entre tempos de retenção (T_R) de 10 a 12 min não condizentes para substâncias fenólicas, como ácidos fenólicos. No extrato bruto de *E. febrifuga* não foram encontrados os marcadores de ácidos fenólicos e flavonoides. As substâncias encontradas após 28,05 minutos podem ser flavonoides, devido à confirmação dessa classe por CCD e pela semelhança dos espectros de UV.

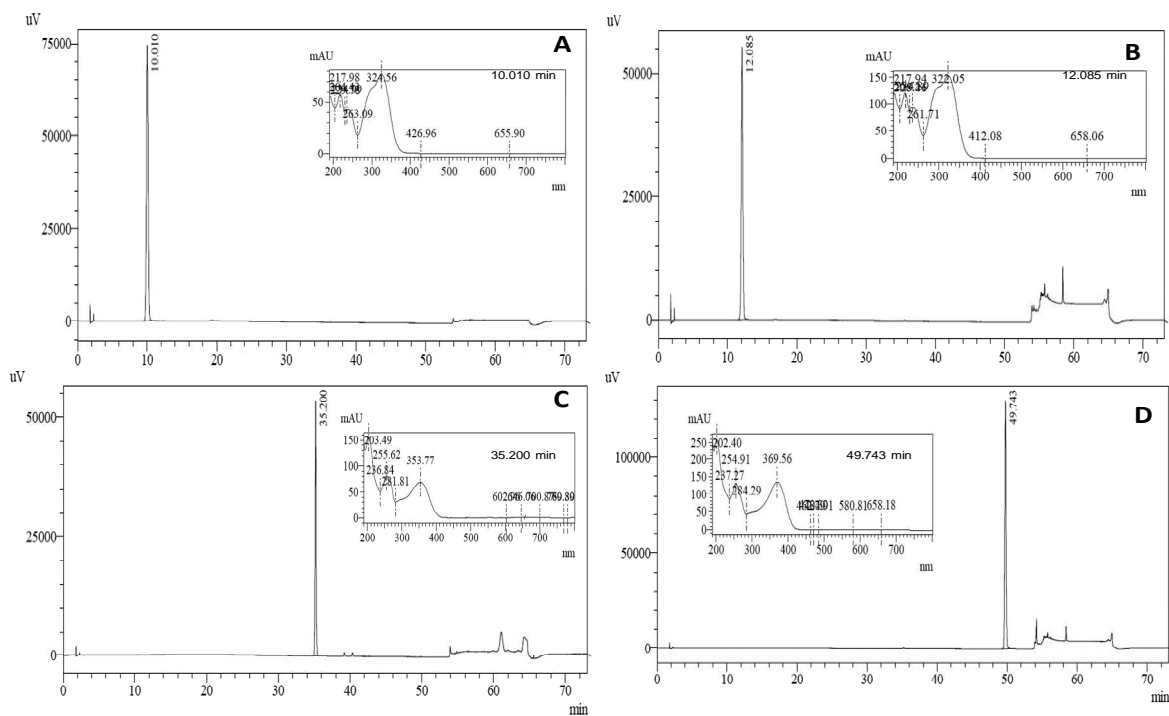


Figura 17: Perfil cromatográfico em CLAE dos padrões de ácidos orgânicos e flavonoides.

Legenda: A- Ácido clorogênico; B- Ácido cafeico; C- Rutina; D- Quercetina.

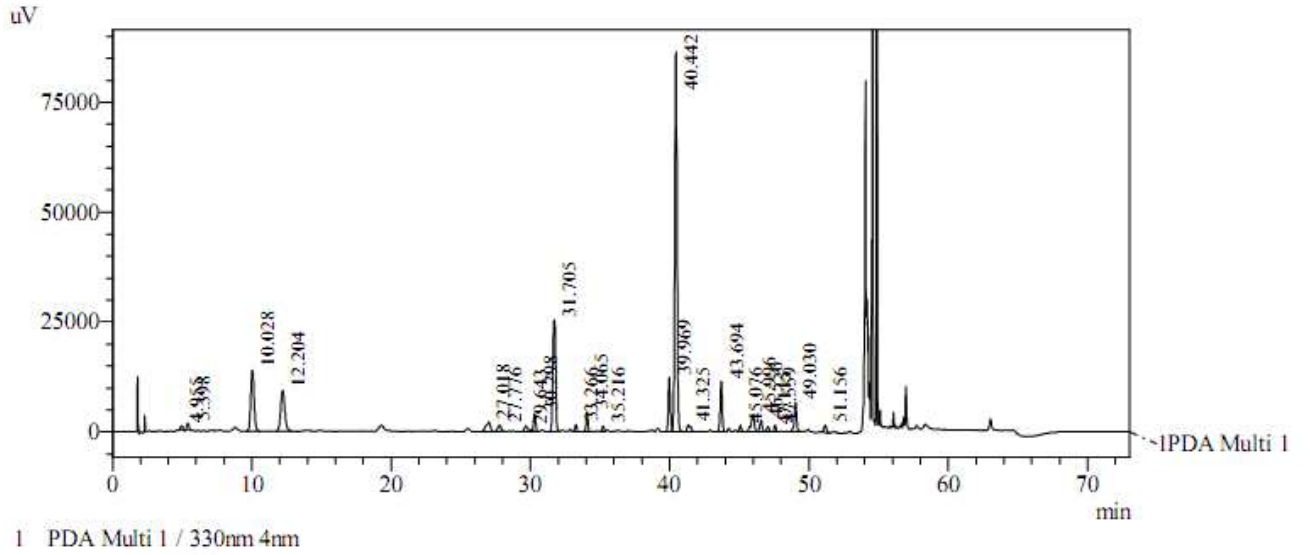


Figura 18: Perfil cromatográfico obtido em CLAE para o extrato bruto de *B. trimera* (Carq)

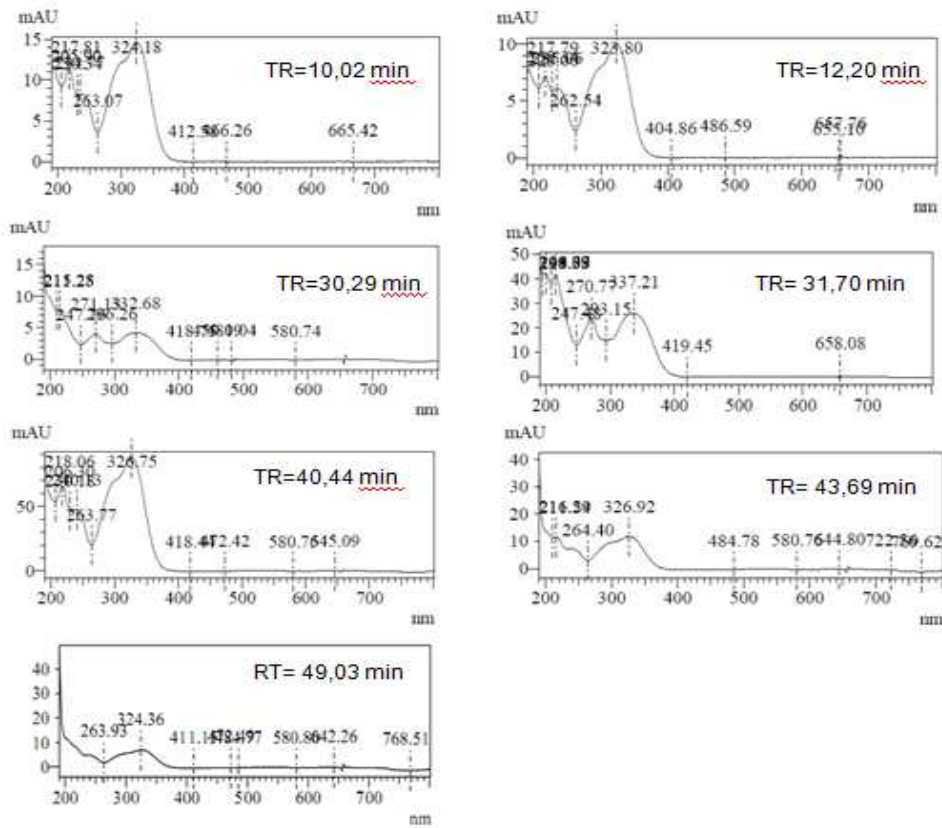


Figura 19: Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de *B. trimera*.

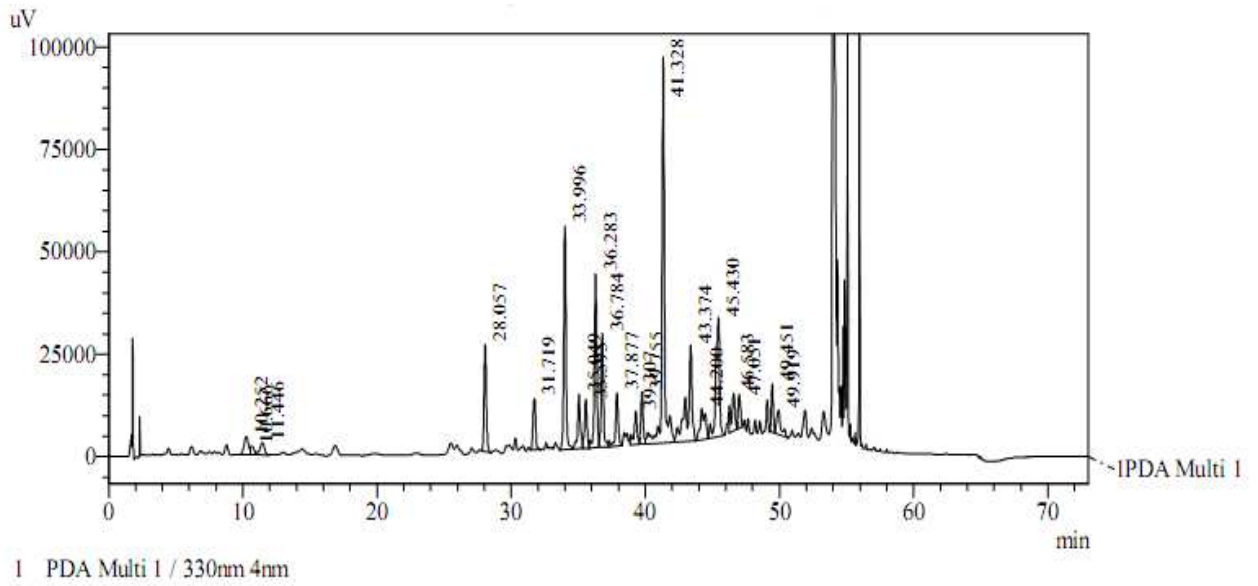


Figura 20: Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de *E. febrifuga* (Esse).

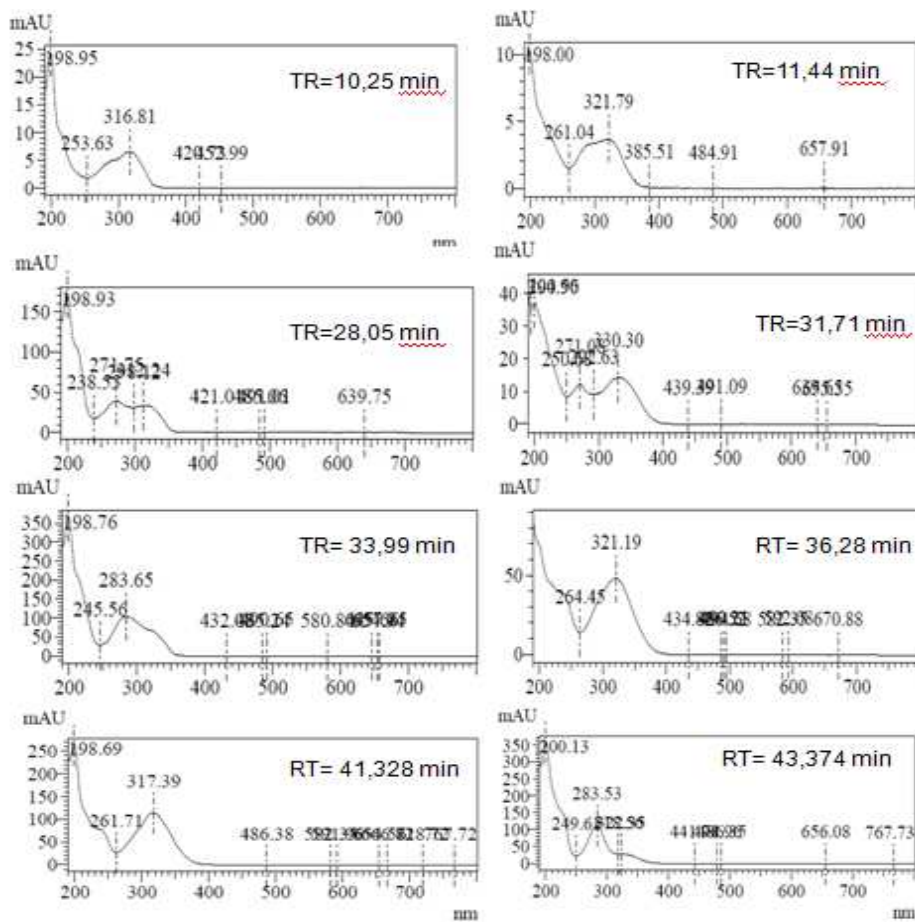


Figura 21: Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de *E. febrifuga* (Ese).

Na figura 22 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto de *H. brasiliiana* (**Hort**), e na figura 23 encontram-se os principais espectros no ultravioleta. É possível observar a presença de várias substâncias de elevada polaridade, entre tempos de retenção (T_R) de 29 a 50 min. Os espectros no UV não condizentes para substâncias fenólicas, como ácidos orgânicos. No extrato bruto de *H. brasiliiana* não foram encontrados os marcadores de ácidos fenólicos e flavonoides. As substâncias encontradas, após 29,04 minutos, podem ser derivados de ácidos dihidroxicinâmico ou cumarinas. Estudos de BRAGA, 2005; SEVERINO, 2008; BRAGA et al., 2012 evidenciaram a presença destas substâncias para esta espécie.

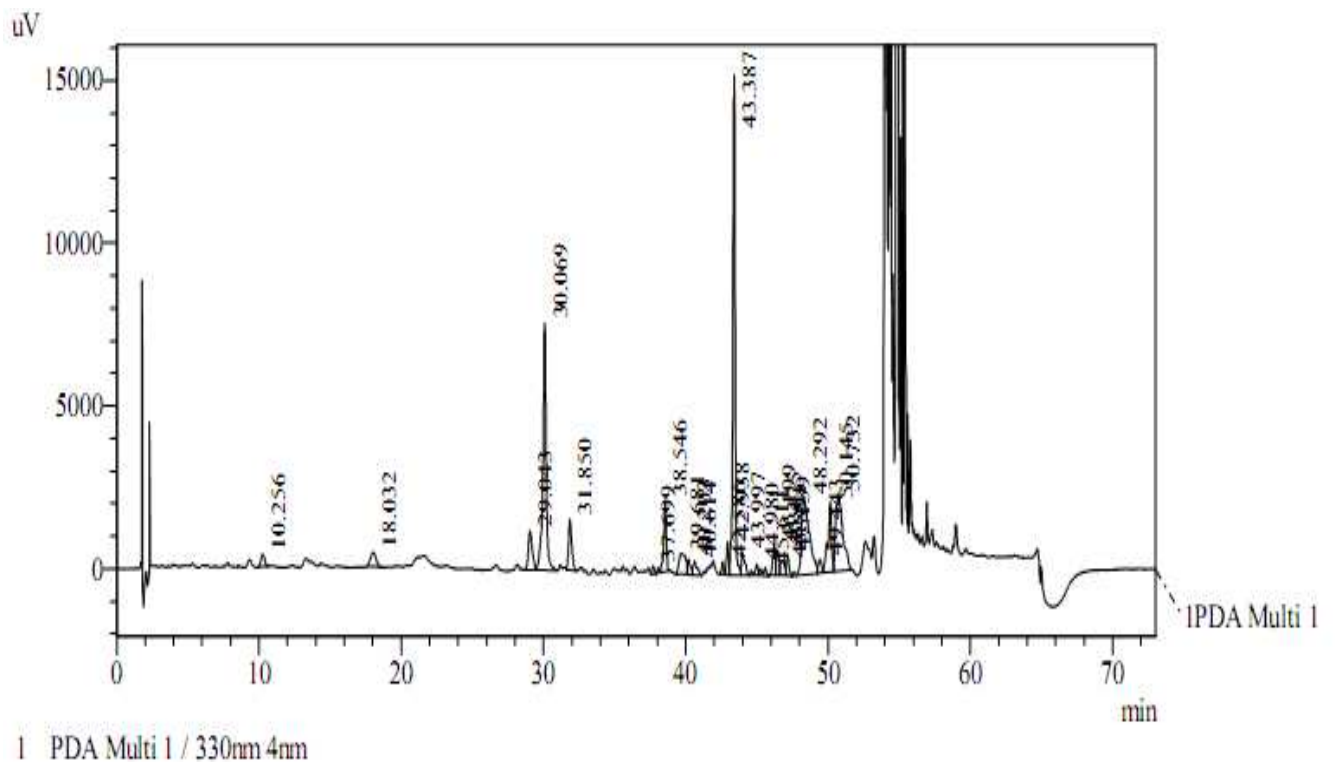


Figura 22: Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de *H. brasiliiana* (Hort).

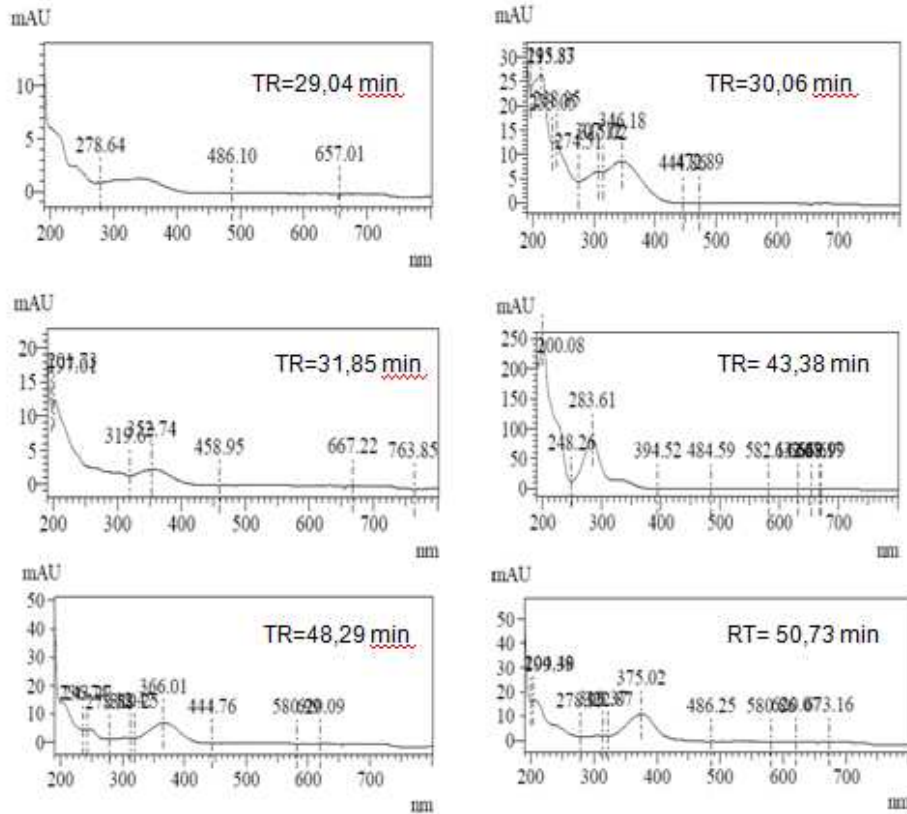


Figura 23: Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de *H. brasiliana* (Hort).

Na figura 24 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto de *P. hexasperma* (Pol) e na figura 25, encontram-se os principais espectros no ultravioleta. É possível observar a presença de várias substâncias de elevada polaridade, entre tempos de retenção (T_R) de 6 a 13 min, enquanto outro grupo de substâncias foi detectado em T_R de 28 a 43 minutos. No extrato bruto de *P. hexasperma*, não ficou nítida a identificação dos marcadores de ácidos orgânicos, ácido clorogênico (T_R 10,06) e ácido cafeico (T_R 12,12) e não foram encontrados os padrões de flavonoides.

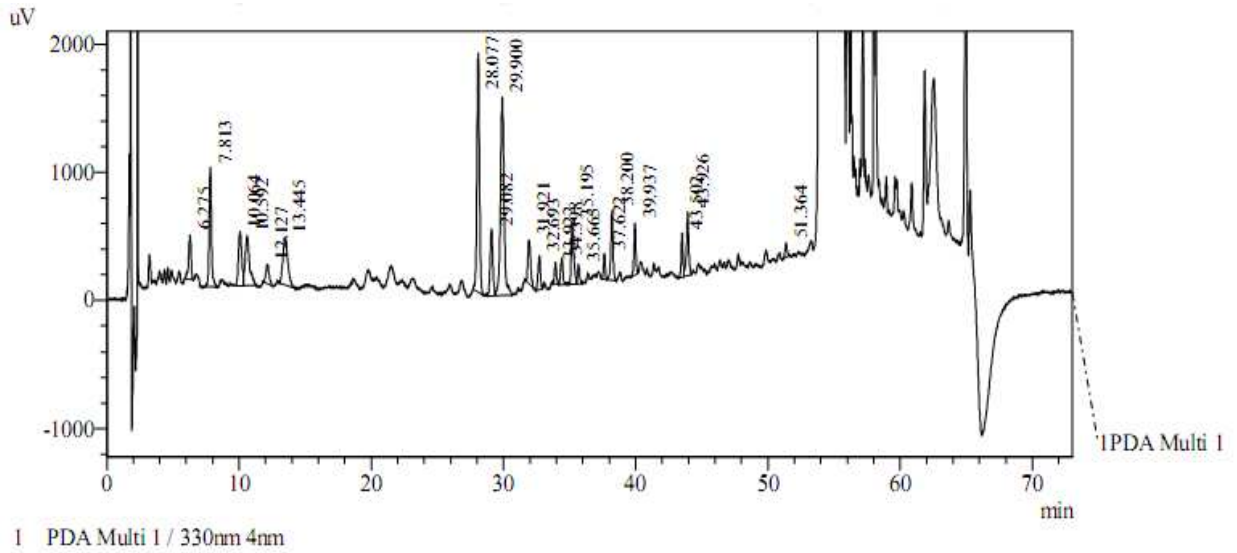


Figura 24: Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de *P. hexasperma* (Pol).

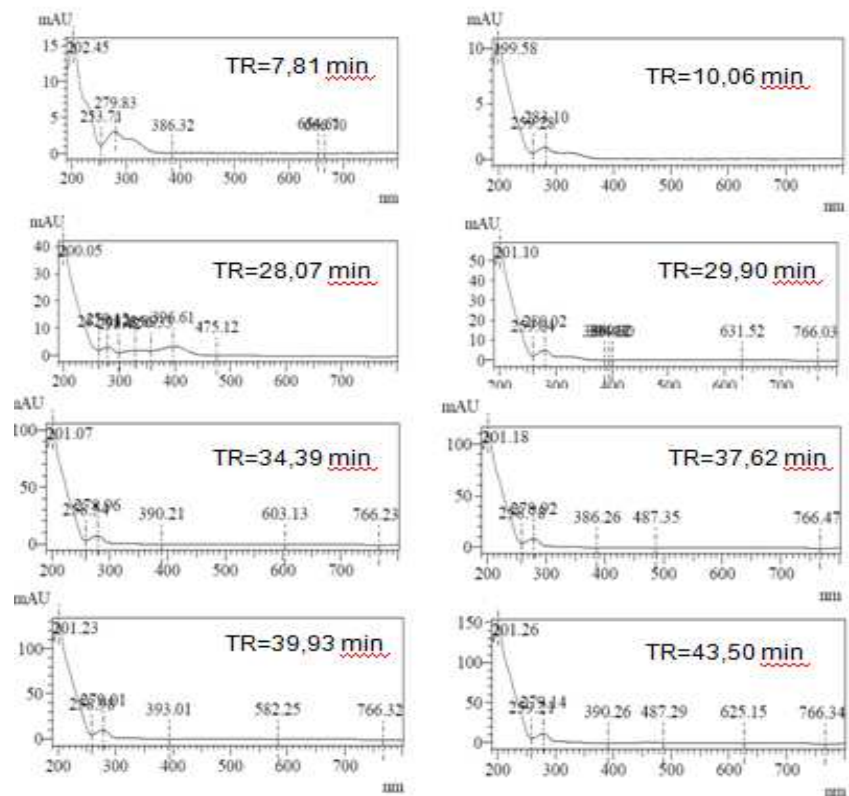


Figura 25: Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de *P. hexasperma* (Pol).

Na figura 26, encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto de *R. ferruginea* (Rm) e na figura 27, encontram-se os principais espectros no ultravioleta. É possível observar a presença de vários picos referentes a substâncias de elevada polaridade, entre tempos de retenção (T_R) de 10 a 15 min, enquanto outro grupo de substâncias foi detectado em T_R de 27 a 50 min. A partir da análise dos espectros foi possível identificar a presença de ácido clorogênico (T_R 10,02), e ácido cafeico (T_R 12,34) e o flavonoide rutina (T_R 35,21). Os demais picos podem ser atribuídos a substâncias com estrutura química semelhante a esses.

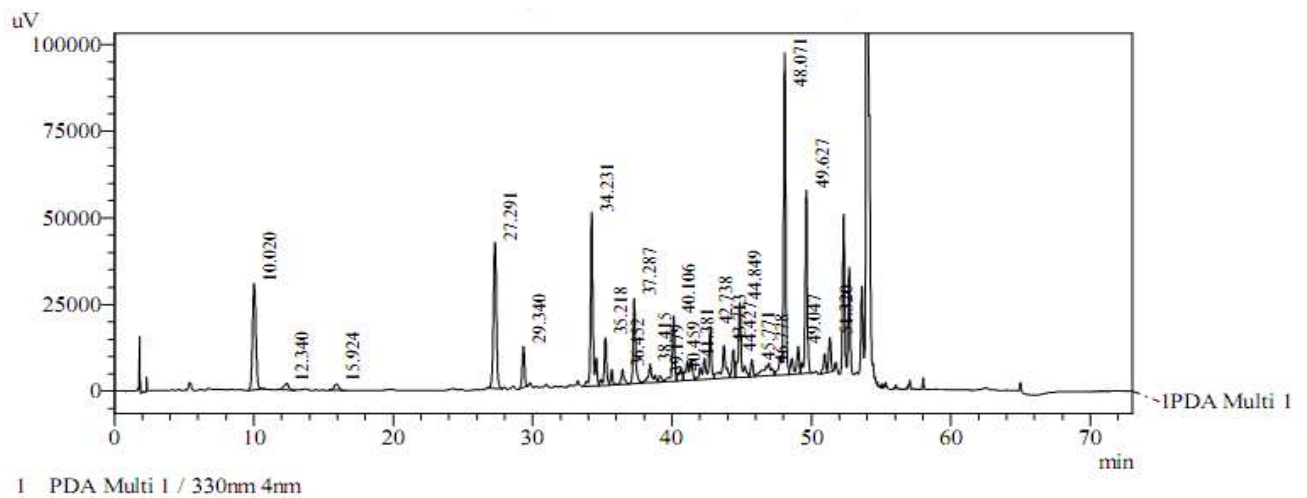


Figura 26: Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de *R. ferruginea* (Rm).

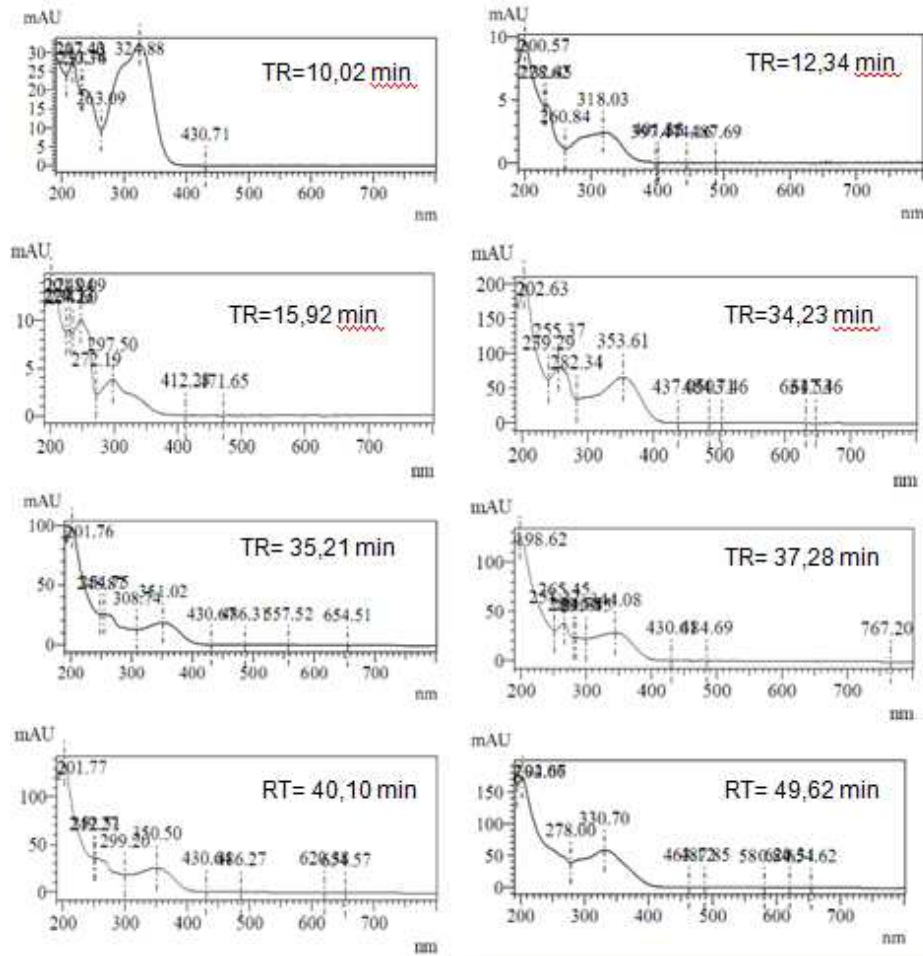
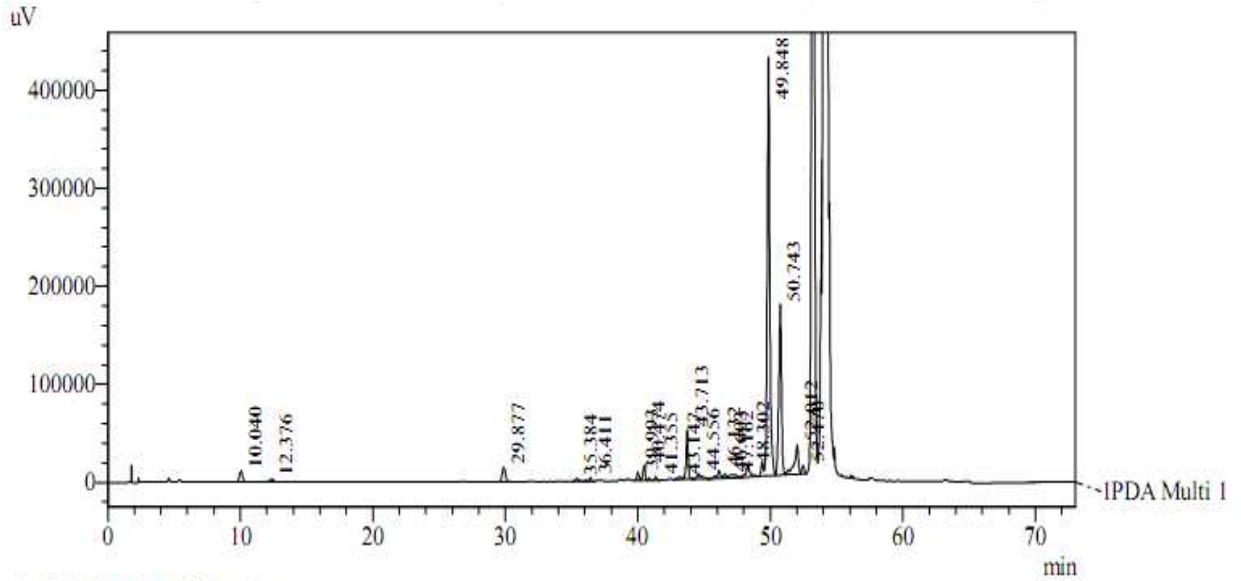


Figura 27: Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de *R. ferruginea*.

Na figura 28 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto de *S. pseudoquina* (**Spq**), e na figura 29 encontram-se os principais espectros no ultravioleta. É possível observar a presença de 2 substâncias de elevada polaridade, entre tempos de retenção (T_R) de 10 a 13 min (ácidos fenólicos), enquanto outro grupo de substâncias foi detectado em T_R de 29 a 50 min (flavonoides). Os espectros no UV condizentes para substâncias fenólicas, como ácidos fenólicos e flavonoides. No extrato bruto de *S. pseudoquina*, foram encontrados os marcadores de ácidos orgânicos, ácido clorogênico (T_R 10,04) e outros flavonoides, principalmente a quercetina (T_R 49,84).



1 PDA Multi 1 / 330nm 4nm

Figura 28: Perfil cromatográfico obtido por CLAE para o extrato bruto de *S.pseudoquina* (Spq).

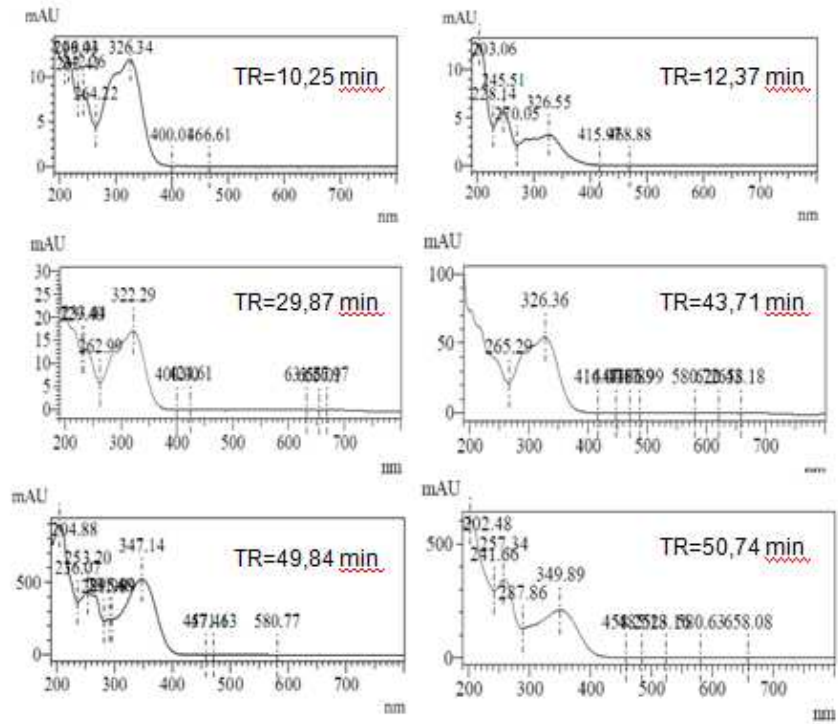


Figura 29: Espectros no ultravioleta (330 nm) dos principais picos obtidos por CLAE para o extrato bruto de *S. pseudoquina* (Spq).

4.2.6 Pesquisa de alcaloides por CCD

A CCD para alcaloides foi feita para os extratos brutos e frações enriquecidas em alcaloides de todas as plantas, exceto para a *B. trimera* que não evidenciou a presença de alcaloides na pesquisa por CCD.

As figuras descritas no anexo (8.1.2) mostram o perfil cromatográfico, em CCD, obtido para alcaloides nas frações purificadas das drogas vegetais. Observa-se que os padrões de referência quinidina e cinchonina e cinchonidina entre os Rf 0,50 a Rf 0,70 não foram encontrados em nenhuma amostra. Na espécie *R. ferruginea* foi encontrado uma substância com o mesmo Rf do padrão de quinino. As bandas de cor laranja são características de alcaloides após revelação com o reagente de Dragendorff.

4.2.6.1 Pesquisa de alcaloides por CLAE/MS/MS

A CLAE/MS/MS foi utilizada com a finalidade de confirmar a presença de alcaloides, detectados por CCD. As identificações foram feitas pela comparação dos resultados obtidos para padrões de referência químicos, principalmente por comparação com o banco de espectros de massas disponível no equipamento de compostos comerciais e isoladas, bem como a base de dados de espectros públicos do KnapSack (HORAI et al., 2010).

Os padrões utilizados foram o quinino, quinidina, cinchonina, cinchonidina e brucina. Adicionalmente, foram também usados os padrões de epicatequina e quercetina para confirmação. A figura 30 mostra o cromatograma obtido para os padrões de referência.

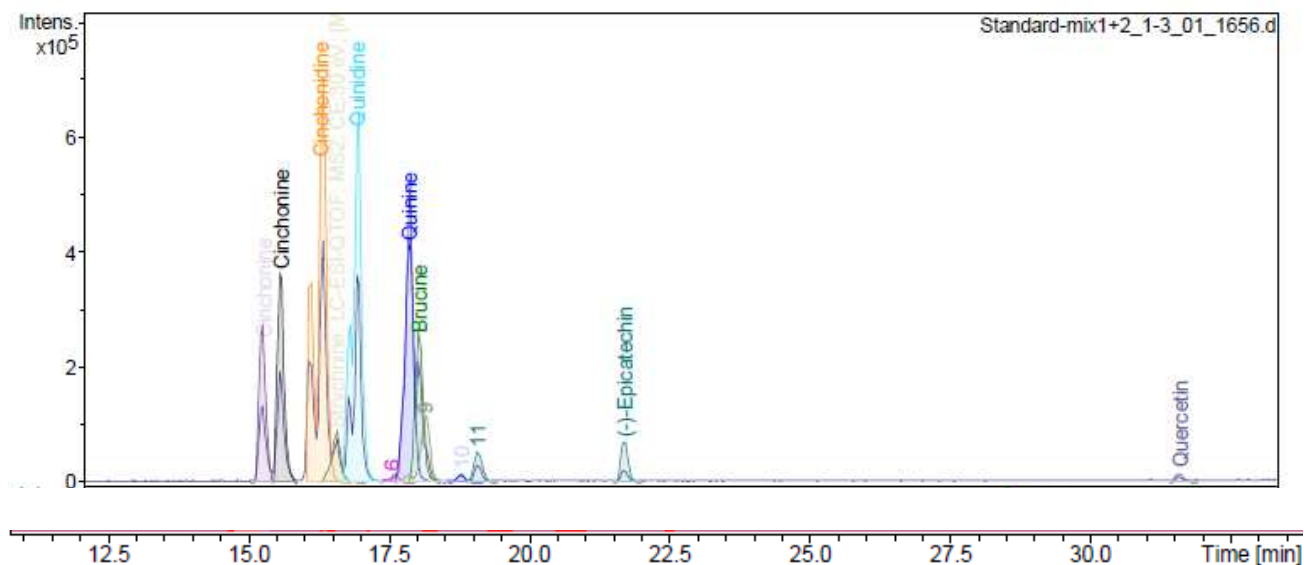


Figura 30: Perfil cromatográfico para padrões de alcaloides por LC/MS/MS.

A análise por LC/MS/MS foi feita para os extratos brutos e frações enriquecidas em alcaloides de todas as plantas, exceto para a *B. trimera*. Na figura 31 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto (**Ese**) e para a fração enriquecida de alcaloides de *E. febrifuga* (**FALCEse**). No cromatograma do Ese é possível observar a presença dos alcaloides quinidina, flindersiamina, delbina, skimmianina e imperatonina. O flavonoide hesperidina e a cumarina imperatonina foram também detectados.

Na fração enriquecida foram encontrados os mesmos alcaloides do **Ese**, além dos alcaloides já citados no Esse, foi identificado na fração outro alcaloide a tetrahidropapaverilina. A cumarina 8-metoxipsoraleno também foi observada nesta fração. Os alcaloides e flavonoides foram encontrados nos tempos de retenção (T_R) de 12,5 a 35 min e a lista das substâncias e os principais perfis de fragmentação encontram-se nos anexos 8.2.1 e 8.2.2.

