

# Estudo farmacobotânico das folhas de *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae)

Pharmacobotanical study of the leaves of *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae)

DOI 10.5935/2446-4775.20160019

<sup>1,2</sup>TRINDADE, Rafaela Cabral dos Santos\*; <sup>2</sup>KIKUCHI, Tatiani Y. S.; <sup>2</sup>SILVA, Rolf, J. F.; <sup>3</sup>VALE, Valdicley V.; <sup>4</sup>OLIVEIRA, Alaíde Braga de; <sup>3</sup>DOLABELA, Maria F.; <sup>1</sup>COELHO-FERREIRA, Márlia R.

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Botânica Tropical, Belém, Pará, Brasil.

<sup>2</sup>Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica, Laboratório de Anatomia Vegetal, Belém, Pará, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém, Pará, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Laboratório de Fitoquímica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

\*Correspondência: rcabral@ufpa.br

## Resumo

*Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae) é uma planta nativa da Amazônia brasileira, usada na medicina tradicional à base de plantas, especialmente para o tratamento de malária. Neste trabalho foram realizadas análises anatômicas, histoquímicas, fitoquímicas, físicas e físico-químicas com as folhas de *A. excelsum*, visando auxiliar em sua distinção taxonômica, além de fornecer parâmetros de qualidade para futuros estudos farmacognósticos com a espécie. Amostras de folhas foram coletadas em Santa Bárbara, Estado do Pará. Para as análises estruturais e histoquímicas foram utilizadas técnicas usuais em anatomia vegetal. Algumas classes de metabólitos secundários foram detectadas a partir de Cromatografia de Camada Delgada. Os parâmetros físicos e físico-químicos foram avaliados a partir de análises de granulometria, teor de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido, umidade e pH. A folha de *A. excelsum* possui face abaxial com cutícula ornamentada, tricomas totores, laticíferos articulados ramificados e idioblastos com conteúdo cristalífero e acidófilo. A análise histoquímica revelou que os idioblastos apresentam composição heterogênea, como compostos fenólicos, taninos, alcaloides e lipídeos. A análise fitoquímica confirmou uma presença destas substâncias, além de heterosídeos flavônicos e esteroides. Os testes físicos e físico-químicos são dados inéditos para as folhas de *A. excelsum*.

**Palavras-chave:** Amazônia. Carapanaúba. Laticíferos.

## Abstract

*Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae) is a Brazilian Amazon native plant used in traditional herbal medicine, especially for the treatment of malaria. In this work, anatomical, histochemical, phytochemical, physical and physicochemical analysis were performed with the *A. excelsum* leaves to assist in their taxonomic distinction, in addition to provide quality parameters for future pharmacognostical studies with this species. Leaf samples were collected in Santa Bárbara, State of Pará. For structural and histochemical analysis, usual techniques in plant anatomy were used. Some classes of secondary metabolites were detected from Thin Layer Chromatography. The physical and physicochemical parameters were evaluated from granulometry, total ash, acid insoluble ash, humidity and pH analysis. The *A. excelsum* leaf has abaxial face with ornate cuticle, tector trichomes, articulated branched laticifer and idioblasts with cristalliferous and acidophilus content. The histochemistry analysis revealed that the idioblasts presented heterogeneous composition, such as phenolic compounds, tannins, alkaloids and lipids. The phytochemical analysis confirmed the presence of these substances, in addition to flavonic heterosides and steroids. The physical and physicochemical tests are new data to the *A. excelsum* leaves.

**Keywords:** Amazonia. Carapanauba. Laticifers.

---

## Introdução

O gênero *Aspidosperma* Mart & Zucc. (Apocynaceae) tem sido alvo de intensas investigações fitoquímicas e farmacológicas. Espécies deste gênero são utilizadas por populações tradicionais, como antiparasitários, anti-inflamatórios e antineoplásicos (OLIVEIRA et al., 2009; BANNWART et al., 2013; PAULA, DOLABELA e OLIVEIRA, 2014).

Dentre as espécies do táxon ocorrentes na região amazônica, destaca-se *Aspidosperma excelsum* Benth., conhecida popularmente por carapanaúba. Suas cascas são utilizadas em infusão e decocção para o tratamento de malária e febres em geral (MILLIKEN, 1997; BARBOSA, TAVARES e SOARES, 2003; OLIVEIRA et al., 2003). As propriedades terapêuticas de *A. excelsum* são atribuídas, principalmente aos alcaloides indólicos, 22 destes já foram isolados (PEREIRA et al., 2007). Apesar de amplamente utilizada, *A. excelsum* não possui monografia na Farmacopeia Brasileira que estabeleça parâmetros de autenticidade e grau de pureza para o seu uso seguro.

Estudos fitoquímicos de extratos obtidos das cascas de *A. excelsum* levaram ao isolamento de ioimbina, O-acetilioimbina, excelsinina, O-acetilexcelsinina, 16-epi-excelsinina (BENOIN, BURNELL e RIEDIN, 1967; BURNELL e NGUYÊN-THI-SEN, 1971).

Sabe-se que as folhas de *A. excelsum* apresentam componentes similares e/ou distintos aos encontrados nas cascas (AÑEZ, 2009). E por constituírem o órgão mais abundante do vegetal, seu uso poderia desviar

o foco sobre a coleta extensiva da casca, diminuir danos ocasionados à planta e conseqüentemente o risco de extinção da espécie (ALMEIDA e ALBUQUERQUE, 2002).

Segundo revisões taxonômicas mais recentes, *A. acanthocarpum* Markgr., *A. aquaticum* Ducke, *A. auriculatum* Markgr., *A. marcgravianum* Woodson e *A. nitidum* Benth. ex Müll. Arg., são sinônimos heterotípicos de *A. excelsum* Benth. (KOCH et al., 2014). Na Amazônia brasileira é comum o uso do mesmo nome vernacular para espécies distintas de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (REIS, 2015). O termo carapanaúba é comumente usado para *A. excelsum* Benth., *A. carapanauba* Pichon e *A. discolor* A. DC.. Todas estas espécies apresentam troncos sulcados e morfologia muito semelhante, o que dificulta a distinção taxonômica das mesmas em campo. O uso de técnicas de anatomia vegetal, para descrever a microestrutura das folhas de *A. excelsum*, é uma alternativa segura, para distingui-la de outras espécies do gênero (REIS, POTIGUARA e REIS, 2013).

