

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
CURSO DE QUÍMICA LICENCIATURA

FERNANDA LESSA HOLANDA ROSA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
DA ESPÉCIE VEGETAL *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel
(Janaúba)**

FERNANDA LESSA HOLANDA ROSA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
DA ESPÉCIE VEGETAL *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel
(Janaúba)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de graduado em Química Licenciatura.

Orientador: Prof. Dr. Gilvan de Oliveira Costa Dias

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Lessa Holanda Rosa, Fernanda.

Estudo Fitoquímico e Atividade Antimicrobiana da
Espécie Vegetal *Himatanthus drasticus* Mart. Plumel Janaúba
/ Fernanda Lessa Holanda Rosa. - 2019.

54 p.

Orientador(a): Gilvan de Oliveira Costa Dias.

Monografia (Graduação) - Curso de Química, Universidade
Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Acetato de Lupeol. 2. Atividade Antimicrobiana. 3.
Estudo Fitoquímico. 4. Janaúba. I. de Oliveira Costa
Dias, Gilvan. II. Título.

FERNANDA LESSA HOLANDA ROSA

**ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
DA ESPÉCIE VEGETAL *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel
(Janaúba)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Maranhão, como requisito
parcial para a obtenção do título de graduado em
Química Licenciatura.

Orientador: Dr. Gilvan de Oliveira Costa Dias

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gilvan de Oliveira Costa Dias – UFMA

(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Joselene Ribeiro de Jesus Santos -UFMA

Prof. Dr. José Roberto Pereira Rodrigues - UFMA

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter dado a oportunidade de ingressar na Universidade e ter dado forças para continuar nessa jornada.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo.

Ao meu esposo pela paciência e pela ajuda que tem me dado com a educação do nosso filho.

Ao meu filho Felipe, meu grande amor, pela compreensão e carinho com a mamãe.

Ao Prof. Gilvan Dias pela oportunidade de desenvolver essa pesquisa e por ser meu orientador.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pelo fornecimento do herbário.

Ao Prof. José Roberto por conceder o Laboratório de Material e Engenharia Química de Processos (LAMEP/LEPEQ) para a realização dos experimentos.

Ao Prof. Eduardo Bezerra pela realização da exsicata da planta em estudo.

A Prof. Adenilde por ter concedido o Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA) para os testes microbiológicos.

À Central Analítica de Química da UFMA pelas análises realizadas.

Agradeço a todos que fizeram parte da minha formação.

Muito obrigada a todos.

A janaguba é a planta do futuro!

Francisco José Matos

RESUMO

A família Apocynaceae é uma das maiores e representativas famílias das angiospermas, contendo 255 gêneros e 3700 espécies, dentre as espécies pertencentes a ela destaca-se a *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel, planta popularmente conhecida como janaúba, joanaguba, janaguba, jasmim-manga, raivosa, sucuúba, tiborna e pau-de-leite. É uma planta arbustiva que pode chegar até 7 m de altura e de distribuição da Guiana Francesa ao território brasileiro.

A *H. drasticus* é uma espécie tradicionalmente utilizada na medicina popular da região nordeste do país, partes da planta, principalmente as folhas e o látex são empregados para o tratamento e/ou prevenção de diversas doenças inflamatórias, gastrite, úlcera, hemorroida, câncer, entre outros. Entretanto, apesar das diversas informações oriundas da medicina popular, ainda não são suficientes os relatos científicos confirmando tais propriedades farmacológicas. Seu látex, também conhecido como leite de janaúba é obtido após injúria no caule e amplamente comercializado em mercados públicos.

Devido às suas propriedades terapêuticas, a *H. drasticus* tornou-se muito versátil e excepcionalmente curativa e isso deve-se pelo fato de conter inúmeros princípios ativos em sua constituição química. Nesse trabalho, os metabólitos ou compostos bioativos presentes na espécie foram detectados através dos testes fitoquímicos por análise de Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e por Espectroscopia de Infravermelho, pelos quais foi possível determinar as classes de metabólitos presentes nas frações e a caracterização de algumas dessas substâncias. Além do teste de atividade antimicrobiana realizado com o seu látex a fim de verificar sua eficácia contra microorganismos patogênicos.

Os resultados obtidos com o teste antimicrobiano do látex deram negativos para todas as cepas estudadas (*Escherichia Coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*).

Palavras-chave: Janaúba; Acetato de Lupeol; Atividade Antimicrobiana; Estudo Fitoquímico.

ABSTRACT

The Apocynaceae family is one of the largest and most representative of the angiosperm families, containing 255 genres and 3700 species, among the species belonging to it the *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel stands out, a plant popularly known as *janaúba*, *joanaguba*, *janaguba*, *jasmim-manga* (*mango jasmine*), *raivosa*, *sucuúba*, *tiborna e pau-de-leite* (*milk stick*). It is a shrub plant that can reach up to 7m in height and distribution is from French Guiana to the Brazilian territory.

H. drasticus is a species traditionally in the folk medicine in the northeast region of this country (Brazil), parts of that plant, mainly its leaves and the latex are used for the treatment and/or prevention of various inflammatory diseases, gastritis, ulcer, hemorrhoid, cancer, among others. However, despite the various information from folk medicine, scientific reports confirming such pharmacological properties are still not sufficient. Its latex, also known as “leite de janaúba” (janauba milk) is obtained after stem injury and widely marketed in public markets.

Due to its therapeutic properties, *H. drasticus* has become very versatile and exceptionally curative and this is because it contains numerous active ingredients in its chemical constitution. In this paper, the metabolites or bioactive compounds present in the species were determined by chemical tests by Thin Layer Chromatography analysis (TLC) and Infrared, by which it was possible to determine the classes of metabolites present in the fractions and the characterization of some of these substances. In addition to the antimicrobial activity test performed with its latex to verify its effectiveness against pathogenic microorganisms.

The results obtained with latex antimicrobial test were negative for all strains studied (*Escherichia Coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*).

Key words: Janauba; Lupeol Acetate; Antimicrobial Activity; Phytochemical Study.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica da espécie <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel – Apocynaceae.....	20
Figura 2: Espécie <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel – Apocynaceae.....	21
Figura 3: Representação das folhas (a), flores (b) e fruto (c) de <i>Himatatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel.....	21
Figura 4: Sementes de <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel – Apocynaceae.....	22
Figura 5: Caule de <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel – Apocynaceae.....	22
Figura 6: Extração do látex (A) e Comercialização da janaúba (B)	23
Figura 7: Esquema do metabolismo primário e as vias de síntese dos metabólitos secundários.....	30
Figura 8: Substâncias químicas encontradas nas cascas e nas folhas de <i>Himatanthus drasticus</i>	31
Figura 9: Representação do isopreno.....	33
Figura 10: Estrutura química dos compostos fundamentais das principais famílias dos triterpenos pentacíclicos.....	34
Figura 11: Estrutura química do Lupeol (A) e do Acetato de lupeol (B).....	35
Figura 12: Fluxograma do procedimento experimental.....	40
Figura 13: CCD da FH (A) e FC (B) do látex da <i>H. drasticus</i> reveladas com vapores de iodo.....	41
Figura 14: CCD da FH1(A) e FH2 (B) do látex da <i>H. drasticus</i> reveladas com vapores de iodo.....	42
Figura 15: Espectros das frações FH1 (A) e FH2 (B).....	43
Figura 16: Resultados dos testes antimicrobianos	45
Figura 17: Resíduo aquoso do látex da <i>H. drasticus</i>	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação e subdivisões do gênero <i>Himatanthus</i> segundo Plumel, M.M.....	19
Tabela 2 – Taxonomia da espécie <i>Himatanthus drasticus</i>	23
Tabela 3 – Reagentes utilizados para obtenção dos extratos e frações.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ATCC - *American Type Culture Collection*

BHI – *Brain Heart Infusion*

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CIM – Concentração Inibitória Mínima

AMH – Ágar Mueller Hinton

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CCDC – Cromatografia em Camada Delgada Comparativa

FH – Fração Hexânica

FC – Fração Clorofórmica

FA – Fração Acetato de etila

Hex: AcOEt – Hexano e Acetato de etila

CHCl₃:Hex – Clorofórmio e Hexano

IPP – Isopentenil difosfato

DMAPP – Dimetilalil difosfato

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1 Família Apocynaceae.....	17
3.2 Gênero <i>Himatanthus</i>	18
3.2.1 Espécie <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel.....	19
3.2.1.1 Taxonomia da <i>Himatanthus drasticus</i>	23
3.2.1.2 Aspectos Etnofarmacológicos da <i>H. drasticus</i>	24
3.2.1.3 Propriedades Farmacológicas da <i>H. drasticus</i>	25
3.3 Metabolismo Vegetal.....	26
3.3.1 Definição.....	26
3.3.2 Importância dos metabólitos secundários.....	28
3.3.3 Vias de síntese dos metabólitos secundários.....	29
3.4 Constituintes Químicos da Espécie <i>H. drasticus</i>	31
3.4.1 Terpenoides.....	32
3.4.2 Compostos da classe dos triterpenos.....	33
3.4.3 Farmacologia dos triterpenoides (Lupeol e do Acetato de lupeol).....	34
4. METODOLOGIA.....	36
4.1 Coleta do material vegetal.....	36
4.2 Equipamentos utilizados.....	36
4.3 Vidrarias.....	36
4.4 Reagentes para obtenção dos extratos e frações.....	37
4.5 Preparo da amostra.....	37
4.6 Análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	37
4.7 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	38
4.8 Avaliação da atividade antimicrobiana da espécie <i>H. drasticus</i>	39

5. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	41
5.1 Análise do látex.....	41
5.2 Análise cromatográfica em CCDC.....	41
5.3 Análise cromatográfica.....	42
5.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)....	42
5.5 Atividade antimicrobiana do látex da espécie <i>H. drasticus</i>	44
6. CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização as plantas já serviam de base terapêutica e, assim, tem acompanhado o processo evolutivo da humanidade. Povos de diversas culturas utilizavam os produtos naturais, em particular as plantas, como meio de tratamento das suas doenças e o emprego de medicamentos à base de plantas ainda é relevante nos tempos atuais (CUNHA, 2010). E foi por meio da observação dos animais que o homem fez a utilização das plantas medicinais com fins terapêuticos, sendo assim, a natureza foi o primeiro remédio e a primeira farmácia a quem o homem recorreu (LIMA, 2006). Todavia, ainda não se tinha uma base científica quanto a sua eficácia e toxicidade.