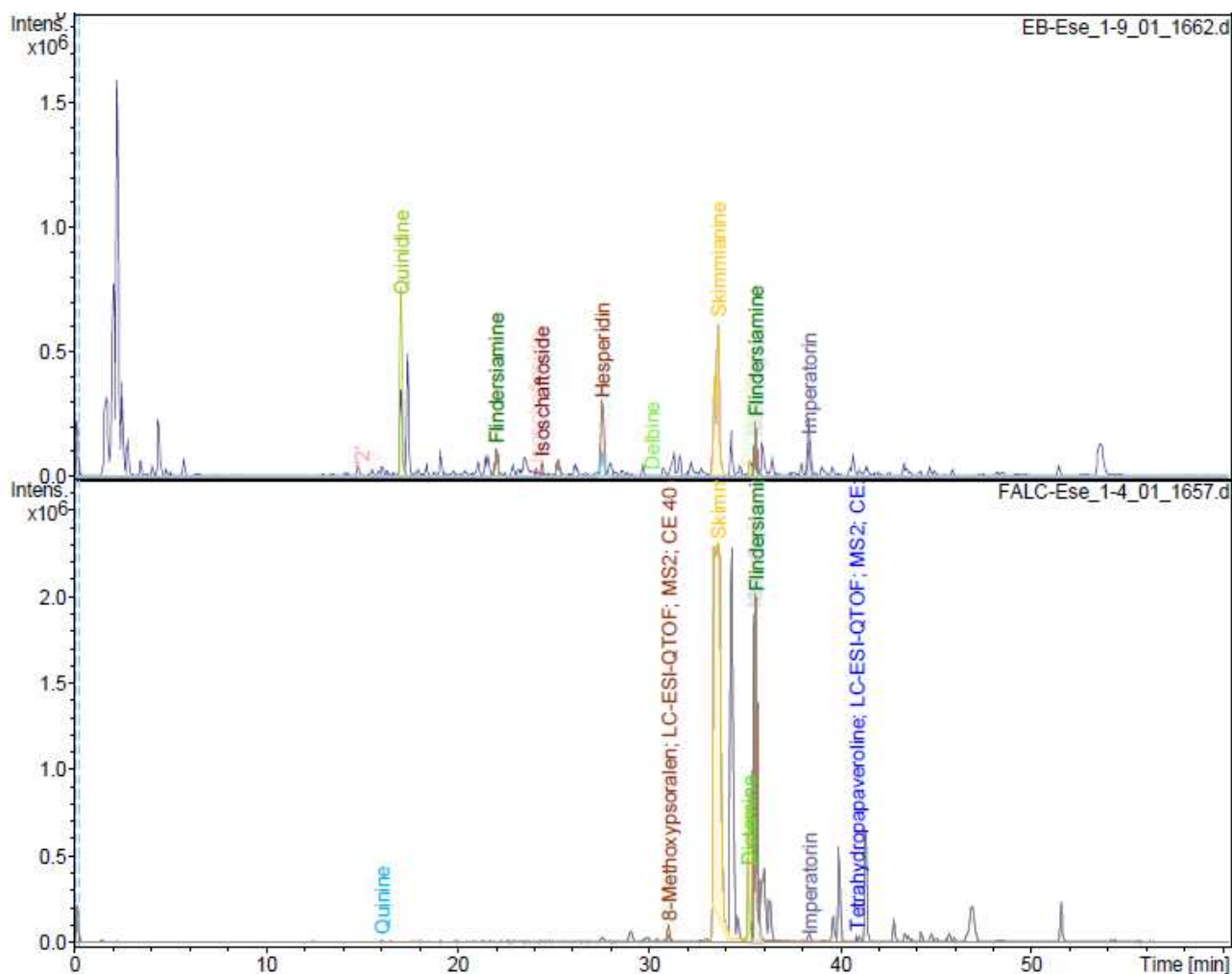


Figura 31: Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Esse) e fração enriquecida de alcaloides das cascas de *E. febrifuga* (FACESE) por LC/MS/MS.

Na figura 32 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto (**Hort**) e para a fração alcaloides de *H. brasiliiana* (**FALCHort**). No cromatograma do **Hort** foi possível detectar apenas a presença do alcaloide indólico rutacarpina e dos flavonoide poncirina e hesperidina. Na fração de alcaloides foi encontrado o mesmo alcaloide rutacarpina. O alcaloide e o flavonoide foram encontrados nos tempos de retenção (T_R) de 30 a 45 min e a lista das substâncias e os principais perfis de fragmentação encontram-se descritos nos anexos 8.2.3 e 8.2.4

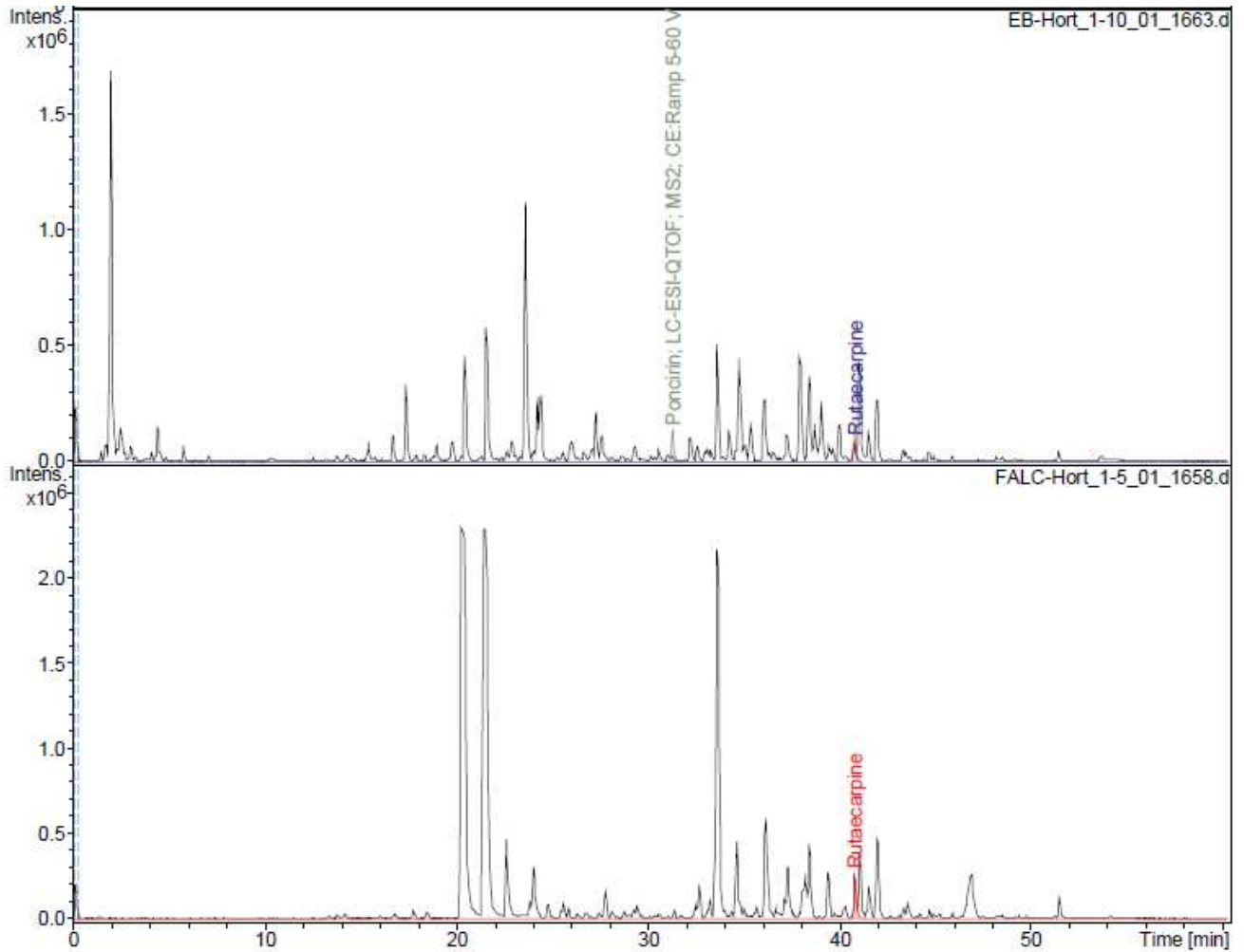


Figura 32: Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Hort) e fração enriquecida de alcaloides das cascas de *H.brasiliana* (FALHort) por LC/MS/MS.

Na figura 33 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto (**Poi**) e para a fração enriquecida de alcaloides de *P. hexasperma* (**FALCPoi**). Na fração foram identificados dois alcaloides, cinchonina e atropina. Os alcaloides foram detectados nos tempos de retenção (T_R) de 12 a 14 min, e a lista com os principais perfis de fragmentação encontra-se no anexo 8.2.5 e 8.2.6

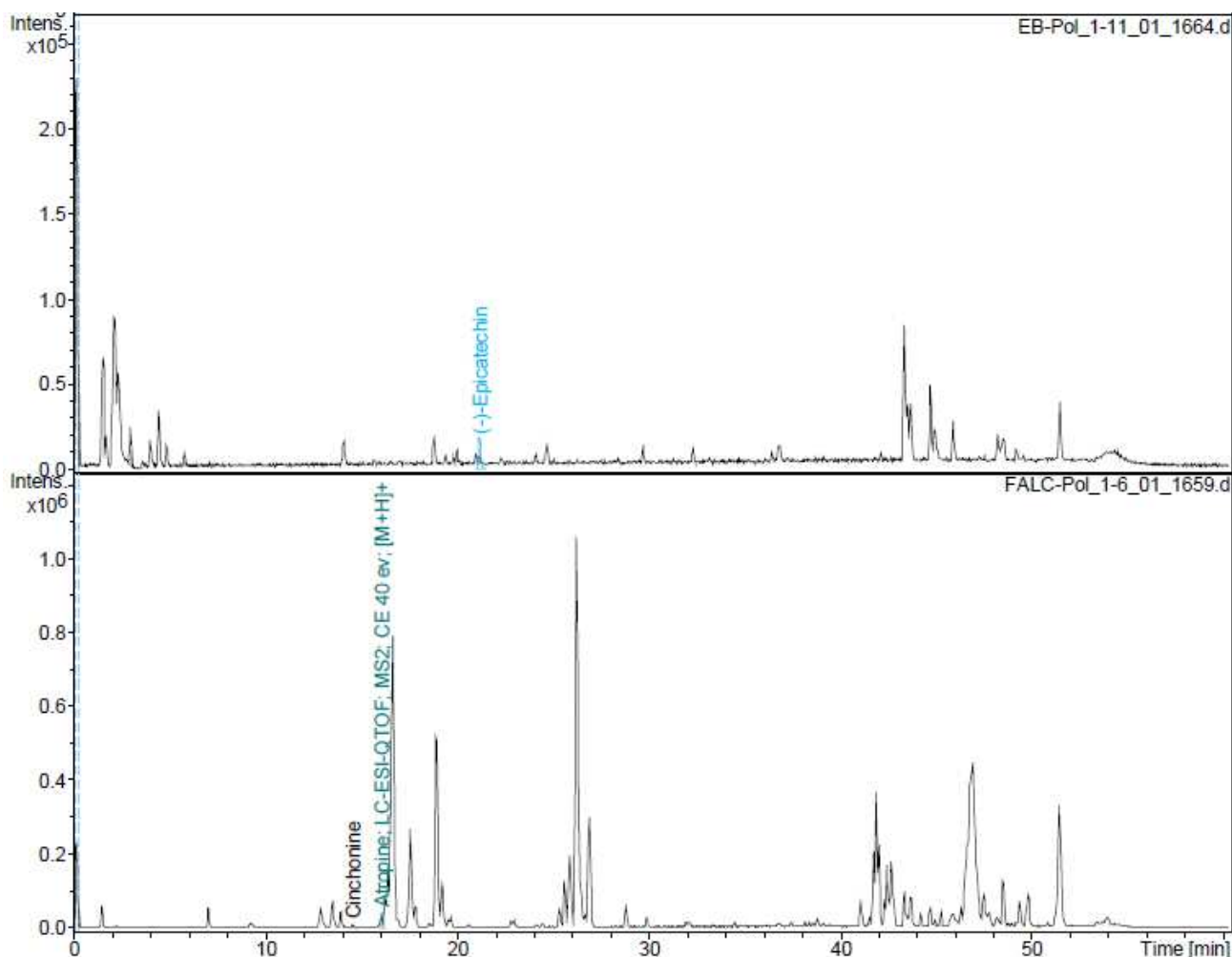


Figura 33: Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Pol) e fração enriquecida de alcaloides das cascas de *P. hexasperma* (FALCPol) por LC/MS/MS.

Na figura 34 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto (**Rm**) e para a fração enriquecida de alcaloides de *R. ferruginea* (**FALCRm**). Os alcaloides e fenólicos/polifenois foram encontrados nos tempos de retenção (T_R) de 12,5 a 35 min. No cromatograma do **Rm**, é possível observar a presença de vários alcaloides, entre elas a remijina, quinino e cinchonidina. Foram detectados também flavonoides/ polifenois como o ácido clorogênico, epicatequina, rutina, ajimalicina, kampferol-7-o-neohesperidina, isoramnetina-3-o-rutinosídeo e fisetina. Na fração enriquecida de alcaloides foram encontrados, além da quinino, remijina e cinchonidina, outras substâncias de estrutura semelhantes como a epiremijina,

ajmalicina e corinantina. A lista de substâncias detectadas e os principais perfis de fragmentação encontram-se no anexo 8.2.7 e 8.2.8

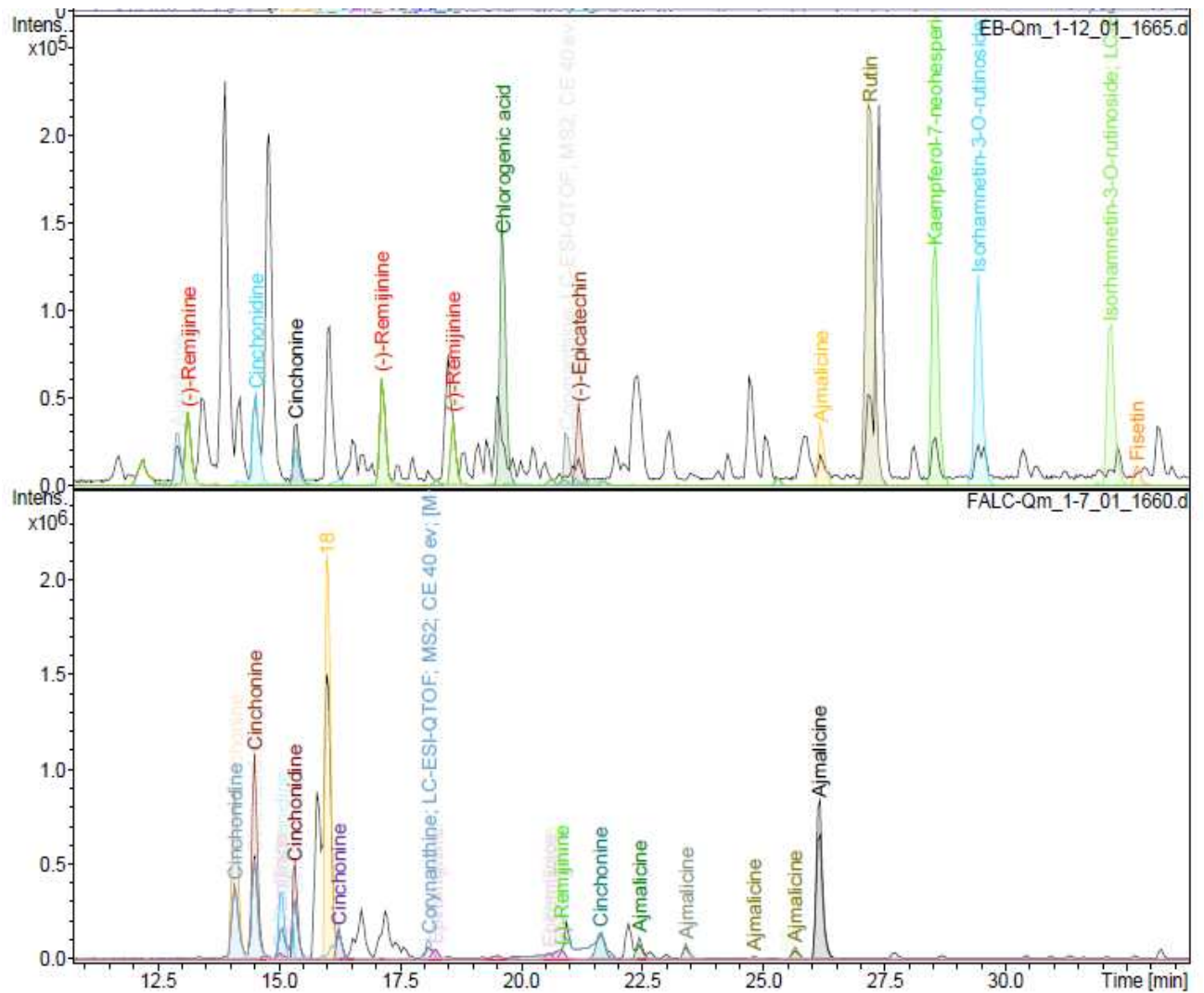


Figura 34: Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Rm) e fração enriquecida de alcaloides das cascas de *R. ferruginea* (FALCRm) por LC/MS/MS.

Na figura 35 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto (**Spq**) e para a fração enriquecida de alcaloides de *S. pseudoquina* (**FALCSpq**). Tanto no **Spq** quanto no **FALCSpq** foram identificados vários alcaloides, entre elas a diabolina, 11-Demetoximirtoidina, 11-Metoxidiabolina, brucina, estriquinina, amijalicina, estriquinobrasiline e 12-Hidroxi-11-metoxidiabolina. Além desses, foi identificado também a presença do flavonoides stricnobilavona e o iridoide loganina. Os alcaloides e flavonoides foram detectados nos tempos de retenção (T_R) de 12,5 a

35 min, e a lista com os principais perfis de fragmentação encontra-se no anexo 8.2.9 e 8.2.10.

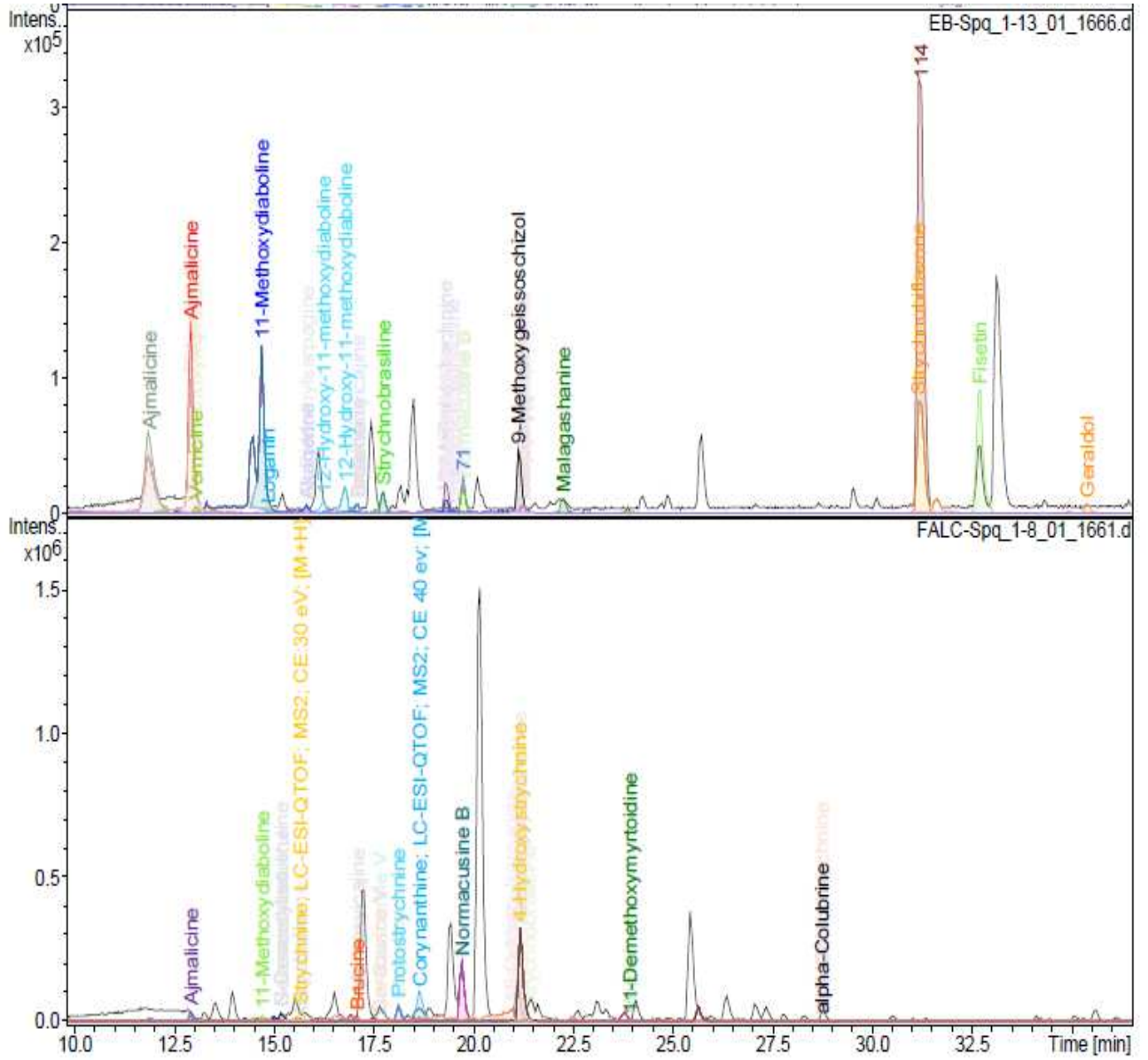


Figura 35: Perfil cromatográfico para alcaloides do extrato bruto (Spq) e fração enriquecida de alcaloides das cascas de *S. pseudoquina* (FALCSpq) por LC/MS/MS.

4.2.7 Pesquisa de polifenóis/ taninos por CCD

As figuras encontradas no anexo (8.1.3), mostram os perfis cromatográficos obtidos para taninos dos extratos brutos. Os padrões de referência para a catequina e epicatequina foram observados nos Rf 0,96 (amostras 4 e 8, respectivamente). As espécies *P. hexasperma* e *R. ferruginea* evidenciaram a presença de manchas que poderiam ser atribuídas a polifenóis/taninos. As bandas de cor rosa são características de taninos após revelação com anisaldeído sulfúrico.

4.2.7.1 Pesquisa de polifenóis/ taninos por CLAE/MS/MS

Na figura 36 encontra-se o cromatograma obtido para o extrato bruto *P. hexasperma* (**Pol**). No cromatograma, foi possível detectar a presença apenas da epicatequina. Na fração foram detectados cinchonina e atropina. A epicatequina foi encontrados nos tempos de retenção (T_R) de 21 minutos.

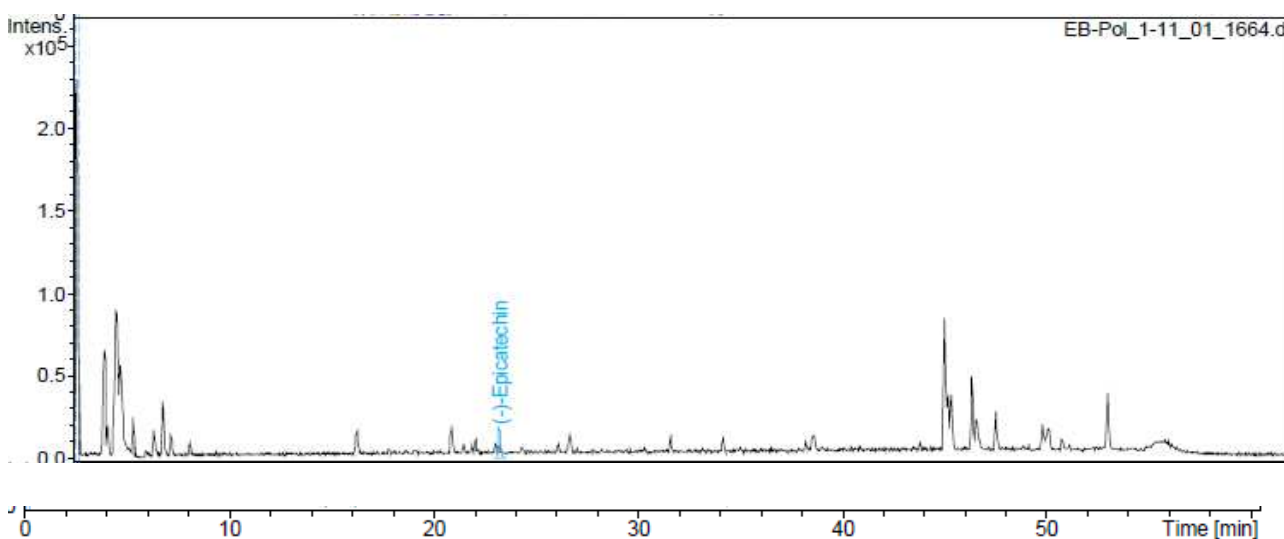


Figura 36: Perfil cromatográfico para Extrato bruto de cascas de *P. hexasperma* por LC/MS/MS.

4.2.8 Pesquisa de iridoides/ terpenoides por CCD

As figuras encontradas no anexo (8.1.4), mostram o perfil cromatográfico obtido para iridoides. Observa-se que nenhuma planta apresentou Rf e coloração ao padrão de referência gentilpicrosídeo, observado em Rf 0,75. Antes da realização desta análise, foi feita uma pesquisa de substâncias voláteis por CCD. Foi utilizado o padrão de referência mentol, mesmo conhecendo a ausência desta substância nas plantas. Foram detectadas substâncias do grupo do terpenoides em todos os extratos, sendo mais nítidas nas espécies *B. trimera* e *E. febrifuga*. As bandas de cor roxa, violeta e rosa estão relacionados à presença dessa classe de substâncias.

4.2.9 Pesquisa de óleos essenciais por CG/FID

A CG/FID foi realizada apenas para a espécie *B. trimera*. O perfil cromatográfico do óleo essencial obtido por hidrodestilação encontra-se na figura 37. Foram identificados mono e sesquiterpenos, entre eles, β -elemeno, α -humuleno, δ cadineno, δ calacoreno, germacreno-B e guaiol (tabela 23).

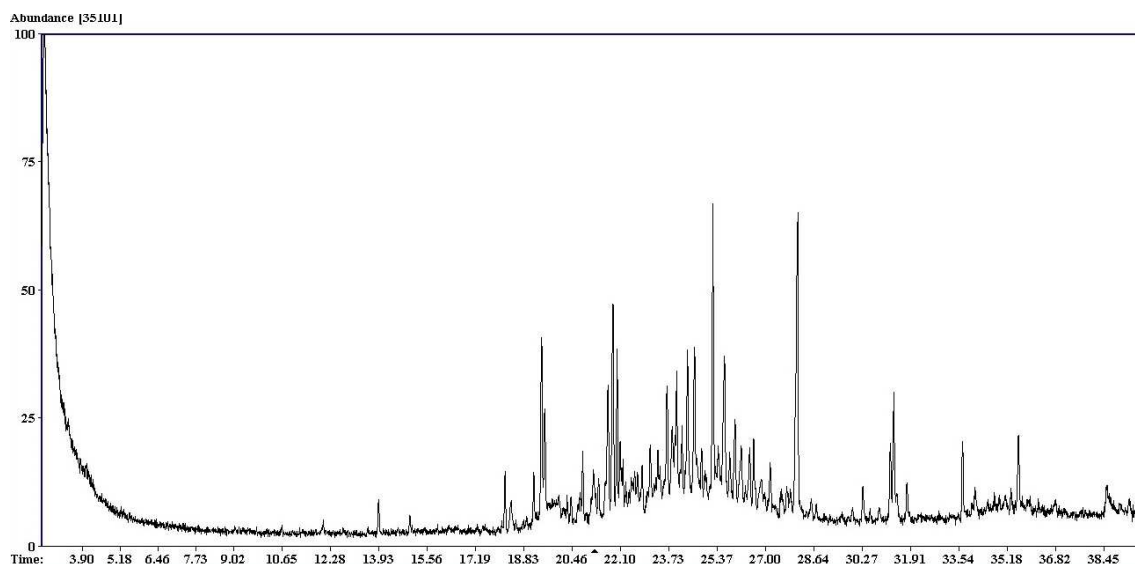


Figura 37: Perfil cromatográfico para o óleo essencial de caules alados de *B. trimera* por CG/FID.

Tabela 22. Compostos identificados no óleo essencial de caules alados de *B. trimera* por CG/FID.

COMPOSTOS	TEMPO DE RETENÇÃO	ÍNDICE DE KOV	ÍNDICE DE KOVATS LITERATURA*	ÓLEO ESSENCIAL
1	19,44	1394,6	1392	β –elemeno
2	21,85	1453,5	1454	α-humuleno
3	25,23	1537	1523	δ cadineno, δ calacoreno
4	25,97	1555	1558	germacreno B
5	28,09	1609	1604	guaiol

* índice de Kovats descrito por Silva et al., 2007; Agostini et al., 2005; Morais et al., 2011.

4.3 Quantificação das substâncias detectadas

4.3.1 Quantificação de flavonoides totais por espectrofotometria no visível

A quantificação de flavonoides totais, expressos em rutina, foi realizada por espectrofotometria no visível para todas as plantas. Foi realizado o método de complexação com cloreto de alumínio, seguido de leitura da absorbância em 420 nm. O teor de flavonoides totais foi calculado através curva de calibração obtida para a rutina ($Y=34,287x-0,0166$). O coeficiente de regressão encontrado foi de $R=0,999$. A tabela 23 mostra que as cascas de *S. pseudoquina* (5,030%) são as mais ricas em flavonoides, seguido da *B. trimera* (0,93%).

Tabela 23: Teor de flavonoides totais expressos em rutina nas drogas vegetais

Espécie	Parte	Sigla	Teor (%p/p) flavonoides totais expressos em Rutina
<i>B. trimera</i>	Caules alados	Carq	0,930
<i>E. febrifuga</i>	Cascas	Ese	0,040
<i>H. brasiliiana</i>	Cascas	Hort	0,023
<i>R. ferruginea</i>	Cascas	Rm	0,150
<i>S. pseudoquina</i>	Cascas	Spq	5,030
<i>P. hexasperma</i>	Cascas	Pol	0,018

4.3.2 Quantificação de flavonoides totais por CLAE/DAD

A análise foi feita para verificar o teor de quercetina detectado nas amostras de *B. trimera* e *S. pseudoquina* por CCD e CLAE/DAD. A quantificação foi feita especificamente para este flavonoide tendo em vista ele apresentar características amarga (DREWNOWSKI & GOMEZ-CARNEROS, 2000). A tabela 24 mostra o resultado de teor obtido para os extratos brutos em relação ao teor de quercetina.

Tabela 24: Resultado do teor de quercetina encontrados nos extratos brutos por CLAE

Espécie	Parte	Sigla	Teor (%p/p) de quercetina
<i>B. trimera</i>	Caules alados	Carq	0,23
<i>S. pseudoquina</i>	Cascas	Spq	1,06

4.4 Quantificação de polifenóis/ taninos por espectrofotometria no visível

A quantificação de polifenóis e taninos foi realizada por espectrofotometria no visível, por reação de complexação dos compostos com o reagente de Folin-Cicateau em meio básico, seguida de leitura a 760 nm. O padrão utilizado foi o ácido gálico com faixa de linearidade de 0,0005 a 0,003 mg/mL. O teor de polifenóis totais e taninos foi calculado através da curva de calibração obtida para o ácido gálico ($Y=133,2x+0,0365$). O coeficiente de regressão encontrado foi de $R=0,998$. A tabela 25 mostra que todas as drogas vegetais possuem quantidades variadas de polifenóis e taninos. As cascas da espécie *P. hexasperma* apresentou o maior teor de polifenóis/ taninos, seguido da *S. pseudoquina*.

Tabela 25: Resultado de teor de polifenóis e taninos nas drogas vegetais

Espécie	Parte	Sigla	Teor (%p/p) polifenóis totais	Teor (%p/p) taninos
<i>B. trimera</i>	Caules alados	Carq	1,83	0,29
<i>E. febrifuga</i>	Cascas	Ese	0,78	0,03
<i>H. brasiliiana</i>	Cascas	Hort	0,71	0,06
<i>P. hexasperma</i>	Cascas	Pol	7,44	6,70
<i>R. ferruginea</i>	Cascas	Rm	1,87	0,71
<i>S. pseudoquina</i>	Cascas	Spq	3,10	1,40

4.5 Quantificação de alcaloides por espectrofotometria no visível

A quantificação de alcaloides totais, expressos em quinino, foi realizada por espectrofotometria no visível, por reação de complexação com reagente de Dragendorff e seguida por uma série de oxidação. A análise foi realizada em 435 nm. Somente espécies positivas em CCD para alcaloides, foram analisadas por este método. O teor de alcaloides totais foi calculado através da curva de calibração obtida para o cloridrato de quinino ($Y = 133,2x + 0,0365$). O coeficiente de regressão encontrado foi de $R = 0,995$. A tabela 26 mostra os resultados de teor de alcaloides determinados nas drogas vegetais. As espécies *S. pseudoquina* e *H. brasiliiana* apresentam teor mais elevado de alcaloides totais (Tabela 26).

Tabela 26: Resultado de teor de alcaloides totais expressos em quinino nas drogas vegetais

Espécie	Parte	Sigla	Teor (%p/p) alcaloides totais expressos em quinino
<i>E. febrifuga</i>	Cascas	Ese	0,0057
<i>H. brasiliiana</i>	Cascas	Hort	0,0210
<i>R. ferruginea</i>	Cascas	Rm	0,0103
<i>S. pseudoquina</i>	Cascas	Spq	0,0427

4.6 Quantificação de substâncias voláteis por hidrodestilação

O ensaio foi realizado apenas com os caules alados de *B. trimera*, tendo em vista que essas substâncias foram detectadas por CCD e CG/FID nesta espécie. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 27. A amostra apresentou teor de óleo essencial médio de $0,5988\% \pm 0,001$ e DPR $0,101\%$. O teor mínimo de óleos essenciais para caules alados de *B. trimera* é de no mínimo de $0,3\%$ (F.Bras.4ª Ed.).

Tabela 27. Doseamento de óleos essenciais obtidos por hidrodestilação dos caules alados de *B. trimera*

Amostra (g)	Volume xilol (mL)	Volume de óleo essencial (mL)	Teor Óleo essencial (%)	Média ± s	DPR (%)
25,05g	0,5	0,15	0,5988		
25,07g	0,5	0,15	0,5983	0,5988 ± 0,00	0,101
25,03g	0,5	0,15	0,5992		

4.7 Ensaios biológicos

4.7.1 Avaliação do potencial citotóxico de *B. trimera*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*

O ensaio de citotoxicidade foi realizado utilizando células renais (BGM) isoladas, seguido de quantificação utilizando o reagente MTT. As espécies *R. ferruginea* e *S. pseudoquina* apresentaram DL_{50} superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$ e uma porcentagem de viabilidade durante o ensaio de próximo 100% (figura 37 A e B). Já a espécie *B. trimera* apresentou a DL_{50} muito elevada com a dose de 4,92 $\mu\text{g/mL}$, mostrando uma baixa viabilidade durante o ensaio e considerando assim um extrato potencialmente citotóxico (figura 37 C).

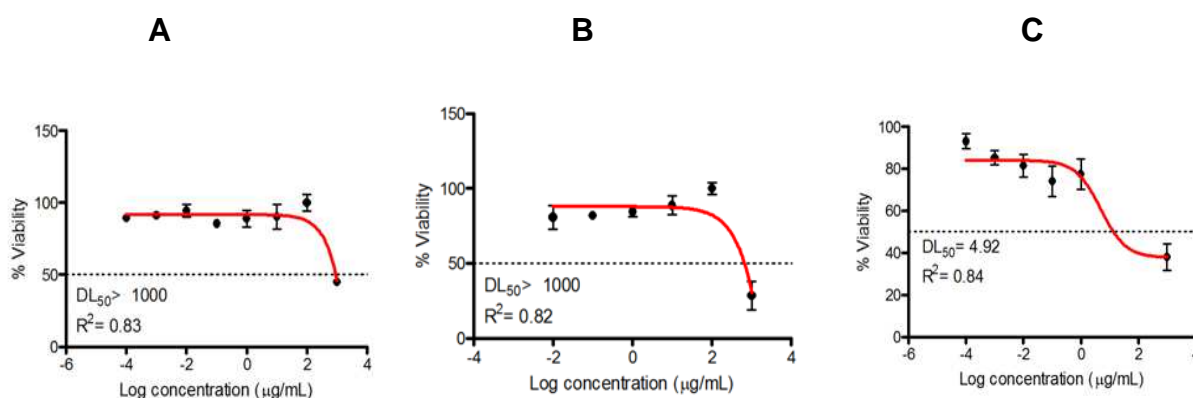


Figura 37: Curva dose resposta de citotoxicidade dos extratos brutos de *S. pseudoquina* (Figura A), *R. ferruginea* (Figura B) e *B. trimera* (Figura C) em células renais (BGM) isoladas de mamíferos.

4.7.2 Avaliação do potencial antihiperlipidêmico e antihiperlipidêmico de três espécies de quinas em camundongos tratados com dieta rica em carboidratos (HC)

4.7.2.1 Ingestão alimentar, ganho de peso corporal

O consumo de ração entre os animais alimentados com dieta HC, Carq I-III, Spq I-III e Rm I-III foi superior ao consumo de animais alimentados com dieta controle (Figura 38). Em relação ao peso corporal (Figura 39), observa-se que os animais alimentados com dieta C apresentaram peso corporal similar aos animais alimentados com dieta HC, com e sem suplementação dos extratos durante ao experimento.

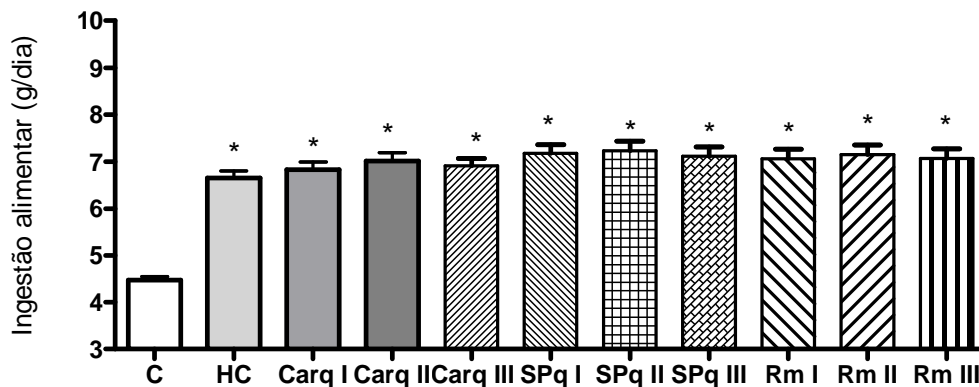


Figura 38: Ingestão alimentar média de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm). As barras representam as médias \pm desvio padrão, n=8. *p<0,001 vs C

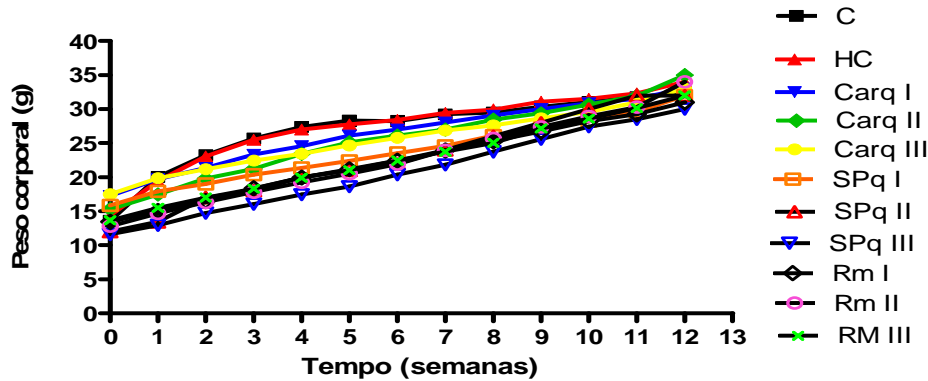


Figura 39: Peso corporal de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm).