O objetivo deste estudo foi caracterizar a anatomia foliar de *A. excelsum*, visando subsidiar sua identidade botânica. Além de realizar análises histoquímicas, fitoquímicas, físicas e físico-químicas, para que possam auxiliar em futuros estudos farmacognósticos com a espécie.

## **Materiais e métodos**

### **Material vegetal**

Partes vegetativas aéreas de *Aspidosperma excelsum* Benth., foram coletadas no município de Santa Bárbara do Pará (S 01° 10' 94.6", W 048° 11' 71.5") em maio de 2013. A identificação da espécie foi confirmada pelo especialista do gênero, Dr. Washington Marcondes Ferreira-Neto (Herbário UEC). Uma exsicata foi incorporada ao Herbário MG do Museu Paraense Emílio Goeldi, sob registro MG 206608.

Amostras da região mediana da lâmina foliar e pecíolo foram utilizados nas análises anatômicas. E 1,5kg de folhas para análises fitoquímicas, físicas e físico-químicas. As folhas foram higienizadas, secas em estufa de ar quente a 40°C e trituradas em moinho de facas de aço inoxidável. O pó obtido foi armazenado em frascos hermeticamente fechados.

### **Análise em microscopia óptica e eletrônica de varredura**

Amostras foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (formaldeído PA, ácido acético PA e etanol 50%, 1:1:1, v/v) (JOHANSEN, 1940) e FNT (Formalina neutra tamponada) (LILLIE, 1965). Posteriormente, foram desidratadas em série butílicas (JOHANSEN, 1940) e incluídas em parafina histológica e 2-hidroxietyl-metacrilato (Historesin Leica®), segundo especificações do fabricante. Secções transversais, longitudinais e paradérmicas (12-18 µm de espessura) foram obtidas em micrótomo de avanço automático (Leica® RM 2245, Nussloch, Alemanha), coradas com safranina, azul de astra (GERLACH, 1969) e tripla coloração de Flemming (JOHANSEN, 1940) ao final foram montadas em resina sintética (Permount®, New Jersey, USA).

Na dissociação da epiderme da lâmina foliar, foi utilizado hipoclorito de sódio 2% (JOHANSEN, 1940). A maceração foi realizada segundo Franklin (1945).

Para análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), amostras foram desidratadas em série etanólica crescente (JOHANSEN, 1940), secas em ponto crítico de CO<sub>2</sub> (BOZZOLA e RUSSEL, 1991), montadas em suportes metálicos (*stubs*) e metalizadas com ouro. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico LEO modelo 1450 VP.

### **Análise histoquímica**

Amostras foram incluídas em paraplast (KRAUS e ARDUIN, 1997). As classes de metabólitos secundários foram caracterizadas com os seguintes testes e respectivos controles realizados simultaneamente: Sudam Black B (PEARSE, 1985) para lipídios totais, Sulfato Azul do Nilo (CAIN, 1947) para lipídios ácidos e neutros, Acetato de Cobre/Ácido Rubeânico (GANTER e JOLLÉS, 1970) para ácidos graxos, Reagente de Nadi (DAVID e CARDE, 1964) para terpenos, Cloreto Férrico (JOHANSEN, 1940) para compostos fenólicos totais, Reagente de Dragendorff (SVENDSEN e VERPOORTE, 1983) para alcaloides, Ácido tânico/Cloreto Férrico (PIZZOLATO e LILLIE, 1973) para mucilagens, Vanilina Clorídrica (MACE e HOWELL, 1974) para taninos e Lugol (JOHANSEN, 1940) para amido.

As fotomicrografias foram obtidas em câmera digital *Cannon* modelo A65015, acoplada em microscópio Zeiss modelo 426126.

A terminologia utilizada para a descrição anatômica seguiu Metcalfe e Chalk (1950) e Demarco, Kinoshita e Castro (2006).

### **Obtenção dos extratos e frações**

Um quilograma de pó foi submetido à percolação exaustiva com etanol 92,8°GL (F. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). A partir do extrato etanólico das folhas de *A. excelsum* (EEAE) foram preparadas frações com solventes de polaridades crescentes: diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH). O extrato e frações foram concentrados até resíduo em evaporador rotativo (modelo Q344B1 QUIMIS®) equipado com bomba hidrovácuo (modelo Q355A2 QUIMIS®) em temperatura média de 60°C.

Para detectar a presença de alcaloides, realizou-se extrações seletivas acidobásicas com DCM, sendo o pó tratado previamente com HCl (1N) e NH<sub>4</sub>OH, ao final os extratos foram concentrados até resíduo (HENRIQUES et al., 2010).

### **Prospecção fitoquímica por Cromatografia de Camada Delgada (CCD)**

Foram utilizadas a solução de 1mg de EEAE em 1mL de MeOH e cromatoplasmas de sílica gel 60G F254 Merck em folhas de alumínio, visando detectar a presença dos seguintes grupos de metabólitos: cumarinas, geninas antracênicas e naftoquinônicas, heterosídeos antracênicos, triterpenos/esteroides, saponinas, geninas flavônicas, heterosídeos flavônicos, alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, taninos e polifenóis. Para

cada grupo foi utilizado um sistema eluente adequado, reveladores específicos e amostras de referência (WAGNER, BLADT e ZGAINSKY, 1984).

### **Análises física e físico-química**

Determinações de distribuição granulométrica, teor de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido e pH foram realizadas segundo especificações da Farmacopeia Brasileira (2010). Adicionalmente, foi aplicado índice de Sauter para classificar o tamanho das partículas de pó, e Infratest para determinação de umidade (BORGES et al., 2005).

## **Resultados**

### **Análises Anatômicas**

A superfície adaxial da lâmina foliar em vista frontal possui células com paredes anticlinais retas a ligeiramente sinuosas (**FIGURA 1B**). A cera epicuticular ocorre em placas contínuas paralelas à superfície epidérmica na face adaxial e em projeções na face abaxial (**FIGURAS 1A e 1C**). As folhas são hipoestomáticas com estômatos anomocíticos (**FIGURA 1D**). Foram observados dois morfotipos de tricomas tectores simples com indumento granuloso em ambas as faces da lâmina foliar. O primeiro é longo com ápice afilado e observado apenas sobre a nervura central (**FIGURA 1E**). O segundo é curto com ápice agudo e localizado disperso sobre a lâmina foliar (**FIGURA 1F**). Na face adaxial foram encontradas apenas cicatrizes (**FIGURA 1B**). As células epidérmicas que cerceiam as bases dos tricomas são alongadas radialmente e dispostas em roseta (**FIGURA 1D**).