Ao longo dos anos, pesquisas voltadas ao estudo de plantas têm evoluído de maneira significativa e têm trazido esclarecimentos sobre a natureza química e farmacológica delas. Dentre as ciências tem-se a Química dos Produtos Naturais, um ramo da Química Orgânica que trata do estudo das substâncias obtidas na natureza, principalmente os princípios ativos provindos das plantas, estes lhes conferindo atividade terapêutica. Entretanto, é papel dos químicos de produtos naturais em descobrir porque as plantas produzem esses compostos químicos (NASCIMENTO *et al*, 2014). O isolamento das primeiras substâncias puras do reino vegetal começa a acontecer no século XVIII. Este século, juntamente com o XIX, caracteriza-se pelos trabalhos de extração, principalmente de ácidos orgânicos e de alcalóides. É desta época o isolamento de morfina (1806), quinina e estriquinina (1820) (BERLINCK *et al*, 2017).

A maioria das substâncias orgânicas conhecidas tem sido produzidas pela natureza e dentre seus diversos reinos, o reino vegetal é o que tem contribuído significativamente para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes compostos de grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamento, cosméticos, alimentos e agroquímicos (PHILLIPSON, 1998). Muitas dessas substâncias constituem-se, sobretudo, em modelos para o desenvolvimento de medicamentos sintéticos modernos, tais como procaína, cloroquina, tropicamida (KINGHORN *et al*, 1996), ou de fármacos imprescindíveis como vimblastina (Velban[®]), vincristina (Oncovin[®]), podofilotoxinae os análogos etoposídeo (VP-16-213; Vepeside[®]) e teniposídeo (VM-26; Vumon[®]), taxol (Paclitaxel; Taxol[®]) e mais

recentemente camptotecina e derivados, com participação num mercado que movimenta cerca de 50 bilhões de dólares anualmente (PINTO *et al*, 2002).

As plantas medicinais e seus derivados apresentam contínuo crescimento de uso entre os recursos terapêuticos disponíveis, seja baseado na medicina tradicional ou em programas específicos de estímulo da prática da fitoterapia (BRASIL, 2013). É estimado que cerca de 25% dos atuais medicamentos disponíveis ao mercado são derivados direta ou indiretamente de princípios ativos vegetais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000. Em contrapartida, apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais (SIMÕES *et al*, 2003). À exemplo disso temos a espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel, planta pertencente à família Apocynaceae e exclusivo da América do Sul. É uma espécie vegetal produtora de látex, este sendo empregado como fonte alternativa para o tratamento de inúmeras enfermidades por possuir uma grande variedade de compostos farmacologicamente ativos, sendo que a presença desses compostos atribuí-se-lhe às suas funções terapêuticas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Realizar o estudo fitoquímico e atividade antimicrobiana do látex da *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel.

2.2 Objetivos específicos:

- Realizar o fracionamento do látex com os solventes orgânicos (hexano, clorofórmio e acetato de etila) e o isolamento de metabólitos secundários destas frações;
- Avaliar a atividade biológica das frações orgânicas obtidas do látex da janaúba.
- Corroborar com o conhecimento científico acerca da composição química da espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Família Apocynaceae

A Família Apocynaceae pertencente a ordem Gentianales é considerada uma das maiores e representativas famílias das angiospermas e atualmente é composta por 255 gêneros e 3700 espécies. Amplamente distribuída em áreas tropicais e subtropicais e em regiões temperadas (JUDD *et al.*, 2009; ENDRESS *et al.*, 2014). No Brasil a diversidade da família é representada por 754 espécies em 77 gêneros, presente em todas as regiões e domínios fitogeográficos brasileiros, todavia, é no domínio da Mata Atlântica que há maior diversidade da família, contando com aproximadamente 367 espécies (BFG, 2015).

Essa família apresenta uma apreciável diversificação de plantas do mundo e possuindo hábito variado, incluindo ervas, subarbustos, árvores, lianas com a maioria delas lactescentes (SOUSA; LORENZI, 2005). É originalmente subdividida em cinco subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae, predominando três delas no Brasil, a Rauvolfioideae, Apocynoideae e Asclepiadoideae (ENDRESS; BRUYNS, 2000).

Os gêneros mais importantes dessa família são: Alstonia, Aspidosperma, Vinca, Tabernaemontana, Mandevilla, Hancornia, Nerium, Strophantus, Catharantus, Allamanda, Thevetia, Wrightia, Plumeria, Himatanthus e Rauwolfia (DI STASI; HIMURA-LIMA, 2002). Dentro dessa família destacam-se a Catharantus ou a Vinca que possuem um número significativo de espécies ricas em alcaloides com atividade antineoplásica.

As espécies da Apocynaceae desenvolvem em diversos habitats, desde florestas tropicais úmidas até regiões semiáridas; em baixas e altas altitudes, em solos secos, afloramento rochosos, áreas alagadas e, algumas vezes, nas margens dos rios (RAPINI, 2004).

A família Apocynaceae caracteriza-se pela diversidade de substâncias provindas do seu metabolismo secundário, sendo considerada uma das mais importantes fontes vegetais de compostos químicos com utilidade terapêutica, além de possuir grande variabilidade morfológica em seus órgãos florais e a presença de vasos laticíferos. Economicamente, são também utilizadas na ornamentação de

parques e jardins, na alimentação e fornecedora de madeira ou para fins medicinais (JUDD, 2009).

Na família Apocynaceae, há a presença de tecidos laticíferos não articulados, ramificados ou não ramificados. A maioria produz látex, que contém diversos tipos de alcaloides, estes por sua vez, estão associados com a defesa da planta contra organismos herbívoros (VICENTINI e OLIVEIRA, 2002) e, nas espécies do gênero *Himatanthus*, apresentam atividade medicinal (SPINA, 2004).

Glicosídeos cianogenéticos e cardioativos, taninos, saponinas, ácidos fenólicos, ciclitóis, triterpenóides e cumarinas são os componentes químicos mais presentes nesta família (EVANS, 2002).

Dos estudos químicos e farmacológicos da família Apocynaceae comprova-se os efeitos medicinais e toxicológicos das espécies utilizadas e tem-se verificado a potencialidade destas e a consequente necessidade de estudos voltados para uma melhor compreensão química e biológica das mesmas, especialmente do grupo dos alcaloides e glicosídeos (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). E quanto aos variados gêneros que possui destaca-se nesse trabalho o gênero *Himatanthus*, que é muito pesquisado e utilizado em larga escala no uso medicinal.

3.2 Gênero *Himatanthus*

O gênero *Himatanthus* pertencente à família Apocynaceae, subfamília Rauvolfioideae, tribo Plumeriae é exclusivamente encontrado no continente sul-americano, consistindo de árvores, arbustos ou subarbustos, sendo a maioria lactescentes (PLUMEL, 1991). Esse gênero possui um total de nove espécies, sendo uma espécie no Panamá e oito espécies na América do Sul. As espécies de *Himatanthus* que ocorrem no Brasil estão distribuídas na região Amazônica, na região Central em áreas do Cerrado, no Nordeste em áreas de caatinga e carrasco e na região Litorânea ocorre na Floresta Atlântica. Ressaltando que as espécies *H. drasticus* e *H. bracteatus* apresentam distribuição restrita ao Brasil, ocupando áreas de cerrado, campo rupestre, caatinga e de mata atlântica (SPINA, 2004; FERREIRA, 2006).

Segundo Spina (2004), o gênero *Himatanthus* ficou classificado e subdividido da seguinte forma, conforme tabela a seguir:

Tabela 1: Classificação e subdivisões do gênero *Himatanthus* segundo Plumel, M.M.

Família: Apocynaceae	
Gênero: <i>Himatanthus</i>	
Sub-gênero: Obovatae	Sub-gênero: Lanceolatae
<i>H. obovatus</i> (Muell. Arg.) Woodson	<i>H. stenophyllus</i> Plumel, spec. nov
<i>H. drasticus</i> (Mart.) Plumel, comb. Nov.	<i>H. lancifolius</i> (Muell. Arg.) Woodson
<i>H. fallax</i> (Muell. Arg.) Plumel, comb. Nov.	<i>H. phagedaenicus</i> (Mart.) Woodson
<i>H. articulatus</i> (Vahl) Woodson	<i>H. speciosus</i> (Muell. Arg.) Plumel comb. Nov.
<i>H. sucuuba</i> (Spruce) Woodson	<i>H. bracteatus</i> (A. DC.) Woodson
<i>H. tarapotensis</i> (Schumman ex Markgraf) Plumel comb. Nov	<i>H. semilunatus</i> Markgraf
	<i>H. attenuatus</i> (Benth.) Woodson

Fonte: Junqueira, 2006. Adaptada

Na medicina tradicional, este gênero destaca-se pelo alto valor medicinal das suas espécies, em que se pode encontrar uma diversidade de compostos farmacologicamente ativos em todas as partes da planta, desde a raiz até as sementes e que são destinadas para o tratamento de doenças. Dentre os compostos bioativos, destacam-se pela presença de alcaloides, iridóides e ésteres triterpênicos, isolados das cascas e do caule e em menor quantidade do látex, nas folhas e nas raízes. Todavia, poucos são os estudos científicos a fim de comprovar tais efeitos terapêuticos (SANTOS, 2013).