4.7.2.2 Parâmetros bioquímicos

Observou-se que os grupos que receberam dieta HC apresentaram um aumento nas concentrações plasmáticas de colesterol total e glicose em relação ao grupo C. Os grupos de animais que receberam dieta HC suplementada com extrato bruto de Carq e Spq 50, 100 e 200 mg/kg e Rm 200mg/kg apresentaram uma redução bastante significativa nos níveis de colesterol e glicose em relação ao grupo HC, com resultados próximos ao grupo controle (Figura 40 e 41).

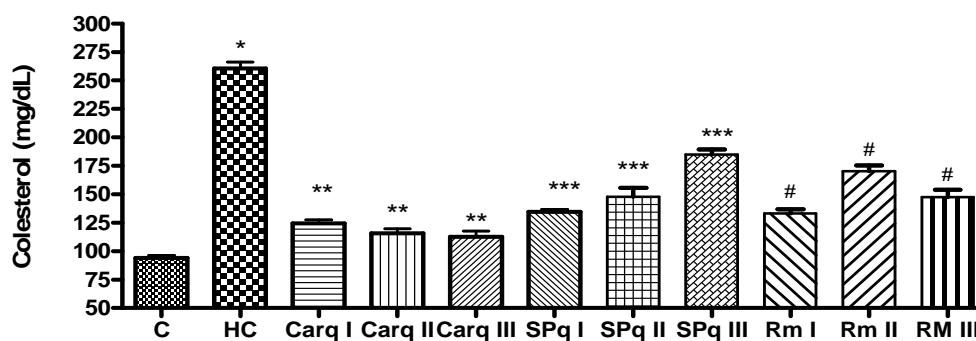


Figura 40: Colesterol total de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm). As barras representam as médias \pm desvio padrão, n=8. **, *** p<0,001 vs HC e # p<0,05 vs HC.

O grupo que recebeu dieta HC apresentou um aumento ($p < 0,05$) nas concentrações plasmáticas de triglicérides em relação ao grupo C. Os grupos de animais que receberam dieta HC suplementada com extrato bruto de Carq e Spq 50, 100 e 200 mg/kg e Rm 200mg/kg apresentaram uma redução significativa nos níveis de triglicérides (Figura 42).

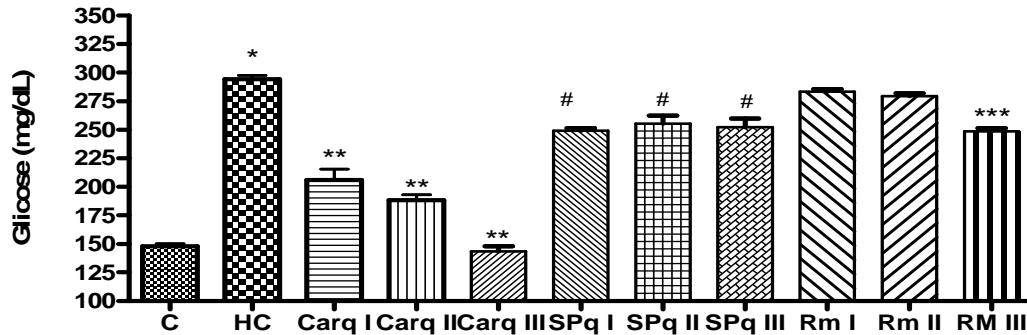


Figura 41: Glicose de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal /dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm). As barras representam as médias \pm desvio padrão, $n=8$. . **, # $p < 0,001$ vs HC e *** $p < 0,05$ vs HC.

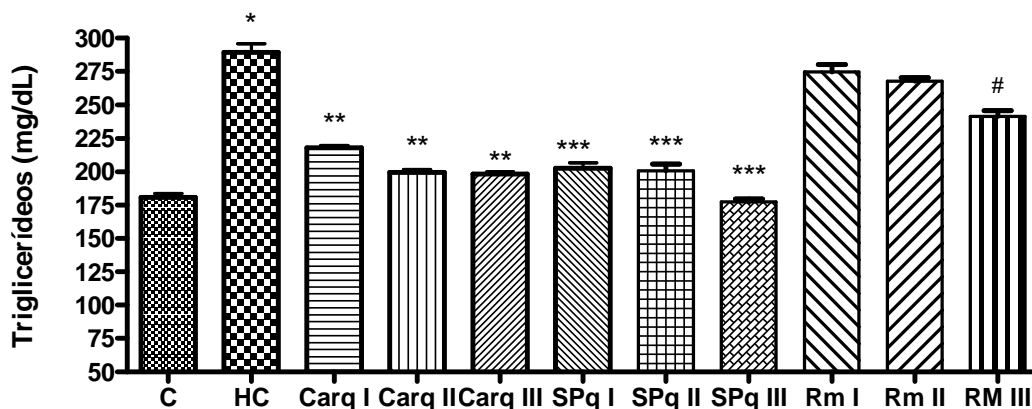


Figura 42: Triglicerídeos de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal /dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm). As barras representam as médias \pm desvio padrão, $n=8$. . **, *** $p < 0,001$ vs HC e # $p < 0,05$ vs HC.

4.7.2.3 Análise morfológica dos adipócitos e índice de adiposidade do tecido adiposo epididimal

Conforme pode ser observado na figura 43, animais alimentados com dieta HC apresentaram maior índice de adiposidade quando comparados aos animais que consumiram dieta C. Os grupos de animais que receberam dieta HC suplementada com extrato bruto de 50, 100 e 200 mg/kg de Carq; 50 e 200 mg/kg de Spq e 50, 100 e 200 mg/kg de Rm apresentaram índice de adiposidade próximo ao grupo controle e significativamente menor que o grupo HC.

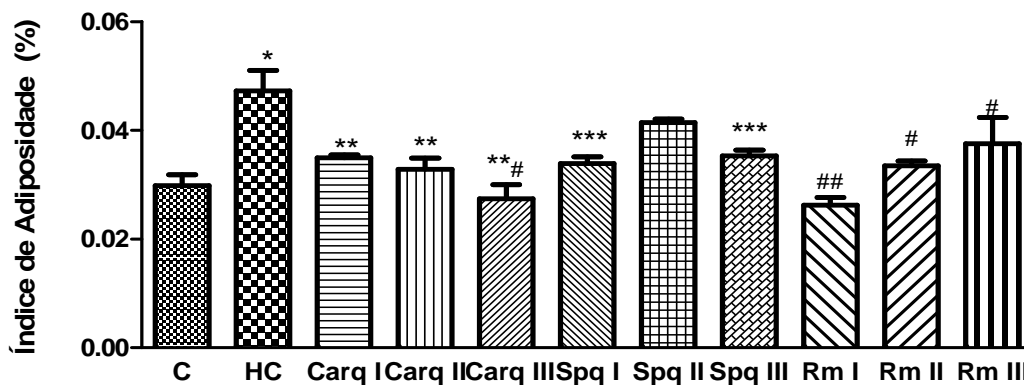


Figura 43: Índice de adiposidade de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm). As barras representam as médias \pm desvio padrão, n=8. **, ***, # p<0,05 vs HC; **#, ## p<0,001 vs HC e C vs HC* p<0,001

A análise histológica do tecido adiposo epididimal mostrou que os animais alimentados com dieta HC apresentaram aumento da área dos adipócitos quando comparados ao grupo C (Figura 44). Os grupos de animais que receberam dieta HC suplementada com extrato bruto de 50, 100 e 200 mg/kg de EB Carq 50, 100 e 200 mg/kg de EB Spq e 50, 100 e 200 mg/kg de EBRm apresentaram área de adipócitos próximo ao grupo controle e significativamente menor que o grupo HC (Figura 45).

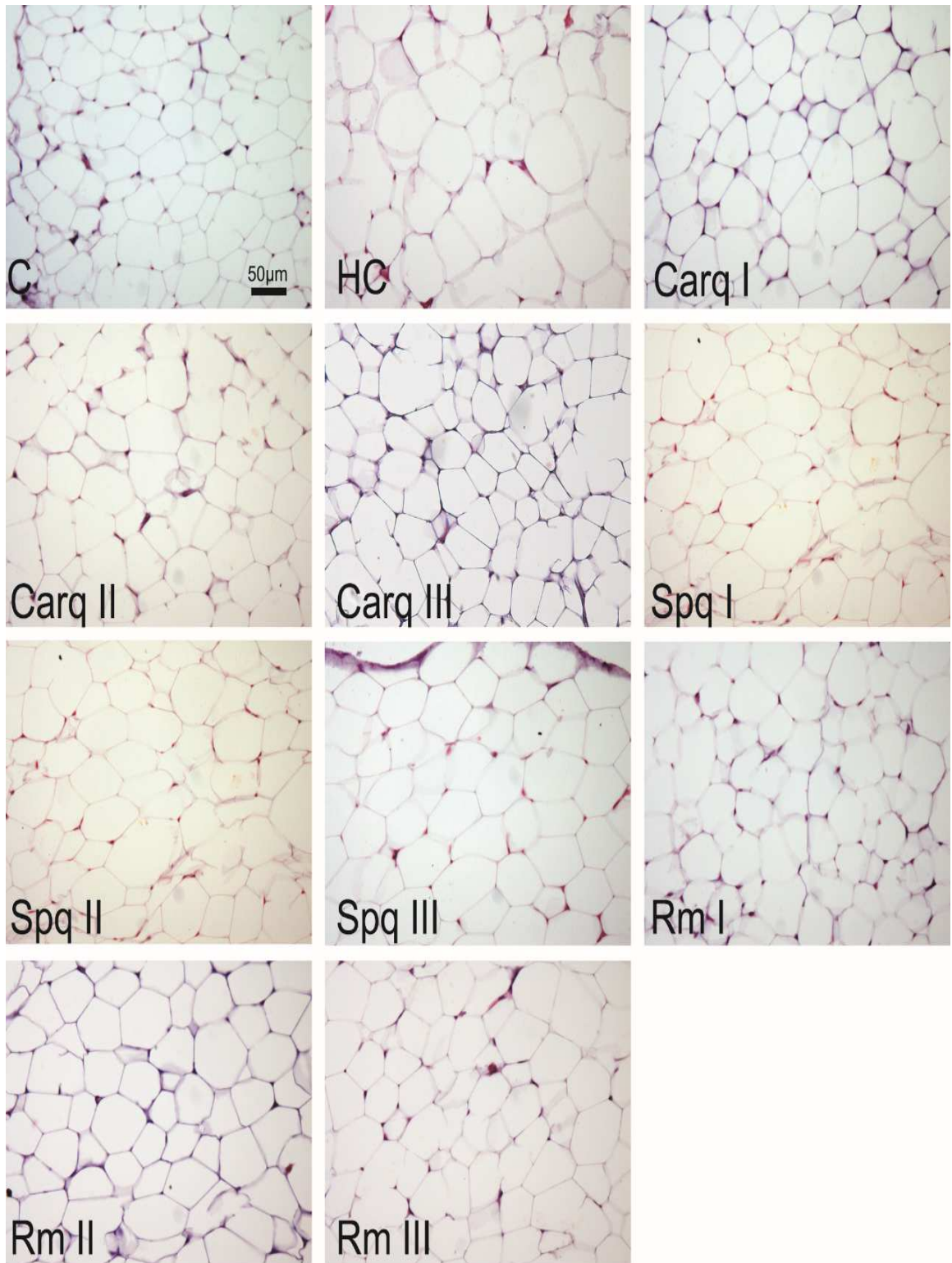


Figura 44: Cortes histológicos de tecido adiposo epididimal de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm).

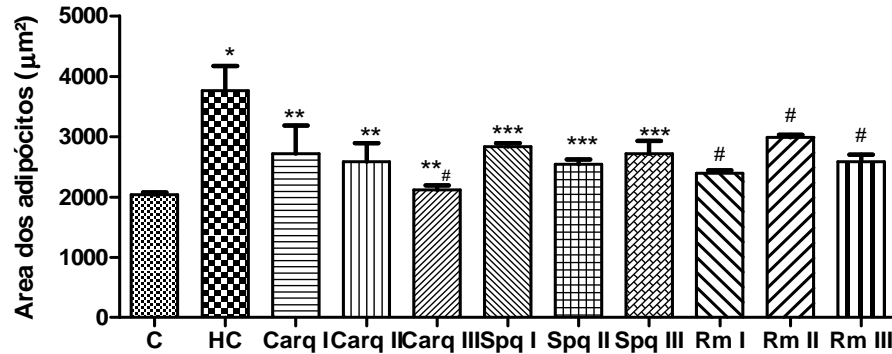


Figura 45: Áreas dos adipócitos de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (Carq), *S. pseudoquina* (Spq) e *R. ferruginea* (Rm). As barras representam as médias \pm desvio padrão, n=8. **,***, # p<0,05 vs HC; **#, p<0,002 vs HC e C vs HC* p<0,002

4.7.2.4 Análise do peso e morfologia do fígado

Os resultados demonstram que não houve aumento do peso do fígado e dos rins em nenhum dos tratamentos com a dieta adicionado com extratos brutos. (Figura 46 A e B). O estudo morfológico também não constatou alterações microscópicas significativas no fígado dos animais tratados com os extratos (resultado não demonstrado).

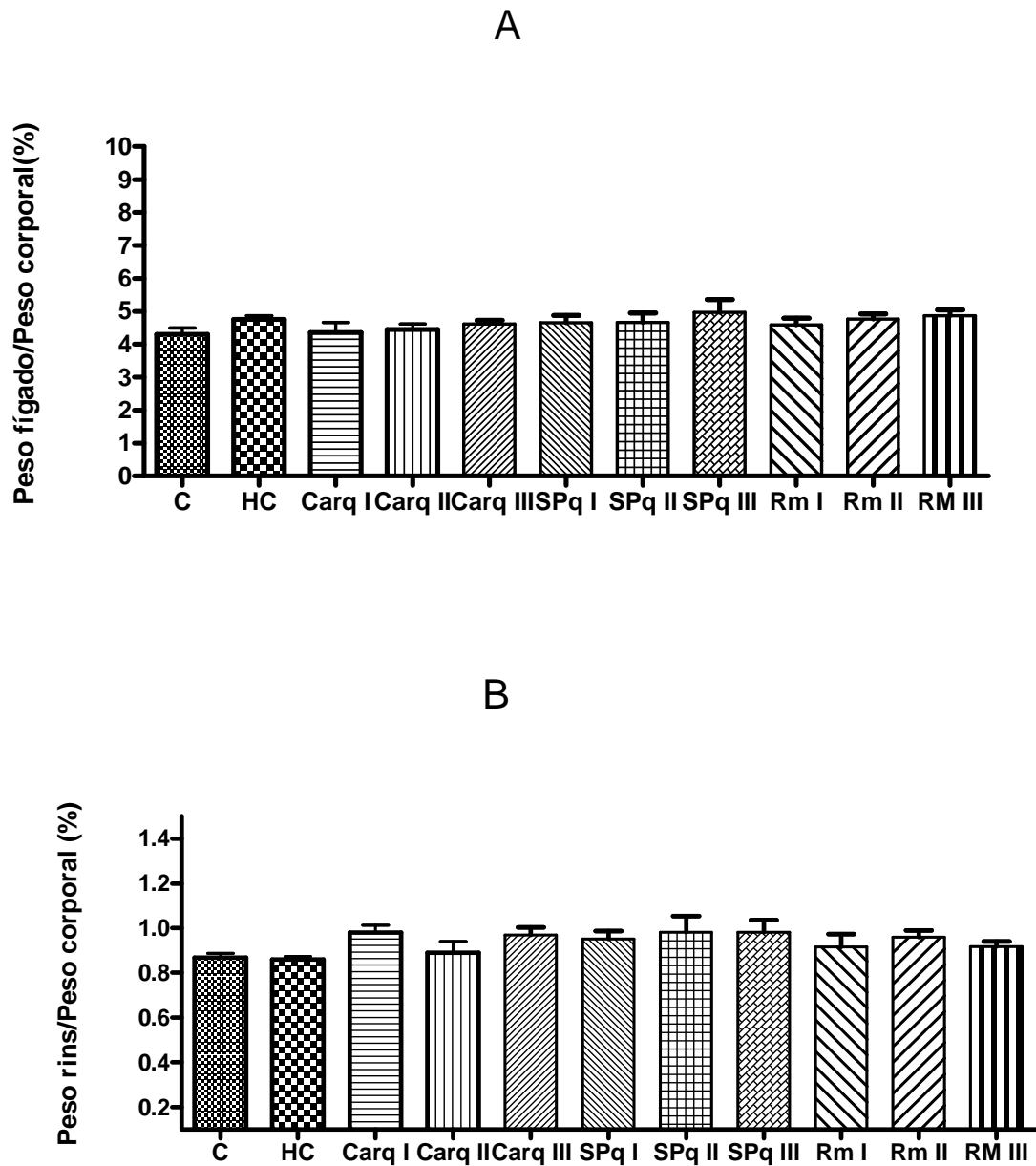


Figura 46 – Peso do fígado e rins de animais controle (C), alimentados com dieta rica em carboidratos (HC), alimentados com dieta HC suplementada com 50, 100 e 200 mg/kg de peso corporal/dia de extrato bruto de *B. trimera* (EB Carq), *S. pseudoquina* (EBSpq) e *R. ferruginea* (EBRm). **(A)** Peso do fígado durante o experimento. **(B)** Peso do rins direito durante o experimento. As barras representam as médias \pm desvio padrão, n=8.

Tabela 28: Resumo do perfil fitoquímico e ensaios biológicos

ENSAIOS	<i>B. trimera</i>	<i>E. febrifuga</i>	<i>H. brasiliana</i>	<i>P. hexasperma</i>	<i>R. ferruginea</i>	<i>S. pseudoquina</i>
Índice de amargor	41.250	38.333	17.533	27.666	20.600	46.250
Flavonoides/ ácidos fenólicos	Ácido clorogênico, quercetina (0,23%) Flav. Totais (0,93%)	Hesperidina Flav. Totais (0,040%)	Poncirina hesperidina Flav. Totais (0,023%)	Epicatequina Flav. Totais (0,018%)	Ácido clorogênico, , epicatequina, fisetina, kampferol-7-O- neohesperidosídeo, isoramnetina-3-O- rutinosídeo e rutina. Flav. Totais (0,93%)	Ácido clorogênico, fisetina, 3- metilquercetina (1,06%) e stricnobilflavona. Flav. Totais (5,03%)
Polifenóis/ taninos	1,83% Pol. Total 0,29% de taninos	0,78% Pol. Total 0,03% de taninos	0,71% Pol. Total 0,06% de taninos	7,44% Pol. Total 6,70% de taninos	1,87% Pol. Total 0,71% de taninos	3,10% Pol. Total 1,40% de taninos
Alcaloides	-	Delbina, flindersiamina e skimmianina. Alcaloides totais (0,0057%)	Rutacarpina Alcaloides totais (0,021%)	Atropina e cinchonina	Ajimalicina, cinchonidina, corinantina, epiremijina e remijina, quinino. Alcaloides totais (0,01%)	Amijalicina, estriquinina, brucina, diabolina, estriquinobrasilina, 11- Demetoximirtoidina, 11- Metoxidiabolina e Alcaloides totais (0,042%)
Óleos essenciais	δ cadineno, β–elemeno, δcalacoreno, germacren o-B, guaiol e α- humuleno	-	-	-	-	-

Glicose	Carq 50 (32%), 100 (38%) e 200mg/kg (51%)	-	-	-	Rm 200 mg/kg (18%)	Spq 50 (17%), 100 (15%) e 200 mg/kg (14%)
Colesterol	Carq 50 (52%), 100 (54%) e 200mg/kg (57%)	-	-	-	Rm 50 (47%) , 100 (35%) e 200 mg/kg (42%)	Spq 50 (49%), 100 (44%) e 200 mg/kg (30%)
Triglicerídeos	Carq 50 (24%), 100 (32%) e 200mg/kg (31%)	-	-	-	Rm 200 mg/kg (17%)	Spq 50 (29%), 100 (28%) e 200mg/kg (29%)
Índice de adiposidade	Carq 50 (27%), 100 (32%) e 200mg/kg (33%)	-	-	-	Rm 50 (44%), 100 (30%) e 200mg/kg (23%)	Spq 50 (22%) e 200mg/kg (23%)
Área dos adipócitos	Carq 50 (27%), 100 (33%) e 200 mg/kg (43%)	-	-	-	Rm 50 (36%), 100 (20%) e 200 mg/kg (34%)	Spq 50 (44%), 100 (38%) e 200 mg/kg (42%)
Citotoxicidade	Citotóxica	-	-	-	Não é citotóxica	Não é citotóxica

5 DISCUSSÃO

A relação entre as plantas amargas usadas como tônico, e as espécies chamadas quina, vem do uso dessas plantas para fortalecer pacientes com malária, conforme relatado por SIGAUD (2009), um médico francês que viveu no Rio de Janeiro no século XIX. De fato, quina é o nome tradicional atribuído a espécies de *Cinchona* (Rubiaceae) especialmente a *Cinchona succirubra* Pav. ex Klotzsch e *C. calisaya* Wedd, cujas cascas fornecem o alcaloide quinino. Em 1812, o Português Bernardino A. Gomes purificou o alcaloide cinchonina, e em 1820, o quinino foi isolado pela primeira vez pelos franceses Pelletier e Caventou (CLAUS & TYLER, 1965; SOLDÁN, 1941).

O primeiro passo para se conhecer as quinas amargas brasileiras foi fazer um levantamento na bibliografia histórica. Os estudos iniciaram-se a partir de minuciosa revisão em livros, manuscritos e diários de viagens de naturalistas, médicos e farmacêuticos, brasileiros e Europeus, que descreveram a flora brasileira nos séculos XVIII e XIX. Esses levantamentos levaram à identificação de 29 espécies de plantas amargas, todas nomeadas sob o nome popular de quina (COSENZA et al., 2013). Estas plantas eram usadas, prioritariamente, no tratamento de febres intermitentes ou da malária.

A cura da malária se originou a partir do conhecimento indígena sobre os efeitos dessas plantas nas febres, conhecimento esse copiado pelos espanhóis, ainda no século XVII. Até meados dos anos 1800, o pó preparado a partir de casca das *Cinchona* (pó dos jesuítas) foi o remédio mais importante para o tratamento da doença, e os espanhóis mantinham o monopólio sobre o seu comércio. Os portugueses passaram então a promover o cultivo das *Cinchona* em suas colônias. A busca de espécies substitutas da planta na vegetação nativa do Brasil também foi incentivada. Em 1723, por exemplo, um prêmio foi oferecido para aqueles que descobrissem uma quina semelhante às cascas peruanas (PECKOLT, 1916). Como consequência de todas essas medidas, várias espécies amargas pertencentes à biodiversidade brasileira foram descobertas, também receberam o nome de quina e

foram usadas como tônico e febrífugo (DEAN, 1996; WASICK, 1944; CUNHA, 1937; FARIA, 1935).

Os naturalistas percorreram grandes extensões do interior do Brasil, coletando informações sobre plantas, animais, geologia, entre outros aspectos relacionados à história natural. Naquela época, a febre intermitente, sintoma típico da malária, já era uma das doenças mais temidas em grande parte do território brasileiro, tendo sido introduzida pelos Europeus no início da colonização. Entre as espécies de quininas amargas, algumas foram avaliadas recentemente quanto ao seu potencial plasmodicida e antimalárico, e forneceram resultado positivo (CARVALHO et al., 1991; MUÑOZ et al., 2000; OKUNADE et al., 2001; ANDRADE-NETO et al., 2003; VIGNERON et al., 2005; DOLABELA et al., 2008; MBEUNKUI et al., 2012). Por outro lado, entre essas espécies, apenas a *Baccharis genisteloides* var *trimera*, *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. e *Bathysa cuspidata* (A.St.-Hil.) Hook. f. ex K. Schum foram avaliadas quanto ao seu potencial tônico no tratamento das desordens digestivas, e apresentaram resultados promissores (SOICKE & LENG-PESCHLOW, 1987; SILVA et al., 2005; BONAMIM et al., 2011; BIONDO et al., 2011; GONÇALVES et al., 2012). Isto mostra que, também entre essas plantas amargas e tônicas, existe uma carência de conhecimento científico-tecnológico, representando assim todo um potencial a ser avaliado nesta área. Estudar essas plantas é importante também porque as espécies nativas, usadas no passado, geralmente estão sujeitas à extinção, por estarem localizadas em áreas de intenso impacto antrópico.

Em uma segunda parte dos levantamentos bibliográficos, foram levantadas informações sobre as quininas, em bibliografia clássica da literatura etnomédica brasileira, publicada no século 20 (Tabela 15). Foram obtidas informações sobre 48 espécies nesta bibliografia. É interessante observar que, entre elas, apenas seis são indicadas, unicamente, para o tratamento de febres/malária (*Geissospermum sericerum*, *Berberis laurina*, *Strychnos gardneri*, *Ogcodia amara*, *Margaritaria nobilis* e *Chiococca alba*). Outras 18 plantas (37,5%) presentes nesta bibliografia, também constam das referências dos séculos XVIII e XIX (Tabela 14). Por outro lado, 13 plantas indicadas no século XXI são indicadas para tratar algum distúrbio digestivo, associado ao efeito febrífugo/ antimalárico. É interessante observar que, para outras

quatro espécies, apenas o efeito tônico/ digestivo é citado. Esses resultados mostram que houve uma modificação no uso tradicional das plantas denominadas quina ao longo do tempo. Nos séculos XVIII e XIX, essas plantas eram usadas, prioritariamente nos pacientes com malária, seguindo o uso semelhante das Cinchona. No entanto, no século seguinte, várias quinas já eram indicadas exclusivamente como tônicas e digestivas, várias com indicação específica para isto. Este fato pode ser uma consequência do controle da malária, atingido em meados o século XX, bem como da ampliação do uso de medicamentos sintéticos no tratamento das febres, como a aspirina. Com isto, a ação tônica das quinas amargas, para o tratamento dos distúrbios digestivos, passou ter maior relevância na medicina tradicional.

Com o objetivo de conhecer o uso atual das quinas amargas, e dar sequência aos nossos estudos, foi feito um levantamento em 190 publicações sobre estudos etnobotânicos, publicados em periódicos nacionais e estrangeiros a partir do ano 2000. Apesar do grande número de trabalhos, e de terem sido realizados em todas as regiões do Brasil, apenas 35 referências (18,40%) descreveram o uso de alguma quina brasileira (Tabela 16). Entre elas, somente a *Bathysa australis* (Rubiaceae), *Drimys brasiliensis* (Winteraceae) e *S. pseudoquina* (Loganiaceae) foram indicadas, especificamente, para tratar problemas digestivos. Curiosamente, as indicações tradicionais de todas as demais quinas citadas nesses levantamentos não têm qualquer relação com o uso original das espécies amargas, que era como febrífugo, tônico e digestivo. Foram relatados, por exemplo, usos de quinas para tratar resfriados, dores, problemas de ovário e útero, como vermífugo, entre outros usos (GARLET et al. 2001, PASA, 2011; FENNER et al. 2006; AGRA et al. 2008). Os resultados deste estudo bibliográfico mostram que o conhecimento das espécies de quinas amargas, usadas na medicina tradicional, vem se perdendo ao longo do tempo. Este resultado confirma a nossa hipótese que um intenso processo de erosão cultural grave, relacionado ao conhecimento tradicional sobre as plantas e alimentos nativos do Brasil, está em curso (OLIVEIRA et al., 2013). No caso nas quinas amargas, somente as cascas da *S. pseudoquina*, *Bathysa australis* e *Coutarea hexandra*, por exemplo, mantiveram seu uso tradicional como tônico/ digestivo ao longo dos últimos três séculos, esta situação confirma a necessidade

urgente de recuperar informações sobre as plantas e alimentos nativos usados no passado e avaliar o seu potencial.

Seis espécies de quinas, cujos usos foram descritos nos séculos XVIII e XIX, foram submetidas ao teste de amargor. As plantas que apresentaram o maior índice de amargor foram a *S. pseudoquina* (46.250) e a *B. trimera* (41.2500), seguido de *E. febrifuga*, *P. hexasperma*, *R. ferruginea* e *H. brasiliana*. Essas plantas são tradicionalmente conhecidas por serem tônicos amargos e este resultado, mesmo que preliminar, confirma o nome tradicional como quina amarga. O valor do índice de amargor das seis espécies é comparável ao de outras plantas amargas conhecidas, como a *Artemisia afra* (7.200 – 84.000) e *Artemisia absintium* (10.000-25.000) usada na preparação do vermute (WAGNER & WIESENAUER, 1995; Farm. Europeia, 2009; LACHENMEIER, 2007). A espécie *Genciana lutea* é uma referência de planta amarga, e isso se deve à presença principalmente dos iridoides. A Farmacopeia Europeia 6ª edição, preconiza que o índice de amargor para amostras comerciais de raízes de genciana deve ser de, no mínimo, 10.000. Os valores obtidos com as plantas brasileiras, usando este mesmo método foram superiores, confirmando o potencial amargo das plantas.

Atualmente, vários métodos de análise sensorial vêm sendo desenvolvidos e aplicados em diferentes plantas. Eles são realizados com a colaboração de voluntários devidamente treinados, e os resultados são submetidos a tratamento estatístico (ROCHA & BOLINI, 2015; GOTOW et al., 2015; VALLI et al., 2014; REDONDO et al., 2014; SCHLEENBECKER & HAMM, 2013). O método empregado em nossos estudos, é muito simples, e não segue os vários parâmetros exigidos para uma análise sensorial rigorosa. Independente do método usado, a variabilidade do índice de amargor reflete a amplitude e o desvio padrão fornecido para cada espécie, provavelmente resultado da complexidade dos extratos e por possíveis interferências de outras moléculas. O amargor pode ser mascarado por substâncias com gosto doce, ácido e adstringência, competindo com alguns sítios ativos nos receptores presentes na língua (LEY, 2008). A preferência por gostos pode ainda ser relacionada à familiaridade cultural com certos alimentos, as ervas e a bebidas. A sensibilidade à sensação de amargor pode variar na mesma pessoa, se a pessoa

for fumante, ou depois de comer alimentos fortemente aromatizados (WHO, 2002). É evidente que os testes de sabor amargo não fornecem valores absolutos e devem ser relatados como faixas (WAGNER & WIESENAUER, 1995).

A presença de substâncias, ou classes de substâncias amargas, segundo a literatura (flavonoides, ácidos fenólicos, polifenóis, taninos, alcaloides, iridoides/terpenoides e óleos essenciais), foi pesquisada em cada extrato obtido das seis plantas. Entre os flavonoides, os mais amargos são a naringina, naringerina e a hesperidina, encontrados nas espécies de *Citrus* (Rutaceae), que são considerados padrões de substâncias amargas (TRANI et al., 2004). A quercetina, que tem ampla distribuição na natureza, é também considerada um flavonoide amargo (PETERSON & DWYER, 1998; DREWNOWSKI & GOMEZ-CARNEROS, 2000). Neste estudo, a hesperidina foi identificada nas cascas de *E. febrifuga* e de *H. brasiliana*, e a quercetina nos extratos de *B. trimera*, e essas substâncias podem ser as responsáveis pelo amargor observado para essas plantas. Uma série de outros flavonoides como eupatorina, cirsimaritina, genkawanina, eriodictol, canferol, quercetina, luteolina, nepetina e apigenina são também descritos na literatura para *B. trimera* (SOICKE et al., 1987).

Na espécie *R. ferruginea* também foram detectados, por LC/MS/MS, flavonoides como a rutina, kampferol-7-O-neohesperidosídeo, isoramnetina-3-O-rutinosídeo e fisetina. Uma série de flavonoides já foi identificada também na *S. pseudoquina*, e é possível que eles influenciem o intenso caráter amargo da planta. Na análise por CLAE/MS/MS, a quercetina não foi identificada no extrato bruto de *S. pseudoquina*, em comparação com o padrão utilizado e o banco de espectros de massas. A literatura descreve, no entanto, a presença de 3-O-metil quercetina nas cascas da planta (BOTELHO et al., 2009; LAGE et al., 2013). Outro flavonoide que foi identificado por CLAE/MS/MS foi a estriquinobiflavona, também descrito na literatura para esta espécie, além de outros flavonoides como rutina, canferol-3-O-rutinosídeo (BOTELHO et al., 2009; LAGE et al., 2013). Estudos são necessários para verificar se o intenso amargor observado na planta é devido à presença desses flavonoides, especialmente a 3-O-metil-quercetina, e a relação deste grupo metil com o amargor.

Nas drogas vegetais analisadas, foram encontradas quantidades variadas de flavonoides, tendo a *S. pseudoquina* apresentado um elevado teor, 5,03%, de flavonoides totais. O teor de quercetina encontrado por CLAE no extrato bruto da *B. trimera* foi de 0,23%, enquanto que em *S. pseudoquina*, o teor chegou a 1,06%. É possível, no entanto, que este teor se refira à 3-O-metilquercetina, discutida anteriormente (BOTELHO et al., 2009; LAGE et al., 2013).

Os flavonoides totais foram quantificados por espectrometria no visível, por meio da complexação com o cloreto de alumínio. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonoides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides totais, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonoides nos tecidos vegetais (WOISKY, 1996).

O ácido clorogênico foi identificado por CCD e CLAE nas espécies *B. trimera*, *P. hexasperma*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*. Ácido clorogênico, ácidos fenólicos e a epicatequina foram também detectadas no LC/MS/MS na espécie *R. ferruginea* e *P. hexasperma*. O ácido clorogênico é um derivado do ácido cafeoilquínico, e já foi considerada uma substância adstringente e amarga no passado (SINGLENTON & NOBEL, 1976; MEGA & LORENTZ, 1973; MEILGAARD, 1975; OKAMURA & WATANABE, 1978 *apud* NAGEL et al., 1987). No entanto, estudo de NAGEL et al., (1987) demonstrou, pela análise sensorial, que o ácido clorogênico não é considerado uma substância amarga na concentração de 100 mg/L, condição necessária para esta classificação. Os estudos foram feitos em comparação com o cloridrato de quinino e acredita-se que o caráter ácido da substância pode ter mascarado o amargor.

Os alcaloides foram identificados por CLAE/MS/MS em *E. febrifuga*, *H. brasiliiana*, *P. hexasperma*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*. Estudos de DOLABELA et al. (2008) identificaram na espécie *E. febrifuga*, alcaloides do tipo furanoquinolínicos e um alcaloide do tipo acridona. Esses tipos de alcaloides já foram isolados em outras plantas da família Rutaceae (WATERMAN, 1999). Já na

nossa análise identificamos alcaloides quinidina, flindersiamina, delbina e skimmianina. Estudos fitoquímicos recentes com as espécies *H. brasiliiana*, *H. oreadica* e *H. superba* identificaram alcaloides do grupo β -indoloquinazolínico e quinolínico (BRAGA, 2005; SEVERINO, 2008; BRAGA et al., 2012). Na análise realizada por CLAE/MS/MS foi possível detectar apenas a presença do alcaloide indólico rutacarpina. Outros alcaloides descritos para as espécies de *H. brasiliiana*, *H. oreadica* e *H. superba* foram os furanoquinolínicos, 2-quinolona, piranoquinolonas e os β -indoloquinazolínico (SEVERINO, 2008; WATERMAN, 1999).

Diversos alcaloides são considerados amargos, sendo o quinino e seus derivados quinidina, cinchonina e cinchonidina aqueles que apresentam maior amargor (McCALLEY, 2002). O quinino é o padrão aceito e muito utilizado para a com o limiar de detecção de 10 ppm (FENNEMA et al., 2008). Entre as plantas estudadas, espécies de *Remijia* é que apresentam, segundo a literatura, alcaloides de estrutura semelhante ao quinino. RUIZ-MESIA et al. (2005) isolaram cinco alcaloides das cascas de *R. peruviana*, do tipo quinino, entre eles, cupreina, cinchonina, acetilcupreina e N-etilquinino. Em outra estudo DIAZ et al (2004), identificaram nas folhas de *R. peruviana* os alcaloides remijina e epiremijina. Na espécie *R. ferruginea* ANDRADE-NETO et al. (2003) identificaram a presença de alcaloides na planta, mas o quinino não esteve presente. Nas nossas análises foram encontradas, na fração enriquecida de alcaloides, remijina, cinchonidina, quinino, epiremijina, ajimalicina e corinantina. Curiosamente, a despeito de haver várias substâncias de estrutura semelhante ao quinino, o índice de amargor observado para as cascas da *R. ferruginea* foi baixo, sendo superior apenas em relação à *H. brasiliiana*. Este fato pode ser uma consequência da baixa concentração dos alcaloides presentes nas cascas.

As cascas da *S. pseudoquina* são ricas em alcaloides do grupo indólico, sendo vários descritos na literatura como a bisnorhidroxitixiferina, a diabolina e a 11- metoxidiabolina (DELLE-MONACHE et al., 1969; FRANCO et al., 1969; NICOLETTI et al., 1984). Nas nossas análises por CLAE/MS/MS, foram identificados vários alcaloides entre eles a diabolina, brucina, estriquinina, 11-

demetoximirtoidina, 11-metoxidiabolina, amijalicina, estriquinobrasilina e 12-hidroxi-11-metoxidiabolina. Estes alcaloides são encontrados também em outras espécies de *Strychnos* (OHIRI et al., 1983; PHILIPPE et al., 2004). É possível que parte do amargor observado para as cascas da *S. pseudoquina* esteja relacionada à presença dessas substâncias, pois o teor de alcaloide e índice de amargor encontrado foi maior que todas as espécies.

Embora existam muitos métodos para quantificar os alcaloides, isoladamente, em drogas vegetais, extratos e formulações, outros são capazes de determinar o teor total de alcaloides. O método mais usado é a titulação, em que há grande chance de erros e de baixa reprodutibilidade. O método mais adequado para doseamento de alcaloides totais são espectrofotométricos, por complexação com reagentes específicos. SREEVIDYA & MEHROTRA (2003) desenvolveram uma técnica de doseamento de alcaloides totais por espectrofotometria no visível, a partir da complexação com o reagente de Dragendorff. Esse método foi posteriormente adaptado e validado por OLIVEIRA et al., (2006), sendo usado na quantificação da berberina no fitoterápico Robusterina®. Esse método pode ser usado para análise de extratos que contenham alcaloides que ainda não possuem padrões conhecidos e disponíveis no mercado, como é o caso das quininas brasileiras. O reagente de Dragendorff é muito utilizado na detecção colorimétrica em análises de rotina de alcaloides.

O método espectrofotométrico com o reagente de Dragendorff é baseado na formação de um complexo de bismuto amarelo em meio de ácido com tiourea com os alcaloides. Na quantificação realizada neste estudo, o teor de alcaloides totais foi expresso em quinino. Os teores de alcaloides totais encontrados foram variáveis, tendo *S. pseudoquina* apresentado o teor mais elevado (0,0427%), seguido de *H. brasiliiana* (0,0210%).

Outra classe importante de substâncias amargas, pesquisadas nas plantas em estudo foram os polifenóis e taninos. Entre os polifenóis, foi avaliada a presença de catequina, epicatequina, epigalocatequina e epigalocatequina-galato, que são consideradas substâncias amargas (DREWNOWSKI & GOMEZ-CARNEROS, 2000). Já os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água, com massa molecular

entre 300 e 3000 Dalton, e que apresentam a habilidade de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatina e outras proteínas. A presença de polifenóis e taninos foi detectada em *P. hexasperma* e *R. ferruginea* por CCD e na CLAE/ DAD. A quantificação de taninos foi feita com a análise do teor dessas substâncias por espectrofotometria no visível, com o reagente de Folin-Cicateau, principalmente para as espécies *B. trimera*, *P. hexasperma*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*. Das espécies *Polyouratea semiserrata*, *P. castanaefolia* e *P. spectabilis* foram isoladas a 3,5,7,3',5'-pentahidroxi-4'-metoxi-*epi*-catequina e duas proantocianidinas diméricas, denominadas ouratea proantocianidina A e ouratea proantocianidina B. (DELLE MONACHE et al., 1967; VALADARES, et al., 2003). O teor de taninos em *P. hexasperma* foi de 7,44% de polifenóis e 6,70% de taninos, valor bastante elevado, e esta alta concentração deve contribuir para o amargor observado para esta planta.