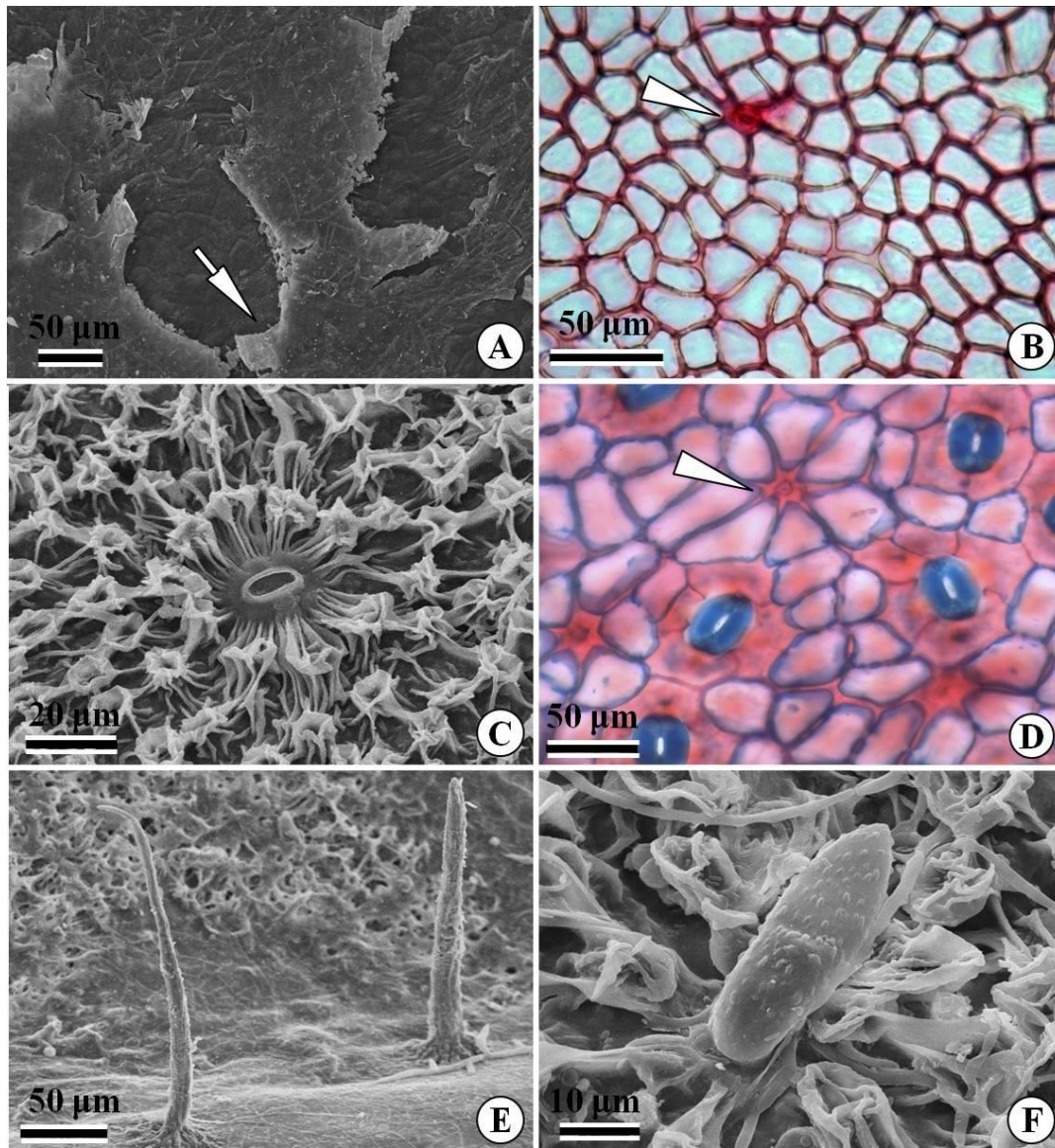
A lâmina foliar em secção transversal apresenta epiderme uniestratificada, coberta por cutícula espessada em ambas as faces. A margem foliar é ligeiramente dobrada para a face abaxial e possui células epidérmicas semelhantes a papilas (**FIGURA 2A**).

O mesofilo é dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e seis a oito de parênquima esponjoso. A vascularização consiste de feixes colaterais envoltos por endoderme contendo cristais prismáticos. Esclereídes colunares e macrosclereídes são abundantes e atravessam o mesofilo (**FIGURAS 2B, 2E**).

A nervura central em secção transversal é plano-convexa. Os feixes vasculares são bicolaterais e seguem o formato da nervura. Braquiesclereídes estão dispersos no parênquima fundamental (**FIGURA 2C**).

O pecíolo em secção transversal é plano-convexo. A vascularização consiste de feixes bicolaterais que seguem o formato do pecíolo. Macro e braquiesclereídes isolados e agrupados ocorrem no córtex parenquimático (**FIGURAS 2D, 2E**).

**FIGURA 1-** Vista frontal da superfície foliar de *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae). Fotomicrografias (B-D). Eletromicrografias de varredura (A, C, E, F). Superfície adaxial (A-B). A - Detalhe da cera epicuticular em placas (seta); B - Detalhe de paredes anticlinais retas ligeiramente sinuosas e cicatriz de tricoma (cabeça de seta). Superfície abaxial (C-F); C - Estômato cercado por cera epicuticular em projeções; D - Estômatos anomocíticos e base de tricoma. Note células em roseta (cabeça de seta); E, F - Tricomas tectores, longo de ápice afilado e curto de ápice obtuso, respectivamente.