3.2.1 Espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel

Geograficamente, a espécie é distribuída na Guiana Francesa, no Suriname, na Guiana e no Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Nordeste do Brasil. Nesta última área, encontra-se principalmente no planalto do Araripe (região do Cariri, estado do Ceará (Figura 1) (LORENZI e MATOS, 2008). No Brasil, habita as áreas do Cerrado, Caatinga e Amazônica, ocorrendo nos estados de Minas Gerais, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba, Piauí, Maranhão, Pará e Roraima. É uma planta medicinal conhecida popularmente como janaguba, janaúba, tiboma, jasmim-manga, raivosa, pau-de-leite, joanaguba e sucuuba. Floresce e frutifica praticamente o ano todo (PLUMEL, 1991; SPINA, 2016).

Figura 1: Distribuição geográfica da espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel



Fonte: Spina, 2004.

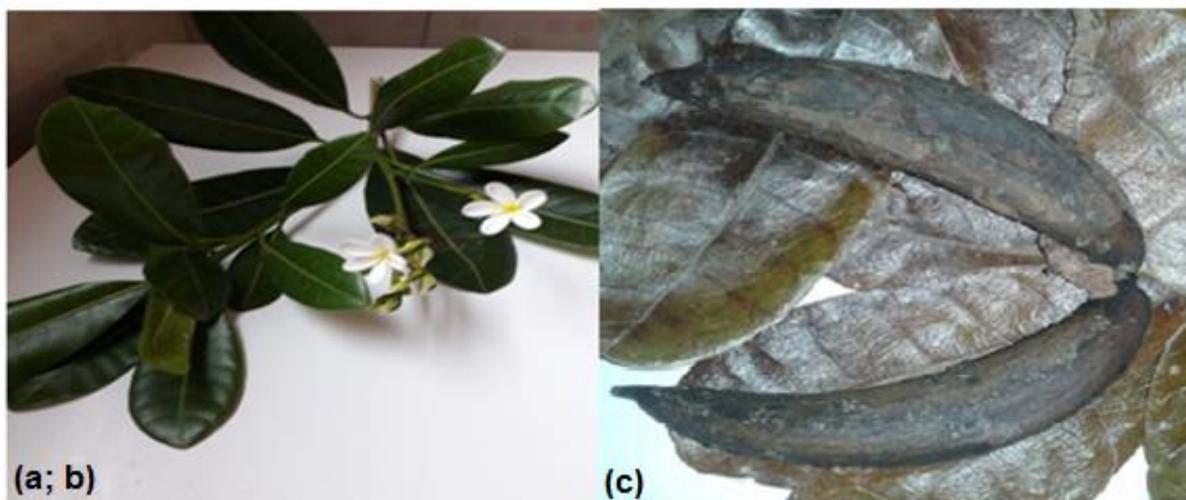
Segundo (LORENZI e MATOS, 2002); (MODESTO,1997), a *H. drasticus* (Figura 2) apresenta-se como árvore de pequeno porte de 3-7 metros de altura, densamente enfolhada na extremidade dos ramos e de tronco linheiro, leitoso, folhas ovais, subcoriáceas, brilhantes, glabras, verde escuro, com ápice arredondado a obtuso e pecíolos curtos. Possui flores brancas (Figura 3), aromáticas, fruto tipo folículo, em forma de chifre, medindo entre 15 e 20 cm de comprimento por 2,5 cm de largura e sementes com alas concêntricas (Figura 4). A casca é rugosa (Figura 5) e exsuda um látex branco bastante utilizado na medicina popular. Por conter esse látex branco também conhecido como “leite de janaguba” é chamada de planta laticífera (Figura 6).

Figura 2: Espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel - Apocynaceae



Foto: Sousa, 2008.

Figura 3: Representação das folhas (a), flores (b) e fruto (c) de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel.



Fonte: Autora, 2019

Fonte: Soares, 2015

Figura 4: Sementes de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel - Apocynaceae



Foto: Sousa, 2008.

Figura 5: Caule de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel - Apocynaceae



Foto: Sousa, 2008.

FIGURA 6: Extração do látex (A) e Comercialização da janaúba (B)



Foto: http://tenhaumavidalongaesaudavel.blogspot.com.br/2014/05/leite-de-janaguba- planta-que-tem_27.html

3. 2.1.1 Taxonomia da *Himatanthus drasticus*

Segundo Spina (2004) a espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel apresenta a seguinte classificação taxonômica:

Tabela 2: Taxonomia da espécie *H. drasticus*

Reino	Plantae
Filo	Trachaeophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Asteridae
Ordem	Gentianales
Família	Apocynaceae
Gênero	Himatanthus
Espécie	<i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel

Fonte: Vieira, 2012. Adaptada

3.2.1.2 Aspectos Etnofarmacológicos da *H. drasticus*

O látex da janaúba é amplamente utilizado na medicina popular para a profilaxia, cura e alívio de várias doenças. Na década de 1970, comumente se utilizava a mistura do leite de janaúba com água como potencial terapêutico no tratamento de neoplasias, principalmente na cura de cânceres pulmonares e linfáticos. Desde então, houve um aumento significativo na extração do látex com objetivos terapêuticos e científicos. A cidade de Crato (Ceará) tornou-se um importante centro de extração, alcançando exportação de 5000L de “leite-de-janaúba”, coordenado pela Diocese Católica Romana de Crato e do Instituto Brasileiro para o Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), para fins de pesquisa anticâncer.

O uso oral do “leite-de-janaúba” também tem sido utilizado para outras condições patológicas, como para o tratamento de gastrite, úlcera, diabetes, vermes, inflamações, doença cardíaca, artrite e como laxante ou, externamente, para distúrbios da pele e cicatrização de feridas. E segundo (LUZ, 2014; AMARO *et al*, 2006) também serve para o tratamento de reumatismo, febre, câncer de pulmão e linfático, analgésico. Além de combater menstruações irregulares e infertilidade feminina (LORENZI; MATOS, 2008).

O processo de extração do látex e a preparação do “leite-de-janaúba” é feito de maneira tradicional, começando com uma incisão longitudinal para a remoção parcial da casca. O látex emana da casca e é armazenado com água. Posteriormente, a mistura é filtrada e colocada em uma garrafa de 1L para sedimentação e formação de um sistema bifásico, contendo um precipitado esbranquiçado (1/4 a 1/3 do frasco cheio) e um sobrenadante levemente rosado. A mistura deve ser mantida em um ambiente frio e é indicado para ingestão de uma dose correspondente para uma xícara média, 3 vezes ao dia (ALMEIDA, 2017).

Além do látex, partes da planta como caule e folhas, também tem demonstrado grande potencial terapêutico no tratamento de inúmeras enfermidades. A casca da janaúba, por exemplo, na forma de infusão tem sido utilizada pela medicina popular para tratamento de tumores, gastrite, artrite e hemorroida. As compressas de folhas frescas esmagadas são utilizadas contra herpes, impinges e verrugas. Há também algumas indicações sobre o uso na forma de chás contra

irritação na uretra e inflamação no útero, dores e constipação (COLARES *et al.*, 2008; DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2005; LORENZI e MATOS, 2002).

3.2.1.3 Propriedades Farmacológicas da *H. drasticus*

No decorrer dos últimos anos, diversos estudos pré-clínicos *in vivo* e *in vitro* têm comprovado um notável potencial farmacológico da espécie *H. drasticus*, relatando as propriedades de seu látex, casca e folhas como ação antiinflamatória, antinociceptivo, antitumoral e gastroprotetor, mas com deficiência nos estudos microbiológicos e sistema nervosos central (ALMEIDA, 2017). A seguir serão abordadas as principais pesquisas científicas relacionadas comprovando a eficácia dessa espécie no tratamento de diversas doenças.

Dos estudos de MOUSINHO *et al* (2008), comprovou-se que o látex de *H. drasticus* não possui efeito citotóxico ou caráter hemolítico em teste *in vitro*, porém demonstrou efeitos antitumorais *in vivo*.

Segundo COLARES (2008), o efeito gastroprotetor do látex foi comprovado em modelo de lesão gástrica por etanol e indometacina. Já a análise fitoquímica de ANDRADE; CARDOSO e BASTOS (2007), mostrou que o látex desta espécie possui atividade antiulcerogênica comprovada, provavelmente atribuída a presença de taninos e terpenos, como relata LEITE *et al*, 2009.

Por meio de uma investigação fitoquímica a caracterização da presença do triterpeno esterificado “cinamato de lupeol”, além do lupeol e os ésteres têm sido identificados em várias partes da *H. drasticus*, demonstrando a influência desses compostos nos efeitos curativos. Do látex, o acetato de lupeol foi isolado e testado em modelos de nocicepção e inflamação por LUCETTI *et al* (2010), mostrando atividade analgésica pronunciada no modelo de contorções induzidas pelo ácido acético, atribuindo ao acetato de lupeol isolado do látex seu efeito antiinflamatório e antinociceptivo. Já MATOS *et al* (2013), atribuiu à fração protéica obtida do látex desprovido de lupeol, um potente efeito antiinflamatório e dependente da dose (10 mg/kg), como também sugeriu ações analgésicas periféricas e centrais desta fração.