Em algumas espécies de *Hortia* foram isolados sesquiterpenos, triperpenos e limonoides, sendo essas últimas substâncias características das Rutaceas. Elas apresentam elevado amargor (SUAREZ et al., 2002; JACOBS et al., 1986; FERRACIN, 1992; BRAGA, 2005; SEVERINO, 2008). De *B. trimera*, foram identificados diversos terpenoides, entre eles diterpenos do tipo cleodano (SUTTISRRI et al., 1994; HERZ et al., 1997; KUROYANAGI et al., 1985; LAGO et al., 2008; SILVA et al., 2007). A identificação por CG/ FID detectou mono e sesquiterpenos, entre eles β -elemeno, α -humuleno, δ cadineno, δ calacoreno, germacreno-B e guaiol, anteriormente descritas para a espécie (SILVA et al., 2007; AGOSTINI et al., 2005; MORAIS et al., 2011). O óleo essencial da amostra de *B. trimera* usada neste estudo foi quantificados por hidrodestilação, e apresentou teor de 0,5988%, superior ao mínimo preconizado para a espécie pela Farmacopeia Brasileira 4ª edição, que é de 0,3%. É possível atribuir, portanto, o amargor da planta também à presença dessas substâncias.

A última etapa do estudo envolveu avaliação da atividade biológica das plantas, constituídos da verificação do potencial efeito citotóxico, e avaliação da capacidade dos extratos em melhorar disfunções metabólicas causadas por dieta hipercalórica.

Os perfis fitoquímicos evidenciaram a presença de substâncias amargas em todas as seis espécies, sendo necessário selecionar apenas três, com o maior potencial para a avaliação da atividade bioativa. *S. pseudoquina* foi a primeira espécie selecionada para os estudos, devido ao elevado amargor demonstrado no teste, a presença de alcaloides e elevado teor de flavonoides, incluindo um de estrutura muito semelhante à quercetina. A outra planta selecionada para os testes biológicos foi *B. trimera*, que apresentou o segundo maior grau de amargor. Nesta planta, foi detectada também alta concentração de flavonoides, inclusive de quercetina, além de óleo essencial constituído de substâncias reconhecidamente amargas, como o α -humuleno. A terceira espécie selecionada para os testes foi *R. ferruginea*. Apesar de ter demonstrado um baixo índice de amargor em relação as demais espécies estudadas, esta planta poderia ter potencial por pertencer à mesma família botânica das Cinchona, ter sido a espécie mais amplamente usada nos séculos XVIII e XIX e por apresentar alcaloides de estrutura semelhante ao quinino. *R. ferruginea* contém também derivados da quercetina, e mesmo teor de flavonoides que *B. trimera*. É importante destacar que todas as três espécies já integraram ou integram a Farmacopeia Oficial Brasileira, tendo *R. ferruginea* e *S. pseudoquina* sido inscritas na primeira edição, publicada em 1926, enquanto a carqueja conta com Monografia na 5ª Edição (2010). Este fato confirma a importância dessas plantas, uma vez que já foram ou são consideradas plantas medicinais oficiais do Brasil.

No ensaio de citotoxicidade, foram utilizadas células renais isoladas (BGM). Extratos das espécies *R. ferruginea* e *S. pseudoquina* apresentaram DL₅₀ superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$, mostrando ausência de citotoxicidade. Já *B. trimera* apresentou a DL₅₀ muito elevada em doses muito baixas (4,92 $\mu\text{g/mL}$). A toxicidade de *B. trimera* já foi evidenciada em vários estudos. NOGUEIRA et al. (2011), por exemplo, mostraram que extratos da planta induzem genotoxicidade *in vivo* e foram tóxicos para células dos rins *in vitro*. GRANCE et al. (2008) demonstraram que 8,4mg/kg do extrato hidroetanólico da planta, administrado em ratas prenhas, produz toxicidade para os rins e fígado na genitora. Essas alterações foram reversíveis quando o uso da planta era suspenso. Em outro estudo, o extrato etanólico da planta também foi mutagênico, apesar de que o aquoso não demonstrou toxicidade (RODRIGUES et al., 2009). Esses resultados mostram que, a despeito de todo potencial amargo e tônico

e de contar com uso tradicional por séculos, *B. trimera* é uma planta que precisa ser usada com cautela principalmente em produtos para uso contínuo como fitoterápicos/ nutracêuticos, indicado para tratar a inapetência ou como um aditivo alimentar de gosto amargo.

Os estudos *in vivo* foram realizados para verificar os efeitos das plantas na melhoria de disfunções digestivas, que pudesse justificar o seu uso como tônicas. Com o modelo utilizado, possível verificar a capacidade de extratos e produtos de plantas em melhorar alterações induzidas por dieta rica em carboidrato denominada hipercalórica (dieta HC). Este tipo de alimentação, rica em carboidratos, administrada a camundongos em longo prazo, promove aumento da glicemia, dislipidemia e adiposidade visceral (FERREIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012). Os animais alimentados apenas com a dieta HC apresentaram aumento significativo das concentrações de glicose, colesterol total, triglicerídeos plasmáticos ($p < 0,001$) e da adiposidade visceral, quando comparados ao grupo controle. Os grupos de animais que receberam dieta HC suplementada com os extratos preparados com *B. trimera* (Carq 50, 100 e 200 mg/kg) e *S. pseudoquina* (Spq 50, 100 e 200 mg/kg) por outro lado, apresentaram uma redução bastante significativa nas taxas sanguíneas dessas substâncias. Extratos de *R. ferruginea* foram menos promissores, mostrando alguma atividade apenas na maior dose (200 mg/kg),

O extrato de *B. trimera* apresentou uma redução bastante significativa das taxas de colesterol e triglicerídeos sanguíneos, mostrando uma relação dose resposta. A menor dose (50 mg/kg) reduziu a valores próximos ao do grupo controle, sem tratamento. Espécies de *Bacharis* (*B. trimera* e *B. genisteloides*) são conhecidas como carqueja e são amplamente usadas na medicina popular para o tratamento de várias desordens digestivas, inclusive a obesidade (DICKEL et al., 2007). Os resultados químicos mostram que a planta apresenta flavonoides e é sabido hoje que essas substâncias antioxidantes são capazes de reduzir as taxas de colesterol e lipídeos do sangue.

OLIVEIRA et al. (2005) avaliaram os efeitos de extratos e frações de *B. trimera* sobre a glicemia de ratos diabéticos e não-diabéticos. Em ratos diabéticos, apenas a fração aquosa de *B. trimera* (2000 mg /kg, duas vezes por dia, por via oral) reduziu

a glicemia após um tratamento de 7 dias. Os resultados sugerem que *B. trimera* apresenta uma potencial atividade hipoglicêmica. Em nossos ensaios, a *B. trimera* também reduziu, de forma significativa e dose-dependente, as altas taxas de glicose do plasma dos animais. Alguns estudos vêm demonstrando que esta atividade no metabolismo da glicose é devido à presença de substâncias fenólicas (BIONDO et al, 2011; SOICKE & LENG-PESCHLOW, 1987).

Extratos das cascas de *S. pseudoquina* também apresentaram efeitos benéficos na redução das concentrações plasmáticas de colesterol, triglicérides e glicose no nosso estudo. BONAMIN et al., (2011) avaliaram a ação gastroprotetora da planta. O objetivo do estudo foi elucidar o mecanismo do processo de cicatrização de extrato da planta na ulceração gástrica crônica, induzida por 5% de ácido acético em ratos. Os resultados demonstraram que os extratos reduziram significativamente as feridas no estômago dos animais (entre 38 e 42%), avaliados por análise macroscópica. O extrato da planta também foi eficaz na inibição de *H. pylori* (MIC 75 µg / mL). SILVA et al., (2005) investigaram a capacidade de extratos da planta em proteger a mucosa gástrica contra lesões causadas por fármacos não-esteroides como o anti-inflamatórios (piroxicam) e um agente necrotizante (HCl / EtOH) em cobaias. O extrato metanólico e a fração enriquecida de alcaloídicas proporcionaram uma proteção significativa nas doses de 250 e 1000 mg/kg. Em estudo para avaliar uma possível ação hipoglicêmica de *S. pseudoquina*, HONÓRIO-FRANÇA et al., (2008) demonstraram que os níveis de glicemia no grupo tratado com o extrato aquoso de *S. pseudoquina* foram menores do que os do grupo sensibilizado pela aloxana e não tratados. Os autores sugerem que *S. pseudoquina* também apresenta efeito hipoglicemiante. O conjunto dos resultados mostra que as cascas da *S. pseudoquina* apresenta vasto potencial para o desenvolvimento de produtos para uso como digestivo.

Muitos extratos de plantas já foram testados e tiveram seus efeitos comprovados como redutores das concentrações plasmáticas de colesterol e triglicérides. As folhas de alcachofra (*Cynara scolymus* L.) são reconhecidamente hipocolesterolêmicas, sendo indicada para este fim inclusive pela OMS. Produtos com a planta são disponíveis pelo SUS (Portaria MS/GM nº 533, 2012). A alcachofra

é rica em substâncias fenólicas, incluindo o ácido clorogênico e cafeico, e quando administrada em ratos alimentados com dieta rica em colesterol, por exemplo, reduziu o estresse oxidativo no fígado dos animais (KÜÇÜKGERGIN et al., 2010).

A capacidade dos extratos dessas plantas em alterar os níveis de lipídeos no sangue vem sendo atribuída à presença de substâncias fenólicas e flavonoides, por vários autores (FAN et al., 2015; UMAR et al., 2015; LI et al., 2014; VELOSO et al., 2014; NEKOHASHI et al., 2014; CLAUSSNITZER et al., 2011; STEFEK, 2011; UEMURA et al., 2011; ZYGMUNT et al., 2010; AFROSE et al., 2010; EU et al., 2010; FERNANDES et al., 2010; GONG et al., 2010; RAZAVI et al., 2009; AFROSE et al., 2009; REN et al., 2009; VISAVADIYA & NARASIMHACHARYA, 2009; MACHADO et al., 2008; TALPUR et al., 2005; ZHENG et al., 2005; ZHU et al., 2004; KUROWSKA et al., 2000; BORRADAILE, CARROLL & KUROWSKA, 1999; YUGARANI et al., 1992). Diversos mecanismos de ação dos flavonoides têm sido propostos, para explicar seus efeitos no metabolismo lipídico. Um destes envolve ações no aumento da excreção de sais biliares nas fezes, e outro abrange a capacidade de elevar a atividade do sistema microsomal hepático, conseqüentemente, aumentando o metabolismo lipídico (WILCOX et al., 2001). Sugere-se, ainda, que o aumento da atividade dos receptores de LDL e também a inibição da síntese de apolipoproteína B induzidos pelos flavonoides, seja um dos responsáveis pela redução da concentração de colesterol (ROZA, XIAN-LIU & GUTHRIE, 2007).

Diversos mecanismos são propostos também para justificar a ação das plantas no metabolismo da glicose, entre eles, o estímulo da liberação de insulina e a inibição de enzimas, como α -glicosidases e α -amilases, envolvidas no metabolismo de glicose (TAPAS et al., 2008; PEREIRA et al., 2011; KAPPEL et al., 2012; LUYEN, 2013). Os flavonoides e polifenóis têm sido considerados potenciais agentes antidiabéticos, com ação hipoglicêmica, mimetizando e estimulando a secreção da insulina (CHUANG et al., 2010; MARTÍNEZ, 2009; WU et al., 2009; JUNG et al., 2006). Vários mecanismos de ação são propostos (CAZAROLLI et al., 2008). Sugere-se, por exemplo, que esses componentes têm o potencial de modificar a atividade de enzimas intracelulares, incluindo tirosina quinase, proteína quinase C, fosfatidil-inositol-3-quinase (PI3K) e proteína quinase regulada pelo extracelular

(MAPK), resultando em aumento do transporte de glicose estimulada por insulina no músculo e tecido adiposo (NOMURA et al., 2008; BAZUINE et al., 2005).

Estudo realizado por SOTILLO & HADLEY (2002) com ratos obesos, verificou que a infusão intravenosa de ácido clorogênico não promoveu a manutenção da hipoglicemia, mas reduziu significativamente a resposta glicêmica à sobrecarga de glicose. Os autores sugeriram que o ácido clorogênico não estimulou a liberação da insulina, mas agiu como agente anti-hiperglicêmico, com ação similar a de drogas como a metformina, que aumentam a sensibilidade à insulina e não a sua liberação. Outro estudo também verificou que a suplementação de rutina, em animais alimentados com dieta rica em carboidrato e lipídios, resultou em maior tolerância oral à glicose e melhora de outras alterações metabólicas induzidas pela dieta. Os autores consideraram que a melhora dos parâmetros metabólicos avaliados no estudo estava associado à redução de marcadores de estresse oxidativo e inflamação no fígado e tecido cardíaco (PANCHAL et al., 2011). Esses resultados mostram que, apesar de não ser considerada uma substância amarga, o ácido clorogênico é capaz de melhorar várias disfunções metabólicas.

A melhora no metabolismo lipídico e da glicose em ratos diabéticos suplementados com *Melissa officinalis* foi também atribuída aos óleos essenciais e flavonoides presentes na planta. Esse mesmo estudo mostrou que a suplementação com o extrato induziu um aumento na expressão de receptores ativados pela proliferação de peroxisoma (PPAR), que estão relacionados com o metabolismo lipídico e da glicose (CHUNG et al., 2010). De fato, alguns flavonoides e terpenoides têm sido descritos como agonistas seletivos de PPAR (CHUANG et al., 2010; CHUNG et al., 2010; GOTO et al., 2010; DEMBINSKA-KIEC et al., 2008; JUNG et al., 2006).

É importante observar que, apesar de uma melhora metabólica, os animais que receberam os extratos não apresentaram alteração no peso corporal em relação ao grupo controle e HC durante o experimento. A dieta HC oferecida aos animais é normocalórica em relação à dieta controle, sendo diferente no que se refere à quantidade de carboidratos simples. Confirma-se assim, que o tipo de nutriente da dieta, independente do valor calórico, é capaz de estimular mudanças na

composição corporal, favorecendo o aumento da adiposidade e a hipertrofia dos adipócitos (FERREIRA et al., 2011).

Em relação à ingestão alimentar, todos grupos tratados com extratos tiveram a ingestão alimentar similar ao grupo HC. Entretanto, os animais alimentados com a dieta HC, em relação aos animais controle, apresentaram índice de adiposidade significativamente maior ($p < 0,01$) e hipertrofia dos adipócitos, evidenciado pelo aumento significativo ($p < 0,05$) da área das células adiposas. A maior adiposidade desses animais está relacionada, possivelmente, com a composição nutricional da dieta, rica em carboidratos simples.

A análise histológica do tecido adiposo epididimal mostrou que os animais alimentados com dieta HC apresentaram aumento da área dos adipócitos quando comparados ao grupo controle. Os grupos de animais que receberam dieta HC suplementada com as três doses de extrato bruto de *B. trimera*, *S. pseudoquina* e *R. ferruginea* apresentaram área de adipócitos com valores próximos ao grupo controle e significativamente menor que o grupo HC, apresentando assim adipócitos menores, característicos da ocorrência de hiperplasia celular. A expansão da massa adiposa ocorrida na obesidade é determinada pelo tamanho do adipócito (hipertrofia) ou do seu número (hiperplasia) (QUEIROZ et al., 2009). O aumento do tamanho dos adipócitos não é um processo ilimitado, quando a célula adiposa atinge a capacidade máxima de armazenamento de gordura, novas células são recrutadas, os pré-adipócitos. A substituição de células hipertróficas por adipócitos jovens pode criar um ambiente metabólico mais favorável, por apresentarem maior sensibilidade à insulina (OKUNO et al., 1998)

Diversos estudos têm demonstrado que o aumento da adiposidade, induzida por dieta, desencadeia alterações no metabolismo de lipídios e carboidratos (WAKI & TONTONNOZ, 2007; COENEN & HASTY, 2007) associadas a um perfil pró-inflamatório sistêmico, e em sítios metabólicos importantes como o fígado e tecido adiposo (HOTAMISLIGIL, 2006; FERREIRA et al., 2011; POWELL, 2007; SPEAKMAN et al., 2007). Dietas HC, assim como dietas ricas em gorduras (HFD), têm o potencial de aumentar a adiposidade (FERREIRA et al., 2011; LINDQVIST et al., 2005). A extensão da obesidade induzida por dieta depende da duração do

período de alimentação, da qualidade e/ou da quantidade de macronutrientes da dieta (HEREDIA et. al., 2009).

Na literatura tem sido demonstrado que alguns extratos de plantas diminuem o tamanho dos adipócitos em animais obesos e diabéticos o que conseqüentemente, promove melhora no metabolismo lipídico e da glicose (ALMEIDA, 2011; KRISANAPUN et al., 2011; CHUNG et al., 2010). Estudos demonstraram que animais alimentados com dietas HC suplementadas com chá verde (RICKMAN et al., 2010) ou rutina (ZHENG et al., 2005) apresentaram redução da glicemia, melhora da sensibilidade à insulina e regulação dos lipídios séricos. A melhora dos parâmetros metabólicos induzida pela suplementação com essas substâncias foi atribuída a prevenção ou reversão do estresse oxidativo crônico gerado pela dieta HC (RICKMAN et al., 2010; ZHENG et al., 2005).

Outro ponto importante do estudo está relacionado à ausência de efeito tóxico no fígado. A hepatotoxicidade pode ser verificada pelo peso do fígado, pois uma das primeiras manifestações da sua lesão é o acúmulo de gorduras, via inibição da secreção de triglicerídeos (CHAN et al., 2010). Os resultados demonstram que não houve aumento do peso do fígado em nenhum dos tratamentos com os extratos, e estudo morfológico também não constatou alterações microscópicas significativas no fígado e rins dos animais sacrificados ao final do experimento. As lâminas histológicas do fígado de todos os animais estudados não apresentaram nenhum sinal de toxicidade (dados não mostrados).

6 CONCLUSÕES

Os resultados alcançados nesta pesquisa mostram que:

Várias espécies amargas da biodiversidade brasileira, conhecidas sob o nome de quina, foram usadas no passado como tônico/digestivo. No entanto, tanto o conhecimento, quanto o uso dessas espécies, vem sendo reduzido drasticamente nas últimas décadas, caracterizando um intenso processo de erosão cultural.

O perfil fitoquímico das seis espécies de quinas estudadas (caules alados de *Bacharis trimera*, cascas de *Esenbeckia febrifuga*, *Hortia brasiliensis*, *Polyouratea hexasperma*, *Remijia ferruginea* e *Strychnos pseudoquina*) revelou a presença de substâncias amargas em todas elas, entre elas substâncias importantes como os alcaloides derivados do quinino e estriquinina e o flavonoide hesperidina. Os teores encontrados de alcaloides, flavonoides, polifenóis, taninos foram muito diferentes e isto deve contribuir para o amargor das plantas.

B. trimera era conhecida como quina-de-condamine, e foi usada como amargo e febrífugo, séculos atrás. A planta não é mais conhecida por este nome e apenas o uso como digestivo permanece na atualidade. Extrato da planta apresenta atividade antihiperlipidêmica e antihiperlipidêmica, reduzindo taxas de forma bastante significativa com perfil dose resposta nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg. Este resultado pode justificar seu uso popular ao longo dos séculos como tônica e digestiva. No entanto, os extratos da planta foram citotóxicos, limitando um possível emprego na preparação de produtos comerciais.

Cascas de *R. ferruginea* foram as mais usadas como quina amarga no passado, mas hoje ela não é mais usada. Apesar de apresentar alcaloides de estrutura semelhante ao quinino na sua constituição, o seu amargor foi menor em relação as outras espécies. Extratos da planta não apresentaram citotoxicidade, mas também não foram capazes de reduzir as taxas de glicose, colesterol e triglicerídeos no plasma dos animais nas concentrações de 50 e 100 mg/kg, reduzindo apenas os parâmetros bioquímicos na dose de 200 mg/kg.

Cascas de *S. pseudoquina* foram muito usadas no passado, e ela é uma das raras espécies de quina amarga que manteve este nome tradicional e o uso nas desordens digestivas. Apesar de pertencer ao gênero *Strychnos*, reconhecidamente rico em substâncias altamente tóxicas, as cascas da planta são ricas em flavonoides. Extratos das cascas não apresentaram atividade citotóxica e apresentou significativa atividade, tanto na redução da glicose, triglicerídeos e colesterol nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg. Acreditamos que este efeito benéfico como tônico/digestivo, confirmado neste estudo, tenha contribuído para que a planta continuasse a ser usada na medicina tradicional através dos séculos.

Os resultados mostrados para as espécies *B. trimera*, *R. ferruginea* e *S. pseudoquina*, contribui para um futuro desenvolvimento de produtos farmacêuticos ou nutracêuticos, para uso na inapetência ou em outras desordens digestivas, além de aditivos amargos ou como suplementos alimentares.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOY, A. L.; APEL, M. A.; DEBENEDETTI, S.; FRANCESCATO, L.; ROSELLA, M. A.; HENRIQUES, A. T. Assay of caffeoylquinic acids in *Baccharis trimera* by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1219, p. 147-153, 2012.

AFROSE, S.; HOSSAIN, M. S.; MAKI, T.; TSUJII, H. Karaya root saponin exerts a hypocholesterolemic response in rats fed a high-cholesterol diet. **Nutrition Research**, v. 29, p. 350-354, 2009.

AFROSE, S.; HOSSAIN, M. S.; SALMA, U.; MIAH, A. G.; TSUJII, H. Dietary karaya saponin and *Rhodobacter capsulatus* exert hypocholesterolemic effects by suppression of hepatic cholesterol synthesis and promotion of bile acid synthesis in laying hens. **Cholesterol**, v. 2010, 7p., 2010.

AGOSTINI, F.; SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; PANSERA, M. R.; ZATTERA, F.; WASUM, R.; SERAFINI, L. A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 215-219, 2005.

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. 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.

ALBUQUERQUE, U. P.; MONTEIRO, J. M.; RAMOSA, M. A.; AMORIMB, E. L. C. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 76-91, 2007.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies de vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1998, 464p.

ALMEIDA, C. F. C. B. R.; RAMOSA, M. A.; AMORIMB, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. A comparison of knowledge about medicinal plants for three rural communities in

the semi-arid region of northeast of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 674-684, 2010.

ALMEIDA, J. M. A. **Potencial das folhas de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth (Rubiaceae) no tratamento da obesidade e suas alterações metabólicas induzidas por dieta em camundongos Balb/c**. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2011, 119p.

ALONSO, J. R. **Fitomedicina: curso para profissionais da área de saúde**. Editora Pharmabooks, 2008, 55-57.

ALVES, R. R. N.; SILVA, A. A. G.; SOUTO, W. M. S.; BARBOZA, R. R. D. Utilização e comércio de plantas medicinais em Campina Grande, PB, Brasil. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4 (2), p. 175-198, 2007.

ANDRADE-NETO, V. F.; BRANDAO, M. G. L.; STEHMANN, J. R.; OLIVEIRA, L. A.; KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of Cinchona-like plants used to treat fever and malaria in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87(2-3), p. 253-256, 2003.

ARAÚJO, S; LUCAS, V. **Catalogo de extractos fluidos Araujo & Cia. Ltda**. Rio de Janeiro: Silva Araujo & Cia. Ltda, 1930.

BACHMANOV, A. A.; BOSAK, N. P.; LIN, C.; MATSUMOTO, I.; OHMOTO, M.; REED, D. R.; NELSON, T. M. Genetics of taste receptors. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20 (16), p. 2669-83, 2014.

BADINI, J. **Arquiclamideas Medicinais de Ouro Preto**. Ouro Preto: Livraria Mineira, 1940, 166p.

BAGGIO, C. H.; DE MARTINI, O. G., DE SOUZA, W. M.; DE MORAES, S. C. A.; TORRES, L. M.; RIECK, L.; DE ANDRADE, M. C.; MESIA-VELA, S. Gastroprotective mechanisms of indole alkaloids from *Himatanthus lancifolius*. **Planta Médica**, v. 71(8), p. 733-8, 2005.

BALBACH, A. **A Flora Nacional na Medicina Doméstica**. 17ed, São Paulo: Edições "A Edificação do Lar", 1974, 919p.

BAPTISTEL, A. C.; COUTINHO, J. M. C. P.; LINS NETO, E. M. F.; MONTEIRO, J. M. Plantas medicinais utilizadas na Comunidade Santo Antônio, Currais, Sul do Piauí: um enfoque etnobotânico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, supl. I, p. 406-425, 2014.

BAZUINE, M.; VAN DEN BROEK, P. J. A.; MAASSEN, J. A. Genistein directly inhibits GLUT4- mediated glucose uptake in 3T3 L1 adipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 326, n. 2, p. 511-514, 2005.

BEHRENS, M.; MEYERHOF, W. Oral and extraoral bitter taste receptors. **Results and Problems in Cell Differentiation**, n. 52, p. 87-99, 2010.

BETONI, J. E.; MANTOVANI, R. P.; BARBOSA, L. N.; DI STASI, L.C.; FERNADES, J. A. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101(4), p. 387-90, 2006.

BIONDO, T. M.; TANAE, M. M.; COLETTA, E. D.; LIMA-LANDMAN, M. T.; LAPA, A. J.; SOUCCAR, C. Antisecretory actions of *Baccharis trimera* (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: analysis of underlying mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, (2), p. 368-73, 2011.

BOLSON, M.; HEFLER, S. R.; CHAVES, E. I. D. O.; JUNIOR, A. G.; JUNIOR, E. L.C. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 161, p. 1-10, 2015.

BONAMIN F., MORAES, T. M., KUSHIMA, H., SILVA, M. A., ROZZA, A. L., PELLIZZON, C. H., BAUAB, T. M., ROCHA, L. R., VILEGAS, W., HIRUMA-LIMA, C. A. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138(1), p. 47-52, 2011.

BORRADAILE, N. M.; CARROLL, K. K.; KUROWSKA, E. M. Regulation of HepG2 cell apolipoprotein B metabolism by the citrus flavanones hesperetin and naringenin. **Lipids**, v. 34, p. 591-598, 1999.

BOTELHO, T. C.; ARAÚJO, L. C. J.; DA SILVA, L. E.; JUNIOR, P. T. S.; DALL'OGGIO, E. L.; STEINDEL, M.; NUNES, R. K. Avaliação do potencial antiparasitário de flavonoides e seus complexos de zinco e cobre. In: **Resumo apresentado na 33ª reunião anual da sociedade brasileira de química**, 2009, Águas de Lindoia.

BOTION, L. M.; FERREIRA, A. V. M.; CÔRTEZ, S. F.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina® on lipid metabolism and intestinal tonus. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 102, (2), p.137-142, 2005.

BOTSARIS, A. S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3(18), p. 1-8, 2007.

BRAGA, P. A. C. **Estudo fitoquímico de espécies de Hortia (Rutaceae), importância quimiosistemática e atividade biológica dos constituintes isolados.** Tese (Programa de Pós-graduação em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005, 269p.

BRAGA, P. A. C.; SEVERINO, V. G. P.; FREITAS, S. D. L.; SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; PIRANI, J. R.; GROppo, M. Dihydrocinnamic acid derivatives from *Hortia* species and their chemotaxonomic value in the Rutaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 43, p. 142-151, 2012.

BRANDÃO, M. G. L.; GRANDI, T. S. M.; ROCHA, E. M. M.; SAWYER, D. R.; KRETTLI, A. U. Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, p. 175-182. 1992.

BRANDÃO, M. G. L.; ZANETTI, N. N. S.; OLIVEIRA, P.; GRAEL, C. F. F.; SANTOS, A. C. P.; MONTE-MÓR, R. L. M. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 141-148, 2008.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G. P.; STANISLAU, A. M.; FERNANDES, G. W. Influence of Brazilian herbal regulations on the use and conservation of native medicinal plants. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 164, p. 369-377, 2010.

BRANDÃO, M. G. L.; PIGNAL, M.; ROMANIUC, S.; GRAEL, C. F. F.; FAGG, C. W. Useful Brazilian plants listed in the field books of the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire (1779-1853). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143(2), p. 488-500, 2012.

BRASIC, J.M. Should people with nocturnal leg cramps drink tonic water and bitter lemon?. **Psychological Reports**, v. 84, p. 355-367, 1999.

BRASIL. Resolução – RDC nº 10 de 9 de março de 2010 dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à ANVISA e da outras providências, 2010.

BUNBURY, C. J. F. **Viagem de um naturalista inglês ao Rio de Janeiro e Minas Gerais**. Itatiaia: Belo Horizonte; EDUSP: São Paulo, 1981.

BURTON, R. **Viagem do Rio de Janeiro a Morro Velho**. Itatiaia: Belo Horizonte; EDUSP: São Paulo, 1976 [1869a].

BURTON, R. **Viagem de Canoa de Sabará ao Oceano Atlântico**. Itatiaia: Belo Horizonte; EDUSP: São Paulo. 1977 [1869b].

CALÁBRIA, L.; CUBA, G. T.; HWANG, S. M.; MARRA, J. C. F.; MENDONÇA, M. F.; NASCIMENTO, R. C.; OLIVEIRA, M. R.; PORTO, J. P. M.; SANTOS, D. F.; SILVA, B. L.; SOARES, T. F.; XAVIER, E.M.; DAMASCENO, A. A.; MILANI, J. F.; REZENDE, C. H. A.; BARBOSA, A. A. A.; CANABRAVA, H. A. N. Levantamento etnobotânico e etnofarmacológico de plantas medicinais em Indianópolis, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 1, p. 49-63, 2008.

CAMINHOÁ, J. M. **Elementos de Botânica Geral e Médica**. Typ. Nacional. Rio de Janeiro, 1877.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, p. 326–342, 2010.

CARVALHO, L. H.; BRANDAO, M. G. L.; SANTOS-FILHO, D.; LOPES, J. L. C.; KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied in vivo in *Plasmodium berghei* infected mice and in vitro against *Plasmodium falciparum* in culture. **Brazilian Journal of Medicinal Biological Research**, v. 24, p. 1113-1123, 1991.

CARVALHO, A. R. Popular use, chemical composition and trade of Cerrado's medicinal plants (Goiás, Brazil). **Environment, Development and Sustainability**, v. 6, p. 307-316, 2004.

CASTELLUCCI, S.; LIMA, M. I. S.; NORDI, N.; MAEQUES, J. G. W. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na estação ecológica de Jataí. município de Luís Antônio/SP. Uma abordagem etnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 3, n. 1, 51-60, 2000.

CAZAROLLI, L. H.; ZANATTA, L.; ALBERTON, E. H.; FIGUEIREDO, M. S.; FOLADOR, P.; DAMAZIO, R. G.; PIZZOLATTI, M. G.; SILVA, F. R. Flavonoids: cellular and molecular mechanism of action in glucose homeostasis. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 10, p. 1032-1038, 2008.

CHAN, Y. C.; CHANG, S. C.; LIU, S. Y.; YANG, H. L.; HSEU, Y. C.; LIAO, J. W. Beneficial effects of yam on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 1, p. 161-167, 2010.

CHANG-LIAO, W. L.; CHIEN, C. F.; LIN, L. C.; TSAI, T. H. Isolation of gentiopicroside from gentiana radix and its pharmacokinetics on liver ischemia/reperfusion rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141(2), p. 668-73, 2011.

CHEN, Z.; WU, J.; ZHAO, Y.; XU, F.; HU, Y. Recent advances in bitterness evaluation methods. **Analytical Methods**, v. 4, p. 599-608, 2012.

CHERNOVIZ, P. L. N. **A grande Farmacopéia Brasileira. Formulário e Guia Médico**. 19 ed, Belo Horizonte, Rio de Janeiro: Itatiaia, 1996. [1842].

CHIKUNI, K.; OE, M.; SASAKI, K.; SHIBATA, M.; NAKAJIMA, I.; OJIMA, K.; MUROYA, S. Effect of muscle type on beef taste-traits assessed by an electric sensing system. **Animal Science Journal**, v. 81, p. 600-605, 2010.

CHUANG, C. C.; MARTINEZ, K.; XIE, G.; KENNEDY, A.; BUMRUNGPET, A.; OVERMAN, A.; JIA, W.; MCINTOSH, M. K. Quercetin is equally or more effective than resveratrol in attenuating tumor necrosis factor- α -mediated inflammation and insulin resistance in primary human adipocytes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 96, n. 6, p. 1511-1521, 2010.

CHUNG, M. J.; CHO, S. Y.; BHUIYAN, M. J.; KIM, K. H.; LEE, S. J. Anti-diabetic effects of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil on glucose- and lipidregulating enzymes in type 2 diabetic mice. **The British Journal Nutrition**, v. 104, n. 2, p. 180-188, 2010.

CLAUS E.P, TYLER V. **Pharmacognosy**. Lea & Febiger, New Your, 572p, 1965.

CLAUSSNITZER, M.; THOMAS SKURK, T.; HAUNER, H.; DANIEL, H.; RIST, M. J. Effect of flavonoids on basal and insulin-stimulated 2-deoxyglucose uptake in adipocytes. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, p. 1-9, 2011.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, p. 159–175, 2009.

COENEN, K. R.; HASTY, A. H. Obesity potentiates development of fatty liver and insulin resistance, but not atherosclerosis, in high-fat diet-fed agouti LDLR deficient mice. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v. 293, p. 492-499, 2007.

CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n.3, supl. I, p. 685-692, 2014.

CORREA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Di Giorgio, 1984.

COSENZA, G. P.; SOMAVILLA, N. S.; FAGG, C. W.; BRANDÃO, M.G. Bitter plants used as substitute of *Cinchona* spp. (quina) in Brazilian traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149(3), p. 790-6, 2013.

COSTA, A. F. **Farmacognosia - Volume 2**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 6ed, p. 993-1013, 2006.

CROUZET, S. M.; BUSCH, N. A.; OHLA, K. Taste quality decoding parallels taste sensations. **Current Biology**, v. 30;25 (7), p. 890-6, 2015.

CRUZ, G.L. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**. Belo Horizonte. 1982.

CUNHA, N. S. Uma perícia farmacognóstica: falsas quinas do Brasil. **Tribuna Farmacêutica**, v. 5 (12), p. 154-155, 1937.

CYBORAN, S; STRUGALA, P; WLOCH, A; OSZMIAŃSKI, J; KLESZCZYŃSKA, H. Concentrated green tea supplement: Biological activity and molecular mechanisms. **Life Sciences**, v. 126, p. 1-9, 2015.

DAWES, C.; PEDERSEN, A. M.; VILLA, A.; EKSTRÖM, J.; PROCTOR, G. B.; VISSINK, A.; AFRAMIAN, D.; MCGOWAN, R.; ALIKO, A.; NARAYANA, N.; SIA, Y. W.; JOSHI, R. K.; JENSEN, S. B.; KERR, A. R.; WOLFF, A. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. **Archives of Oral Biology**, v. 60(6), p. 863-874, 2015.

DEAN, W. **With Broadax and Firebrand: The Destruction of the Brazilian Atlantic Forest**. University of California Press, Berkeley, 482p, 1996.

DELLE-MONACHE, F.; TUCCI, A. P.; MARINI BETTOLO, G. B. The occurrence of nor-dihydrotoxiferine in *Strychnos pseudoquina* St.Hil. **Tetrahedron Letters**, v. 10, issue 25, p. 2009-2010, 1969.

DEMBINSKA-KIEC, A.; MYKKÄNEN, O.; KIEC-WILK, B.; MYKKÄNEN, H. Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. **The British Journal Nutrition**, v. 99, p. 109-117, 2008.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Mediciniais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Editora UNESP, São Paulo, 2002.

DÍAZ, J.G.; SAZATORNIL, J.G.; RODRÍGUEZ, M.L.; MESÍA, L.R.; ARANA, G.V. Five new alkaloids from the leaves of *Remijia peruviana*. **Journal of Natural Products**. V. 67(10), p. 1667-71, 2004.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M.; RITTER, M. R. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109(1), p. 60-71, 2007.

DIENER, H. C.; DETHLEFSEN, U.; DETHLEFSEN GRUBER, S.; VERBEEK, P. Effectiveness of quinine in treating muscle cramps: A double-blind, placebo-controlled, parallel-group, multicentre trial. **International Journal of Clinical Practice**, v. 56(4), p. 243-246, 2002.

DINIZ, M. F. M., SILVA, B. A.; MUKHERJEE, R. Spasmolytic actions of the new indole alkaloid Trinervine from *Strychnos trinervis* root. **Phytomedicine**, v. 1(3), p. 205-7, 1994.

DOLABELA, M. F.; OLIVEIRA, S. G.; NASCIMENTO, J. M.; PERES, J. P.; WAGNER, H.; POVOA, M. M.; OLIVEIRA, A. B. In vitro antiplasmodial activity of extract and constituents from *Esenbeckia febrifuga*, a plant traditionally used to treat malaria in the Brazilian Amazon. **Phytomedicine**, v. 15, p. 367-372, 2008.

DREWNOWSKI, A.; GOMEZ-CARNEROS, C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. **The Americal Journal of Clinical Nutrition**, n. 72, p. 1424-35, 2000.

DREWNOWSKI, A. The science and complexity of bitter taste. **Nutrition Reviews**, v. 59(6), p. 163-9, 2001.

EMERENCIANO, V. P.; MILITÃO, J. S.; CAMPOS, C. C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M. A.; ZAMBON, M.; BRANT, A. J. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 947-57, 2001.

EU, C. H. A.; LIM, W. Y. A.; TON, S. H.; KADIR, K. A. Glycyrrhizic acid improved lipoprotein lipase expression, insulin sensitivity, serum lipid and lipid deposition in high-fat diet-induced obese rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 9, n. 81, 2010.

FAN, Y.; LI, J.; YIN, Q.; ZHANG, Y.; XU, H.; SHI, X.; LI, C.; ZHOU, Y.; ZHOU, C. Effect of extractions from *Ephedra sinica* Stapf on hyperlipidemia in mice. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 9(2), p. 619-625, 2015.

Farmacopéia Brasileira. 4 ed. Parte I. São Paulo: Atheneu, 1988.

Farmacopeia Brasileira. 5 ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil. 1 ed. São paulo: Companhia Editora Nacional, 1926.

Farmacopeia Europea. 6 ed. The stationery office, London, 2011.

FARIA, L. Breve estudo sobre as quininas. **Revista Química e Farmácia**, v. 1(4), p. 73-80, 1935.

FEENEY, E. L.; HAYES, J. E. Exploring associations between taste perception, oral anatomy and polymorphisms in the carbonic anhydrase (gustin) gene CA6. **Physiology & Behavior**, v. 128, p. 148-54, 2014.

FELÍCIO, J. D.; GONÇALEZ, E.; BRAGGIO, M. M.; CONSTANTINO, L.; ALBASINI, A.; LINS, A. P. Inhibition of lens aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 61, p. 217-220, 1995.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, KIRK L. **Química de Alimentos de Fennema. 3 ed.** Artmed, 2008.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, jul./set., 2006.

FERNANDES, A. A.; NOVELLI, E. L.; OKOSHI, K.; OKOSHI, M. P.; MUZIO B. P.; GUIMARÃES, J. F.; FERNANDES, J. A. Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 64(3), p. 214-9, 2010.

FERRACIN, R. J. **Estudo fitoquímico de *Hortia arborea***: Uma contribuição a quimiosistemática de *Cuspararieae*. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1992.

FERREIRA, A. V. M.; MARIO, E. G.; PORTO, L. C. J.; ANDRADE, S. P.; BOTION, L. M. High-Carbohydrate Diet Selectively Induces Tumor Necrosis Factor- α production in Mice Liver. **Inflammation**, v. 34, n. 2, p. 130-145, 2011.

FRANCO, D. M.; ALDO, P.T.; BETTÒLO, M. The occurrence of nor-dihydrotoxiferine in *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hill. **Tetrahedron Letters**, v. 25, p. 2009-2010, 1969.

FUJITA, A.; ISOGAI, A.; ENDO, M.; UTSUNOMIYA, H.; NAKANO, S.; IWATA, H. Effects of sulfur dioxide on formation of fishy off-odor and undesirable taste in wine consumed with seafood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4414-4420, 2010.

GALLEANO, M.; PECHANOVA, O.; FRAGA, C. G. Hypertension, nitric oxide, oxidants, and dietary plant polyphenols. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 11(8), p. 837-48, 2010.

GARCÍA-BARRANTES, P. M.; BADILLA, B. Anti-ulcerogenic properties of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) standardized extracts in rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 12;134(3), p. 904-10, 2011.

GARLET, T. M. B., IRGANG, B. E. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 1, p. 9-18, 2001.

GENÉ, R. M.; CARTARANA, C.; ADZET, T. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of three species of genus *Baccharis*. **Planta Medica**. v. 58, n. 6, p. 565-566, 1992.