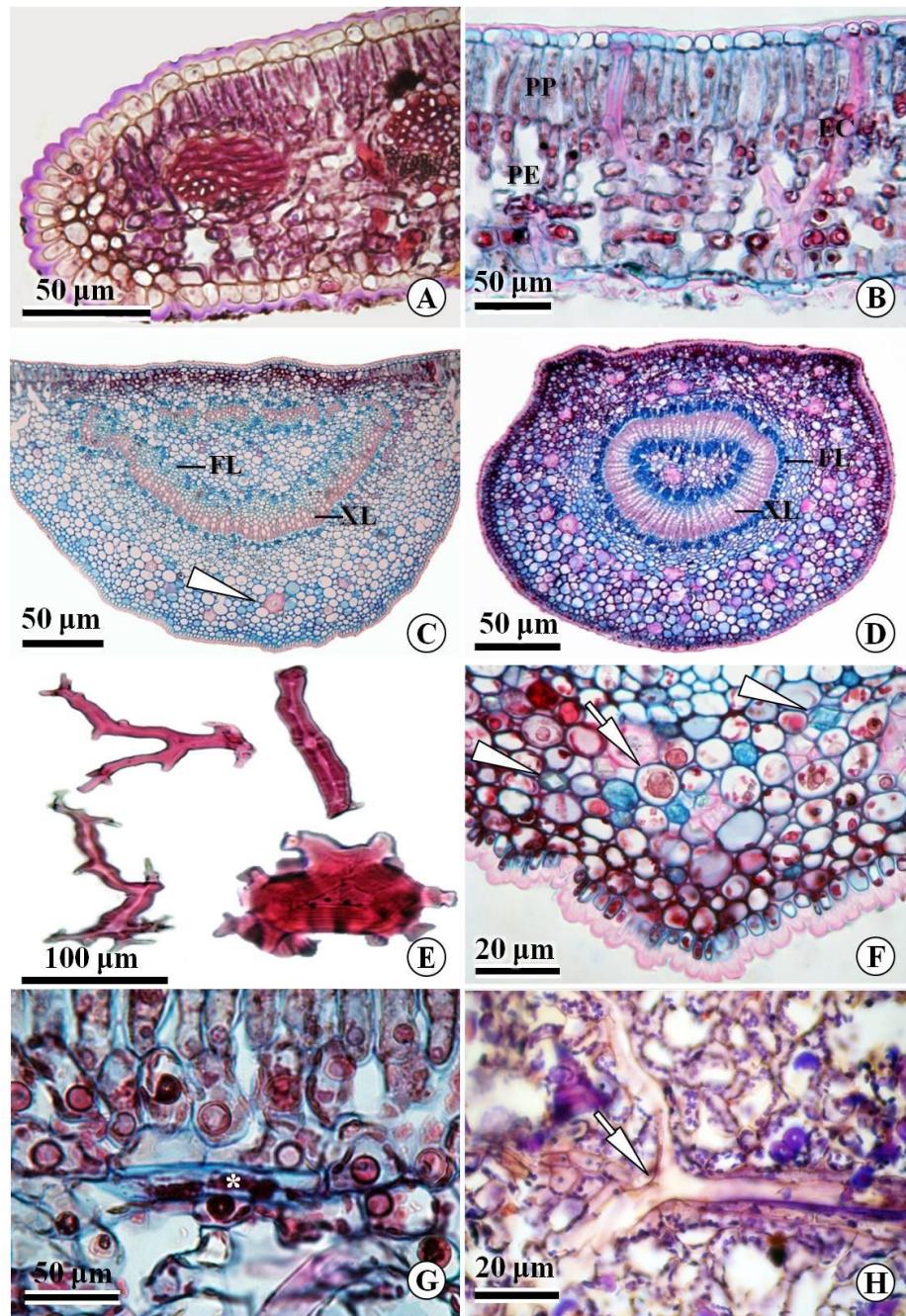


Idioblastos secretores com conteúdo acidófilo e cristalífero foram observados dispersos, principalmente no parênquima fundamental da nervura central e do pecíolo. Os idioblastos cristalíferos apresentam cristais prismáticos (FIGURA 2F).

Laticíferos simples e laticíferos articulados ramificados foram observados na lâmina foliar. Os simples ocorrem no mesófilo (FIGURA 2G), nervura central e pecíolo. Os articulados ramificados ocorrem apenas

no mesofilo (**FIGURA 2H**). Ambos os tipos de laticíferos são alongados e constituídos por parede primária com crescimento intrusivo entre as células parenquimáticas e esclereídes.

**FIGURA 2** - Secções transversais (**A-D**; **F-H**), macerado (**E**) e estruturas secretoras (**F-H**) das folhas de *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae). **A** - Margem com feixe colateral; **B** - Mesofilo dorsiventral; **C** - Nervura central, note braquiesclereídes (cabeça de seta); **D** - Pecíolo; **E** - Esclereídes; **F** - Idioblastos com conteúdo acidófilo (seta) e cristalíferos (cabeça de seta) no córtex da nervura central; **G** - Laticífero simples com conteúdo acidófilo (asterísco); **H** - Laticífero articulado ramificado (seta). FL: floema, PE: parênquima esponjoso, PP: parênquima paliçádico, SC: esclereíde, XL: xilema.



A análise histoquímica dos idioblastos foliares mostrou que o conteúdo é heterogêneo. Foram identificados: alcaloides, compostos fenólicos, lipídeos e oxalato de cálcio (**TABELA 1**).

**TABELA 1** - Resultados da análise histoquímica realizada nas folhas de *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae).

Metabólitos		Testes	Idioblastos - MS, NC e PC
Polissacarídeos	Mucilagem	Ácido tânico/Cloreto férrico	-
	Amido	Lugol	-
Alcaloides		Dragendorff	+
Compostos fenólicos totais		Cloreto férrico 10%	+
Taninos		Vanilina clorídrica	-
Flavonoides		Cloreto de alumínio	ND
Lipídeos	Lipídeos totais	Sudam Black	+
	Lipídeos ácidos	Sulfato azul de Nilo	+
	Ácidos graxos	Acetato de cobre e Ácido rubeânico	+
	Triterpenos	Nadi	ND
Oxalato de cálcio		Ácido sulfúrico	+