Outros estudos realizados por MOUSINHO *et al* (2014) sobre a fração protéica extraída do látex, mostraram que esta tinha atividade contra as linhagens celulares do Sarcoma 180 e Carcinoma Walker 256, pela via intraperitoneal, porém não apresentando o mesmo efeito oralmente.

Outras propriedades foram avaliadas em estudos pré-clínicos, como hipoglicêmicos (TIONG *et al*, 2015), anticonvulsante (YA´E *et al*, 2008), antidepressivo (CAMARGO *et al*, 2013), atividade antiprotzoária (REINA *et al*, 2012), distúrbios do sistema nervoso central e dor em geral (SANTOS, 2013), verminoses, artrite, distúrbios menstruais, infertilidade feminina, afecções da pele e contra o câncer (COLARES *et al.*, 2008; DI STASI e HIRUMA-LIMA, 2005; LORENZI e MATOS, 2002).

E quanto a sua atividade antimicrobiana, os estudos de NASCIMENTO *et al* (2018), tem demonstrado que o extrato de acetato de etila e o látex *in natura* de *H. drasticus* não apresentaram atividade antibacteriana relevante frente às cepas bacterianas testadas (*S. aureus*; *P. aeruginosa*; *E. coli*; *K. pneumoniae*), porém reduziram a CIM das cepas bacterianas multiresistentes (*E. coli*, *S.aureus* e *K. pneumoniae*). Todavia, são necessárias pesquisas mais aprofundadas a respeito dos metabólitos que são responsáveis por tais efeitos.

Um recente estudo pré-clínico sobre a atividade antitumoral do extrato bruto de metanol de folhas de *H. drasticus* mostrou baixa toxicidade por via oral nas doses de 50, 300 e 2000 mg/Kg com inibição tumoral significativa contra o Sarcoma 180, sendo que este efeito deve-se a presença em alta concentração dos flavonoides quercetina e rutina e também encontrou a presença de triterpenos-amirina, proantocianidinas condensadas e leucocianidinas (SOUSA *et al*, 2010).

3.3 Metabolismo Vegetal

3.3.1 Definição

O metabolismo está relacionado ao conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células, que suprem o organismo de energia e renovam suas moléculas, garantindo assim, seu estado organizado (MARZZOCO e TORRES, 2007; PERES, 2004).

As plantas produzem uma variedade de componentes orgânicos, alguns estão presentes em todas as espécies e são chamados de metabólitos primários e outros de ocorrência mais restrita e que são controlados geneticamente denominados de metabólitos secundários. Os metabólitos primários desempenham funções essenciais no vegetal e está diretamente ligada ao desenvolvimento da planta como

o armazenamento de energia, função plástica e estrutural, e são encontrados em todas as espécies vegetais. Já os metabólitos secundários, também conhecido como produtos secundários ou produtos naturais, não são necessários para todas as plantas, por isso sua distribuição não é universal, ou seja, apresentam distribuição restrita no reino vegetal, sendo encontrados em apenas uma espécie de plantas ou grupo de espécies relacionadas taxonomicamente. Eles não têm relação direta no crescimento e desenvolvimento das plantas e, diferentemente dos metabólitos primários, tal como clorofila, aminoácidos, nucleotídeos ou carboidratos simples, os produtos secundários não têm função reconhecida nos processos de assimilação, respiração, transporte e diferenciação (TAIZ e ZEIGER, 1991; PERES, 2004).

Por muitos anos, os produtos naturais foram reconhecidos como simples produtos finais sem função no metabolismo ou mesmo como resultado de algum erro metabólico, servindo apenas como uma forma de desintoxicação das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009). Todavia, a partir da década de 1950, com a descoberta de novos metabólitos, evidencia-se a importância do papel dessas substâncias para a vida das plantas, principalmente como mediadora em processos de interação das plantas com o ambiente e por exibir ampla diversidade estrutural (DEY e HARBORNE, 1997), podendo ser sintetizadas somente em resposta a estímulos especiais, sendo que suas funções em muitos casos não são completamente esclarecidas (DEWICK, 2009). Sendo assim, os metabólitos secundários estão ligados diretamente com a interação das plantas com o ambiente, ou seja, com os fatores bióticos. (PERES, 2004). Sendo que as variações desses compostos estão submetidos à influência do clima, da composição do solo e do período vegetativo, entre outros (CUNHA, 2014).

Segundo SOUZA FILHO; ALVES (2002), todas as plantas são potencialmente capazes de sintetizar metabólitos secundários, pelo menos teoricamente. Entretanto, essa característica é mais comum entre as plantas selvagens, que, ao longo do seu ciclo evolutivo, desenvolveram mecanismos de adaptação para competir com outras, assegurando sua sobrevivência quer pela formação de estandes puros, quer para se defender de seus inimigos naturais.

3.3.2 Importância dos metabólitos secundários

Na década de 1960, muitos desses compostos demonstraram importantes funções ecológicas nas plantas. Entre estas funções destaca-se na proteção contra o ataque de herbívoros e infecção por microorganismos, além de serem considerados atrativos de polinizadores e animais dispersores de frutos e como agentes de competição entre plantas (TAIZ e ZEIGER, 1991).

O fato da sua importância ecológica ter alguma relação com efeito medicinal para os seres humanos, a ação dos metabólitos secundários relacionados à defesa das plantas através da citotoxicidade para patógenos microbianos são também úteis como medicamentos antimicrobianos em humanos, caso se não forem demasiadamente tóxicos. Já os metabólitos secundários envolvidos na defesa contra herbívoros pela sua atividade neurotóxica podem ter efeitos benéficos em humanos através de sua ação no sistema nervoso central, como antidepressivos, sedativos, relaxantes musculares e anestésicos (KAUFMAN *et al.*, 1999).

Atualmente, 60% das drogas anticancerígenas e 75% das utilizadas em doenças infecciosas são de origem natural ou derivados de produtos naturais. (NEWMAN *et al.*, 2003; CRAGG *et al.*, 2005). No entanto, muitas dessas drogas são produzidas em pequenas quantidades pelas plantas, inviabilizando sua produção em escala industrial. E como solução a esse problema, o desenvolvimento da síntese orgânica propiciou um grande avanço na obtenção de princípios ativos, através de metodologia sintética e de reagentes para a modificação estrutural de produtos naturais relevantes, atualmente em uso (YUNES, R. A; FILHO, V.C, 2009). Por isso, o grande interesse de obter esses metabólitos provindos das plantas deve-se à sua capacidade de produção de compostos biologicamente ativos que podem servir de modelo para a síntese de novos fármacos e de possuírem propriedades terapêuticas utilizadas como tratamento alternativo na medicina tradicional (GIBBONS, 2005).

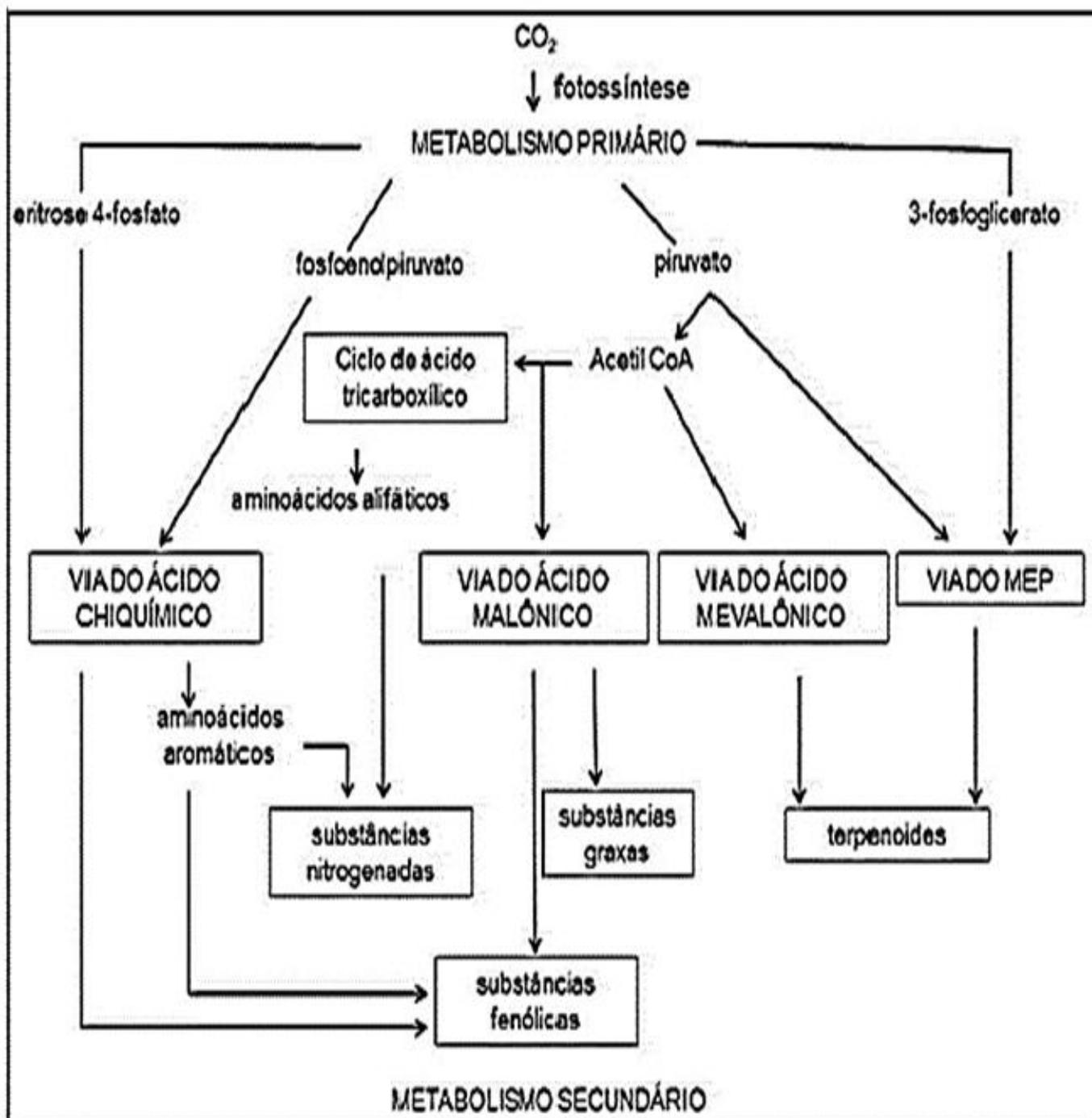
A importância econômica dos metabólitos secundários reside em três grandes áreas: a fitomedicina, a nutracêutica e as aplicações industriais diversas. E, atualmente, por meio dos avanços científicos se tem a facilidade em isolar genes que codificam enzimas chaves do metabolismo secundário tornando essas três áreas através da biotecnologia, potencializadas no futuro (PERES, 2004).