GENÉ, R. M.; CARTARANA, C.; ADZET, T.; MARIN, E.; PARELLA, T.; CANIGUERAL, S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. **Planta Medica**, v. 62(3), p. 232-5, 1996.

GINANE, C.; BAUMONT, R.; FAVREAU-PEIGNÉ, A. Perception and hedonic value of basic tastes in domestic ruminants. **Physiology & Behavior**, v. 24;104 (5), p. 666-74., 2011.

GONÇALVES, R. V. ; NOVAES, R. D. ; LEITE, J. P.; VILELA, E. F.; CUPERTINO, M. C.; NUNES, L. G.; MATTA, S. L. Hepatoprotective effect of *Bathysa cuspidata* in a murine model of severe toxic liver injury. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 93(5), p. 370-6, 2012.

GONG, G.; QIN, Y.; HUANG, W.; ZHOU, S.; WU, X.; YANG, X.; ZHAO, Y.; LI, D. Protective effects of diosgenin in the hyperlipidemic rat model and in human vascular endothelial cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 184, n. 3, p. 366-375, 2010.

GOTO, T.; TAKAHASHI, N.; HIRAI, S.; KAWADA, T. Various terpenoids derived from herbal and dietary plants function as PPAR modulators and regulate carbohydrate and lipid metabolism. **PPAR Research**, v. 2010, p. 1-9, 2010.

GOTOW, N., MORITANI, A., HAYAKAWA, Y., AKUTAGAWA, A., HASHIMOTO, H., KOBAYAKAWA, T. Development of a Time-Intensity Evaluation System for Consumers: Measuring Bitterness and Retronasal Aroma of Coffee Beverages in 106 Untrained Panelists. **Journal of Food Science**, maio, 2015.

GRANCE, S. R.; TEIXEIRA, M. A.; LEITE, R. S.; GUIMARÃES, E. B.; SIQUEIRA, J. M.; DE OLIVEIRA, W. F.; DE SOUZA VASCONCELOS, S. B.; DO CARMO VIEIRA, M. *Baccharis trimera*: effect on hematological and biochemical parameters and hepatorenal evaluation in pregnant rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17;117(1), p. 28-33, 2008.

GROPPO, M.; KALLUNKI, J. A.; PIRANI, J. R. Synonymy of *Hortia arborea* with *H. brasiliiana* (Rutaceae) and a new species from Brazil. **Brittonia**, p. 28-34, 2005.

GROPPO, M. New Synonyms in *Hortia* and *Dictyloma* (Rutaceae), with Validation of the Name *Hortia badinii*. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, v. 20, p. 163-165, 2010.

GRYNBERG, N. F.; CARVALHO, M. G.; VELANDIA, J. R.; OLIVEIRA, M. C.; MOREIRA, I. C.; BRAZ-FILHO, R.; ECHEVARRIA, A. DNA topoisomerase inhibitors: biflavonoids from *Ouratea* species. **Brazilian Journal of Medicinal Biological Research**, v. 35(7), p. 819-22, 2002.

GUIDUGLI, M. C.; FERREIRA-RAMOS, R.; DE SOUSA, A. C.; CIDADE, F. W.; MARCONI, T. G.; MESTRINER, M. A.; GROppo, M.; ALZATE-MARIN, A. L. Genetic diversity of *Metrodorea nigra* (Rutaceae) from a small forest remnant in Brazil assessed with microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 9;11(1), p. 10-6, 2012.

HABARA, M.; TOKO, K. Taste Sensor. In: GRIMES, C. A.; DICKEY, E. C.; PISHKO, M. V. (Eds.). **Encyclopedia of Sensors**, v. 10, p. 107-119. California: American Scientific Publishers, 2006.

HAYASHI, N.; CHEN, R.; IKEZAKI, H.; YAMAGUCHI, S.; MARUYAMA, D.; YAMAGUCHI, Y.; UJIHARA, T.; KOHATA, K. Techniques for universal evaluation of astringency of green tea infusion by the use of a taste sensor system. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 70, p. 626–631, 2006.

HAYASHI, N.; CHEN, R.; IKEZAKI, H.; UJIHARA, T.; KITAJIMA, H.; MIZUKAMI, Y. Evaluation of astringency of black tea by a taste sensor system: Scope and limitation. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 71, p. 587-589, 2007.

HAYASHI, N.; CHEN, R.; IKEZAKI, H.; UJIHARA, T. Evaluation of the umami taste intensity of green tea by a taste sensor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 7384-7387, 2008.

HEINRICH, M.; BARNES, J.; GIBBONS, S.; WILLIAMSON, E. M. **Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy**. 2 ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2012.

HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos In: **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 3 ed. Editora UFSC, 2001. cap 29, 651p.

HEREDIA, F. P.; LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GARAULET, M. Dehydroepiandrosterone modifies rat fatty acid composition of serum and different adipose tissue depots and lowers serum insulin levels. **The Journal of Endocrinology**. v. 201(1), p. 67-74, 2009.

HERZ, W.; PILOTTI, A. M.; SODERHOLM, A. C.; SHUHAMA, I. K.; VICHNEWSKI, W. New ent-clerodane diterpenoids from *Baccharis trimera*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 42, p. 3913-7, 1997.

HOEHNE, F. C. **Plantas e suas Substâncias Tóxicas e Medicinais**. São Paulo: Graphicars, 355p, 1939.

HONÓRIO-FRANÇA, A. C.; MARINS, C. M.; BOLDRINI, F.; FRANÇA, E. L. Evaluation of hypoglycemic activity and healing of extract from amongst bark of "Quina do Cerrado" (*Strychnos pseudoquina* ST. HILL). **Acta Cirúrgica Brasileira**, Nov-Dec; v. 23(6), p. 504-10, 2008.

HORAI, H.; ARITA, M.; KANAYA, S.; NIHEI, Y.; IKEDA, T.; SUWA, K.; OJIMA, Y.; TANAKA, K.; TANAKA, S.; AOSHIMA, K.; ODA, Y.; KAKAZU, Y.; KUSANO, M.; TOHGE, T.; MATSUDA, F.; SAWADA, Y.; HIRAI, M.Y.; NAKANISHI, H.; IKEDA, K.; AKIMOTO, N.; MAOKA, T.; TAKAHASHI, H.; ARA, T.; SAKURAI, N.; SUZUKI, H.; SHIBATA, D.; NEUMANN, S.; IIDA, T.; TANAKA, K.; FUNATSU, K.; MATSUURA, F.; SOGA, T.; TAGUCHI, R.; SAITO, K.; NISHIOKA, T. Mass Bank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 45(7), p. 703-14, 2010.

HOSTANSKA, K.; MELZER, J.; ROSTOCK, M.; SUTER, A.; SALLER, R. Alteration of anti-inflammatory activity of *Harpagophytum procumbens* (devil's claw) extract after external metabolic activation with S9 mix. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66(11), p. 1606-14, 2014.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**. v. 444, p. 860-867, 2006.

HOUEL, E.; BERTANI, S.; BOURDY, G.; DEHARO, E.; JULLIAN, V.; VALENTIN, A.; CHEVALLEY, S.; STIEN, D. Quassinoid constituents of *Quassia amara* L. leaf herbal tea. Impact on its antimalarial activity and cytotoxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 29;126 (1), p. 114-8, 2009.

HUSAIN, G. M.; SINGH, P. N.; SINGH, R. K.; KUMAR, V. Antidiabetic Activity of Standardized Extract of *Quassia amara* in Nicotinamide-Streptozotocin-induced Diabetic Rats. **Phytotherapy Research**, v. 25 (12), p. 1806-12, 2011.

IWATA, S.; YOSHIDA, R.; NINOMIYA, Y. Taste transductions in taste receptor cells: basic tastes and more over. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20 (16), p. 2684-92, 2014.

JACOBS, H.; RAMDAYAL, F.; REYNOLDS, W. F. Guyanin, a novel tetranortriterpenoid. Structure elucidation by 2-D N.M.R Spectroscopy. **Tetraedron Letters**, v. 27, Issue 13, p. 1453-1456, 1986.

JANUÁRIO, A. H.; VIEIRA, P. C. V.; DA SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B.; SILVA, J. J. B.; CONSERVA, L. M. Alcaloides β -indopiridoquinazolínicos de *Esenbeckia grandiflora* MART. (RUTACEAE). **Química Nova**. v. 32, p. 2034-2038, 2000.

JANUÁRIO, A. H.; SANTOS, S. L.; MARCUSSI, S.; MAZZI, M. V.; PIETRO, R. C.; SATO, D. N.; ELLENA, J.; SAMPAIO, S. V.; FRANÇA, S. C.; SOARES, A. M. Neoclerodane diterpenoid, a new metalloprotease snake venom inhibitor from *Baccharis trimera* (Asteraceae): anti-proteolytic and anti-hemorrhagic properties. **Chemico-Biological Interactions**, v. 150(3), p. 243-51, 2004.

JESUS, N. Z. T.; LIMA, J. C. S.; SILVA, R. M.; ESPINOSA, M. M.; MARTINS, D. T. O. Levantamento etnobotânico de plantas popularmente utilizadas como antiúlceras e antiinflamatórias pela comunidade de Pirizal, Nossa Senhora do Livramento-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 130-139, Jan./Mar. 2009.

JUNG, U. J.; LEE, M. K.; PARK, Y. B.; KANG, M. A.; CHOI, M. S. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. **The International Journal Biochemistry & Cell Biology**, v. 38, n. 7, p. 1134-1145, 2006.

KAPPEL, V. D.; PEREIRA, D. F.; CAZAROLLI, L. H.; GUESSER, S. M.; SILVA, C. H. B.; SCHENKEL, E. P.; REGINATTO, F. H.; SILVA, F. R. M. B. Short and Long-Term Effects of *Baccharis articulata* on Glucose Homeostasis. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6754-6768, 2012.

KILLEEN, T.J. A checklist of the vascular plants of Parque Nacional Noel Kempff Mercado and surrounding areas. In: Killeen TJ, Schulenberg TS (Eds). **A biological assessment of Parque Nacional Noel Kempff Mercado, Bolivia**, RAP Working Papers 10, Conservation International, Washington, D.C, 1998.

KIM, M.J.; SON, H.J.; KIM, Y.; MISAKA, T.; RHYU, M. R. Umami-bitter interactions: the suppression of bitterness by umami peptides via human bitter taste receptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 456(2), p. 586-90, 2015.

KNOSS, W.; STOLTE, F. **Community Herbal Monographon *Gentian lutea* L., radix**. London: European Medicines Agency, 2009.

KOBAYASHI, S.; MURRAY, S.; WATSON, D.; SESARDIC, D.; DAVIES, D. S.; BOOBIS, A. R. The specificity of inhibition of debrisoquine 4-hydroxylase activity by quinidine and quinine is the inverse of that in man. **Biochemical Pharmacology**, v. 38, p. 2795-2799, 1989.

KOBAYASHI, Y.; HABARA, M.; IKAZAKI, H.; CHEN, R.; NAITO, Y.; TOKO, K. Advanced taste sensors based on artificial lipids with global selectivity to basic taste qualities and high correlation to sensory scores. **Sensors**, v. 10, p. 3411-3443, 2010.

KOCH, J. **Community Herbal Monographon *Artemisia Absinthium* L., herba**. London: European Medicines Agency, 2009.

KRISANAPUN, C.; LEE, S. H.; PEUNGVICHA, P.; TEMSIRIRIRKKUL, R.; BAEK, S. J. Antidiabetic activities of *Abutilon indicum* (L.) sweet are mediated by enhancement of Adipocyte differentiation and activation of the GLUT1 promoter. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, Article ID 167684, p. 1-9, 2011.

KÜÇÜKGERGIN, C.; AYDIN, A. F.; OZDEMIRLER-ERATA, G.; MEHMETÇIK, G.; KOÇAK-TOKER, N.; UYSAL, M. Effect of artichoke leaf extract on hepatic and cardiac oxidative stress in rats fed on high cholesterol diet. **Biological Trace Element Research**, v. 135, n. 1-3, p. 264-274, 2010.

KUROWSKA, E. M.; SPENCE, J. D.; JORDAN, J.; WETMORE, S.; FREEMAN, D. J.; PICHÉ, L.; SERRATORE, P. HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 5, p. 1095-1100, 2000.

KUROYANAGI, M.; FUJITA, K.; MIHOKO, K.; MATSUMOTO, S.; UENO, A.; FUKUSHIMA, S.; KATSUOKA, M. Studies on the constituents of *Baccharis genistelloides*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, p. 5075-5078, 1985.

LACHENMEIER, D. W. Assessing the authenticity of absinthe using sensory evaluation and HTPLC analysis of the bitter principle absinthin. **Food research international**, v. 40, issue 1, p. 167-175, 2007.

LAGE, P. S.; DE ANDRADE, P. H. R.; LOPES, A. S.; FUMAGALLI, M. A. C.; VALADARES, D. G.; DUARTE, M. C.; LAGE, D. P.; COSTA, L. E.; MARTINS, V. T.; RIBEIRO, T. G.; FILHO, J. D. S.; TAVARES, C. A. P.; PÁDUA, R. M. P.; LEITE, J. P. V.; COELHO, E. A. F. *Strychnos pseudoquina* and Its Purified Compounds Present an Effective In Vitro Antileishmanial Activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Article ID 304354, 9p, 2013.

LAGO, J. H. G.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; SOARES, M. G.; BARALD, P. T.; CORRÊA, A. G.; SOUZA, F. O. Composição química dos óleos essenciais das folhas e seis espécies do gênero *Baccharis* de "campos de altitude da Mata Atlântica Paulista". **Química. Nova**, v. 31, n. 4, p. 727-730, 2008.

LANGGAARD, T. J. H. **Diccionario de Medicina Domestica e Popular vols I - III**. Eduardo e Henrique Lammert, Rio de Janeiro, 1865, 733p.

LÁZARO, S. F.; FONSECA, L. D.; MARTINS, E. R.; OLIVEIRA, N. J. F.; DUARTE, E. R. Effect of aqueous extracts of *Baccharis trimeta* on development and hatching of *Rhipicephalus microplus* (Acaridae) eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 194, Issue 1, p. 79-82, 2013.

LE COINTE, P. **Amazônia brasileira**. III - Árvores e Plantas Úteis (indígenas e aclimatadas). 8 ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1947, 506p.

LEÃO, R. B. A.; FERREIRA, M. R. C.; JARDIM, M. A. G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 1, p. 21-25, 2007.

LEY, J. P. Masking Bitter Taste by Molecules. **Chemosensory Perception**. v. 1, Issue 1, p. 58-77, 2008.

LI, Y.; CHEN, X.; XUE, J.; LIU, J.; CHEN, X.; WULASIHAN, M. Flavonoids from *Coreopsis tinctoria* adjust lipid metabolism in hyperlipidemia animals by down-regulating adipose differentiation-related protein. **Lipids in Health and Disease**, v. 13, p.193, 2014.

LINDQVIST, A.; DE LA COUR, C. D.; STEGMARK, A.; HÅKANSON, R.; ERLANSON-ALBERTSSON, C. Overeating of palatable food is associated with blunted leptin and ghrelin responses. **Regulatory Peptides**, v. 130, n. 3, p. 123-32, 2005.

LOPES, I. S.; SILVA, J. E. R.; MACHADO, I. A.; SILVA, C. E. M. R.; MARINHO, M. G. V.; RANGEL, J. A. F. Levantamento de plantas medicinais utilizadas na cidade de Itapetim, Pernambuco, Brasil. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 7, n. 1, p.1983-4209, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LUYEN, N. T.; TRAM, L. H.; HANH, T. T. H.; BINH, P. T.; DANG, N. H.; MINH, C. V.; DAT, N. T. Inhibitors of α -glucosidase, α -amylase na lipase from *Chrysanthemum morifolium*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, n. 3, p. 322-325, 2013.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MADALENO, I. M. Plantas da medicina popular de São Luís, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Humanas**, Belém, v. 6, n. 2, p. 273-286, 2011.

MARCONDES, H. S. **Avaliação das atividades de *Hortia brasiliiana* Vand Ex DC. Como anti-ulcerogênica gástrica, cicatrizante e antifúngica.** Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Ouro Preto, 2012, 133p.

MARTÍNEZ, F. O.; HELMING, L.; GORDON, S. Alternative activation In of macrophages: an immunologic functional perspective. **Annual Review of Immunology**, v. 27, p. 451-83, 2009.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. 1. ed. Viçosa-MG: UFV, 1994. v. 1. 232p .

MATSUO, R. Role of saliva in the maintenance of taste sensitivity. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, v. 11(2), p. 216-29, 2000.

MATSUO, H.; HAYASHI, N.; UJIHARA, T.; FUJITA, S.; TATSUNO, T.; MITARAI, M.; GEJIMA, Y.; TOYOMITSU, Y.; KINOSHITA, O.; TANIGUCHI, T. Astringent of kamairi-cha and sen-cha. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 59, p. 6-16, 2012.

MAWE, J. 1978 [1812]. **Viagens no interior do Brasil**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP.

MBEUNKUI, F.; GRACE, M. H.; LATEGAN, C.; SMITH, P. J.; RASKIN, I.; LILA, M. A. In vitro antiplasmodial activity of indole alkaloids from the stem bark of *Geissospermum vellosii*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139(2), p. 471-477, 2012.

MCCALLEY, D. V. Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques. **Journal of chromatography A**, v. 967, p. 1-19, 2002.

MEDEIROS, M. F. T.; ALBUQUERQUE, U. P. The pharmacy of the Benedictine monks: The use of medicinal plants in Northeast Brazil during the nineteenth century (1823–1829). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 280-286, 2012.

MEDEIROS, P. M.; LADIO, A. H.; ALBUQUERQUE, U. P. Patterns of medicinal plant use by inhabitants of Brazilian urban and rural areas: A macroscale investigation based on available literature. **Journal of Ethnopharmacology**, v. (150), p. 729-746, 2013.

MELO, F. D. M.; THOMAS, G.; MUKHERJEE, R. Antidiarrhoeal activity of bisnordihydrotoxiferine isolated from the root bark of *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart. (Loganiaceae). **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 40(1), p. 79-82, 1988.

MENDES, F. R.; TABACH, R.; CARLINI, E. A. Evaluation of *Baccharis trimera* and *Davilla rugosa* in tests for adaptogen activity. **Phytotherapy Research**, v. 21(6), p. 517-22, 2007.

MESSIAS, M. C. T. B.; MENEGATTO, M. F.; PRADO, A. C. C.; SANTOS B. R.; GUIMARÃES, M. F. M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.1, p.76-104, 2015.

MEYERHOF, W. Elucidation of mammalian bitter taste. **Reviews of physiology, Biochemistry and Pharmacology.**, v. 154, p. 37-72, 2005.

MILLIKEN, W. Traditional Anti-malarial medicines in Roraima, Brazil. **Economic Botany**, v. 51(3), p. 212-237, 1997.

MILLS, S.; BONE, K. **Principles and Practice of Phytotherapy**. Modern herbal medicine. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2000.

MINIM, V.P.R.; RIBEIRO, M. M.; VIDIGAL, M. C. T. R.; SANTOS, M.M.; GONÇALVES, M. M. Água tônica: aceitação e análise tempo-intensidade do gosto amargo. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 29(3), p. 567-570, 2009.

MISHRA, K.; CHAKRABORTY, D.; PAL, A.; DEY, N. Plasmodium falciparum: in vitro interaction of quassin and neo-quassin with artesunate, a hemisuccinate derivative of artemisinin. **Experimental Parasitology**, v. 124(4), p. 421-7, 2010.

MONTEIRO, J. M.; RAMOS, M. A.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Dynamics of medicinal plants knowledge and commerce in an urban ecosystem (Pernambuco, Northeast Brazil). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 178, 179-202, 2010.

MONTELES, R.; PINHEIRO, C.U.B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v.7 (2), 2007.

MORAIS, I. C.; SILVA, L. D. G.; FERREIRA, H. D.; PAULA, J. R.; TRESVENZOL, L. M. F. Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas em Goiânia: abordagem popular (raizeiros) e abordagem científica (levantamento bibliográfico). **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 2 (1), p. 13-16, 2005.

MORAIS, L. A. S.; CASTANHA, R. F. Composição química do óleo essencial de duas amostras de carqueja (*Baccharis* sp.) coletadas em Paty do Alferes - Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 628-632, 2011.

MOREIRA, D. L.; GUARIM-NETO, G.; Usos múltiplos de plantas do cerrado: um estudo etnobotânico na comunidade sítio pindura, Rosário Oeste, Mato Grosso, Brasil. **Polibotânica**, núm. 27, pp. 159-190, ISSN 1405-2768; México, 2009.

MUÑOZ, V.; SAUVAIN, M.; BOURDY, G.; CALLAPA, J.; BERGERON, S.; ROJAS, I.; BRAVO, J. A.; BALDERRAMA, L.; ORTIZ, B.; GIMENAZ, A.; DEHARO, E. A search for natural bioactive compounds in Bolívia through a multidisciplinary approach. Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69(2), p. 127-137, 2000.

NAGEL, C. W.; HERRICK, I. W.; GRABER, W. R. Is Chlorogenic Acid Bitter? **Journal of Food Science**, v. 52, p. 213, 1987.

NEKOHASHI, M.; OGAWA, M.; OGIHARA, T.; NAKAZAWA, K.; KATO, H.; MISAKA, T.; ABE, K.; KOBAYASHI, S. Luteolin and quercetin affect the cholesterol absorption mediated by epithelial cholesterol transporter niemann-pick c1-like 1 in caco-2 cells and rats. **Plos one**, v. 9(5), e97901, 2014.

NEYRAUD, E. Role of saliva in oral food perception. **Monographs in Oral Science**. v. 24, p. 61-70, 2014.

NICOLETTI, M.; GOULART, M. O. F.; LIMA, R. A.; GOULART, A. E.; MONACHE, F. D.; BETTOLO, G. B. M. Flavonoids and Alkaloids from *Strychnos pseudoquina*. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 6, p. 953-957, 1984.

NOGUEIRA, N.P.; REIS, P.A.; LARANJA, G.A.; PINTO, A.C.; AIUB, C.A.; FELZENSZWALB, I.; PAES, M.C.; BASTOS, F.F.; BASTOS, V.L.; SABINO, K.C.; COELHO, M.G. In vitro and in vivo toxicological evaluation of extract and fractions from *Baccharis trimera* with anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 18;138 (2), p.513-22, 2011.

NOMURA, D. K.; BLANKMAN, J. L.; SIMON, G. M.; FUJIOKA, K.; ISSA, R. S.; WARD, A. M.; CRAVATT, B. F.; CASIDA, J. E. Activation of the endocannabinoid system by organophosphorus nerve agents. **Nature Chemical Biological**, v. 4, p. 373-378, 2008.

ODONNE, G.; BOURDY, G.; BEAUCHÊNE, J.; HOUËL, E.; STIEN, D.; CHEVOLOT, L.; DEHARO, E. From Tonic-cups to Bitter-cups: Kwasi bita beker from Suriname Determination, past and present use of an ancient galenic artefact. **Journal of ethnopharmacology**, v. 110(2), p. 318-22, 2007.

OHIRI, F. C.; VERPOORTE, R.; SVENDSEN, B. The African *Strychnos* species and their alkaloids. **Journal of ethnopharmacology**, v. 9, p. 167-223, 1983.

OKUNADE, A. L.; LEWIS, W. H.; ELVIN-LEWIS, M. P.; CASPER, S. J.; GOLDBERG, D. E. Cinchonidine- derived alkaloids from the bark of the Peruvian *Ladenbergia oblongifolia*. **Fitoterapia**, v. 72 (6), p. 717-9, 2001.

OKUNO, A.; TAMEMOTO, H.; TOBE, K. Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 101, p. 1354-1361, 1998.

OLIVEIRA, F. Q.; JUNQUEIRA, R. G.; STEHMANN, J. R.; BRANDÃO, M. G. L. Potencial das plantas medicinais como fonte de novos antimaláricos: espécies indicadas na bibliografia etnomédica brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, p. 23-31, 2003.

OLIVEIRA, A. C.; ENDRINGER, D. C.; AMORIM, L. A.; BRANDAO, M. G. L.; COELHO, M. M. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 1;102(3), p. 465-9. 2005.

OLIVEIRA, M. A. C.; ALBUQUERQUE, H. S. X.; STRATTMANN, R. R.; JÚNIOR, S. G.; QUEIROZ, A. T. Desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de alcaloides totais como berberina em fitoterápico contendo *Berberis vulgaris* L. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 16, n. 3, p. 357-364, 2006.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 12, n. 3, p. 282-301, 2010.

OLIVEIRA, V. B. **Potencial dos frutos de *Xylopia aromática* (Lam.) Mart. (Annonaceae) no tratamento de alterações metabólicas, induzidas por dieta em camundongos Balb/c.** Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2012. 135p.

OLIVEIRA, M. C.; MENEZES-GARCIA, Z.; HENRIQUES, M. C. C.; SORIANI, F. M.; PINHO, V.; FARIA, A. M. C.; SANTIAGO, A. F.; CARA, D. C.; SOUZA, D. G.; TEIXEIRA, M. M.; FERREIRA, A. V. M. Acute and sustained inflammation and metabolic dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. **Obesity**, v. 21 (9), 2013.

OLIVEIRA, R. N.; REHDER, V. L. G.; OLIVEIRA, A. S. S.; SIERPE JERALDO, V. L.; LINHARES, A. X.; ALLEGRETTI, S. M. Anthelmintic activity *in vitro* and *in vivo* of *Baccharis trimera*(Less) DC against immature and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Experimental Parasitology**, v. (139), p. 63-72, 2014.

OLIVIER, D. K.; VAN WYK, B. E. Bitterness values for traditional tonic plants of southern Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, 147(3):676-9, 2013.

PÁDUA, B. C.; SILVA, L. D.; ROSSONI JÚNIOR, J. V.; HUMBERTO, J. L.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; COSTA, D. C. Antioxidant properties of *Baccharis trimera* in the neutrophils of Fisher rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 16;129(3), p. 381-6, 2010.

PÁDUA, B. C.; JÚNIOR, J. V. R.; MAGALHÃES, C. L. B.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; SOUZA, G. H. B.; BRANDÃO, G. C.; RODRIGUES, I. V.; LIMA, W. G.; COSTA, D. C. Protective Effect of *Baccharis trimera* extract on acute hepatic Injury in a model of Inflammation Induced by acetaminophen. **Mediators Inflammation**, v. 2014, Article ID 196598, 14 p.

PANCHAL, S. K.; POUDYAL, H.; ARUMUGAM, T. V.; BROWN, L. Rutin attenuates metabolic changes, nonalcoholic steatohepatitis, and cardiovascular remodeling in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats. **Journal Nutrition**, v. 141, n. 6, p. 1062-1069, 2011.

PASA, M. C. Saber local e medicina popular: a etnobotânica em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Humanas**, Belém, v.6, n.1, p.179-196, 2011.

PATRIKAINEN, M.; PAN, P.; KULESSKAYA, N.; VOIKAR, V.; PARKKILA, S. The role of carbonic anhydrase VI in bitter taste perception: evidence from the Car6^{-/-} mouse model. **Journal Biomedical Science**, v. 19;21, p. 82, 2014.

PAUL, E. L.; LUNARDELLI, A.; CABERLON, E.; DE OLIVEIRA, C. B.; SANTOS, R. C.; BIOCHI, V.; BASTOS, C. M.; MOREIRA, K. B.; NUNES, F. B.; GOSMANN, G.; DE OLIVEIRA, J. R. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Baccharis trimera* aqueous extract on induced pleurisy in rats and lymphoproliferation in vitro. **Inflammation**, v. 32(6), p. 419-25, 2009.

PAULO, M. Q.; LIMA, E. O.; MAIA, R. F.; XAVIER FILHO, L. Atividade antimicrobiana do óleo dos frutos de *Ouratea parviflora* Baill(Ocnaceae). **Centro de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 8, p. 1921, 1986.

PECKOLT, W. L. **Monografia das falsas quininas brasileiras**. Thesis. Rio de Janeiro, 1916, 255p.

PEREIRA, D. F.; CAZAROLLI, L. H.; LAVADO, C.; MENGATTO, V.; FIGUEIREDO, M. S. R. B.; GUEDES, A.; PIZZOLATTI, M. G.; SILVA, F. R. M. B. Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition**, v. 27, n. 11-12, p. 1161-1167, 2011.

PEREIRA, F.L. **Potencial das raízes de *Smilax brasiliensis* Spreng. (Smilacaceae) e *Herreria salsaparilha* Mart. (Agavaceae) no tratamento de alterações metabólicas, induzidas por dieta em camundongos Balb/c**. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2013, 96p.

PETERSON, J.; DWYER, M. S. J. Flavonoids: Dietary occurrences and biochemical activity. **Nutrition Research**, v. 18, p. 1995-2018, 1998.

PHILIPPE, G.; ANGENOT, L.; TITS, M.; FREDERICH, M. About the toxicity of some *Strychnos* species and their alkaloids. **Toxicon**, v. 44, p. 405-416, 2004.

PINTO, J. A. **Dicionário de Botânica Brasileira ou Compêndio dos Vegetais do Brasil, tanto indígenas quanto aclimatados**. Typographia Perseverança, Rio de Janeiro, 1873, 498p.

POHL, J. E. **Viagem ao interior do Brasil**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, 1976 [1832].

POWELL, K. Obesity: the two faces of fat. **Nature**, v. 447, p. 525-527, 2007.

PRASAD, R.; KATIYAR, S. K. Polyphenols from green tea inhibit the growth of melanoma cells through inhibition of class I histone deacetylases and induction of DNA damage. **Genes & Cancer**, v. 6(1-2), p. 49-61, 2015.

PYDI, S. P.; BHULLAR, R. P.; CHELIKANI, P. Constitutive activity of bitter taste receptors (T2Rs). **Advances in Pharmacology**, v. 70, p.303-26, 2014.
QUEIROZ, J. C. F.; ALONSO-VALE, M. I. C.; CURI, R.; LIMA, F. B. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 582-594, 2009.

RAJI, Y.; OLOYEDE, G. K. Antiulcerogenic effects and possible mechanism of action of *Quassia Amara* (L. Simaroubaceae) extract and Its bioactive principles in rats. **African Journal of Traditional, Complement and Alternative Medicines**, v. 9(1), p. 112-119, 2012.

RAZAVI, S. M.; ZAHRI, S.; ZARRINI, G.; NAZEMIYEH, H.; MOHAMMADI, S. Biological activity of quercetin-3-O-glucoside, a known plant flavonoid. **Bioorganicheskaiia Khimiia**, v. 35, p. 376-378, 2009.

REDONDO, N., GÓMEZ-MARTÍNEZ, S., ASCENSIÓN, M. Sensory attributes of soft drinks and their influence on consumers' preferences. **Food & Function**, v. 5(8), p. 1686-94, 2014.

REN, N.; KAPLAN, R.; HERNANDEZ, M.; CHENG, K.; JIN, L.; TAGGART, A. K. P.; ZHU, A. Y.; GAN, X.; WRIGHT, S. D.; CAI, T.Q. Phenolic acids suppress adipocyte lipolysis via activation of the nicotinic acid receptor GPR109A (HM74a/PUMA-G). **Journal of Lipid Research**, v. 50, n. 5, p. 908-914, 2009.

RIBEIRO, D. A.; DE OLIVEIRA, L. G. S.; MACÊDO, D. G.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; SILVA, M. A. P.; LACERDA, S. R.; SOUZA, M. M. A. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, p. 1522-1533, 2014.

RIBEIRO, D. A.; MACÊDO, D. G.; OLIVEIRA, L. G. S.; SARAIVA, M. E.; OLIVEIRA, S. F.; SOUZA, M. M. A.; MENEZES, I. R. A. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n. 4, p. 912-930, 2014.

RICKMAN, C.; IYER, A.; CHAN, V.; BROWN, L. Green Tea Attenuates Cardiovascular Remodeling and Metabolic Symptoms in High Carbohydrate-Fed Rats. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 11, n. 8, p. 881-886, 2010.

RIZZINI, C.T; MORS, W.B. **Botânica econômica brasileira**. EPUSP, São Paulo. 1976, 207p.

ROCHA, I. F., BOLINI, H. M. Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance. **Food science & nutrition**, v. 3(2), p. 129-39, 2015.

RODRIGUES, C. R.; DIAS, J. H.; MELO, R. N.; RICHER, M. F.; PICADA, J. N.; FERRAZ, A. B. Genotoxic and antigenotoxic properties of *Baccharis trimera* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 17;125(1), p. 97-101, 2009.

RODRIGUEZ, M. V.; SORTINO, M. A.; IVANCOVICH, J. J.; PELLEGRINO, J. M.; FAVIER, L. S.; RAIMONDI, M. P.; GATTUSO, M. A.; ZACCHINO, S. A. Detection of synergistic combinations of *Baccharis* extracts with Terbinafine against *richophyton rubrum* with high throughput screening synergy assay (HTSS) followed by 3D graphs. Behavior of some of their components. **Phytomedicine**, v. 20, Issue 13-15, p. 1230-1239, 2013.

ROLAND, W. S.; VAN BUREN, L.; GRUPPEN, H.; DRIESSE, M.; GOUKA, R. J.; SMIT, G.; VINCKEN, J. P.; Bitter taste receptor activation by flavonoids and isoflavonoids: modeled structural requirements for activation of hTAS2R14 and hTAS2R39. **Journal of agricultura and food chemistry**, 2013 Nov 6; v. 61 (44), p. 10454-66.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.1, p.31-42, 2010.

ROY, A.; SARAF, S. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 29(2), p. 191-201, 2006.

ROZA, J. M.; ZHENG XIAN-LIU, Z.; GUTHRIE, N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects. **Alternative therapies in health and medicine**, v. 13, n. 6, p. 44-48, 2007.

RUIZ-MESIA, L.; RUIZ-MESÍA, W.; REINA, M.; MARTÍNEZ-DIAZ, R.; GUADAÑO, A.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Bioactive cinchona alkaloids from *Remijia peruviana*. **Journal of Agricultura and Food Chemistry**, v. 23;53(6), p. 1921-6, 2005.

SAINT-HILAIRE, A. **Viagem pelo distrito dos diamantes e litoral do Brasil**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, 1975a [1830].

SAINT-HILAIRE, A. **Viagem às nascentes do Rio São Francisco**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, 1975b [1830].

SAINT-HILAIRE, A. **Viagem ao Espírito Santo e Rio Doce**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, 1975c [1830].

SAINT-HILAIRE, A. **Viagem pelas províncias do Rio de Janeiro e Minas Gerais**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, 1975d [1830].

SAINT-HILAIRE, A. **Segunda Viagem do Rio de Janeiro a Minas Gerais e São Paulo**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, 1974 [1822].

SAINT-HILAIRE, A. **Plantes Usuelles des Brasiiliens**. Paris: Grimbert Libraire, 1824a.

SAINT-HILAIRE, A. **Histoire des Plantes les plus remarquables du Brésil et Du Paraguay**. Chez A. Berlin, Paris: Imprimeur Libraire, 1824b.

SANTOS, F. V.; COLUS, I. M.; SILVA, M. A.; VILEGAS, W.; VARANDA, E. A. Assessment of DNA damage by extracts and fractions of *Strychnos pseudoquina*, a Brazilian medicinal plant with antiulcerogenic activity. **Food and Chemical Toxicology**, Sep; v. 44(9), p. 1585-9, 2006.

SCHLEENBECKER, R., HAMM, U. Consumers' perception of organic product characteristics. A review. **Appetite**, v. 71, p.420-9, 2013.

SEVERINO, V. G. P. **Estudo fitoquímico e avaliação do potencial antimicrobiano de espécies de Hortia (Rutaceae): *H. oreadica*, *H. brasiliensis*, *H. superba***. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 2008, 191p.

SEVERINO, V. G. P.; CAZAL, C. M.; FORIM, M. R.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C. Isolation of secondary metabolites from *Hortia oreadica* (Rutaceae) leaves through high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1216(19), p. 4275-81, 2009.

SIGAUD, J. F. X. **Do Clima e das doenças do Brasil ou estatística médica deste império**, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2009, 424 p.

SILVA, D. B. **Diários de Langsdorff**. Rio de Janeiro: Editora da FIOCRUZ, 1997.

SILVA, M. A.; RAFACHO, B. P.; HIRUMA-LIMA, C. A.; DA ROCHA, L. R.; DOS SANTOS, L. C.; SANNOMIYA, M.; SOUZA-BRITO, A. R.; VILEGAS, W. Evaluation of *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil. leaves extract on gastrointestinal activity in mice. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 53(8), p. 881-5, 2005.

SILVA, F. G.; OLIVEIRA, C. B. A.; PINTO, J. E. B. P.; NASCIMENTO, V. E.; SUZANA C.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Seasonal variability in the essential oils of wild and cultivated *Baccharis trimera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18, n. 5, p. 990-997, 2007.

SILVA, P. H. A.; FARIA, F.C. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 902-906, 2008.

SILVA, M. A. B.; MELO, L. V. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SILVA, R. M. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20(4), p. 549-562, Ago./Set. 2010.

SILVA, W. A.; FAGUNDES, N. C. A.; COUTINHO, C. A.; SOARES, A. C. M.; CAMPOS, P. V.; FIGUEIREDO, L. S. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de São João da Ponte-MG. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 1, p. 1983-4209, 2012.

SILVA, C. G.; MARINHO, M. G. V.; LUCENA, M. F. A.; COSTA, J. G. M. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.

SIMÕES-PIRES, C. A.; QUEIROZ, E. F.; HENRIQUES, A. T.; HOSTETTMANN, K. Isolation and on-line identification of anti-oxidant compounds from three *Baccharis* species by HPLC-UV-MS/MS with post-column derivatisation. **Phytochemical Analysis**, n. 16(5), p. 307-314, 2005.

SIQUEIRA, J. C. **Plantas Medicinais: identificação e usos das espécies dos cerrados**. 1ª Ed. São Paulo: Edições Loyola, 1998, 40 p.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterisation of flavonoids from *Bhaccharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Médica**, v. 53(1), p. 37-9, 1987.

SOLDÁN, C. H. P. **La introduccion de la quina em terapêutica**. Mexico: Companhia General Editora, 1941, 156p.

SOMAVILLA, N. S.; COSENZA, G. P; FAGG, C. W; BRANDÃO, M .G. L. Morpho-anatomy and chemical profile of native species used as substitutes of quina (*Cinchona* spp.) in Brazilian traditional medicine. Part I: *Polyouratea hexasperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, Issue 4, p. 592-599, 2013.

SOTILLO, R. D. V.; HADLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 12, p. 717-726, 2002.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta botânica brasílica**, v. 20, n. 1, p. 135-142. 2006.

SOUZA, R. K. D.; DA SILVA, M. A. P.; MENEZES, I. R. A.; RIBEIRO, D. A.; BEZERRA, L. R.; SOUZA, M. M. A. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. (157), p. 99-104, 2014.

SPEAKMAN, J.; HAMBLY, C.; MITCHELL, S.; KRÓL, E. Animal models of obesity. **Obesity reviews**, v. 8, suppl. 1, p. 55-61, 2007.

SPIX, J. B., VON MARTIUS, K. F. P. **Viagem pelo Brasil (Travel in Brazil) 1817 – 1820**. Belo Horizonte: Itatiaia; São Paulo: EDUSP, v. 1-3, 1981.

SREEVIDYA N., MEHROTRA S. Spectrophotometric method for estimation of alkaloids precipitable with Dragendorff's reagent in plant materials. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 1124-1127, 2003.

STEFEK, M. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 4, n. 2, p. 69-77, 2011.

SUAREZ, L. E. C.; MENICHINI, F.; MONACHE, F. D. Tetranortriterpenoids and Dihydrocinnamic Acid Derivatives from *Hortia colombiana*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 3, p. 339-344, 2002.

SUTTISRI, R.; KINGHORN, A. D.; WRIGHT, A. D.; OTTO, S. Neo-clerodane diterpenoids and other constituents from *Baccharis genistelloides*. **Phytochemistry**, v. 35, p. 446-446, 1994.

TADA, A.; SUGIMOTO, N.; SATO, K.; AKIYAMA, T.; ASSANOMA, M.; YUM, Y. S.; YAMAZAKI, T.; TANAMOTO, K. Examination of original plant of Jamaica quassia extract, a natural bittering agent, based on composition of the constituents. **Shokuhin Eiseigaku Zasshi**, v. 50(1), p. 16-21, 2009.