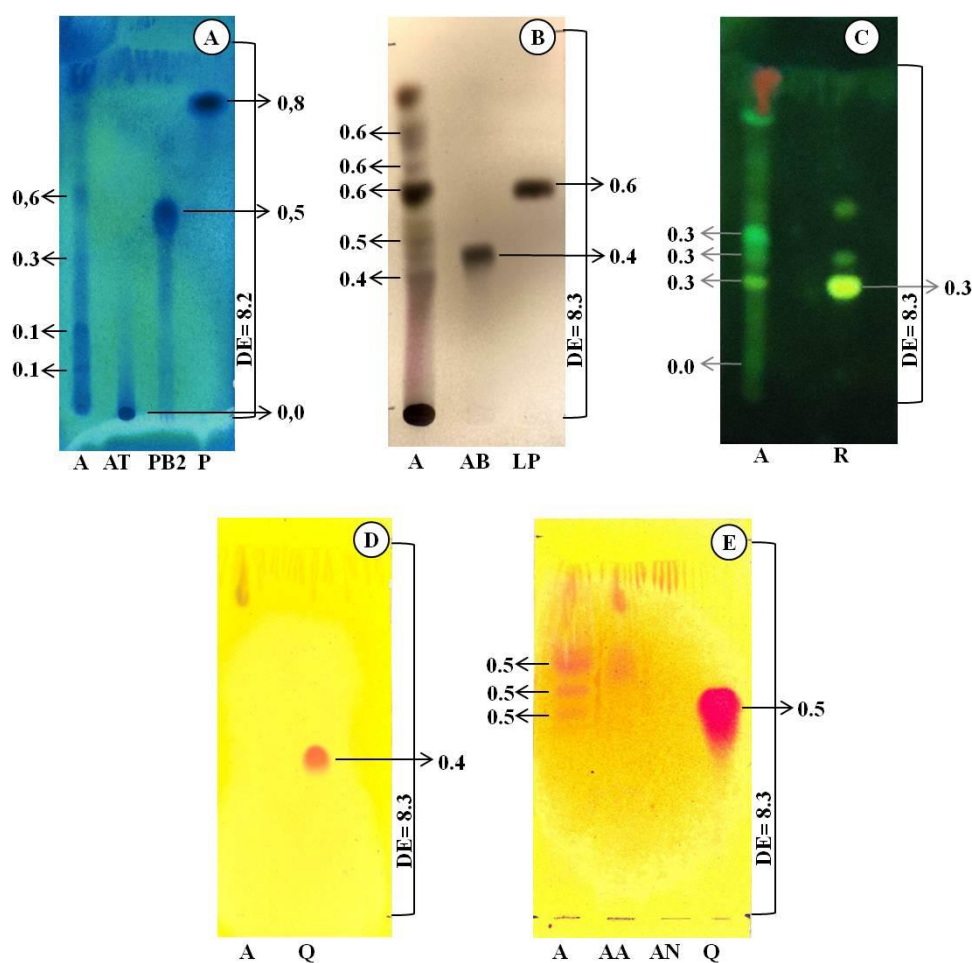
+: positivo, -: negativo, MS: Mesofilo, NC: Nervura central, PC: Pecíolo, ND: Não detectado.

### Análises fitoquímicas

A prospecção fitoquímica realizada por CCD revelou a presença de taninos e polifenóis, heterosídeos flavônicos, triterpenos, esteroides e alcaloides. As bandas reveladas apresentaram fatores de retenção (FR) distintos, evidenciando tratar-se de substâncias diferentes (**FIGURA 3**).



**FIGURA 3** - Cromatografia de Camada Delgada do extrato etanólico de *Aspidosperma excelsum* (EEAE) (A-D) e extração seletiva para alcaloides (E). **A** - Taninos e polifenóis, eluente: acetato de etila, clorofórmio, ácido acético e água (100:11:11:27), revelador: ferricianeto de potássio 1% e cloreto férrico 2%; **B** - Triterpenos e esteroides, eluente: hexano e acetato de etila (1:1), revelador: reagente de Liebermann-Burchard; **C** - Heterosídeos flavônicos, eluente: acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético e água (100:11:11:27), revelador: cloreto de alumínio; **D** - Alcaloides; **E** - Extração seletiva para alcaloides, eluente: acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético, água, butanona (50:7:3:10:30), revelador: reagente de Dragendorff. A: amostra, AA: alcaloides ácidos, AB: ácido betulínico, AN: alcaloides neutros, AT: ácido tânico, DE: Distância percorrida pelo eluente, LP: lupeol, P: pirrogalol, PB2: proantocianidina B2, Q: quinina, R: rutina.



### Análises física e físico-química

O pó das folhas de *A. excelsum* apresentou diâmetro médio de 936  $\mu\text{m}$ , sendo classificado como grosso. Os teores de cinzas totais e de umidade foram elevados. A infusão das folhas de *A. excelsum* obteve pH de 5.57. O teor de extrativos foi considerado satisfatório (TABELA 2).

**TABELA 2** - Resultado das análises física e físico-química realizadas a partir do pó das folhas de *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae).

Análise	Resultado
Granulometria	936 µm
Cinzas totais	17,24% ± 0,32
Cinzas insolúveis em ácido	0,78% ± 0,00
Umidade	14,43% ± 0,30
pH	4,46 ± 0,03
Rendimento EEAE	38,82%
Rendimento FrDCM	52,90%
Rendimento FrAcOEt	18,00%
Rendimento FrMeOH	14,80%

EEAE: extrato etanólico de *A. excelsum*, FrDCM: fração de diclorometano obtida a partir do EEAE, FrAcOEt: fração de acetato de etila obtida a partir do EEAE, FrMeOH: fração de metanol obtida a partir do EEAE.

## Discussão

*Aspidosperma excelsum* apresenta características conservativas à família Apocynaceae, tais como: epiderme uniestratificada, ornamentação da cera epicuticular, organização do mesofilo e pecíolo, além da localização e o tipo de estômatos, tricomas, laticíferos e idioblastos secretores (SOLEREDER, 1908; METCALFE e CHALK, 1950; CRONQUIST, 1981).

Idioblastos secretores e laticíferos foram as únicas estruturas secretoras observadas nas folhas de *A. excelsum*, assim como em *Parahancornia fasciculata* (Poir) Benoist (SANTOS et al., 2013) e em espécimes de *Mandevilla* Lindl. (MARTINS e ALVES, 2008). A ocorrência de laticíferos articulados ramificados é um dado inédito para *A. excelsum*, sendo relatado somente para *A. australe* Müll. Arg. (DEMARCO, KINOSHITA e CASTRO, 2006). Esta é uma característica particular, já que na maioria das espécies de Apocynaceae, os laticíferos são classificados como não articulados (SOLEREDER, 1908; METCALFE, 1967; YODER e MAHLBERG, 1976).