3.3.3 Vias de síntese dos metabólitos secundários

Os metabólitos secundários são encontrados principalmente em plantas, fungos, microorganismos e também em animais. Estima-se que existam mais de 200.000 compostos secundários conhecidos (HARTMANN, 2007). E apesar de toda essa diversidade, toda essa gama de substâncias produzidas é sintetizada a partir de quatro vias metabólicas principais: via do acetato-malonato; via do acetato-mevalonato; via do metileritritol fosfato e via do ácido chiquímico. Para todas essas vias, seus precursores são provenientes do metabolismo primário, ou seja, aquele conjunto de reações ligado aos processos vitais de respiração, fotossíntese e formação de novos tecidos nas plantas responsáveis pela síntese de carboidratos, proteínas, ácido nucléicos e lipídeos. Os precursores mais importantes na biossíntese dos metabólitos secundários são a acetil coenzima A, o ácido chiquímico e o metileritritol fosfato (DEWICK, 2009).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides. Os terpenos são originados a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido malônico. Por fim, os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (PERES, 2004). O fluxograma (Figura 7) demonstra resumidamente as três classes de substâncias das principais vias metabólicas.

Figura 7: Esquema do metabolismo primário e as vias de síntese dos metabólitos secundários.



Fonte: Baseado em TAIZ e ZEIGER, 2009.

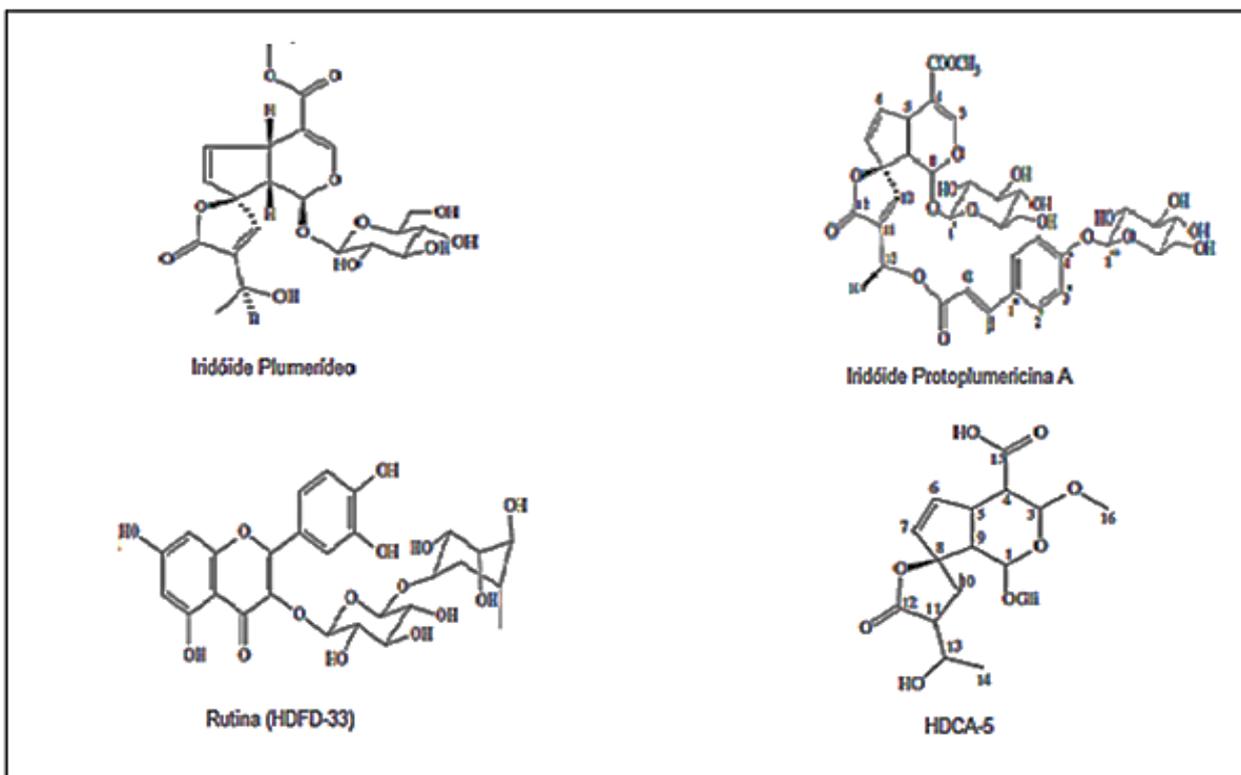
3.4 Constituintes Químicos da Espécie *H. drasticus*

As análises fitoquímicas são de grande importância e necessárias na obtenção de informações sobre os metabólitos secundários, principalmente quando ainda não são dispostos todos os estudos químicos com espécies de interesse popular. Tem como objetivo isolar e conhecer os compostos químicos das espécies vegetais e avaliar sua presença nos mesmos, identificando grupos de metabólitos relevantes na produção de novos fitoterápicos (SIMÕES *et al*, 2004).

A espécie *H. drasticus* (Mart.) Plumel, segundo ALMEIDA (2017) é caracterizada pela presença dos iridóides, triterpenos, flavonoides, alcaloides, taninos, cumarinas, saponinas, esteróis, além de alguns minerais. Mais especificamente, os compostos bioativos do látex da espécie *H. drasticus* são: os esteróides, saponinas, terpenos, triterpenos e açúcares redutores (MOURA, 2016). E para dá continuidade ao estudo desta espécie neste trabalho, aproveitou-se o resultado do estudo fitoquímico dos autores citados anteriormente.

As estruturas químicas das substâncias presentes nas cascas e nas folhas são ilustradas na figura 8:

Figura 8: Substâncias químicas encontradas nas cascas e nas folhas de *Himatanthus drasticus*.



Fonte: Junqueira, 2006.

3.4.1 Terpenoides

De todas as classes identificadas nessa espécie os terpenoides merecem destaque, por apresentarem a principal molécula responsável pela atividade biológica do látex de *H. drasticus*.

Os terpenos ou terpenoides, também conhecidos como isoprenoides, possuem a maior e mais diversa classe de produtos naturais obtidos de plantas, e são as que apresentam a maior variedade estrutural e funcional (HEDDEN & KAMIYA, 1997) e são conhecidos pelas suas importantes funções biológicas e fisiológicas e, por esse motivo, são utilizados na área farmacêutica.

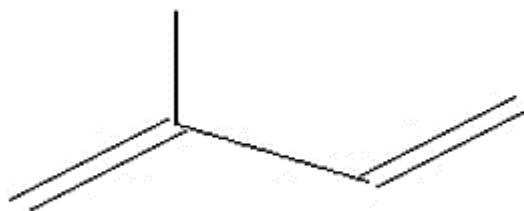
A maioria destes compostos apresentam baixa massa molecular, natureza lipofílica, grande variedade de estruturas e alta pressão de vapor à temperatura ambiente (BAKKALI *et al.*, 2008). Os terpenos compõem a essência volátil de flores e dos óleos essenciais de ervas e especiarias, pertencendo a uma classe de compostos naturais com propriedades biológicas funcionais e desejáveis. (CROWELL *et al.*, 1992; VAN GELDRE *et al.*, 1997). E muitos compostos desta classe de metabólito secundário são amplamente empregados no setor industrial como aromatizantes, fragrâncias e especiarias e também são utilizadas em produtos de perfumaria e cosméticos, bem como aditivos alimentares. Na indústria farmacêutica, além de serem utilizados como excipientes para melhorar a penetração na pele, eles também são apontados como princípios ativos de medicamentos. O crescente interesse na aplicação clínica destes compostos é atribuída a uma gama de propriedades biológicas de terpenos, tais como efeito antitumoral, antimicrobiano, antifúngico, antiviral, anti-hiperglicêmico, analgésico, anti-inflamatório e atividades antiparasitárias (PADUCH *et al.*, 2007).

De acordo com sua constituição química, os terpenos são classificados pelo número de carbonos que os contêm, sendo derivados das moléculas precursoras de cinco carbonos, o isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP), sendo chamada de isopreno (figura 9) (CROTEAU *et al.*, 2000). São conhecidos cerca de 30.000 terpenos, classificados de acordo com o número de unidades de isopreno em: hemiterpenoides, C₅; monoterpenoides, C₁₀; sesquiterpenoides, C₁₅; diterpenoides, C₂₀; triterpenoides, C₃₀ e tetraterpenoides, C₄₀ (DUBEY *et al.*, 2003). Esses compostos apresentam funções variadas nos vegetais, atuando na atração de polinizadores, nas funções protetoras contra fungos

e bactérias, no crescimento vegetal e na germinação de sementes, contra herbívoros, entre outros (VICKERY, 1981).