TALPUR, N.; ECHARD, B.; INGRAM, C.; BAGCHI, D.; PREUSS, H. Effects of novel formulation of essential oils on glucose-insulin metabolism in diabetic and hypertensive rats: a pilot study. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 7, p. 193-199, 2005.

TAPAS, A. R.; SAKARKAR, D. M.; KAKDE, R. B. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1089-1099, 2008.

TEPPEMAN, B. L.; BROWN, J. F.; HANSON, P. J.; WHITTLE, B. J. R.; MONCADA, S. Differential distribution of nitric oxide synthase between cell fractions isolated from the rat gastric mucosa. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 184, Issue 2, 30, p. 680-685, 1992.

TOMA, W.; GRACIOSO, J. S.; DE ANDRADE, F. D.; HIRUMA-LIMA, C. A.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A. R. Antiulcerogenic activity of four extracts obtained from the bark wood of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 25(9), p. 1151-5, 2002.

TORRES, L. M.; GAMBERINI, M. T.; ROQUE, N. F.; LIMA-LANDMAN, M. T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A. J. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle. **Phytochemistry**, n. 55(6), p. 617-9, 2000.

TRANI, M.; CARBONETTI, A.; DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F. Dihydrochalcones and coumarins of *Esenbeckia grandiflora* subsp. *brevipetiolata*. **Fitoterapia**, v. 75, p. 99-102, 2004.

TRESVENZOL, L. M.; PAULA, J. R.; RICARDO, A. F.; FERREIRA, H. D.; ZATTA, D. T. 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.

UEMURA, T.; GOTO, T.; KANG, M. S.; MIZOGUCHI, N.; HIRAI, S.; LEE, J. Y.; NAKANO, Y.; SHONO, J.; HOSHINOS; TAKETANI, K.; TSUGE, N.; NARUKAMI, T.; MAKISHIMA, M.; TAKAHASHI, N.; KAWAD, T. Diosgenin, the Main Aglycon of Fenugreek, Inhibits LXRA Activity in HepG2 Cells and Decreases Plasma and Hepatic Triglycerides in Obese Diabetic Mice. **Journal of Nutrition**, v. 141(1), p. 17-23, 2011.

UMAR, A.; ISKANDAR, G.; AIKEMU, A.; YIMING, W.; ZHOU, W.; BERKÉ, B.; BEGAUD, B.; MOORE, N. Effects of *Cydonia oblonga* Miller leaf and fruit flavonoids on blood lipids and anti-oxydant potential in hyperlipidemia rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 169, p. 239-243, 2015.

VALADARES, Y. M.; OLIVEIRA, A. B.; CÔRTEZ, S. F.; LOMBARDI, J. A.; BRAGA, F. C. Atividade vasodilatadora *in vitro* de espécies de *Ouratea* (Ochinaceae) e de frações de *Ouratea semiserrata* (MArt) Engl. **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 39, n. 1, 2003.

VALE, F. F.; OLEASTRO, M. Overview of the phytomedicine approaches against *Helicobacter pylori*. **World Journal Gastroenterology**, v. 20(19), p. 5594-5609, 2014.

VALLI, E., BENDINI, A., POPP, M., BONGARTZ, A. Sensory analysis and consumer acceptance of 140 high-quality extra virgin olive oils. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 94(10), p. 2124-32, 2014.

VELLOZO, F. M. C. **Quinographia Portugueza**. Ou Coleção de várias memórias sobre 22 espécies de quinas tendentes ao seu descobrimento nos vastos domínios do Brazil. Lisboa: Impressora da Santa Igreja Patriarcal, 1799, 186p.

VELOSO, C. C.; DE OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, C. C.; RODRIGUES, V. G.; GIUSTI-PAIVA, A.; TEIXEIRA, M. M.; DUARTE, I. D.; FERREIRA, A. V.; PEREZ, A. C. Hydroethanolic extract of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers flowers improves inflammatory and metabolic dysfunction induced by high-refined carbohydrate diet. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151(1), p. 722-8, 2014.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae); aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, n. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

VIGNERON, M.; DEPARIS, X.; DEHARO, E.; BOURDY, G. Antimalarial remedies in French Guiana: a knowledge attitudes and practices study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, 98 (3), p. 351-60, 2005.

VISAVADIYA, N. P.; NARASIMHACHARYA, A. V. R. L. Asparagus Root Regulates Cholesterol Metabolism and Improve Antioxidant Statusin Hypercholesteremic Rats. **Evidence-base Complementary Alternative Medicine**, v. 6, n. 2, p. 219-226, 2009.

VON MARTIUS, C. F. P. **Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis**. Lipsiae, 1843.

WAGNER, H.; WIESENAUER, M. **Phytotherapie: Phytopharmaka und pflanzliche Homöopathika**. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1995.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**. A thin Layer Chromatography Atlas. Berlin: Springer-Verlag; Heilderberg, 1996, 348p.

WAKI, H.; TONTONNOZ, P. Endocrine functions of adipose tissue. **Annual Reviews Pathology**, v. 2, p. 31-56, 2007.

WASICK, R. **O problema da quina e de seus alcaloides no Brasil**. Anais da Associação Química do Brasil, 3 (1), p. 44-59, 1944.

WATERMAN, P. G. The chemical systematic of alkaloids: a review emphasizing the contribution of Robert Hegnauer. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, p. 395-406, 1999.

WEISS, R. F. **Herbal Medicine**, 6ed. Gothenburg: AB Arcanum, 1988.

WHITTLE, B. J. R. Pharmacological manipulation of vasoactive mediators in gastric damage and protection. **European Journal of Pharmacology**, v. 183, Issue 1, p. 127-128, 1990.

WILCOX, L. J.; BORRADAILE, N. M.; DE DREU, L. E.; HUFF, M. W. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids, naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **Journal of Lipid Research**, v. 42(5), p. 725-34, 2001.

WOISKY, R. G. **Métodos de controle químico de amostras de própolis**. Tese de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, para a obtenção do grau de Mestre em Fármacos de Medicamentos, 1996, 74p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials**. Geneva, p. 38-40, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world medicines situation**. Traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO, 2011, 12p.

WU, C. H.; WU, C. F.; HUANG, H. W.; JAO, Y. C.; YEN, G. C. Naturally occurring flavonoids attenuate high glucose-induced expression of proinflammatory cytokines in human monocytic THP-1 cells. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, n. 8, p. 984-995, 2009.

YUGARANI, T.; TAN, B. K. H.; TEH, M.; DAS, N. P. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. **Lipids**, v. 27, n. 3, p. 265-290, 1992.

ZAFRA, M. A.; MOLINA, F.; PUERTO, A. Theneural/cephalic phase reflexes in the physiology of nutrition. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 30, p. 1032-1044, 2006.

ZDERO, C.; BOHLMANN, F. E.; NIEMEYER, H. M. An unusual dimeric sesquiterpene and other constituents from Chilean *Baccharis species*. **Phytochemistry**, n. 30, p. 1597-1601, 1991.

ZHENG, X.; SHAO, C.; JIANG, L.; OUYANG, K.; CAI, S. The effects of rutin on blood sugar and lipid metabolism disorders in diet-induced obese rats. **West China Journal of Pharmaceutical Science**, v. 2, 2005.

ZHU, J. X.; WANG, Y.; KONG, L. D.; YANG, C.; ZHANG, X. Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents, quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 1, p. 133-140, 2004.

ZYGMUNT, K.; FAUBERT, B.; MacNEIL, J.; TSIANI, E. Naringenin, a citrus flavonoid, increases muscle cell glucose uptake via AMPK. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 398, p. 178-183, 2010.

8 ANEXOS

8.1.1 Pesquisa de ácidos orgânicos, flavonoides e polifenóis por CCD

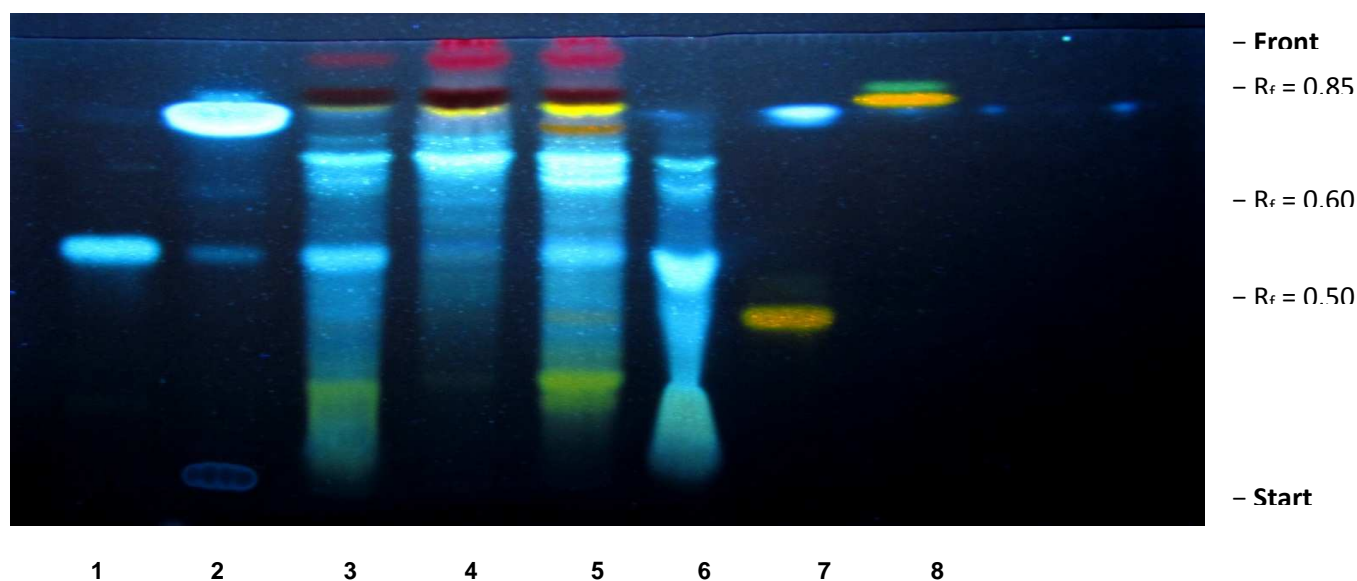


Figura 47: CCD para identificação de flavonoides em *B. trimera*. Padrões de ácido clorogênico (1), ácido cafeico (2), rutina (7) e quercetina (8). Extrato bruto das caules aladoss de *B. trimera*, **EBCarq (3)**; e frações Acetato de etila **FACETCarq (4)**; n-butanol, **FABUTCarq (5)** e aquosa, **FACarq (6)**. Eluente, acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:20:15); revelador, difenilboratoetilamina a 1% em metanol (NP) seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% em etanol (PEG); visualização, luz ultravioleta a 365 nm.

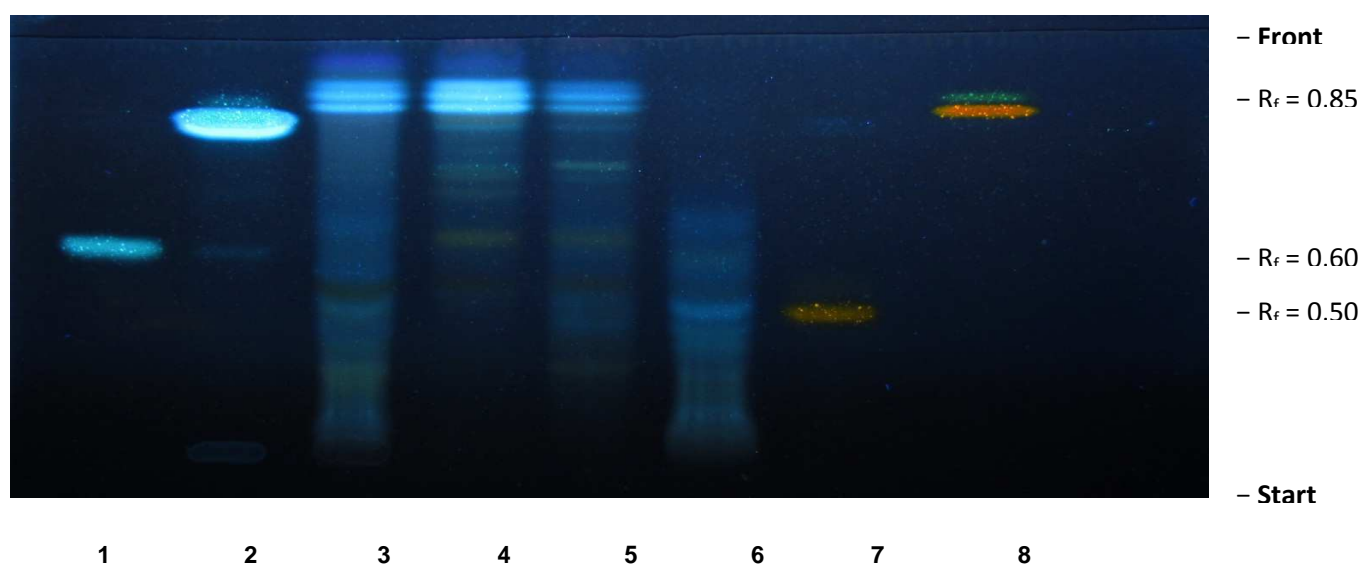


Figura 48: CCD para identificação de flavonoides em *E. febrifuga*. Padrões de ácido clorogênico (1), ácido cafeico (2), rutina (7) e quercetina (8). Extrato bruto das cascas de *E. febrifuga*, **EBEse (3)**; e frações Acetato de etila **FACETEse (4)**; n-butanol, **FABUTEse (5)** e aquosa, **FAEse (6)**. Eluente, acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:20:15); revelador, difenilboratoetilamina a 1% em metanol (NP) seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% em etanol (PEG); visualização, luz ultravioleta a 365 nm.

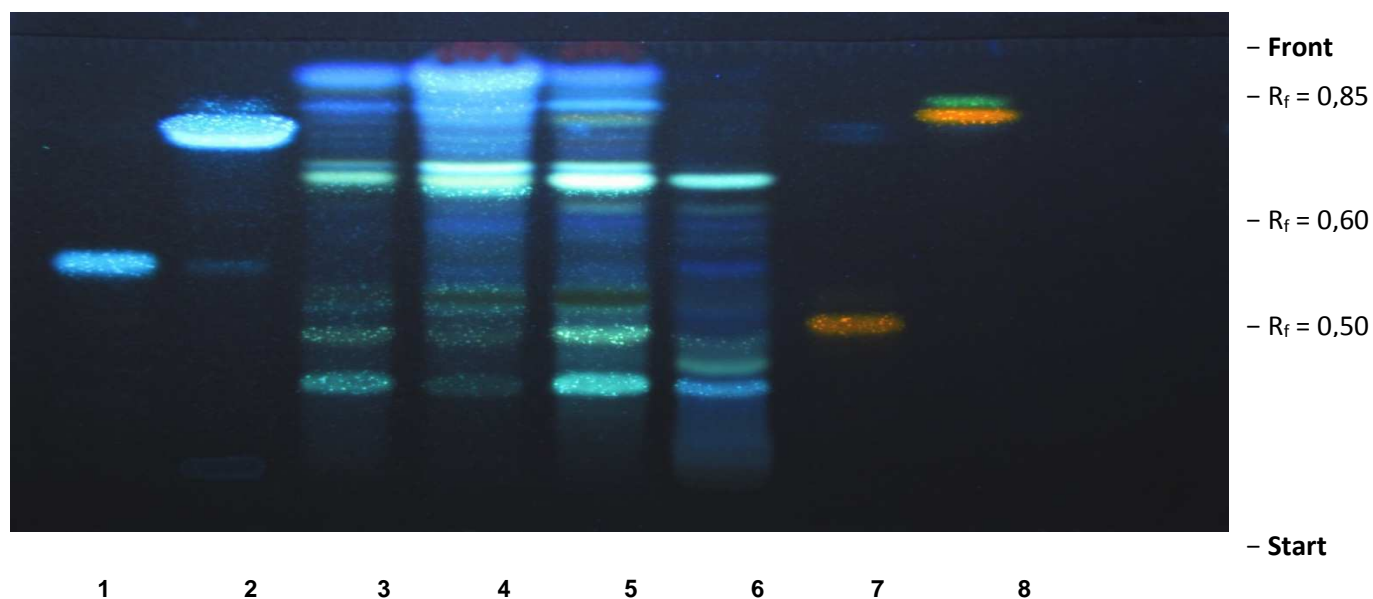


Figura 49: CCD para identificação de flavonoides em *H. brasiliiana*. Padrões de ácido clorogênico (1), ácido cafeico (2), rutina (7) e quercetina (8). Extrato bruto das cascas de *H. brasiliiana*, **EBHort (3)**; e frações Acetato de etila **FACETHort (4)**; n-butanol, **FABUTHort (5)** e aquosa, **FAHort (6)**. Eluente, acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:20:15); revelador, difenilboratoetilamina a 1% em metanol (NP) seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% em etanol (PEG); visualização, luz ultravioleta a 365 nm.

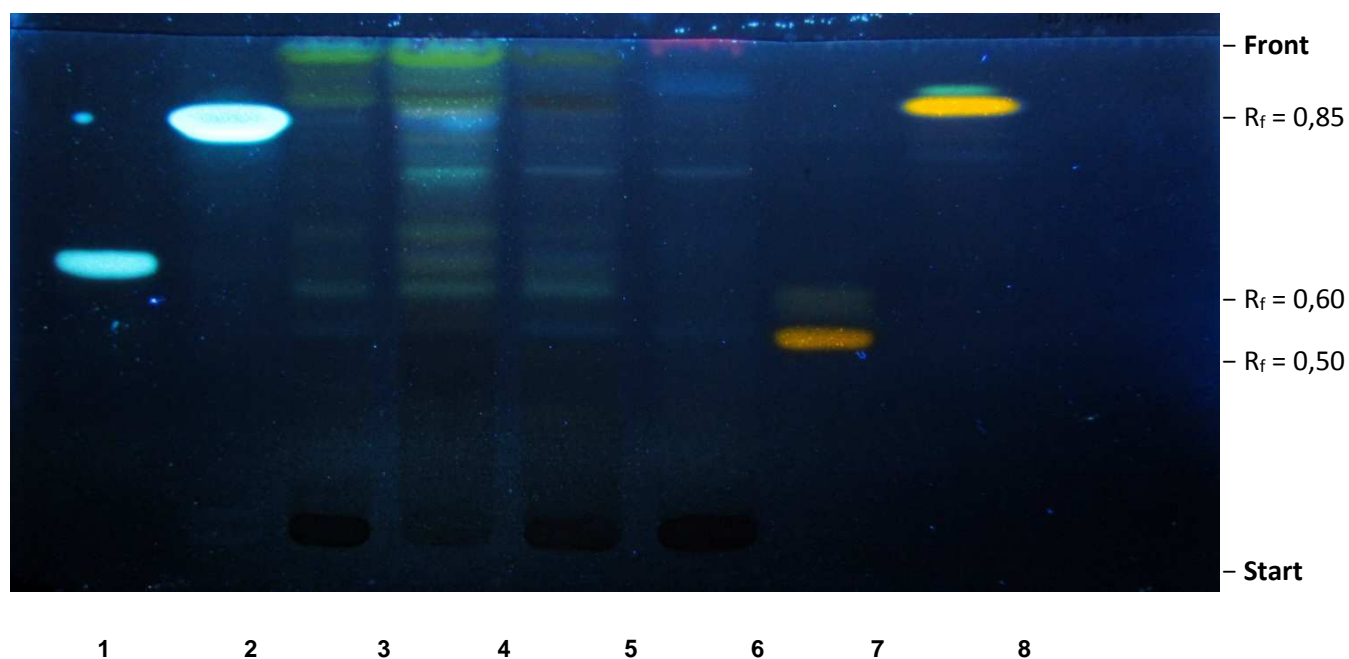


Figura 50: CCD para identificação de flavonoides em *P. hexasperma*. Padrões de ácido clorogênico (1), ácido cafeico (2), rutina (7) e quercetina (8). Extrato bruto das cascas de *P. hexasperma*, **EBPol (3)**; e frações Acetato de etila **FACETPol (4)**; n-butanol, **FABUTPol (5)** e aquosa, **FAPol (6)**. Eluente, acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:20:15); revelador, difenilboratoetilamina a 1% em metanol (NP) seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% em etanol (PEG); visualização, luz ultravioleta a 365 nm.

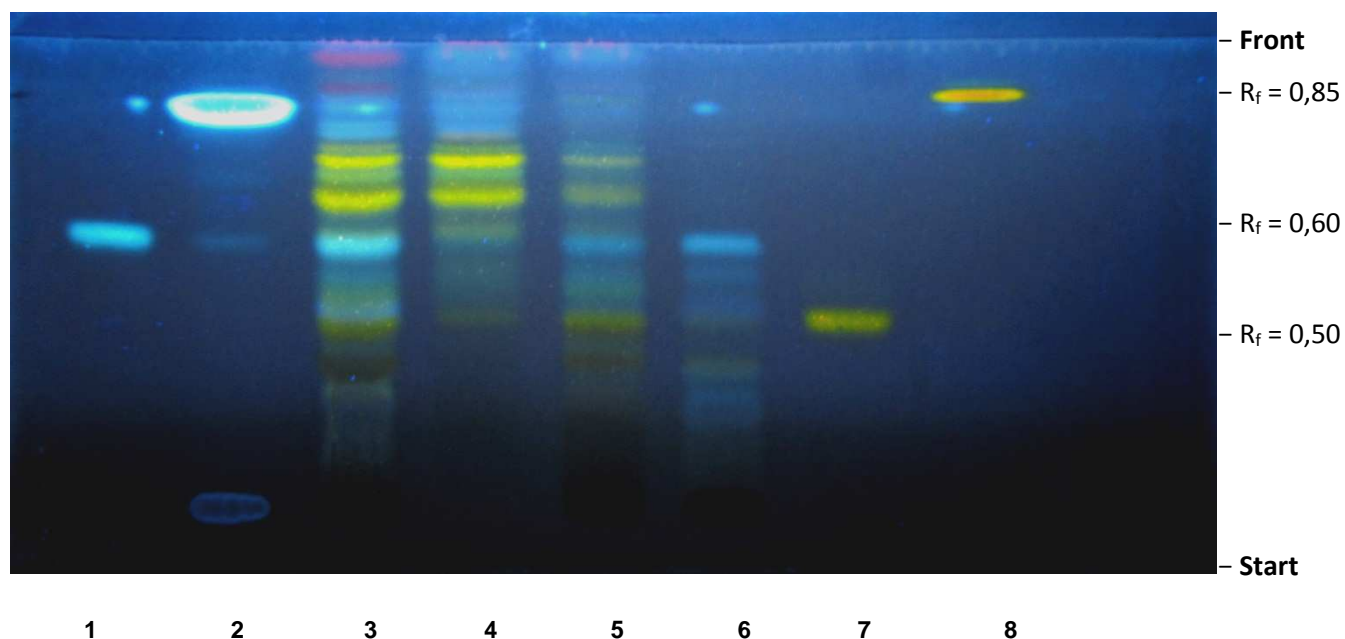


Figura 51: CCD para identificação de flavonoides em *R. ferruginea*. Padrões de ácido clorogênico (1), ácido cafeico (2), rutina (7) e quercetina (8). Extrato bruto das cascas de *R. ferruginea*, **EBQm (3)**; e frações Acetato de etila **FACETQm (4)**; n-butanol, **FABUTQm (5)** e aquosa, **FAQm (6)**. Eluente, acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:20:15); revelador, difenilboratoetilamina a 1% em metanol (NP) seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% em etanol (PEG); visualização, luz ultravioleta a 365 nm.

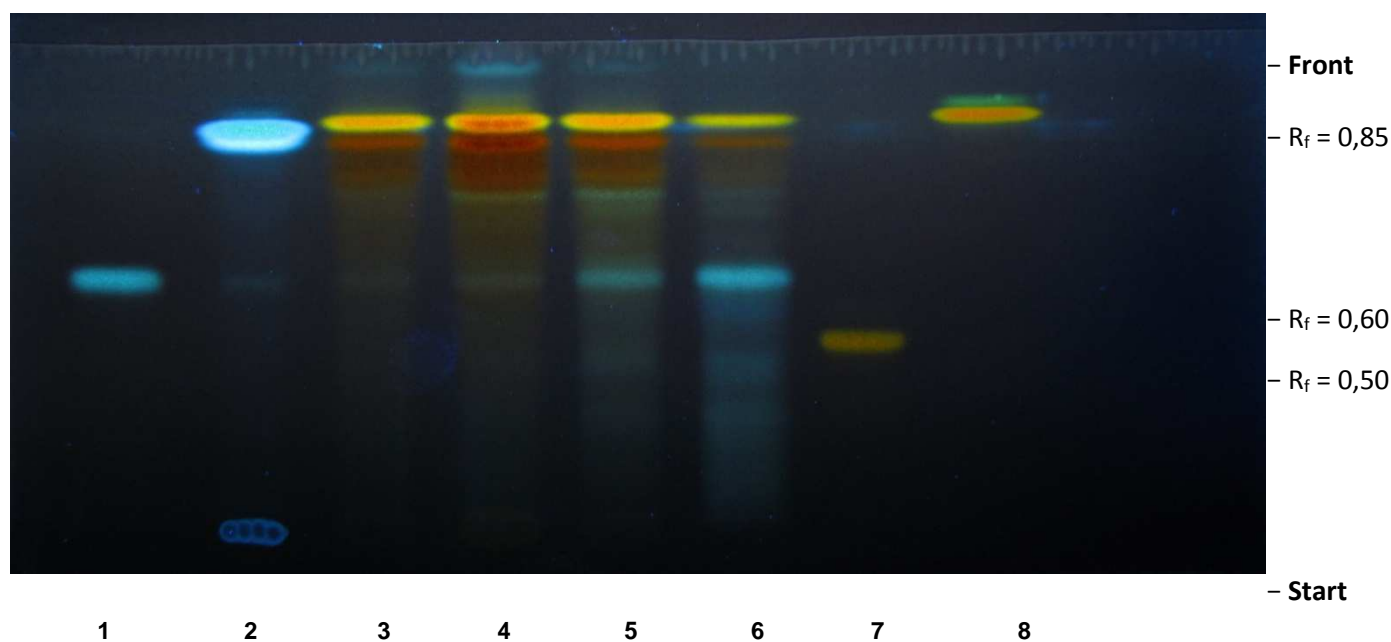


Figura 52: CCD para identificação de flavonoides em *S. pseudoquina*. Padrões de ácido clorogênico (1), ácido cafeico (2), rutina (7) e quercetina (8). Extrato bruto das cascas de *S. pseudoquina*, **EBSpq (3)**; e frações Acetato de etila **FACETSpq (4)**; n-butanol, **FABUTSpq (5)** e aquosa, **FASpq (6)**. Eluente, acetato de etila: tolueno: ácido fórmico: água (60:20:20:15); revelador, difenilboratoetilamina a 1% em metanol (NP) seguido de polietilenoglicol 4000 a 5% em etanol (PEG); visualização, luz ultravioleta a 365 nm

8.1.2 Pesquisa de alcaloides por CCD

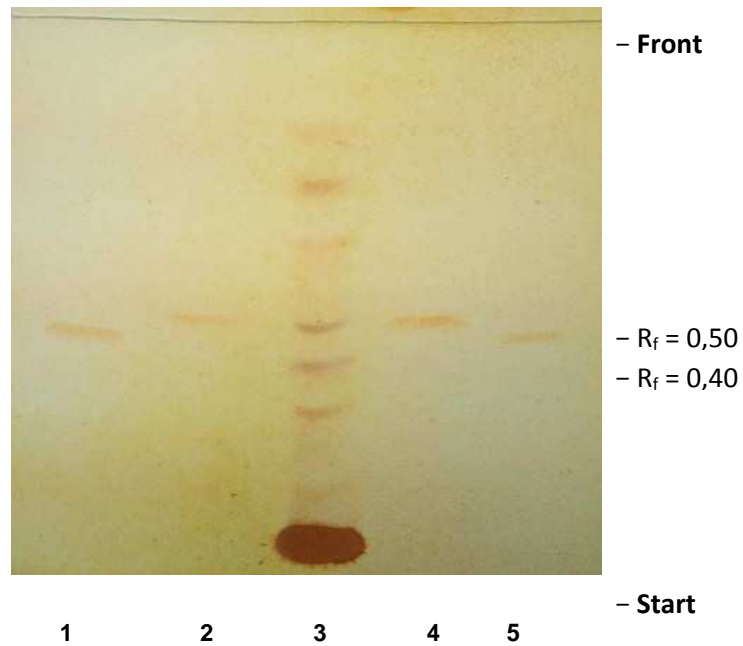


Figura 53: CCD para identificação de alcaloides em *E. febrifuga*. Padrões de quinino (1), quinidina (2), cinchonina (4) e cinchonidina (5). Fração purificada de alcaloides das cascas de *E. febrifuga* **FALCEse**(3). Eluente, a: tolueno: metanol: dietilamina (80:10:10); revelador, reagente de Dragendorff seguido de solução aquosa de nitrito de sódio 10%; visualização em no visível.

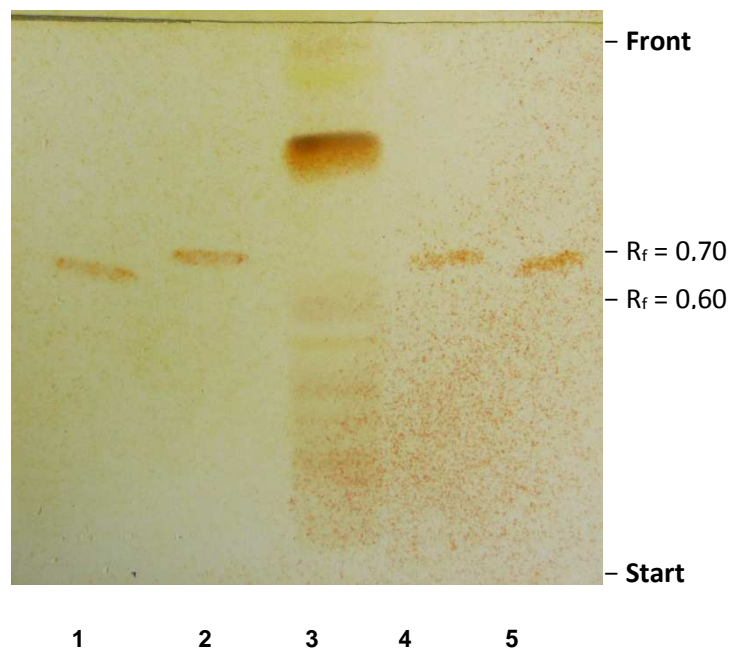


Figura 54: CCD para identificação de alcaloides em *H. brasiliiana*. Padrões de quinino (1), quinidina (2), cinchonina (4) e cinchonidina (5). Fração purificada de alcaloides das cascas de *H. brasiliiana*, **FALCHort** (3). Eluente, a: tolueno: metanol: dietilamina (80:10:10); revelador, reagente de Dragendorff seguido de solução aquosa de nitrito de sódio 10%; visualização em no visível

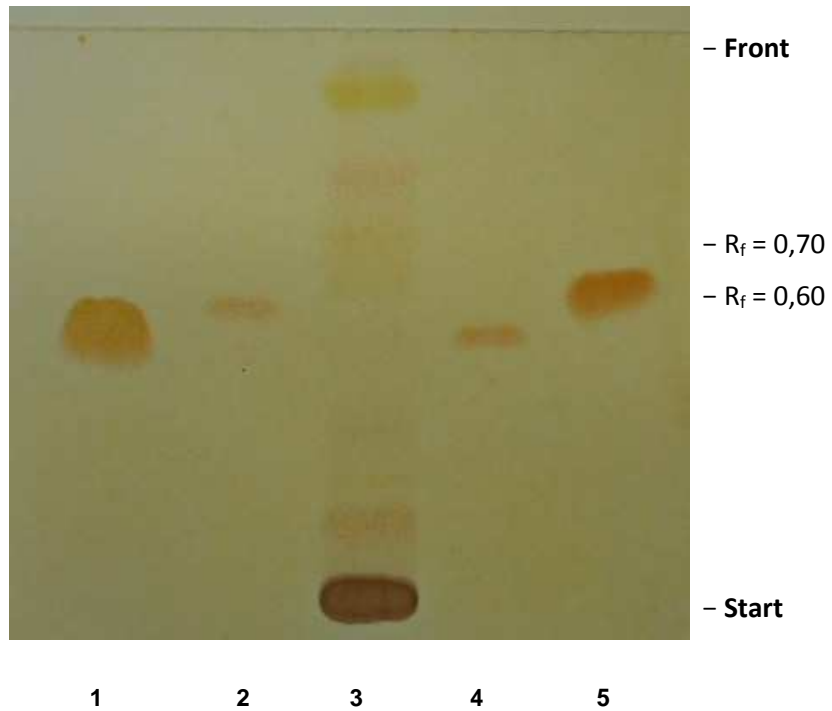


Figura 55: CCD para identificação de alcaloides em *P.hexasperma*. Padrões de quinino (1), quinidina (2), cinchonina (4) e cinchonidina (5). Fração purificada de alcaloides das cascas de *P.hexasperma*, FALC Pol (3). Eluente, a: tolueno: metanol: dietilamina (80:10:10); revelador, reagente de Dragendorff seguido de solução aquosa de nitrito de sódio 10%; visualização em no visível

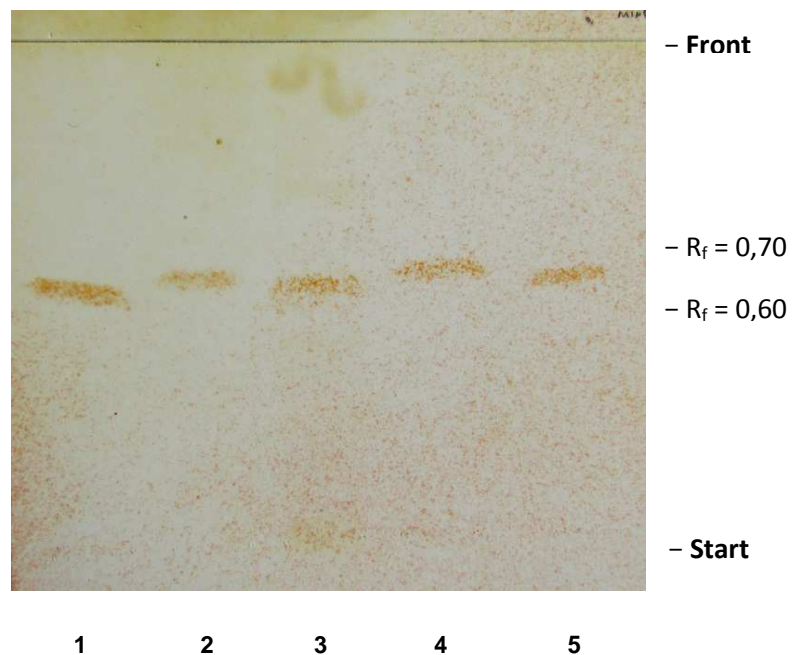


Figura 56: CCD para identificação de alcaloides em *R.ferruginea*. Padrões de quinino (1), quinidina (2), cinchonina (4) e cinchonidina (5). Fração purificada de alcaloides das cascas de *R.ferruginea*, FALCRm (3). Eluente, a: tolueno: metanol: dietilamina (80:10:10); revelador, reagente de Dragendorff seguido de solução aquosa de nitrito de sódio 10%; visualização em no visível

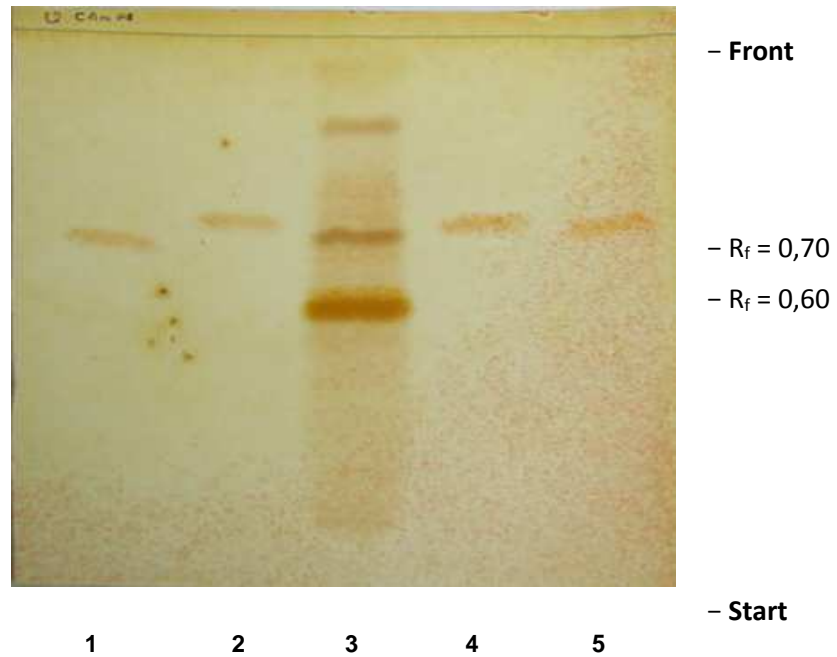


Figura 57: CCD para identificação de alcaloides em *S. pseudoquina*. Padrões de quinino (1), quinidina (2), cinchonina (4) e cinchonidina (5). Fração purificada de alcaloides das cascas de *S. pseudoquina*, **FALCSpq** (3). Eluente, a: tolueno: metanol: dietilamina (80:10:10); revelador, reagente de Dragendorff seguido de solução aquosa de nitrito de sódio 10%; visualização em no visível.

8.1.3 Pesquisa de polifenóis/taninos por CCD

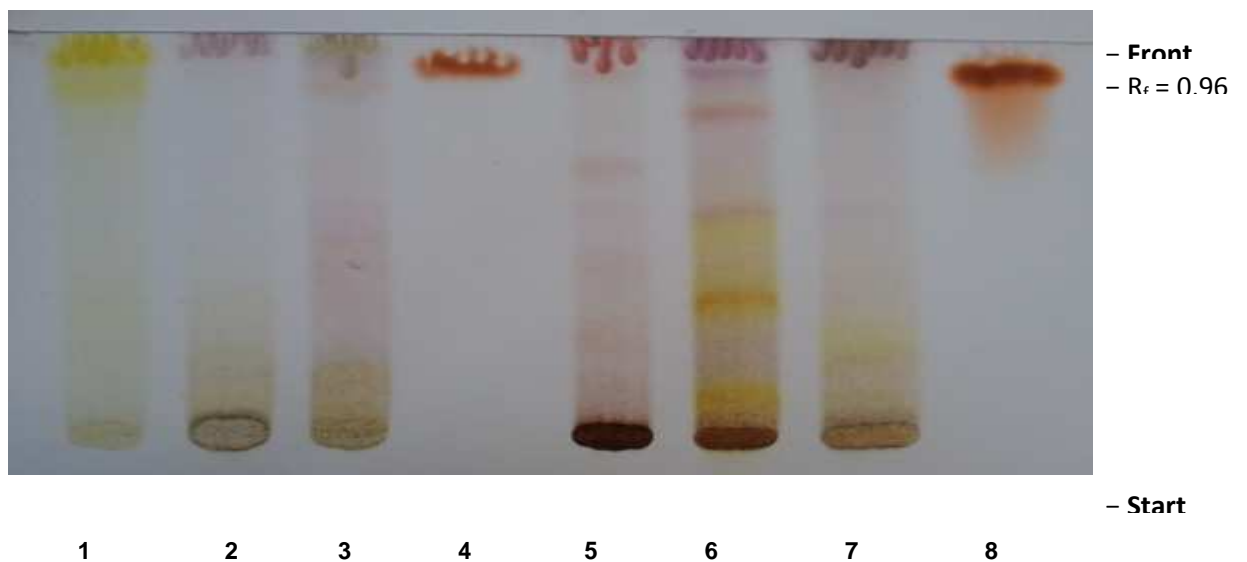


Figura 58: CCD para identificação de taninos em extratos brutos das drogas vegetais. Extrato bruto de *S. pseudoquina*, **EBSpq** (1), Extrato bruto de *H. brasiliiana*, **EBhort** (2), extrato bruto de *B. trimera*, **EBCarq** (3), padrão de catequina (4), extrato bruto de *P. hexasperma*, **EBPol** (5), extrato bruto de *S. R.ferruginea*, **EBQm** (6), extrato bruto de *E. febrifuga*, **EBEse** (7) e padrão de epicatequina (8) . Eluente, acetato de etila: ácido fórmico: água (90:5:5); revelador, anisalaldeído sulfúrico seguido de visualização no visível.