O elevado teor de cinzas totais das folhas de *A. excelsum* não constituem impurezas inorgânicas, visto que as análises estruturais mostraram a presença de idioblastos com cristais de oxalato de cálcio. Segundo Rao e Xiang (2009) os elevados teores de cinzas totais em algumas espécies podem ocorrer devido a presença de cristais de oxalato de cálcio. Colocam, ainda, que a análise de cinzas totais para aferição de controle de qualidade de drogas vegetais é insuficiente, sendo necessária a quantificação de cinzas insolúveis em ácido, como realizado no presente estudo. Além disso, como as amostras de *A. excelsum* foram coletadas em ambiente de várzea e, sabendo que plantas aquáticas ou sujeitas a inundações são sorventes naturais de substâncias inorgânicas, este fator pode ter influenciado na maior absorção de substâncias inorgânicas, elevando o teor de cinzas totais em *A. excelsum* (RUBIO et al., 2004).

O pH baixo da infusão das folhas de *A. excelsum* expressa a presença de substâncias ácidas nas folhas, devido, provavelmente, a presença de conteúdo acidófilo nos idioblastos secretores.

A heterogeneidade química dos idioblastos secretores constatados através da histoquímica está consonante com a fitoquímica. Por meio das duas técnicas foram detectados: alcaloides, compostos fenólicos totais (taninos, polifenóis e heterosídeos flavônicos), lipídeos totais e ácidos, ácidos graxos, triterpenos, esteroides e oxalato de cálcio nas folhas de *A. excelsum*. Segundo Evans (2002) os metabólitos secundários mais encontrados na família Apocynaceae são alcaloides indólicos, esteroidais e beta-carbolínicos, glicosídeos cardioativos, glicosídeos cianogenéticos, leucoantocianinas, saponinas, taninos, comarinas, ácidos fenólicos, ciclitois e triterpenos. No que concerne ao gênero *Aspidosperma*, estudos relataram a predominância de alcaloides indólicos (BOLZANI et al., 1987; PEREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2007).

Análises fitoquímicas realizadas por Añez (2009) revelaram a presença de compostos fenólicos, triterpenos, esteroides e glicosídeos cardioativos nas folhas de *A. marcgravianum* Woodson e *A. nitidum* Benth. ex Müll. Arg., além de cumarinas nesta última espécie. Pacheco (1979) também encontrou alcaloides nas folhas de *A. pyrifolium* Mart.

A CCD de triterpenos e esteroides, revelou substância com fator de retenção (FR) muito semelhante ao do triterpenoide lupeol, sugerindo que *Aspidosperma excelsum* possa conter esta substância, já isolada de *A. nitidum* (sinônimo botânico de *A. excelsum*) (PEREIRA et al., 2006), *A. parvifolium* A. DC. (JÁCOME et al., 2004) e *Parahncornia fasciculata* Poir (SILVA, 2012). Lupeol é comum em uma variedade de plantas terapêuticas e mostrou atividade contra *Plasmodium*, *Leishmania* e *Trypanosoma* (FOURNET et al., 1992; ALVES et al., 1997; GALLO e SARACHINE, 2009).

Com relação aos heterosídeos flavônicos, foi detectada substância com FR semelhante ao da rutina (amostra referência), constituinte já isolado das folhas de *A. macrocarpon* Mart. (BANNWART et al., 2013).

Apesar do baixo nível de detecção, a análise histoquímica revelou a presença de alcaloides. Na análise fitoquímica, entretanto, esta classe de metabólitos secundários não foi detectada no EEAE, estando presente apenas na extração seletiva para alcaloides. Isto pode sinalizar que, possivelmente, os alcaloides apresentam-se em concentrações muito reduzidas em folhas adultas, ou seja, sintetizados nas estruturas secretoras das folhas e translocados para a casca, local de maior armazenamento em *A. excelsum*. O local de armazenamento não necessariamente constitui o de síntese (SEIGLER, 1998).

Vinte e três extratos com solventes distintos foram obtidos por Dolabela e colaboradores (2012) a partir de órgãos vegetativos e reprodutivos de seis espécies de *Aspidosperma*, estes foram avaliados por CCD quanto à presença de alcaloides. Apenas os extratos etanólico e de DCM das folhas de *A. ramiflorum* A. DC. mostraram-se positivos para a classe, contudo todos os extratos obtidos a partir da casca das seis espécies revelaram a presença de alcaloides. Além disso, os mesmos apresentaram atividade biológica *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* resistente e sensível a cloroquina.

Considerando que foram usadas folhas adultas nesta investigação, são necessários mais estudos, principalmente ontogenéticos dos primórdios foliares, para melhor avaliação morfológica e química dos laticíferos, estudos de isolamento de alcaloides das folhas, bem como de suas rotas metabólicas responsáveis pela síntese e armazenamento nos órgãos de *A. excelsum*. Alcaloides, frequentemente se acumulam em locais particulares das plantas, e muitas vezes são transportadas do órgão de origem para o de armazenamento, suas vias metabólicas são influenciadas por vários fatores como: fisiologia, meio abiótico e expressão de rotas gênicas células-tecidos específicos e, ainda, pela biosíntese intermediada entre diferentes organelas e células (SEIGLER, 1998; YU e DE LUCA, 2014).

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Projeto Rede de Produtos Naturais para a Quimioterapia Antimalárica (Processo: 555655/2009-1), pelo apoio financeiro; À Dra. Alba Lúcia Lins pela autorização de uso do Laboratório de Anatomia Vegetal; À Msc. Tarcymara Garcia pelo auxílio na microscopia eletrônica de varredura. Ao Dr. Geraldo Célio Brandão, Msc. Douglas Gontijo e a técnica Raquel Isidório por auxiliarem nos experimentos fitoquímicos no Laboratório de Fitoquímica (UFMG) e à técnica Lidiane Diniz pelo apoio nos experimentos físicos e físico-químicos no Laboratório de Fitoquímica do Museu Paraense Emílio Goeldi.