Os terpenos também são encontrados na constituição química da espécie de *H. drasticus* pela forma de monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos.

Figura 9: Representação do isopreno



Fonte: Autora

3.4.2 Compostos da classe dos triterpenos

Triterpenos ou triterpenóides são isopentenóides compostos de 30 átomos de carbono, com esqueleto cíclico do tipo mono-, tri-, tetra- ou pentacíclico. São metabólitos secundários não-esteroidais e são encontrados na flora terrestre, marinha e fauna. Ocorrem na forma livre ou na forma de éteres, ésteres e glicosídeos (MAHATO; KUNDU, 1994). E constituem talvez o grupo mais importante dos terpenoides (YUNES)

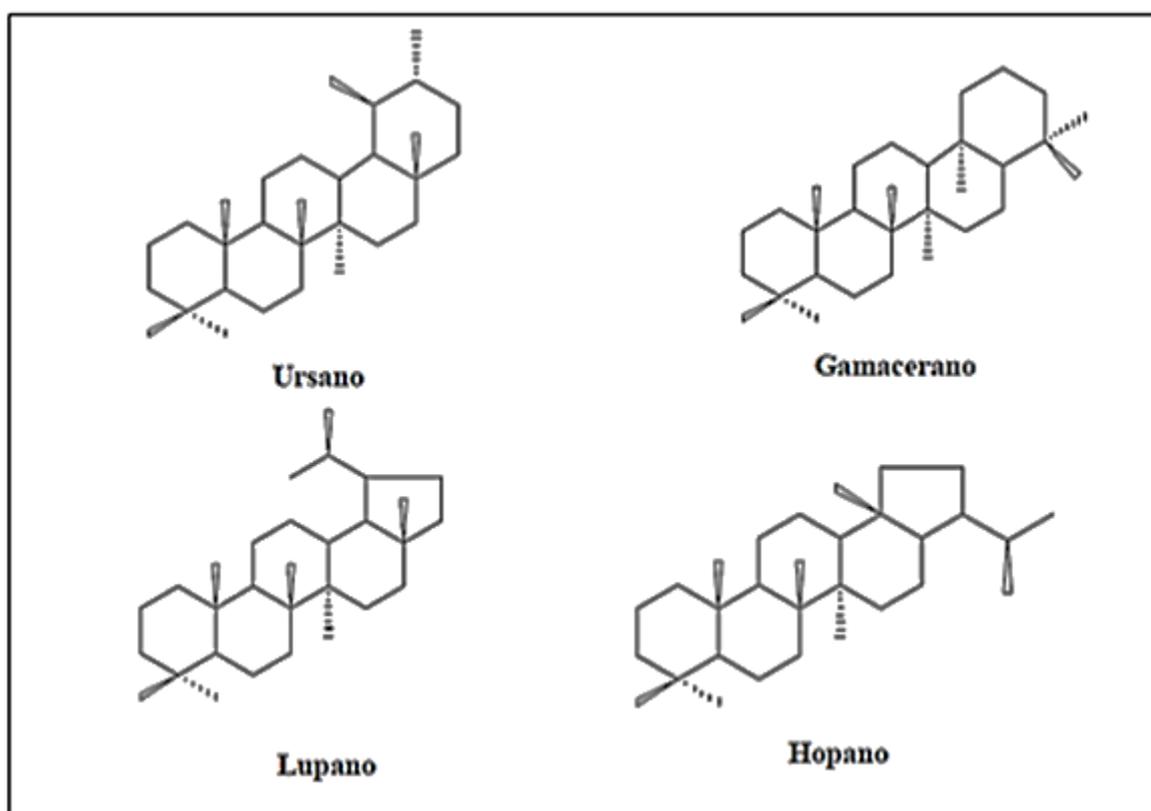
Algumas plantas contêm grandes quantidades de triterpenoides em seu látex e resinas, servindo como defesa química contra patógenos e herbívoros (MAHATO, 1997).

Esses compostos têm despertado um grande interesse tanto pelos seus aspectos de extração e análise estrutural, como também por apresentar um amplo espectro de atividades biológicas, tais como: bactericida, fungicida, antiviral, analgésica, anticarcinogênica, espermicida e antialérgica (PATOCKA, 2003). Como também efeitos analgésicos, antiinflamatórios, cardiovasculares e antitumorais (ANDRADE et al, 2008; OHIGASHI, 2008).

De acordo com a estrutura química, compreendem um grande número de diferentes tipos de compostos que são divididos em famílias. Dentre os principais

grupos de triterpenóides e seus glicosídeos estão os derivados pentacíclicos de ursano, gamacerano (formado por um esqueleto de 30 átomos de carbono dispostos em cinco anéis de seis membros) e lupano, hopano (contém quatro anéis de seis membros e um de cinco membros) como ilustrado na Figura 10 (PATOCKA, 2003).

Figura 10: Estrutura química dos compostos fundamentais das principais famílias dos triterpenos pentacíclicos.



Fonte: Lucetti, 2010

3.4.3 Farmacologia dos triterpenóides (Lupeol e do Acetato de lupeol)

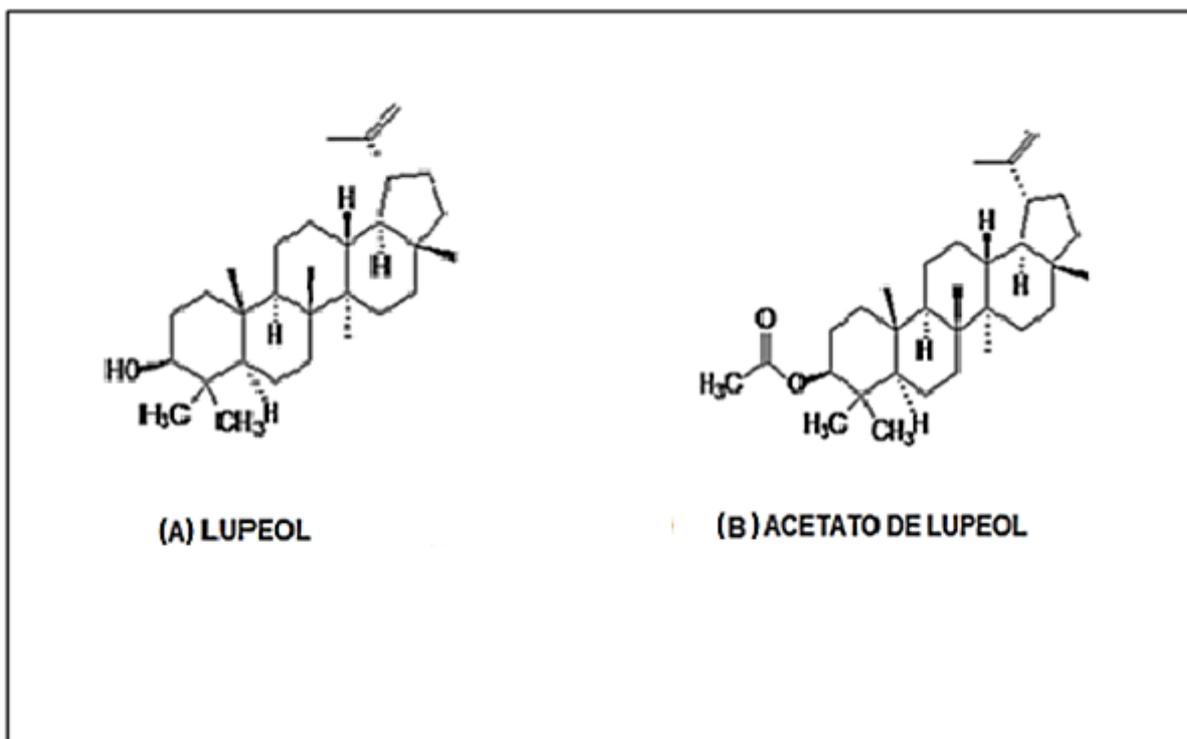
Recentes estudos sobre as atividades biológicas dos derivados de lupano tem verificado seus efeitos antiinflamatórios, antineoplásicos e antivirais (SZAKIEL *et al.*, 1995).

O lupeol (figura 11 A) tem sido o derivado do lupano o mais estudado e constatou-se que esse composto possui várias atividades farmacológicas tais como antiofídica, hepatoprotetora, cardioprotetora, antitumoral e em testes *in vivo* e *in vitro*

demonstrou seu poder de suprimir os efeitos da inflamação em modelos experimentais, além de atividade gastroprotetora (antiulcerogênica) (CHATTERJEE, 2006).

O Acetato de lupeol (figura 11 B) é um derivado esterificado do lupeol e foi isolado a partir do látex proveniente do caule de *Himatanthus drasticus* e também está presente em outras espécies do mesmo gênero (BARRETO *et al*, 1998).

Figura 11: Estrutura química do Lupeol (A) e do Acetato de lupeol (B)



Fonte: Autora

4 METODOLOGIA

Nessa parte do trabalho, serão abordados todos os equipamentos, materiais, reagentes e os procedimentos necessários para obtenção dos compostos bioativos desejados.

Os ensaios de bancada para obtenção dos extratos e frações e separação dos compostos foram realizados no Laboratório de Material e Engenharia Química de Processos (LAMEP/LEPEQ), as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água (PCQA-UFMA) e as análises para a determinação da estrutura química dos compostos foram feitas no Espectrofotômetro na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier Médio, no Laboratório da Central Analítica da Química (CAQ-UFMA).