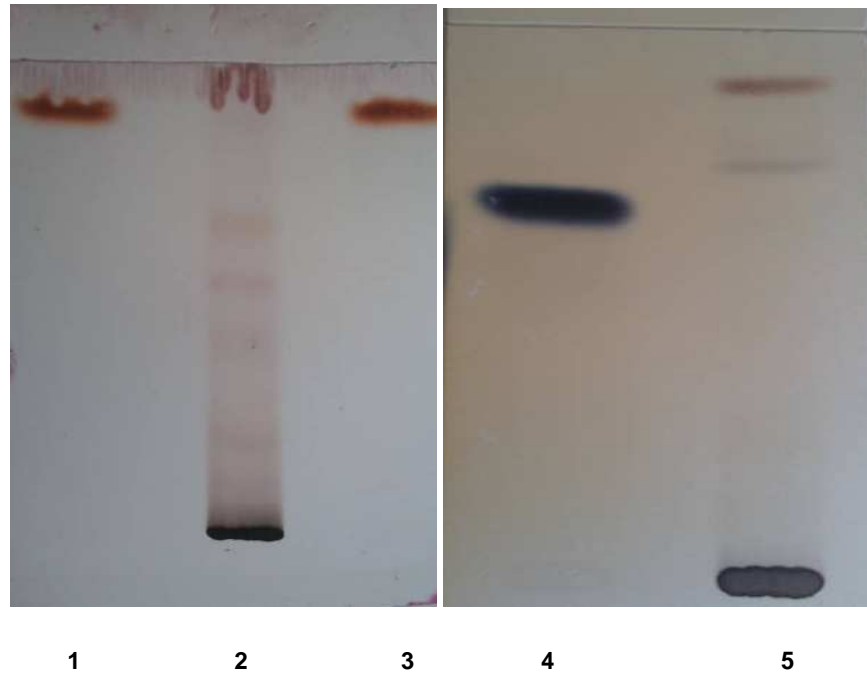


Figura 59 a e b: CCD para identificação de taninos no extrato bruto de *P. hexasperma*, padrão de catequina (1), extrato bruto extrato bruto de *P. hexasperma*, **EBPol** (2 e 5), padrão de epicatequina (3) e padrão de ácido gálico (4). Eluente, acetato de etila: ácido fórmico: água (90:5:5); revelador, anisaldeído sulfúrico em A e cloretoférrico em B, seguido de visualização no visível.

8.1.4 Pesquisa de terpenos/iridoides por CCD

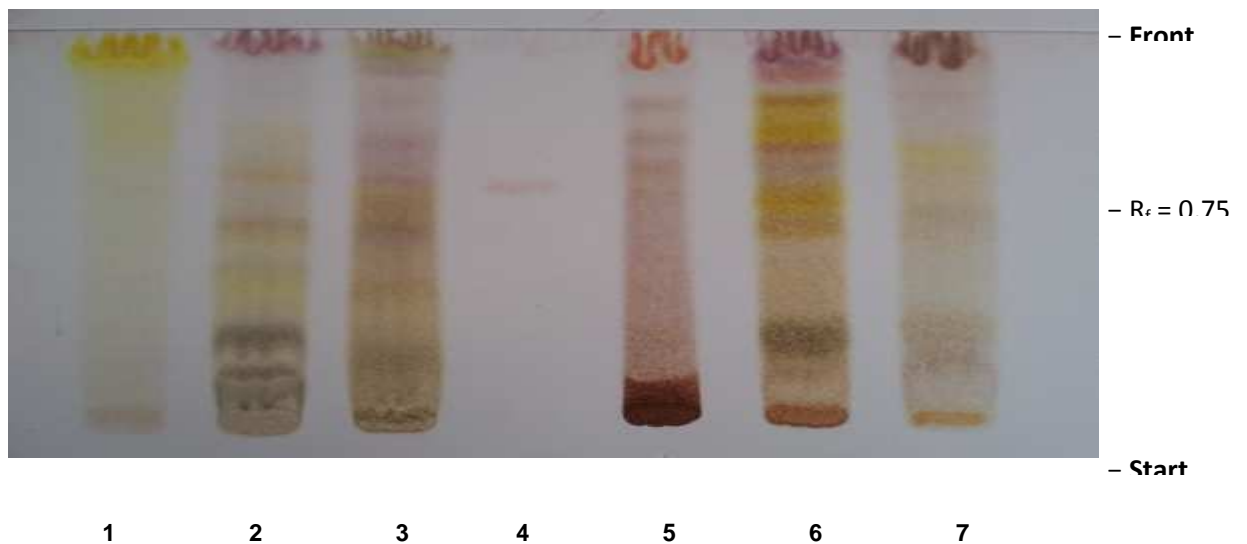


Figura 60: CCD para identificação de iridoides em extratos brutos das drogas vegetais. Extrato bruto de *S. pseudoquina*, **EBSpq** (1), Extrato bruto de *H. brasiliiana*, **EBhort** (2), extrato bruto de *B. trimera*, **EBCarq** (3), padrão de gentilpicosídeo (4), extrato bruto de *P. hexasperma*, **EBPol** (5), extrato bruto de *R.ferruginea*, **EBQm** (6), extrato bruto de *E. febifuga*, **EBEse** (7). Eluente, acetato de etila: metanol: água (77:18:5); revelador, anisaldeído sulfúrico seguido de visualização no visível.

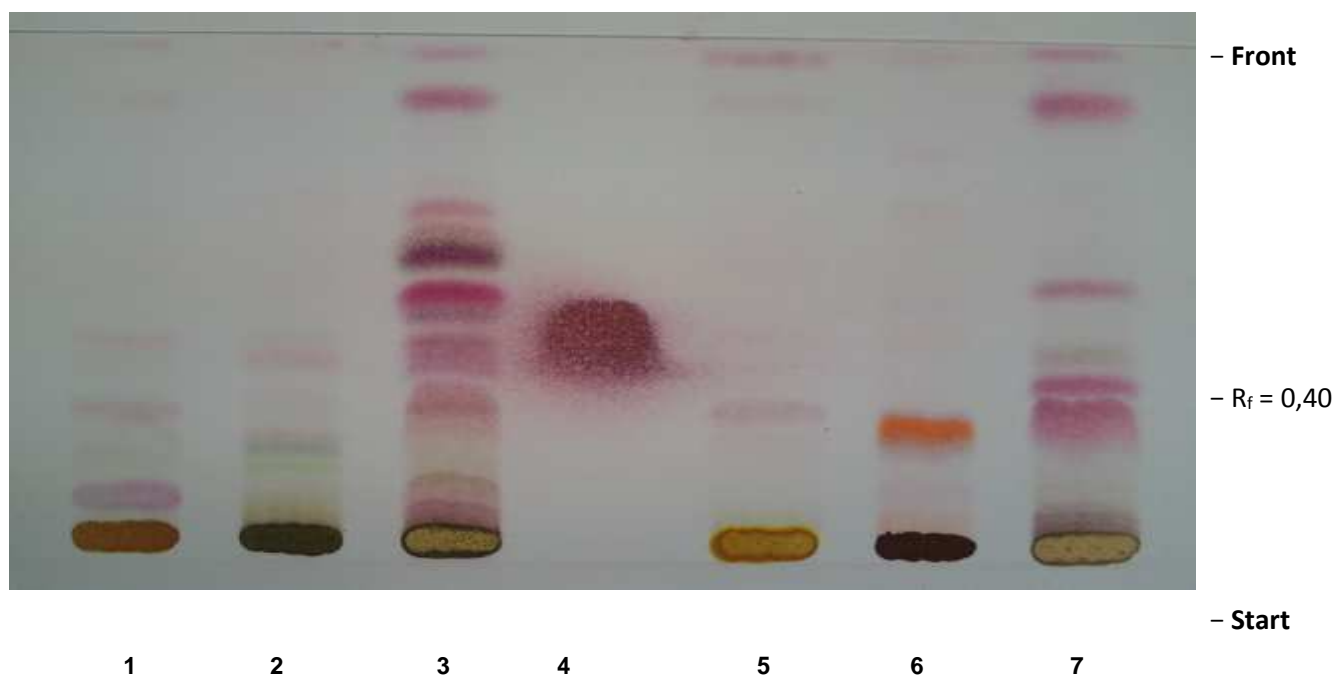


Figura 61: CCD para identificação de terpenos em extratos brutos das drogas vegetais. Extrato bruto de *R. ferruginea*, EBQm (1), extrato bruto de *H. brasiliiana*, EBhort (2), Extrato bruto de *B. trimera*, EBCarq (3), padrão de mentol (4), extrato bruto de *S. pseudoquina*, EBSpq (5), extrato bruto de *P. hexasperma*, EBPol (6), extrato bruto de *E. febrifuga*, EBEse (7). Eluente, tolueno: acetato de etila (93:7); revelador, anisaldeído sulfúrico seguido de visualização no visível.

8.2 Identificação por LC/MS/MS de alcaloides e outras substâncias pelo banco de massas (Knapsack) e banco de massas do equipamento.

8.2.1 Identificação por LC/MS/MS do extrato bruto de *E. febrifuga* (Esse)

Analysis Info Acquisition Date 10/28/2014 12:49:51 AM
 Analysis Name D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\EB-Ese\EB-Ese_1-9_01_1662.d
 Method mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m Operator kohlhoff
 Sample Name EB-Ese Instrument / Ser# maxis ETD 266638.10
 Comment Alkaloid fraction of *Esenbeckia febrifuga* 201

Score	#	Cmpd.Nam	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	I	RT meas.	m/z calc.	m/z FWHM	Res. Chrom.	FWHM	Algorithm
e																	
												[min]	HM				
+ 35	"2"	4'	C 25 H 30 O 6			427.2085	3.0	6.9	44.3	95636	7860	15.0	427.2115	0.0132	32284	0.19	Chromatogram
+ 38	"2"	4'	C 25 H 30 O 6			427.2086	2.9	6.9	34.3	50248	5316	15.7	427.2115	0.0119	36051	0.13	Chromatogram
+ 80	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33518	0.16	Chromatogram
+ 81	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33519	0.16	Chromatogram
+ 82	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33519	0.16	Chromatogram
+ 83	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33519	0.16	Chromatogram
+ 84	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33519	0.16	Chromatogram
+ 85	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33491	0.16	Chromatogram
+ 86	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0691	1.9	7.0	29.1	1168763	108556	22.0	274.0710	0.0082	33519	0.16	Chromatogram
+ 118	Hesperidin	520-26-3	C 28 H 34 O 15			611.1974	-0.4	-0.6	19.9	1085986	97784	27.5	611.1970	0.0188	32466	0.17	Chromatogram
+ 130	Delbine	77145-73-4	C 13 H 11 N 1 O 4			246.0763	0.2	0.7	17.4	62611	6988	30.1	246.0761	0.0088	28019	0.14	Chromatogram
+ 153	Skimmianine	83-95-4	C 14 H 13 N 1 O 4			260.0918	0.1	0.4	15.9	8909463	614520	33.6	260.0917	0.0059	44017	0.15	Chromatogram
+ 166	Dictamine	484-29-7	C 12 H 9 N 1 O 2			200.0704	0.2	1.0	17.8	156944	18604	35.2	200.0706	0.0076	26483	0.13	Chromatogram
+ 170	Maculine	524-89-0	C 13 H 9 N 1 O 4			244.0602	0.2	0.9	16.4	1235494	140312	35.5	244.0604	0.0070	34661	0.13	Chromatogram
+ 171	Isomaculine	482-84-8	C 13 H 9 N 1 O 4			244.0602	0.2	0.9	16.4	1235494	140312	35.5	244.0604	0.0070	34668	0.13	Chromatogram
+ 172	Kokusagine	482-32-6	C 13 H 9 N 1 O 4			244.0602	0.2	0.9	16.4	1235494	140312	35.5	244.0604	0.0070	34668	0.13	Chromatogram
+ 174	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	-0.1	-0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36501	0.15	Chromatogram
+ 175	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	-0.1	-0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36501	0.15	Chromatogram
+ 176	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	0.1	0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36508	0.15	Chromatogram
+ 177	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	0.1	0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36508	0.15	Chromatogram
+ 178	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	0.1	0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36508	0.15	Chromatogram
+ 179	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	0.1	0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36508	0.15	Chromatogram
+ 180	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5			274.0709	0.1	0.5	13.5	2033744	217692	35.6	274.0710	0.0075	36508	0.15	Chromatogram
+ 195	Imperatorin	482-44-0	C 16 H 14 O 4			271.0965	0.0	0.2	15.1	1154968	146792	38.3	271.0965	0.0078	34790	0.12	Chromatogram

Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

Figura 62: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Ese.

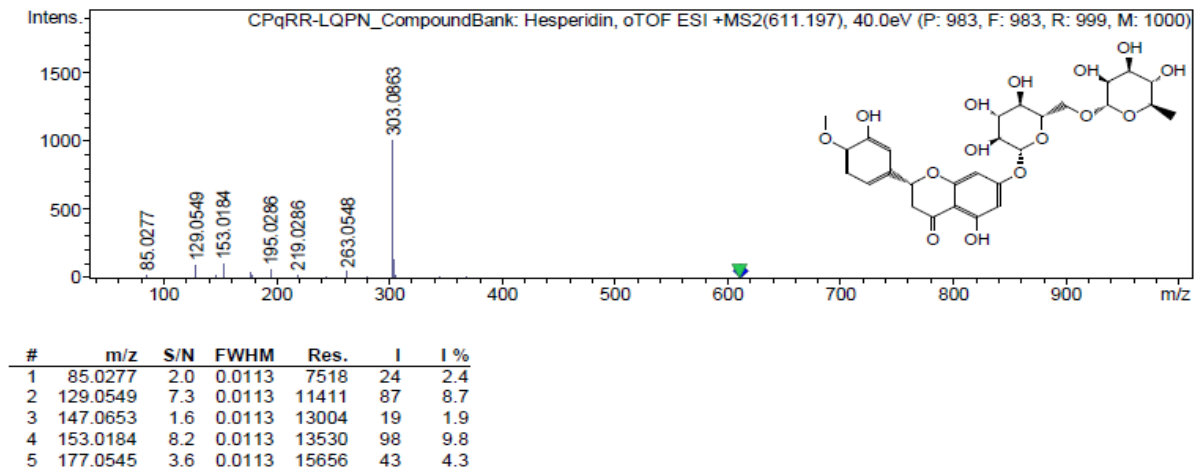


Figura 63: Perfil de fragmentação (MS2) para substância hesperidina identificado no Ese.

#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
10	433.0929	30.2	0.0109	39869	777	34.1

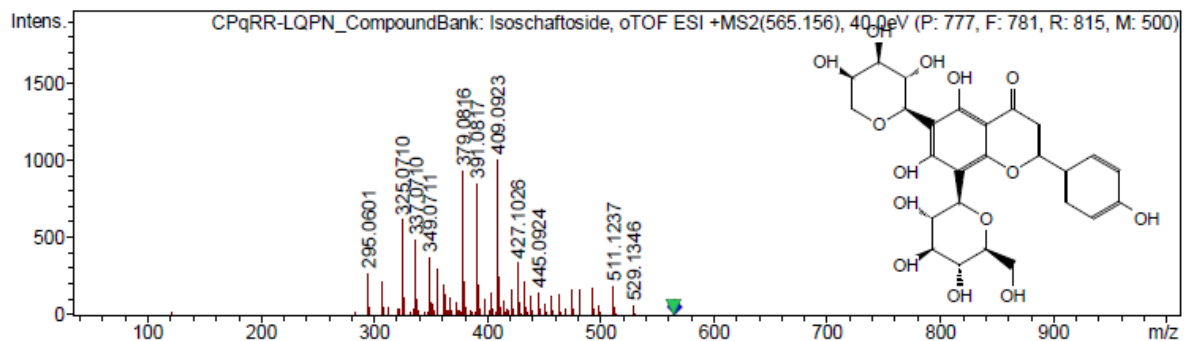


Figura 64: Perfil de fragmentação (MS2) para substância isochoftosídeo identificado no Ese.

8.2.2 Identificação por LC/MS/MS da fração enriquecida de alcaloides de *E. febrifuga* (FALCHort)

Multi Target Screening Report

Analysis Info Acquisition Date 10/27/2014 7:45:17 PM
 Analysis Name D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\FALC-Ese\FALC-Ese_1-4_01_1657.d
 Method mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m Operator kohlhoff
 Sample Name FALC-Ese Instrument / Ser# maXis ETD 266638.10
 Comment Alkaloid fraction of *Esenbeckia febrifuga* 201

Score #	Cmpd.Nam	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	I	RT meas.	m/z calc.	m/z FWHM	Res.	Chrom.FW	Algorithm
e																
												[min]	HM			
+18	Delbine	77145-73-4	C 13 H 11 N 1 O 4	+	246.0757	0.4	1.5	13.7	77983	8440	31.1	246.0761	0.0082	30066	0.14	Chromatogram
+26	Skimmianine	83-95-4	C 14 H 13 N 1 O 4	+	260.0918	0.0	0.1	27.7	59745680	2297940	33.6	260.0917	0.0089	29314	0.45	Chromatogram
+35	Dictamine	484-29-7	C 12 H 9 N 1 O 2	+	200.0703	0.3	1.3	14.4	3333645	406504	35.2	200.0706	0.0050	39785	0.12	Chromatogram
+37	Maculine	524-89-0	C 13 H 9 N 1 O 4	+	244.0602	-0.2	-0.9	23.5	18826780	1895568	35.5	244.0604	0.0040	61641	0.14	Chromatogram
+38	Isomaculine	482-84-8	C 13 H 9 N 1 O 4	+	244.0602	-0.2	-0.9	23.5	18826780	1895568	35.5	244.0604	0.0040	61641	0.14	Chromatogram
+39	Kokusagine	482-32-6	C 13 H 9 N 1 O 4	+	244.0602	-0.2	-0.9	23.5	18826780	1895568	35.5	244.0604	0.0040	61641	0.14	Chromatogram
+40	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	-0.2	-0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64798	0.16	Chromatogram
+41	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	0.2	0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64759	0.16	Chromatogram
+42	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	-0.2	-0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64798	0.16	Chromatogram
+43	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	0.2	0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64759	0.16	Chromatogram
+44	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	0.2	0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64759	0.16	Chromatogram
+45	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	-0.2	-0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64798	0.16	Chromatogram
+46	Flindersiamine	522-06-5	C 14 H 11 N 1 O 5	+	274.0708	0.2	0.6	26.5	20734592	1993904	35.6	274.0710	0.0042	64759	0.16	Chromatogram
+64	Imperatorin	482-44-0	C 16 H 14 O 4	+	271.0957	-0.8	-3.1	15.2	77990	9468	38.4	271.0965	0.0109	24862	0.12	Chromatogram

Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

Figura 65: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCHort.

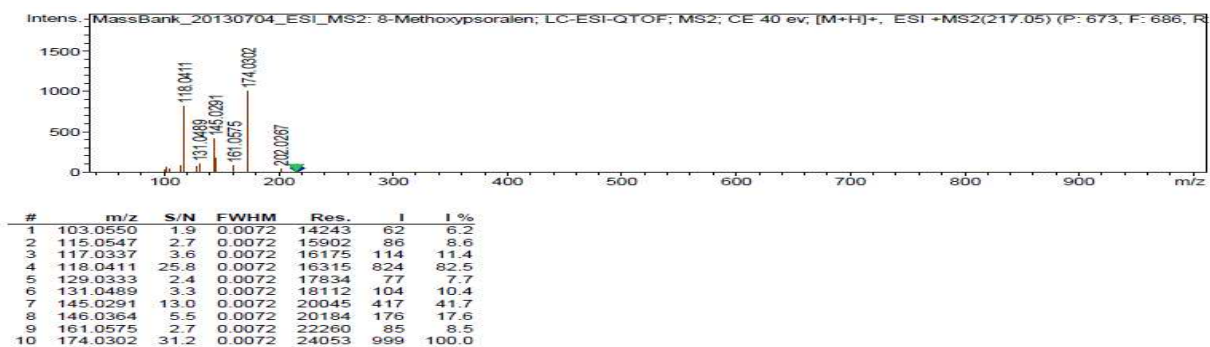


Figura 66: Perfil de fragmentação (MS2) para substância 8-Metoxipsoraleno identificado no FALCEse

8.2.3 Identificação por LC/MS/MS do extrato bruto de *H.brasiliiana* (Hort)

Multi Target Screening Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\EB-Hort\EB-Hort_1-10_01_1663.d
 Method mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m
 Sample Name EB-Hort
 Comment Crude extract of *Hortia brasiliensis*

Acquisition Date 10/28/2014 1:50:46 AM
 Operator kohlhoff
 Instrument / Ser# maXis ETD 266638.10
 201

Score	#	Cmpd.Name	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	I	RT meas. [min]	m/z calc.	FWHM	Res.	Chrom.FWHM	Algorithm
+204		Rutaecarpine	84-26-4 C 18 H 13 N 3 O 1			288.1135	0.3	1.1	13.4	748674	89072	40.8	288.1131	0.0085	33886	0.12	Chromatogram
+205		Rutaecarpine	84-26-4 C 18 H 13 N 3 O 1			288.1135	0.3	1.1	13.4	748674	89072	40.8	288.1131	0.0085	33886	0.12	Chromatogram

Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

Figura 67: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Hort.

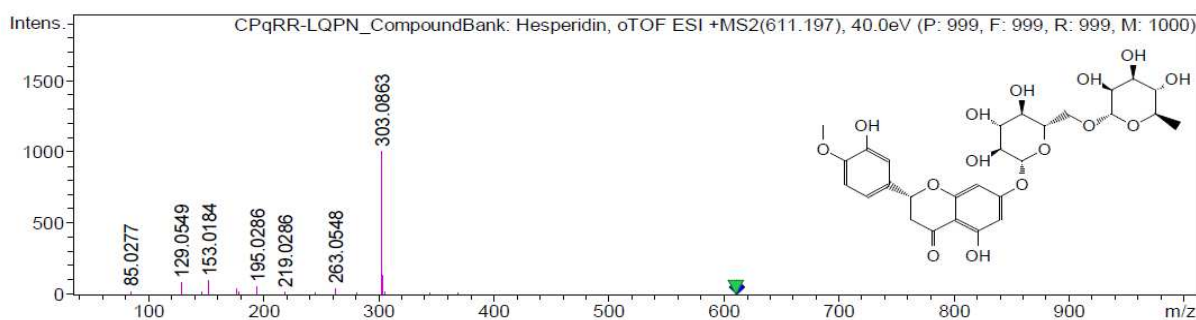


Figura 68: Perfil de fragmentação (MS2) para substância hesperidina identificado no Hort

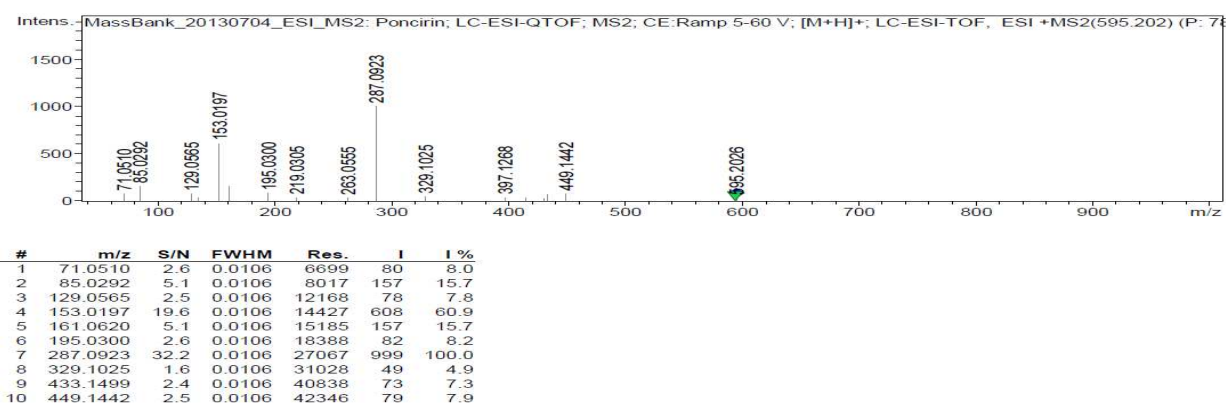


Figura 69: Perfil de fragmentação (MS2) para substância poncirina identificado no Hort

8.2.4 Identificação por LC/MS/MS *d* da fração enriquecida de alcaloides de *H.brasiliana* (Hort)

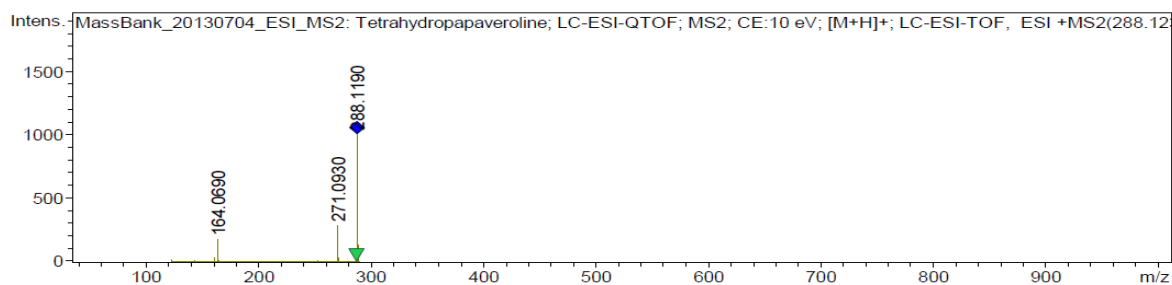
Multi Target Screening Report

Analysis Info Acquisition Date 10/27/2014 8:46:12 PM
 Analysis Name D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\FALC-Hort\FALC-Hort_1-5_01_1658.d
 Method mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m Operator kohlhoff
 Sample Name FALC-Hort Instrument / Ser# maXis ETD 266638.10
 Comment Alkaloid fraction of Hortia brasiliensis 201

Score	#Cmpd.	Name	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	I	RT [min]	meas. m/z	calc. m/z	FWHM	Res. Chrom.	FWH	Algorithm
+126		Rutaecarpine	84-26-4 C 18 H 13 N 3 O 1			288.1133	0.2	0.6	4.72457640255436	40.8	288.1131	40.8	288.1131	288.1131	0.007538382	0.14		Chromatogram
+127		Rutaecarpine	84-26-4 C 18 H 13 N 3 O 1			288.1133	0.2	0.6	4.62457640255436	40.8	288.1131	40.8	288.1131	288.1131	0.007538418	0.14		Chromatogram

Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

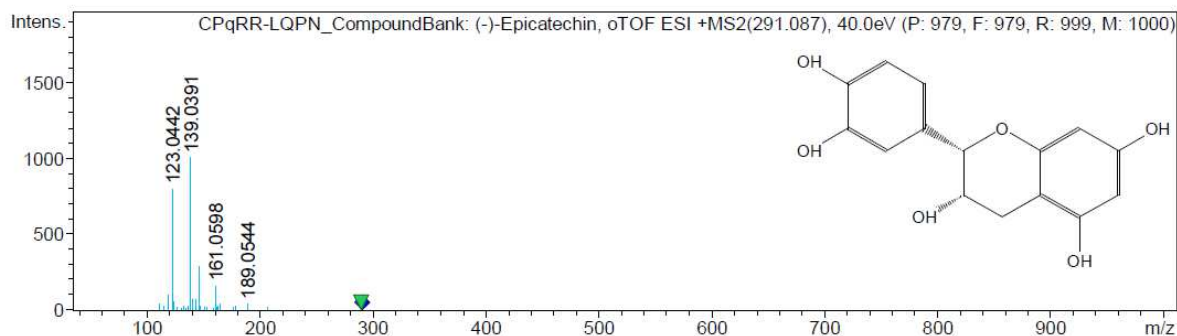
Figura 70: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCHort.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	123.0420	14.0	0.0113	10864	14	1.4
2	143.0480	6.0	0.0113	12630	6	0.6
3	161.0580	34.0	0.0113	14220	34	3.4
4	164.0690	173.0	0.0113	14486	173	17.3
5	165.0720	13.0	0.0113	14575	13	1.3
6	253.0830	10.0	0.0113	22345	10	1.0

Figura 71: Perfil de fragmentação (MS2) para substância tetrahydroxipapaverolina identificado no FALCHort

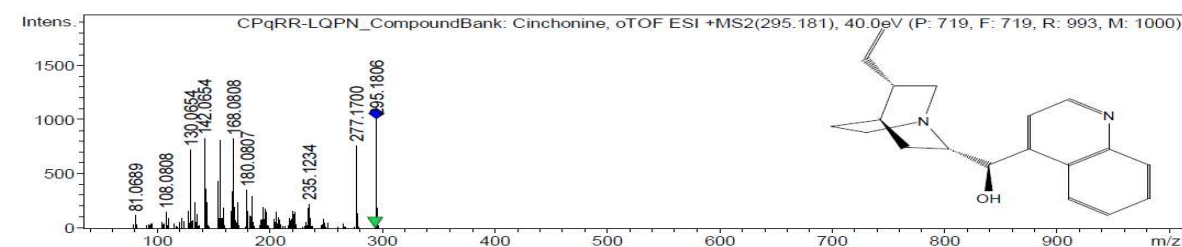
8.2.5 Identificação por LC/MS/MS do extrato bruto de *P. hexasperma* (Pol)



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	119.0492	9.3	0.0069	17184	102	10.2
2	123.0442	72.5	0.0069	17761	798	79.9
3	124.0476	4.6	0.0069	17906	51	5.1
4	139.0391	90.8	0.0069	20070	999	100.0
5	140.0425	6.2	0.0069	20215	68	6.8
6	143.0493	6.2	0.0069	20649	68	6.8
7	147.0442	26.0	0.0069	21225	286	28.6
8	161.0598	14.5	0.0069	23249	160	16.0
9	165.0546	4.0	0.0069	23825	44	4.4

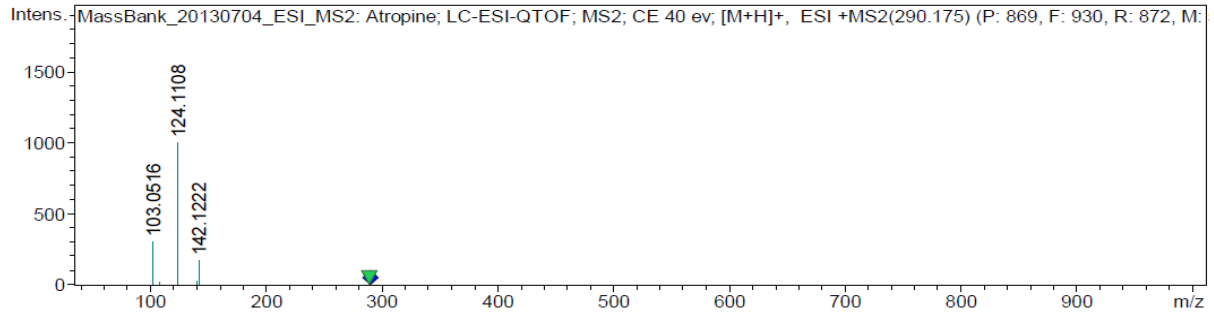
Figura 72: Perfil de fragmentação (MS2) para substância epicatequina identificado no Pol.

8.2.6 Identificação por LC/MS/MS na fração enriquecida de *P. hexasperma* (FALCPol)



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	130.0654	65.7	0.0110	11808	723	72.4
2	142.0654	75.0	0.0110	12898	825	82.6
3	143.0724	32.6	0.0110	12989	359	35.9
4	154.0653	39.3	0.0110	13987	432	43.2
5	156.0809	73.6	0.0110	14170	810	81.1
6	167.0728	30.5	0.0110	15168	336	33.6
7	168.0808	74.4	0.0110	15260	818	81.9
8	180.0807	31.7	0.0110	16349	349	34.9
9	277.1700	68.9	0.0110	25164	758	75.9
10	295.1806	90.8	0.0110	26799	999	100.0

Figura 73: Perfil de fragmentação (MS2) para substância cinchonina identificado no FALCPol.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I%
1	103.0516	14.0	0.0061	16823	307	30.7
2	108.0810	1.0	0.0061	17644	22	2.2
3	124.1108	45.4	0.0061	20260	999	100.0
4	124.1321	1.1	0.0061	20264	24	2.4
5	124.1407	1.1	0.0061	20265	24	2.4
6	124.1614	1.1	0.0061	20269	25	2.5

Figura 74: Perfil de fragmentação (MS2) para substância atropina identificado no FALCPol.

8.2.7 Identificação por LC/MS/MS do extrato bruto de *R. ferruginea* (Rm)

Multi Target Screening Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\EB-Qm\EB-Qm_1-12_01_1665.d
 Method mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m
 Sample Name EB-Qm
 Comment Crude extract of Remijia ferruginea

Acquisition Date 10/28/2014 3:52:36 AM

Operator kohlhoff

Instrument / Ser# maXis ETD 266638.10

201

Score	#	Cmpd.Name	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	I	RT meas. [min]	m/z calc.	FWHM	Res.	Chrom.FWHM	Algorithm
+27	(-)	Remijinine	783325-58-6C	19 H 24 N 2 O 2	+	313.1909	-0.1	-0.4	3.3375322	41396		13.1	313.1911	0.0109	28636	0.13	Chromatogram
+28		Epiremijinine	783325-59-7C	19 H 24 N 2 O 2	+	313.1909	0.1	0.4	3.3375322	41396		13.1	313.1911	0.0109	28642	0.13	Chromatogram
+34		Cinchonidine	485-71-2C	19 H 22 N 2 O 1	+	295.1801	0.4	1.2	11.0478524	51544		14.5	295.1805	0.0106	27764	0.15	Chromatogram
+43	(-)	Remijinine	783325-58-6C	19 H 24 N 2 O 2	+	313.1912	-0.1	-0.4	14.9501935	61148		17.1	313.1911	0.0097	32250	0.13	Chromatogram
+44		Epiremijinine	783325-59-7C	19 H 24 N 2 O 2	+	313.1912	-0.1	-0.4	14.9501935	61148		17.1	313.1911	0.0097	32252	0.13	Chromatogram
+51	(-)	Remijinine	783325-58-6C	19 H 24 N 2 O 2	+	313.1911	-0.1	-0.2	0.8291139	38084		18.6	313.1911	0.0113	27811	0.12	Chromatogram
+52		Epiremijinine	783325-59-7C	19 H 24 N 2 O 2	+	313.1911	0.1	0.2	0.8291139	38084		18.6	313.1911	0.0113	27810	0.12	Chromatogram
+67		Hydroquinidine	1435-55-8C	20 H 26 N 2 O 2	+	327.2067	-0.0	-0.1	16.8	34812	4152	21.1	327.2067	0.0115	28512	0.13	Chromatogram

Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

Figura 75: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Rm.

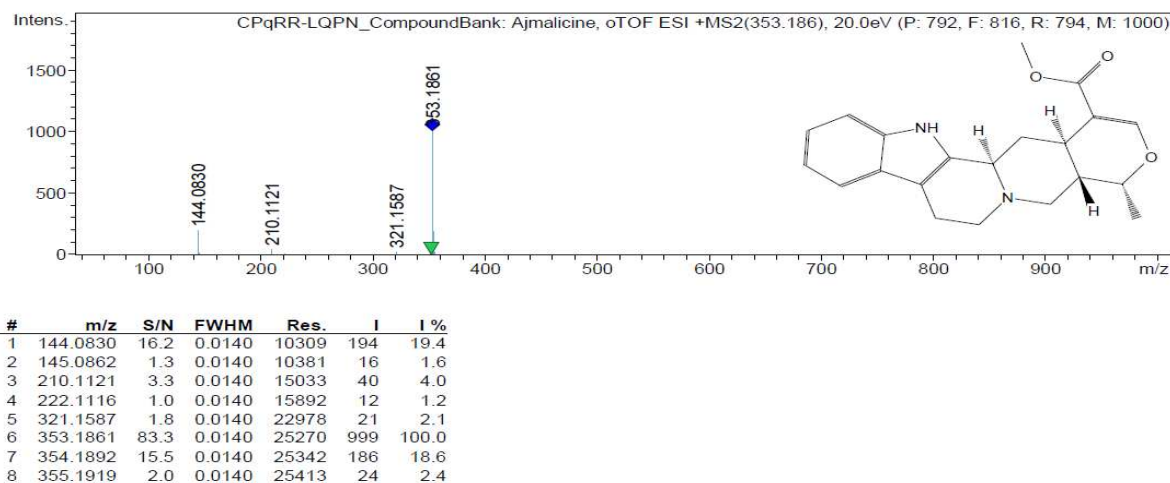


Figura 76: Perfil de fragmentação (MS2) para substância ajmalicina identificado no Rm.

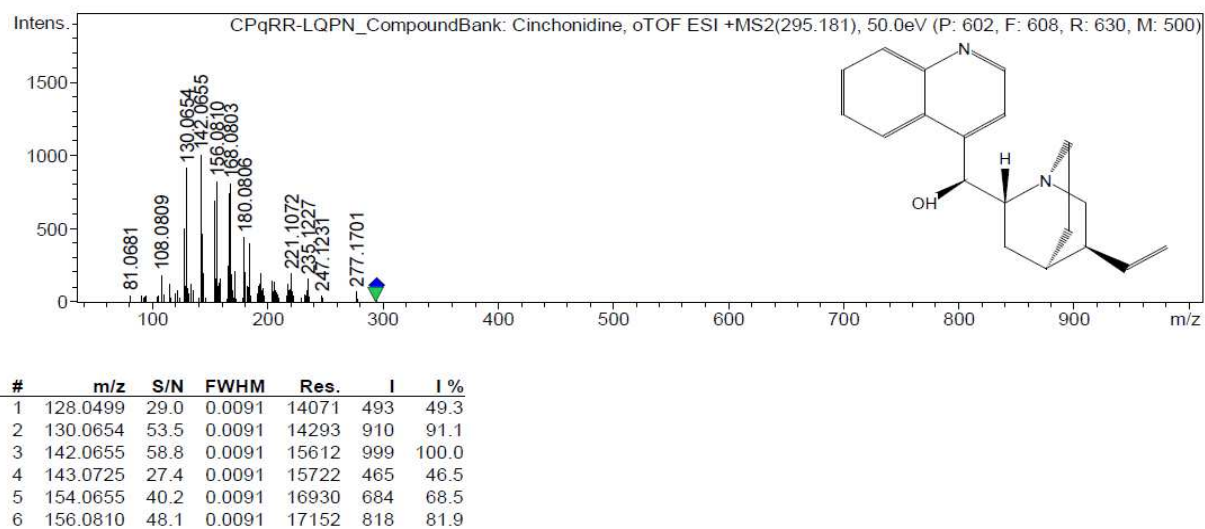


Figura 77: Perfil de fragmentação (MS2) para substância cinchonidina identificado no Rm.

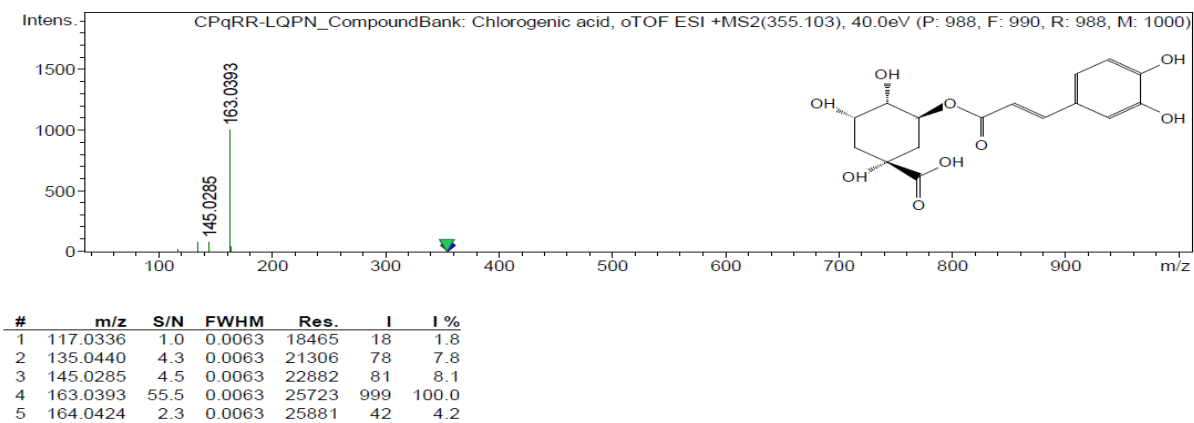


Figura 78: Perfil de fragmentação (MS2) para substância ácido clorogênico identificado no Rm.