## Referências

- ALMEIDA, C. F. C. B.; ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco: um estudo de caso no Agreste. *Interciência*, v.26, p. 276-285. Rio de Janeiro. 2002, [\[Link\]](#).
- ALVES, T. M. A.; NAGEM, T. J.; CARVALHO, L. H.; KRETTLI, A. U.; ZANI, C. L. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliensis*. *Thieme. Planta Medica*, v.63, n.6, p. 554-555. New York. 1997. ISSN 0032-0943. [\[CrossRef\]](#).
- AÑEZ, R. B. S. Análise morfoanatômica das folhas e casca de *Aspidosperma nitidum* Benth. e *Aspidosperma marcgravianum* Woodson (Apocynaceae) com abordagem farmacognóstica e etnofarmacológica. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas. Manaus. 2009. [\[Link\]](#).
- BANNWART, G.; SANTIN, S.; SCHUQUEL, I.; KATO, L.; OLIVEIRA, C.; BANNWART, E.; LEITE, C. *Flavonoide e triterpeno isolados das folhas da Aspidosperma macrocarpon*. 53º Congresso Brasileiro de Química, Rio de Janeiro. 2013. ISBN 978-85-85905-06-4. [\[Link\]](#).
- BARBOSA, W. L. R.; TAVARES, I. C. C.; SOARES, D. C. Alcaloides de *Aspidosperma auriculatum* Standl. *SciELO. Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.13, Supl.1. p.6-8. Maringá. 2003. ISSN1981-528X. [\[Link\]](#) [\[CrossRef\]](#).

BENOIN P. R.; BURNELL R. H.; RIEDIN J. D. Alkaloids of *Aspidosperma excelsum* Benth. *Canadian Journal of Chemistry*, v.45, p.725-730. Canada. 1967. [\[Link\]](#).

BOLZANI, V. S.; SERUR, L. M.; MATOS, F. J. A.; GOTTLIEB, O. R. Indole alkaloids evolution in *Aspidosperma*. Elsevier. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.15, p.187-200. USA. 1987. [\[CrossRef\]](#).

BORGES, D. B.; FARIAS, M. R.; SIMOES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. Comparação das metodologias da Farmacopeia Brasileira para determinação de água em matérias-primas vegetais, e validação da determinação de água em analisador de umidade para *Calendula officinalis* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek e *Passiflora alata* Curtis. *SciELO. Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, p.229-236. João Pessoa. 2005. ISSN 1981-528X. [\[CrossRef\]](#).

BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. *Electron microscopy*. In: BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. (org.), *Principles and Techniques for Biologists*, p. 40-61. Jones and Bartlett. Boston. 1991. ISBN-13: 978-0867201260.

BURNELL, R.H.; NGUYEN, T.S. Alpha-yohimbine from *Aspidosperma excelsum*. Elsevier. *Phytochemistry*, v.10, p.895. USA. 1971. ISSN 0031-9422. [\[Link\]](#).

CAIN, A.J. The use of Nile Blue in the examination of lipoids. University of Oxford. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, v.88, n.3. p.383-392. England. 1947. [\[Link\]](#).

CRONQUIST, A. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York. 1981. ISBN 0-231-03880-1.

DAVID, R.; CARDE, J.P. - Coloration differentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *SciELO. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*, v.258, p.1338-1340. 1964. [\[Link\]](#).

DEMARCO, D.; KINOSHITA, L. S.; CASTRO, M. M. Laticíferos articulados anastomosados - novos registros para Apocynaceae. *SciELO. Revista Brasileira de Botânica*, v.29, p.133-144. São Paulo. 2006. ISSN 1806-9959. [\[CrossRef\]](#).

DOLABELA, M.F.; OLIVEIRA, S.G.; PERES, J.M.; NASCIMENTO, J.M.J.; PÓVO, M.M.; OLIVEIRA, A.B. - *In vitro* antimalarial activity of six *Aspidosperma* species from the state of Minas Gerais (Brazil). *SciELO. Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.84, n.4, p.899-910. Rio de Janeiro. 2012. [\[CrossRef\]](#).

EVANS, W. C. The plant and animal kingdoms as sources of drugs. In: Trease and Evans Pharmacognosy. p.11-49. W.B. Saunders Company. London. 2002. ISBN 9780702029332.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª ed. Brasília: Anvisa. 2010. [\[Link\]](#).

FOURNET, A.; BARRIOS, A.A.; MUNÓZ, V.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. - Effects of natural naphthoquinones in Balb/c mice infected with *Leishmania amazonensis* and *L.venezuelensis*. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, v.43, n.4, p.219-222. 1992. [[PubMed](#)].

FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and Wood-resin composites, and a new macerating method for wood. Springer. *Nature*, v.155, p. 51. USA. 1945. [[Link](#)] [[CrossRef](#)].

GALLO, M. B. C.; SARACHINE, M. J. Biological Activities of Lupeol. Elsevier. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, v.3, p.46-66. 2009. ISSN: 0731-7085. [[Link](#)].

GANTER, P.; JOLLÉS, G. Histologie normale et pathologique. Gauthier-Villars. Paris. 1970. [[Link](#)].

GERLACH, G. *Botanische Mikrotechnik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 1969. [[Link](#)].

HENRIQUES, A. T.; LIMBERGER, R. P.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. *Alcaloides, generalidades e aspectos básicos*. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.), *Farmacognosia da planta ao medicamento*, p.765-792. Editora da UFRGS/UFSC. Porto Alegre/Florianópolis. 2010. ISBN 9788532803955.

JÁCOME, R. L. R. P.; OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S.; WAGNER, H. Estudo químico e perfil cromatográfico das cascas de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. ("Pau-Pereira"). *SciELO. Química Nova*, v. 27, n.6, p.897-900. São Paulo. 2004. ISSN 1678-7064. [[CrossRef](#)].

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. *Mc Graw-Hill*. New York. 1940. ISBN 0070325405.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, A. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. EDUR. 198p. Seropédica/RJ. 1997. ISBN 8585720115.

KOCH, I.; RAPINI, A.; SIMÕES, A. O.; KINOSHITA, L. S.; SPINA, A. P.; CASTELLO, A. C. D. *Apocynaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [[Link](#)]. Acesso em: 05 nov. 2014.

LILLIE, R. D. *Histopathologic technic and practical histochemistry*. McGraw-Hill. New York. 1965. ISBN 0070378622.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R., Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in root of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany*, v.52, p.2423-2426. Canada. 1974. [[CrossRef](#)].

MARTINS, S.; ALVES, M. Aspectos anatômicos de espécies simpátricas de *Mandevilla* (Apocynaceae) ocorrentes em inselbergues de Pernambuco, Brasil. Jardim Botânico/RJ. *Rodriguésia*, v.59, p.369-380. Rio de Janeiro. 2008. [[Link](#)].

METCALFE, C. R. Distribution of latex in the plant kingdom. Springer. *Economic Botany*, v. 21, n. 2, p.115-127. USA. 1967. [[Link](#)].

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, Stem, and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses. Clarendon Press, Oxford. 1950. ISBN 0198543832.

MILLIKEN, W. Traditional anti-malarial medicine in Roraima, Brazil. Springer. *Economic Botany*, v.3, p.212-237. 1997. ISSN 1874-9364. [\[Link\]](#) [\[CrossRef\]](#).

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. SciELO. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.5, n.2, p.23-31. 2003. ISSN 1516-0572. [\[Link\]](#).

OLIVEIRA, V. B., FREITAS, M. S. M., MATHIAS, L., BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J. C. Atividade biológica e alcaloides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae), uma revisão. SciELO. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 11, n.1, p. 92-99. Botucatu. 2009. ISSN 1516-0572. [\[Link\]](#) [\[CrossRef\]](#).

PACHECO, J. M. Estudo farmacognóstico do *Aspidosperma pyriforme* Mart. popularmente conhecido por Pereiro-preto. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v. 23, p.115-125. Rio de Janeiro. 1979. [\[Link\]](#).

PAULA, R. C.; DOLABELA, M. F.; OLIVEIRA, A. B. *Aspidosperma* species as sources of antimalarials. Part III. A review of traditional use and antimalarial activity. Thieme. *Planta Medica*, v. 80, p.378–386. USA. 2014. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).

PEARSE, A. G. E. *Histochemistry*. Theoretical and Applied. 4<sup>a</sup> ed. Churchill Livingstone. Edinburgh. V.2. 624p. 1985. ISBN 0443 029970. [\[Link\]](#) [\[CrossRef\]](#).

PEREIRA, M. M., JÁCOME, R. L. R. P., ALCÂNTARA, A. F. C., ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). SciELO. *Química Nova*, v.30, n.4, p.970-983. São Paulo. 2007. ISSN 1678-7064. [\[CrossRef\]](#).

PEREIRA, M. M.; SOUZA, J. S. N.; ALCÂNTARA, A. F. C.; PILÓ-VELOSO, D.; ALVES, R. B.; MACHADO, P. O.; AZEVEDO, A. O.; MOREIRA, F. H.; CASTRO, M. A. S.; RASLAN, D. S. Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.8, n.3, p.1-8. Botucatu. 2006. [\[Link\]](#).

PIZZOLATO, T. D.; LILLIE, R. D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, v.21, n.1, p.56-64. USA. 1973. [\[PubMed\]](#).

RAO, Y.; XIANG, B. Determination of total ash and acid-insoluble ash of chinese herbal medicine *Prunellae spica* by near infrared spectroscopy. J. Stage. *Yakugaku Zasshi*, v.129, n.7, p.881-886. Japão. 2009. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).

REIS, A. R. S. Anatomia da madeira de quatro espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. Comercializadas no estado do Pará, Brasil. Universidade Federal de Pelotas. *Brazilian Journal of Wood Science*, v.6, n.1, p.47-62. Pelotas. 2015. ISSN: 2177-6830. [\[CrossRef\]](#).

REIS, A. R. S.; POTIGUARA, R. C. V.; REIS, P. L. Anatomia foliar de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). Centro Científico Conhecer. *Enciclopédia Biosfera*, v.9, n.17, p.3206-3227. Goiânia. 2013. [\[Link\]](#).

RUBIO, J.; SCHNEIDER, I. A. H.; RIBEIRO, T.; COSTA, C. A.; KALLFEZ, C. A. Plantas aquáticas: sorventes naturais. *Ciência Hoje*, v.35, n.205. p.68-71. Rio de Janeiro. 2004. [\[Link\]](#).

SANTOS, A. C. F.; AGUIAR-DIAS, A. C. A.; AMARANTE, C. B.; COELHO-FERREIRA, M. Estruturas secretoras da lâmina foliar de amapá amargo (*Parahancornia fasciculata*, Apocynaceae), histoquímica e doseamento de flavonoides. *SciELO. Acta Amazônica*, v.43, n.4, p.407-414. Manaus. 2013. ISSN 0044-5967. [\[CrossRef\]](#).

SEIGLER, D. S. Plant secondary metabolism. Springer. New York. 1998. ISBN 9781461372288.

SILVA, A.O. Estudo fitoquímico e atividade antimalárica in vitro e in vivo dos extratos, frações e substância pura das cascas de *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist (Apocynaceae). Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará. 118p. Belém. 2012. [\[Link\]](#).

SOLEREDER, H. *Systematic anatomy of the dicotyledons*. Clarendon Press. Oxford. 1908. ISBN 1236763912.

SVENDSEN, A. B.; VERPOORTE, R. *Chromatography of Alkaloids*. Elsevier. New York. 1983. ISBN 9780444421456.

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKY, E. M. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer. Berlin. 1984. ISBN 9783642005732.

YODER, L. R.; MAHLBERG, P. G. Reactions of alkaloid and histochemical indicators in laticifers and specialized parenchyma cells of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). *Jstor. American Journal of Botany*, v.63, n.9. p.1167-1173. USA. 1976. ISSN 00029122. [\[Link\]](#).

YU, F.; DE LUCA, V. *Transport of Monoterpenoid Indole Alkaloids in Catharanthus roseus*. In: GEISLER, M. (org.), Springer. *Plant ABC Transporters*, v.22, p. 63-75. New York. 2014. ISBN 978-3-319-06511-3. [\[CrossRef\]](#).

---

**Conflito de interesses:** O presente artigo não apresenta conflitos de interesses.

**Histórico do artigo:** Submissão:14/01/2016 | Aceite:07/11/2016 | Publicação: 23/02/2017

**Como citar este artigo:** DA TRINDADE, Rafaela Cabral dos Santos; KIKUCHI, Tatiani; SILVA, Rolf. Estudo farmacobotânico das folhas de *Aspidosperma excelsum* Benth. (Apocynaceae). *Revista Fitos Eletrônica*, [S.l.], fev. 2017. ISSN 2446-4775. Disponível em: <<http://revistafitos.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/291>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

**Licença CC BY 4.0:** Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

---