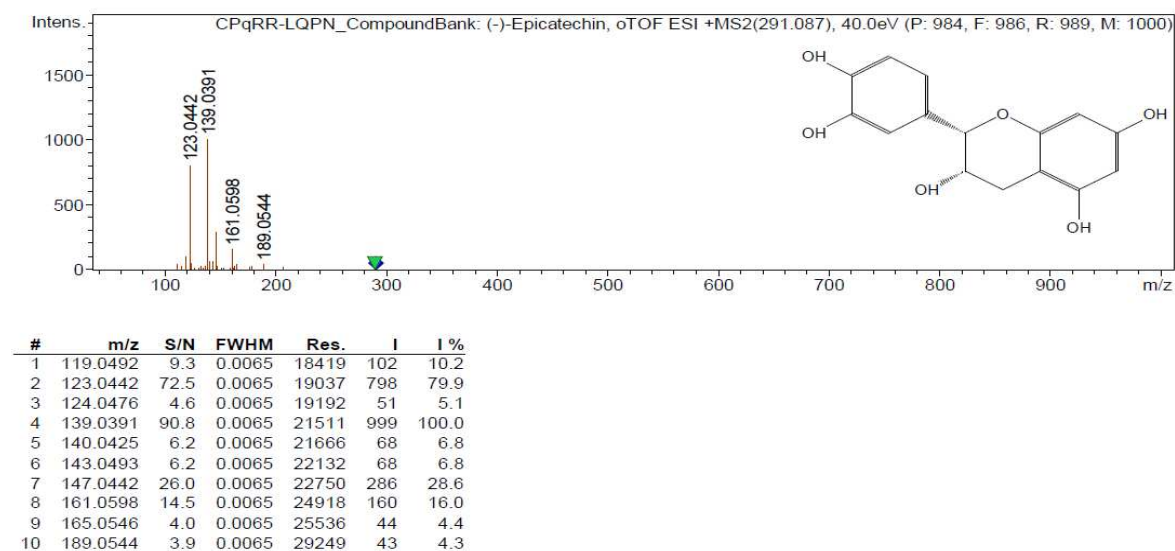


Figura 79: Perfil de fragmentação (MS2) para substância epicatequina identificado no Rm.

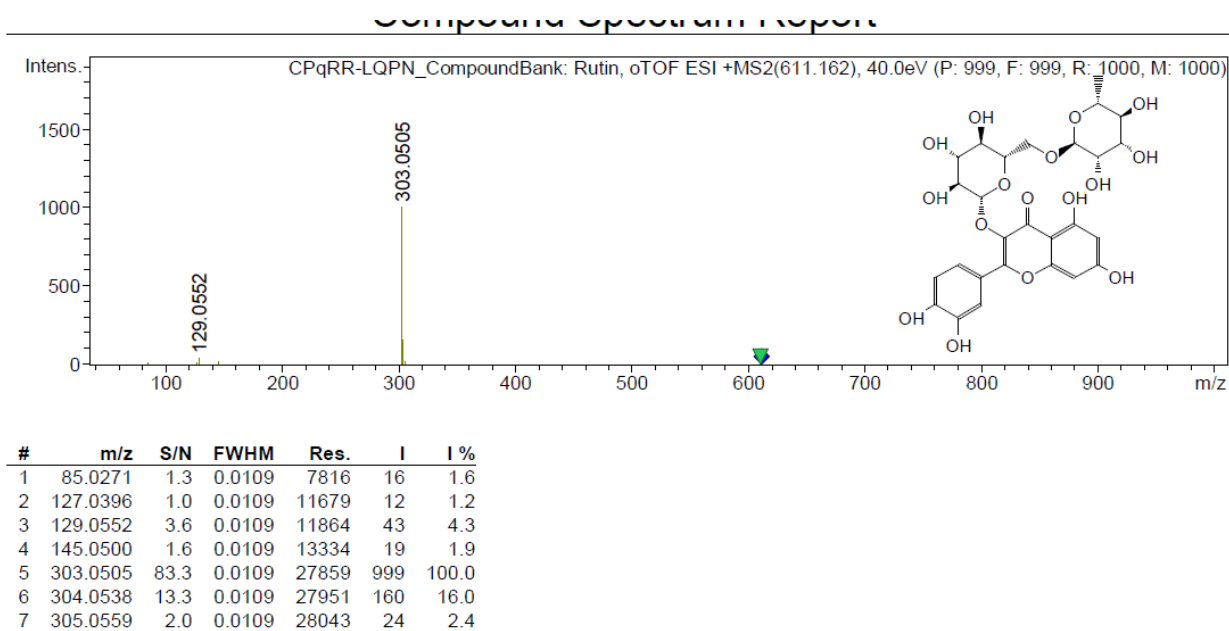


Figura 80: Perfil de fragmentação (MS2) para substância rutina identificado no Rm.

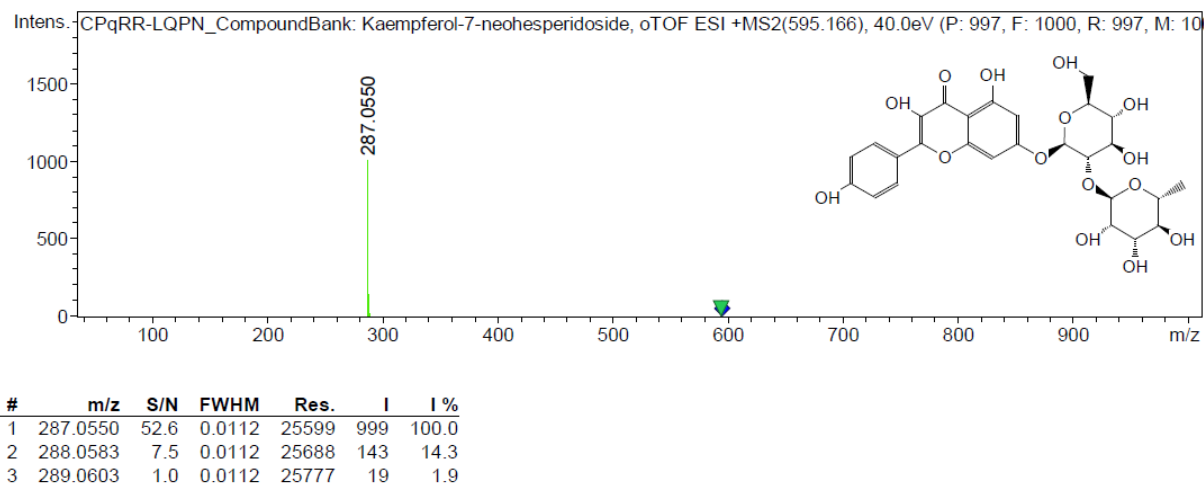
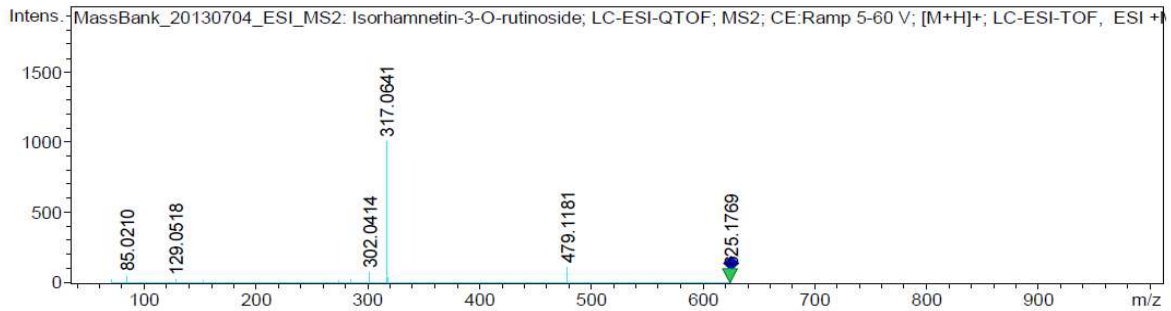


Figura 81: Perfil de fragmentação (MS2) para substância kaempferol-7-O-neohesperidosídeo identificado no Rm.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	71.0393	1.3	0.0118	6011	22	2.2
2	85.0210	2.9	0.0118	7194	49	4.9
3	129.0518	1.2	0.0118	10919	21	2.1
4	285.0385	1.4	0.0118	24117	23	2.3
5	302.0414	4.2	0.0118	25556	71	7.1
6	317.0641	58.8	0.0118	26827	999	100.0
7	317.1533	3.1	0.0118	26834	52	5.2
8	318.0691	2.2	0.0118	26912	37	3.7
9	479.1181	6.4	0.0118	40538	108	10.8
10	625.1769	5.1	0.0118	52896	87	8.7

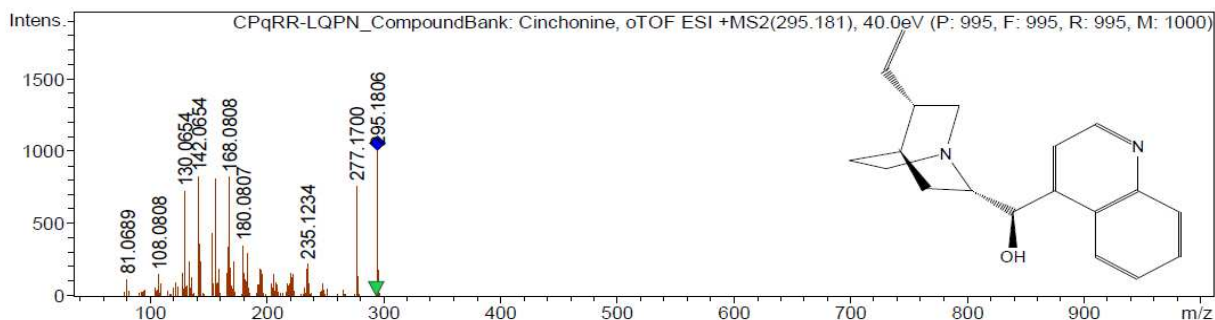
Figura 82: Perfil de fragmentação (MS2) para substância Isoramnetina-7-O- Rutinosídeo identificado no Rm.

8.2.8 Identificação por LC/MS/MS na fração enriquecida de *R. ferruginea* (FALCRm)

Multi Target Screening Report																	
Analysis Info										Acquisition Date 10/27/2014 10:48:02 PM							
Analysis Name D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\FALC-Qm\FALC-Qm_1-7_01_1660.d										Operator kohlhoff							
Method mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m										Instrument / Ser# maXis ETD 266638.10							
Sample Name FALC-Qm										201							
Comment Alkaloid fraction of Remijia ferruginea																	
Score	#	Cmpd.Na	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err [ppm]	mSigma	Area	I	RT meas. [min]	m/z calc.	FWHM	Res.	Chrom.FW	Algorithm
+	6	Cinchonidine	485-71-2 C 19 H 22 N 2 O 1		+	295.1807	-0.3	-0.9	25.3	3900989	389404	14.1	295.1805	0.0067	44080	0.15	Chromatogram
+	9	Cinchonidine	485-71-2 C 19 H 22 N 2 O 1		+	295.1808	-0.4	-1.2	26.3	4598512	528532	14.5	295.1805	0.0064	46366	0.14	Chromatogram
+	12	(-)-Remijinine	783325-58-6 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1913	0.3	0.9	15.5	319719	29896	15.0	313.1911	0.0102	30558	0.15	Chromatogram
+	13	Epiremijinine	783325-59-7 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1913	0.3	0.9	4.3	319719	29896	15.0	313.1911	0.0103	30540	0.15	Chromatogram
+	16	Cinchonidine	485-71-2 C 19 H 22 N 2 O 1		+	295.1808	0.3	1.1	22.3	2919988	306632	15.3	295.1805	0.0069	43090	0.13	Chromatogram
+	26	(-)-Remijinine	783325-58-6 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1916	0.6	1.8	2.8	486294	51136	18.2	313.1911	0.0103	30544	0.15	Chromatogram
+	27	Epiremijinine	783325-59-7 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1916	0.6	1.8	2.8	486294	51136	18.2	313.1911	0.0103	30544	0.15	Chromatogram
+	38	(-)-Remijinine	783325-58-6 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1917	0.7	2.1	16.8	245761	30172	20.6	313.1911	0.0103	30457	0.13	Chromatogram
+	39	Epiremijinine	783325-59-7 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1917	0.7	2.1	16.8	245761	30172	20.6	313.1911	0.0103	30457	0.13	Chromatogram
+	40	(-)-Remijinine	783325-58-6 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1917	0.7	2.1	25.4	381925	41904	20.8	313.1911	0.0107	29217	0.14	Chromatogram
+	41	Epiremijinine	783325-59-7 C 19 H 24 N 2 O 2		+	313.1917	0.7	2.1	25.4	381925	41904	20.8	313.1911	0.0107	29217	0.14	Chromatogram
+	79	Quinine	130-95-0 C 20 H 24 N 2 O 2		+	325.1916	-0.5	-1.5	16.7	834621	88632	36.1	325.1911	0.0096	33856	0.14	Chromatogram

Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

Figura 83: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCRm.



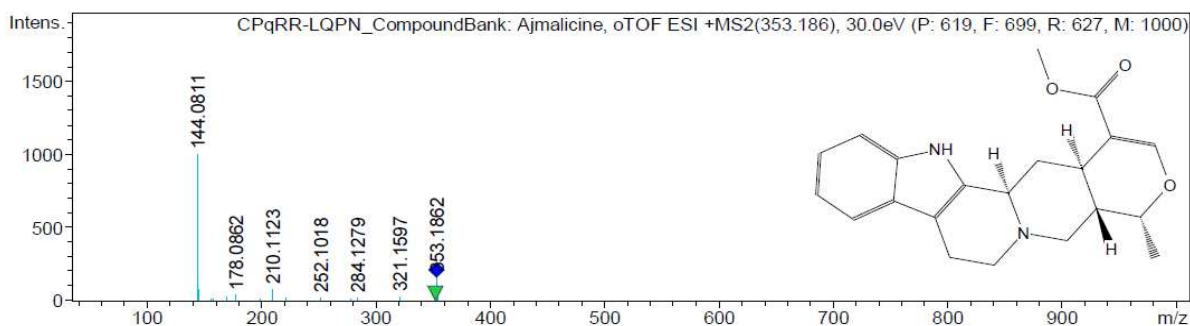
#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	130.0654	65.7	0.0131	9938	723	72.4
2	142.0654	75.0	0.0131	10855	825	82.6
3	143.0724	32.6	0.0131	10932	359	35.9
4	154.0653	39.3	0.0131	11772	432	43.2
5	156.0809	73.6	0.0131	11926	810	81.1
6	167.0728	30.5	0.0131	12766	336	33.6
7	168.0808	74.4	0.0131	12843	818	81.9
8	180.0807	31.7	0.0131	13760	349	34.9
9	277.1700	68.9	0.0131	21179	758	75.9
10	295.1806	90.8	0.0131	22555	999	100.0

Figura 84: Perfil de fragmentação (MS2) para substância cinchonina identificado no FALCRm.

8.2.9 Identificação por LC/MS/MS do extrato bruto de *S. pseudoquina* (Spq)

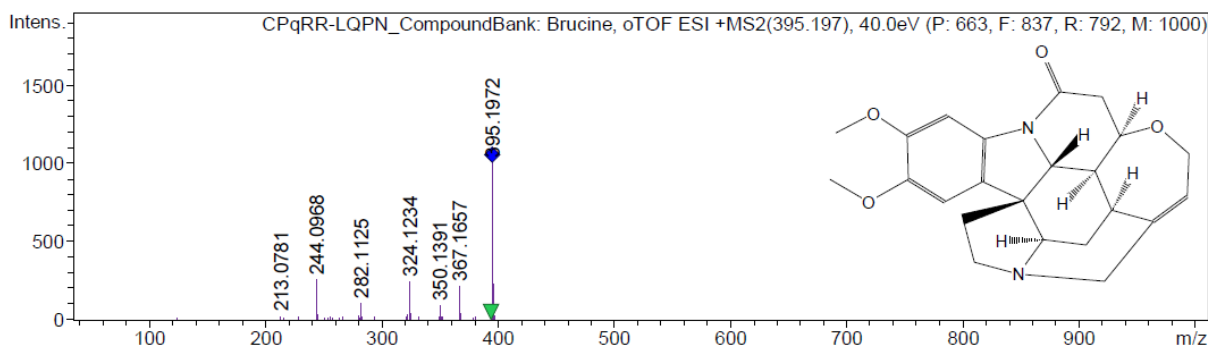
Multi Target Screening Report																	
Analysis Info												Acquisition Date					
Analysis Name												10/28/2014 4:53:31 AM					
Method												Operator					
Sample Name												kohlhoff					
Comment												Instrument / Ser#					
Crude extract of <i>Strychnos pseudoquina</i>												266638.10 201					
Score	#	Cmpd.Name	Reg.No.	Formula	PMI	m/z meas.	Err [ppm]	Err [ppm]	mSig	Area	I	RT meas. [min]	m/z calc.	m/z FWHM	Res. M	Chro m.FW HM	Algorithm
+	8	12-Hydroxy-11-methoxy-9-C-fluorocourarine	182745-06-8	C 20 H 22 N 2 O 3		+ 339.1706	0.3	0.8	24.8	41650	5768	7.0	339.1703	0.0119	28428	0.12	Chromatogram
+	12	Diabolone	509-40-0	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	-0.1	-0.3	6.6	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31129	0.14	Chromatogram
+	13	Diabolone	509-40-0	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	0.1	0.3	6.7	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31125	0.14	Chromatogram
+	14	Protostrychnine	71610-48-5	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	-0.1	-0.3	6.6	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31129	0.14	Chromatogram
+	15	Polyneuridine	6872-44-2	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	-0.1	-0.3	6.6	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31129	0.14	Chromatogram
+	16	Diabolone	509-40-0	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	0.1	0.3	6.7	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31125	0.14	Chromatogram
+	17	Protostrychnine	71610-48-5	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	-0.1	-0.3	6.6	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31129	0.14	Chromatogram
+	18	Diabolone	509-40-0	C 21 H 24 N 2 O 3		+ 353.1881	0.1	0.3	6.7	962789	98432	12.9	353.1880	0.0113	31125	0.14	Chromatogram
+	19	11-Demethoxystrychnine	243484-93-9	C 22 H 24 N 2 O 4		+ 381.1812	-0.4	-0.9	23.1	49449	5020	13.0	381.1809	0.0125	30426	0.14	Chromatogram
+	20	11-Demethoxystrychnine	243484-93-9	C 22 H 24 N 2 O 4		+ 381.1812	-0.4	-0.9	23.1	49449	5020	13.0	381.1809	0.0125	30426	0.14	Chromatogram
+	21	Vomicine	125-15-5	C 22 H 24 N 2 O 4		+ 381.1812	-0.4	-0.9	23.0	49449	5020	13.0	381.1809	0.0125	30420	0.14	Chromatogram
+	24	11-Methoxydiabolone	36151-16-3	C 22 H 26 N 2 O 4		+ 383.1967	-0.2	-0.6	7.7	1114589	123840	14.7	383.1965	0.0116	32962	0.13	Chromatogram
+	25	11-Methoxydiabolone	36151-16-3	C 22 H 26 N 2 O 4		+ 383.1967	0.2	0.6	7.7	1114589	123840	14.7	383.1965	0.0116	32970	0.13	Chromatogram
+	26	11-Methoxydiabolone	36151-16-3	C 22 H 26 N 2 O 4		+ 383.1967	-0.2	-0.6	7.7	1114589	123840	14.7	383.1965	0.0116	32962	0.13	Chromatogram
+	28	Loganin	18524-94-2	C 17 H 26 O 10		+ 391.1624	-2.5	-6.5	28.3	19608	1940	14.8	391.1599	0.0122	32150	0.18	Chromatogram
+	29	Loganin	18524-94-2	C 17 H 26 O 10		+ 391.1624	-2.5	-6.5	28.3	19608	1940	14.8	391.1599	0.0122	32150	0.18	Chromatogram
+	30	Loganin	18524-94-2	C 17 H 26 O 10		+ 391.1624	-2.5	-6.5	28.3	19608	1940	14.8	391.1599	0.0122	32150	0.18	Chromatogram
+	31	Loganin	18524-94-2	C 17 H 26 O 10		+ 391.1624	-2.5	-6.5	28.3	19608	1940	14.8	391.1599	0.0122	32150	0.18	Chromatogram
+	32	Loganin	18524-94-2	C 17 H 26 O 10		+ 391.1624	-2.5	-6.5	28.3	19608	1940	14.8	391.1599	0.0122	32150	0.18	Chromatogram
+	34	10-O-Methylsarpagine	522-47-4	C 20 H 24 N 2 O 2		+ 325.1913	0.2	0.6	26.1	58681	5420	15.8	325.1911	0.0116	28069	0.13	Chromatogram
+	35	Akagerine	58519-07-4	C 20 H 24 N 2 O 2		+ 325.1913	0.2	0.6	26.1	58681	5420	15.8	325.1911	0.0116	28069	0.13	Chromatogram
+	38	12-Hydroxy-11-methoxydiabolone	95260-32-5	C 22 H 26 N 2 O 5		+ 399.1920	-0.5	-1.3	20.4	98702	9776	16.2	399.1914	0.0134	29698	0.14	Chromatogram
+	39	12-Hydroxy-11-methoxydiabolone	95260-32-5	C 22 H 26 N 2 O 5		+ 399.1917	0.3	0.7	21.9	204681	19212	16.8	399.1914	0.0137	29171	0.16	Chromatogram
+	42	Brucine	357-57-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	-0.2	-0.5	24.9	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27088	0.14	Chromatogram
+	43	Brucine	357-57-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	0.2	0.5	24.8	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27050	0.14	Chromatogram
+	44	Brucine	357-57-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	-0.2	-0.5	24.9	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27088	0.14	Chromatogram
+	45	Brucine	357-57-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	0.2	0.5	25.0	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27096	0.14	Chromatogram
+	46	Isobrucine	129724-78-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	0.2	0.5	25.0	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27096	0.14	Chromatogram
+	47	3-Methoxycajine	73710-81-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	0.2	0.5	25.0	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27096	0.14	Chromatogram
+	48	Brucine	357-57-3	C 23 H 26 N 2 O 4		+ 395.1967	0.2	0.5	25.0	70360	6880	17.1	395.1965	0.0146	27096	0.14	Chromatogram
+	51	Strychnobrasiline	34227-00-4	C 22 H 26 N 2 O 3		+ 387.2018	-0.2	-0.5	5.7	138815	15932	17.7	387.2016	0.0146	25182	0.13	Chromatogram

Figura 85: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para Spq.



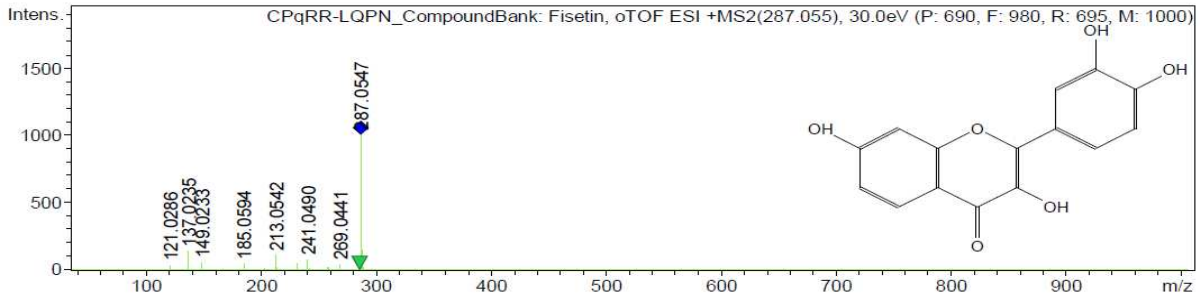
#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	144.0811	90.8	0.0052	27465	999	100.0
2	145.0841	7.0	0.0052	27656	77	7.7
3	170.0963	2.8	0.0052	32424	31	3.1
4	178.0862	3.8	0.0052	33947	42	4.2
5	210.1123	7.2	0.0052	40052	79	7.9
6	222.1124	2.0	0.0052	42340	22	2.2
7	284.1279	2.0	0.0052	54161	22	2.2
8	321.1597	2.6	0.0052	61221	29	2.9
9	353.1862	14.3	0.0052	67326	157	15.7
10	354.1893	2.8	0.0052	67517	31	3.1

Figura 86: Perfil de fragmentação (MS2) para substância ajmalicina identificado no Spq.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	244.0968	25.7	0.0141	17318	257	25.7
2	245.1003	3.4	0.0141	17389	34	3.4
3	282.1125	10.4	0.0141	20015	104	10.4
4	324.1234	24.4	0.0141	22996	244	24.4
5	325.1265	4.4	0.0141	23067	44	4.4
6	350.1391	9.0	0.0141	24842	90	9.0
7	367.1657	21.4	0.0141	26050	214	21.4
8	368.1690	4.2	0.0141	26121	42	4.2
9	395.1972	99.9	0.0141	28039	999	100.0
10	396.2003	22.5	0.0141	28110	225	22.5

Figura 87: Perfil de fragmentação (MS2) para substância brucina identificado no Spq.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	121.0286	3.2	0.0111	10893	35	3.5
2	137.0235	12.8	0.0111	12333	141	14.1
3	149.0233	5.2	0.0111	13413	57	5.7
4	185.0594	4.1	0.0111	16657	45	4.5
5	213.0542	9.8	0.0111	19176	108	10.8
6	231.0647	4.5	0.0111	20797	50	5.0
7	241.0490	7.0	0.0111	21696	77	7.7
8	269.0441	3.7	0.0111	24216	41	4.1
9	287.0547	90.8	0.0111	25837	999	100.0
10	288.0582	12.9	0.0111	25927	142	14.2

Figura 88: Perfil de fragmentação (MS2) para substância fisetina identificado no Spq.

8.2.10 Identificação por LC/MS/MS na fração enriquecida de *S. pseudoquina* (FALCSpq)

Multi Target Screening Report

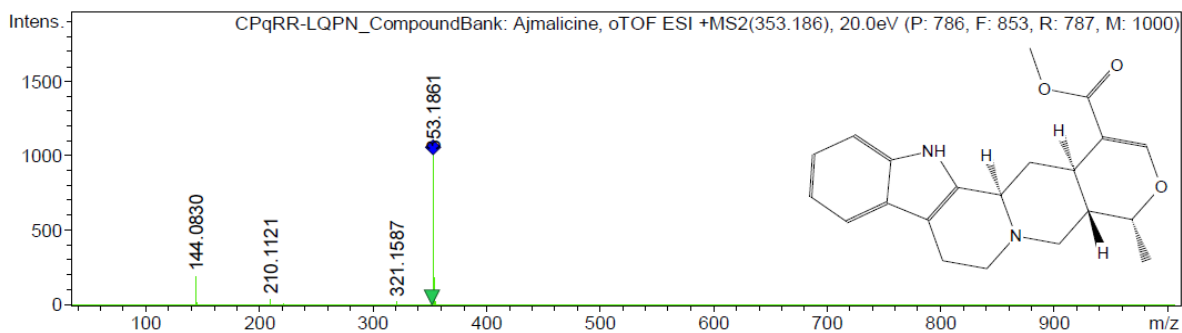
Analysis Info	Acquisition Date	10/27/2014 11:48:56 PM
Analysis Name	D:\Data\Clients\2014\UFMG\Farmacia\Gustavo\FALC-Spq\FALC-Spq_1-8_01_1661.d	
Method	mk_ms_40-1000_automsms_pos_40ev.m	Operator kohlhoff
Sample Name	FALC-Spq	Instrument / Ser# maXis ETD 266638.10
Comment	Crude extract of <i>Strychnos pseudoquina</i>	201

Score #	Cmpd.Name	Reg.No.	Formula PMI	m/z meas.	Err [mDa]	Err mSigma [ppm]	Area	I	RT m/z calc. meas. [min]	m/z Res. FWHM	Chrom.F WHM	Algorithm
+ 19	11-Methoxydiabolone	36151-16-3	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄	383.1967	0.2	0.4	10.4 159925	18996	14.7 383.1965	0.0142 27015	0.12	Chromatogram
+ 20	11-Methoxydiabolone	36151-16-3	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄	383.1967	0.2	0.4	10.4 159925	18996	14.7 383.1965	0.0142 27015	0.12	Chromatogram
+ 21	11-Methoxydiabolone	36151-16-3	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄	383.1967	-0.2	-0.4	10.4 159925	18996	14.7 383.1965	0.0142 27007	0.12	Chromatogram
+ 23	Geissoschizol	439-69-0	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₁	297.1960	0.1	0.3	4.2 286977	25348	15.2 297.1961	0.0112 26533	0.12	Chromatogram
+ 24	N-Deacetylretuline	18397-04-1	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₁	297.1960	0.1	0.3	4.2 286977	25348	15.2 297.1961	0.0112 26533	0.12	Chromatogram
+ 25	N-Deacetylretuline	13941-27-0	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₁	297.1960	0.1	0.3	4.2 286977	25348	15.2 297.1961	0.0112 26533	0.12	Chromatogram
+ 28	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	-0.7	-2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27703	0.15	Chromatogram
+ 29	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	-0.7	-2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27703	0.15	Chromatogram
+ 30	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27734	0.15	Chromatogram
+ 31	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27734	0.15	Chromatogram
+ 32	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27733	0.15	Chromatogram
+ 33	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27734	0.15	Chromatogram
+ 34	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27734	0.15	Chromatogram
+ 35	Isostrychnine	467-16-3	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27734	0.15	Chromatogram
+ 36	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27733	0.15	Chromatogram
+ 37	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27715	0.15	Chromatogram
+ 38	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27715	0.15	Chromatogram
+ 39	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	335.1761	0.7	2.0	20.9 114466	9872	15.6 335.1754	0.0121 27715	0.15	Chromatogram
+ 51	Brucine	357-57-3	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	395.1969	-0.4	-1.0	5.9 113459	11428	17.1 395.1965	0.0135 29248	0.14	Chromatogram
+ 52	Brucine	357-57-3	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	395.1969	-0.4	-1.0	5.9 113459	11428	17.1 395.1965	0.0135 29232	0.14	Chromatogram
+ 53	Brucine	357-57-3	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	395.1969	-0.4	-1.0	5.9 113459	11428	17.1 395.1965	0.0135 29232	0.14	Chromatogram
+ 54	Brucine	357-57-3	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	395.1969	-0.4	-1.0	5.9 113459	11428	17.1 395.1965	0.0135 29248	0.14	Chromatogram

+ 55	Isobrucine	129/24-78-3 C 23 H 26 N 2 O 4	+ 395.1969	-0.4	-1.0	5.9	113459	11428	17.1	395.1965	0.0135 29248	0.14 Chromatogram
+ 56	3-Methoxycajine	73710-81-3 C 23 H 26 N 2 O 4	+ 395.1969	-0.4	-1.0	5.9	113459	11428	17.1	395.1965	0.0135 29248	0.14 Chromatogram
+ 57	Brucine	357-57-3 C 23 H 26 N 2 O 4	+ 395.1969	-0.4	-1.0	5.9	113459	11428	17.1	395.1965	0.0135 29232	0.14 Chromatogram
+ 61	Caracurine V	630-87-5 C 38 H 40 N 4 O 2	+ 585.3224	-0.0	-0.0	10.6	70772	6608	17.6	585.3224	0.0229 25612	0.13 Chromatogram
+ 62	Caracurine V	630-87-5 C 38 H 40 N 4 O 2	+ 585.3224	-0.0	-0.0	10.6	70772	6608	17.6	585.3224	0.0229 25612	0.13 Chromatogram
+ 63	iso-Caracurine V	482647-64-3 C 38 H 40 N 4 O 2	+ 585.3224	0.0	0.0	10.6	70772	6608	17.6	585.3224	0.0229 25614	0.13 Chromatogram
+ 64	Caracurine V	630-87-5 C 38 H 40 N 4 O 2	+ 585.3224	0.0	0.0	10.6	70772	6608	17.6	585.3224	0.0229 25614	0.13 Chromatogram
+ 67	Diaboline	509-40-0 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	0.4	1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32967	0.12 Chromatogram
+ 68	Diaboline	509-40-0 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	0.4	1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32967	0.12 Chromatogram
+ 69	Protostrychnine	71610-48-5 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	-0.4	-1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32970	0.12 Chromatogram
+ 70	Polyneuridine	6872-44-2 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	0.4	1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32967	0.12 Chromatogram
+ 71	Diaboline	509-40-0 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	0.4	1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32967	0.12 Chromatogram
+ 72	Protostrychnine	71610-48-5 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	0.4	1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32967	0.12 Chromatogram
+ 73	Diaboline	509-40-0 C 21 H 24 N 2 O 3	+ 353.1863	0.4	1.0	11.5	456087	56716	18.1	353.1860	0.0107 32967	0.12 Chromatogram
+ 86	Normacusine B	604-99-9 C 19 H 22 N 2 O 1	+ 295.1809	0.4	1.3	5.1	1779734	204988	19.7	295.1805	0.0083 35503	0.14 Chromatogram
+ 87	Normacusine B	604-99-9 C 19 H 22 N 2 O 1	+ 295.1809	0.4	1.3	5.1	1779734	204988	19.7	295.1805	0.0083 35503	0.14 Chromatogram
+ 88	Normacusine B	604-99-9 C 19 H 22 N 2 O 1	+ 295.1809	0.4	1.3	5.1	1779734	204988	19.7	295.1805	0.0083 35503	0.14 Chromatogram
+ 89	Normacusine B	604-99-9 C 19 H 22 N 2 O 1	+ 295.1809	-0.4	-1.3	5.1	1779734	204988	19.7	295.1805	0.0083 35509	0.14 Chromatogram
+ 98	10-O-Methylsarpagine	522-47-4 C 20 H 24 N 2 O 2	+ 325.1913	-0.2	-0.7	26.0	600824	40200	20.9	325.1911	0.0102 31728	0.32 Chromatogram
+ 99	Akagerine	56519-07-4 C 20 H 24 N 2 O 2	+ 325.1913	-0.2	-0.7	26.0	600824	40200	20.9	325.1911	0.0103 31707	0.32 Chromatogram
+ 102	9-Methoxygeissoschizol	184303-35-3 C 20 H 26 N 2 O 2	+ 327.2073	-0.6	-1.7	8.1	1140970	134912	21.1	327.2067	0.0095 34343	0.13 Chromatogram
+ 103	4-Hydroxystrychnine	22595-26-2 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40374	0.13 Chromatogram
+ 104	Genostrychnine	7248-28-4 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40374	0.13 Chromatogram
+ 105	Pseudostrychnine	465-62-3 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40385	0.13 Chromatogram
+ 106	Pseudostrychnine	465-62-3 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40385	0.13 Chromatogram
+ 107	Isostrychnine N-oxide	130641-44-0 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40385	0.13 Chromatogram
+ 108	4-Hydroxystrychnine	22595-26-2 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40374	0.13 Chromatogram
+ 109	Genostrychnine	7248-28-4 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40385	0.13 Chromatogram
+ 110	Pseudostrychnine	465-62-3 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	-0.8	-2.1	19.5	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40374	0.13 Chromatogram
+ 111	4-Hydroxystrychnine	22595-26-2 C 21 H 22 N 2 O 3	+ 351.1711	0.8	2.1	19.6	2763886	324868	21.2	351.1703	0.0087 40388	0.13 Chromatogram
+ 114	Strychnobrasiline	34227-00-4 C 22 H 26 N 2 O 3	+ 367.2023	0.6	1.8	27.2	93181	11424	21.4	367.2016	0.0136 26918	0.12 Chromatogram
+ 115	Strychnobrasiline	34227-00-4 C 22 H 26 N 2 O 3	+ 367.2023	0.6	1.8	27.2	93181	11424	21.4	367.2016	0.0136 26918	0.12 Chromatogram
+ 133	11-Demethoxymyrtoidine	243464-93-9 C 22 H 24 N 2 O 4	+ 381.1820	1.1	3.0	25.0	88213	2816	23.9	381.1809	0.0140 27185	0.44 Chromatogram
+ 134	11-Demethoxymyrtoidine	243464-93-9 C 22 H 24 N 2 O 4	+ 381.1820	1.1	3.0	25.0	88213	2816	23.9	381.1809	0.0140 27187	0.44 Chromatogram
+ 135	Vomicine	125-15-5 C 22 H 24 N 2 O 4	+ 381.1820	1.1	3.0	25.0	88213	2816	23.9	381.1809	0.0140 27185	0.44 Chromatogram
+ 155	16-Methoxystrychnine	5096-72-0 C 22 H 24 N 2 O 3	+ 365.1866	0.7	1.8	27.3	31153	2024	28.7	365.1860	0.0125 29143	0.18 Chromatogram
+ 156	beta-Colubrine	509-36-4 C 22 H 24 N 2 O 3	+ 365.1866	0.7	1.8	27.3	31153	2024	28.7	365.1860	0.0125 29143	0.18 Chromatogram
+ 157	alpha-Colubrine	509-44-4 C 22 H 24 N 2 O 3	+ 365.1866	0.7	1.8	27.3	31153	2024	28.7	365.1860	0.0125 29143	0.18 Chromatogram
+ 158	beta-Colubrine	509-36-4 C 22 H 24 N 2 O 3	+ 365.1866	-0.7	-1.8	27.3	31153	2024	28.7	365.1860	0.0125 29133	0.18 Chromatogram
+ 159	alpha-Colubrine	509-44-4 C 22 H 24 N 2 O 3	+ 365.1866	0.7	1.8	27.3	31153	2024	28.7	365.1860	0.0125 29143	0.18 Chromatogram

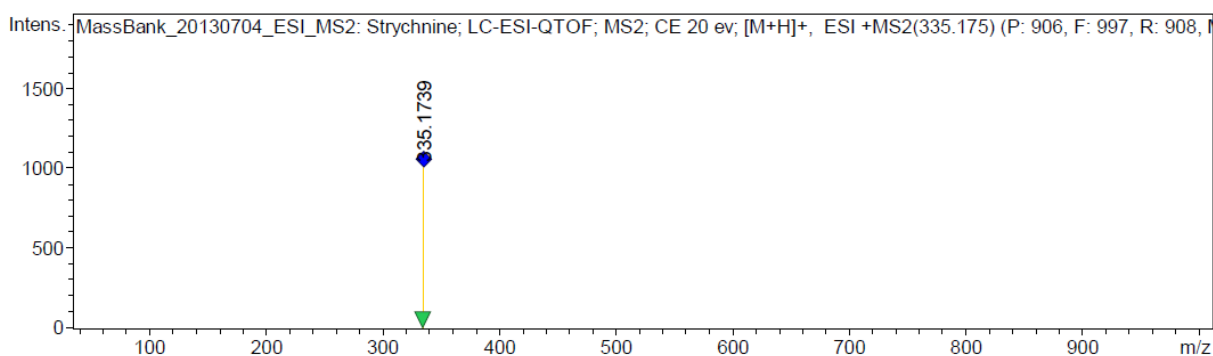
Note: mSigma fits < 50 indicates high probability of correct formula

Figura 89: Dados de massa comparados com o banco de massas Knapsack para FALCSpq.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	144.0830	16.2	0.0144	10024	194	19.4
2	145.0862	1.3	0.0144	10093	16	1.6
3	210.1121	3.3	0.0144	14617	40	4.0
4	222.1116	1.0	0.0144	15452	12	1.2
5	321.1587	1.8	0.0144	22343	21	2.1
6	353.1861	83.3	0.0144	24571	999	100.0
7	354.1892	15.5	0.0144	24640	186	18.6
8	355.1919	2.0	0.0144	24710	24	2.4

Figura 90: Perfil de fragmentação (MS2) para substância ajmalicina identificado no FALCSpq.



#	m/z	S/N	FWHM	Res.	I	I %
1	335.1739	18.5	0.0117	28585	999	100.0
2	335.2391	1.0	0.0117	28591	54	5.4

Figura 91: Perfil de fragmentação (MS2) para substância estriquinina identificado no FALCSpq.