4.1 Coleta do material vegetal

A amostra do látex da espécie *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel foi coletado no Bairro Parque Vitória em São Luís – Ma, no dia 13 de julho de 2019. Uma outra coleta foi necessária, dessa vez para a identificação da espécie, o qual ocorreu no dia 08 de outubro de 2019. A exsiccata da espécie vegetal foi identificada pelo botânico Prof. Dr. Eduardo Bezerra Almeida Júnior, e depositada no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão – Campus Bacanga, sob o número 11.562.

4.2 Equipamentos utilizados

- Balança analítica digital (SHIMADZU)
- Evaporador rotativo (QUIMIS)
- Bomba de vácuo (QUIMIS)
- Estufa (QUIMIS)
- Espectrômetro IV (SHIMADZU)

4.3 Vidrarias

- Funil de separação;
- Beckeres;
- Erlemeyers;
- Placas cromatográficas.

4.4 Reagentes para obtenção dos extratos e frações

Todos os solventes utilizados para obtenção dos extratos e frações estão listados na tabela 3.

Tabela 3: Reagentes utilizados para obtenção dos extratos e frações

Reagentes	Pureza	Fabricante
Hexano	PA	QUIMEX
Clorofórmio	PA	QUIMEX
Acetato de Etila	PA	QUIMEX
Etanol	PA	IMPEX

4.5 Preparo da amostra

Primeiramente, o látex extraído da espécie *Himatanthus drasticus* foi pesado resultando em 3,14 g e, logo após, foi dissolvido em 150 mL de água destilada, resultando na fração aquosa. Em seguida, a partir desta fração foi adicionado 100 mL de hexano para iniciar a partição. Este processo repetiu-se por 3 vezes até a obtenção da fração hexânica. O mesmo procedimento foi realizado para a fração clorofórmica e acetato de etila. Ao término dos fracionamentos, as referidas frações foram submetidas a evaporação no evaporador rotativo à 65° C para obtenção das frações concentradas. A fim de descobrir o solvente ou mistura de solventes adequado para ser usado na separação das prováveis substâncias presentes nestas frações, realizou-se a Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC). As figuras 13A e 13B representam as frações hexânica e clorofórmica, ambas eluídas respectivamente com hexano e acetato de etila (9:1) e clorofórmio e hexano (9:1).

4.6 Análise Cromatográfica (CCD)

Corridas cromatográficas foram realizadas com a fração hexânica (FH) e fração clorofórmica (FC) com a finalidade de verificar a presença de compostos nessas frações. Para tal procedimento, utilizou-se placas 6 x 2 cm, sendo que para a FH uma mistura de Hex:AcOEt (9:1) 5mL foi usada como fase móvel e para a FC,

5mL de solvente CHCl_3 :Hex (9:1).

Em seguida, a cromatografia em camada delgada preparativa foi necessária para a separação e purificação das frações. Para isso preparou-se 6 placas (20 x 18 cm) utilizando sílica gel 60, que foram anteriormente ativadas em estufa a temperatura de 70° C por 1 hora. Dessas placas, três delas foram usadas para a FH, nas quais foram aplicadas FH diluída em sequência horizontal totalizando um volume de 80 mg de amostra em cada placa. E as outras três placas foram utilizadas para a FC, seguindo também o mesmo procedimento. Logo após, as placas contendo a FH foram eluídas com a mistura de Hex:AcOEt (9:1) e para as placas contendo FC eluídas com a mistura de CHCl_3 :Hex (9:1). Das placas contendo FH foram isoladas duas substâncias que foram codificadas pelas siglas FH1 e FH2 (figura 14).

A purificação procedeu-se da seguinte forma: fez-se as raspagens das manchas referentes a FH1 e FH2 onde se encontravam nas placas, em seguida foram misturadas com solventes hexano e acetato de etila e por último filtradas. Logo após esse procedimento, deixou-se as frações evaporarem, pôs para secar e fez-se a pesagem. Resultando para FH1 = 53 mg e FH2 = 14 mg. Estas foram submetidas a análises espectroscópicas de infravermelho para identificação das bandas de grupamentos funcionais de possíveis metabólitos secundários.

As placas contendo a FC foram identificadas duas manchas juntas (figura 13B) que foram removidas para uma análise cromatográfica e espectroscópica posterior.

4.7 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

No espectrofotômetro de infravermelho por transformadora de Fourier (FTIR), na região do infravermelho médio, foram investigadas as frações FH1 e FH2. Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos com o uso do espectrofotômetro marca SHIMADZU na região de frequência 4000 – 400 cm^{-1} (2,5 e 25 μm). As amostras juntamente com o sal de Kbr foram trituradas em almofariz para a coleta dos espectros no infravermelho. Em seguida, a constatação da região característica das amostras para a identificação dos compostos foi realizada.

4.8 Avaliação da atividade antimicrobiana da espécie *H. drasticus*

- Microorganismos testados

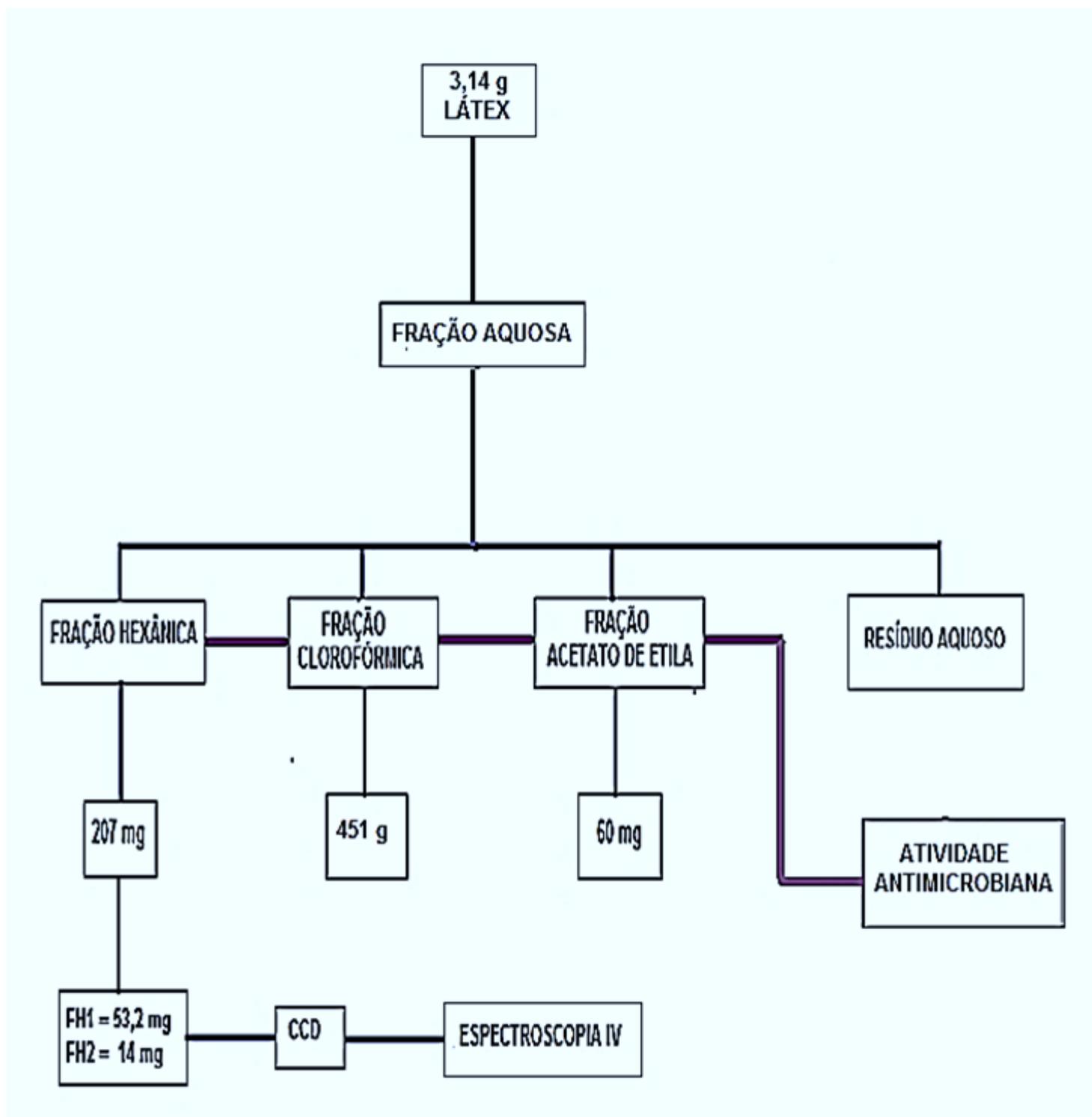
Foram utilizadas 4 cepas microbianas provenientes da “*American Type Culture Collection*” (ATCC) doadas pelo Laboratório de Microbiologia do Controle de Qualidade de Alimentos e Água da Universidade Federal do Maranhão (PCQA-UFMA), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella* sp. (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145). A identificação das cepas foi confirmada pelo uso de ensaios bioquímicos, seguindo as recomendações do manual de microbiologia clínica (MURRAY, 2003).

- Padronização do inóculo

As cepas microbianas utilizadas foram repicadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma suspensão microbiana com a turbidez comparável à da solução padrão de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003).

- Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco

Primeiramente, foram preparadas as placas com o meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH), após sua solidificação a suspensão microbiana foi distribuída na superfície do ágar e deixada em repouso à temperatura ambiente por 30 min. Logo após, foram preparados 4 discos contendo 50 µL das frações do látex da *H. drasticus* e no total foram 3 placas para cada extrato. Utilizando-se pinça esterilizada, os discos foram distribuídos sobre a superfície do ágar. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco. Esses ensaios foram feitos em triplicata (CLSI, 2003).

Figura 12: Fluxograma do procedimento experimental.

Fonte: Autora

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise do Látex

O látex apresentou-se na forma líquida e de cor branca no momento da extração, e no decorrer do tempo aparentou uma coloração mais escurecida e de aspecto pegajoso.

5.2 Análise Cromatográfica em CCDC

A fração FH quando eluída com Hex:AcOEt (9:1) mostrou várias manchas, sendo que a mancha de $R_f = 0,6$ bem mais definida, caracterizando o composto de maior rendimento na amostra, conforme ilustrado na figura 13 A. Já a fração FC mostrou apenas duas manchas unidas caracterizando duas substâncias, como mostrado na figura 13 B.

Figura 13: CCD da FH (A) e FC (B) do látex da *H. drasticus* reveladas com vapores de iodo



A) FRAÇÃO HEXÂNICA
HEX : AcOEt (9 : 1)



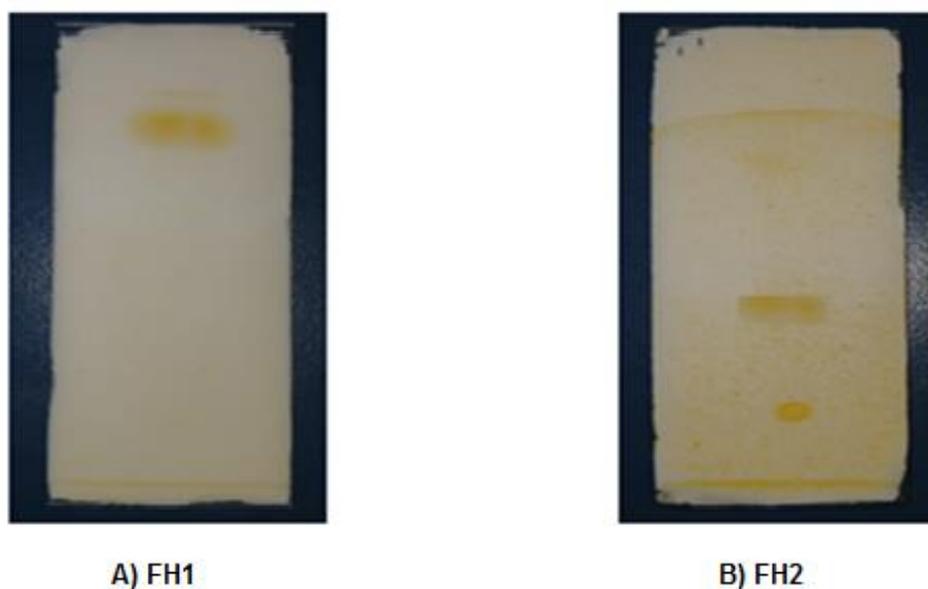
B) FRAÇÃO CLOROFÓRMICA
CHCl₃ : HEX (9 : 1)

Fonte: Autora

5.3 Análise Cromatográfica

Nessa análise foi possível o isolamento de duas substâncias denominadas FH1 e FH2 proveniente da fração hexânica e ambas apresentaram-se na forma de resina transparente. A confirmação das suas purezas foram baseadas mediante a visualização de uma única mancha em CCDC revelada com vapores de iodo, conforme ilustrado na figura 14.

Figura 14: CCD da FH1 (A) e FH2 (B) do látex da *H. drasticus* reveladas com vapores de iodo



Fonte: Autora

5.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho (IV) são regularmente usados pelos químicos orgânicos para facilitar a identificação de grupos funcionais (SILVERSTEIN, 1994).

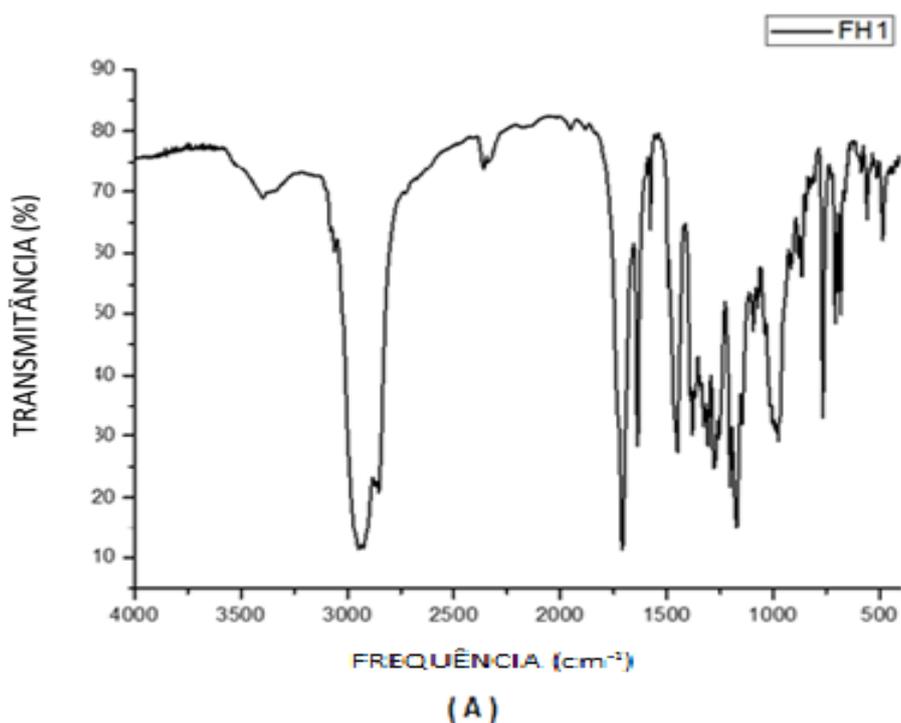
Comparando os espectros de FH1 e FH2 vemos como a presença e a ausência de absorções específicas nestas substâncias desconhecidas contribuiu para reconhecer a presença e a ausência de um determinado grupo funcional.

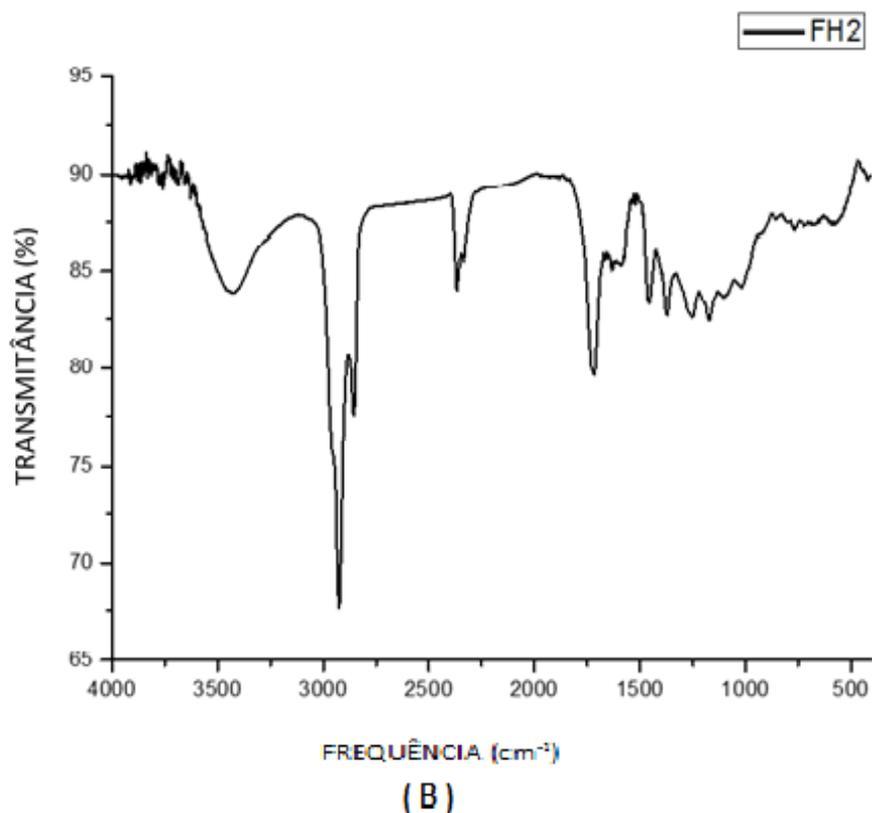
O IV de FH1 (figura 15 A) ilustra a absorção forte na região de 1730 cm^{-1} atribuída à vibração de deformação axial da carbonila, porém não mostra, por outro

lado, a banda característica da deformação axial de O-H em associação por ponte de hidrogênio a 3300 cm^{-1} , mas tem a deformação axial de C-O a 1180 cm^{-1} . Em contraste, o espectro de FH2 (figura 15 B) não apresenta a absorção forte na região de 1730 cm^{-1} atribuída a carbonila, mas mostra a deformação axial característica da hidroxila de um álcool em ligação oxigênio e hidrogênio, a banda larga e forte a 3330 cm^{-1} e mostra também a absorção da ligação C-O a 1060 cm^{-1} . Vale ressaltar que ambas substâncias apresentam bandas de absorção fortes observadas a 2900 cm^{-1} , que são originadas das deformações axiais de C-C e C-H.

Baseado nestas informações é provável que as substâncias FH1 e FH2 possam ser tratadas como um éster e um álcool respectivamente.

Figura 15: Espectros das frações FH1 (A) e FH2 (B)



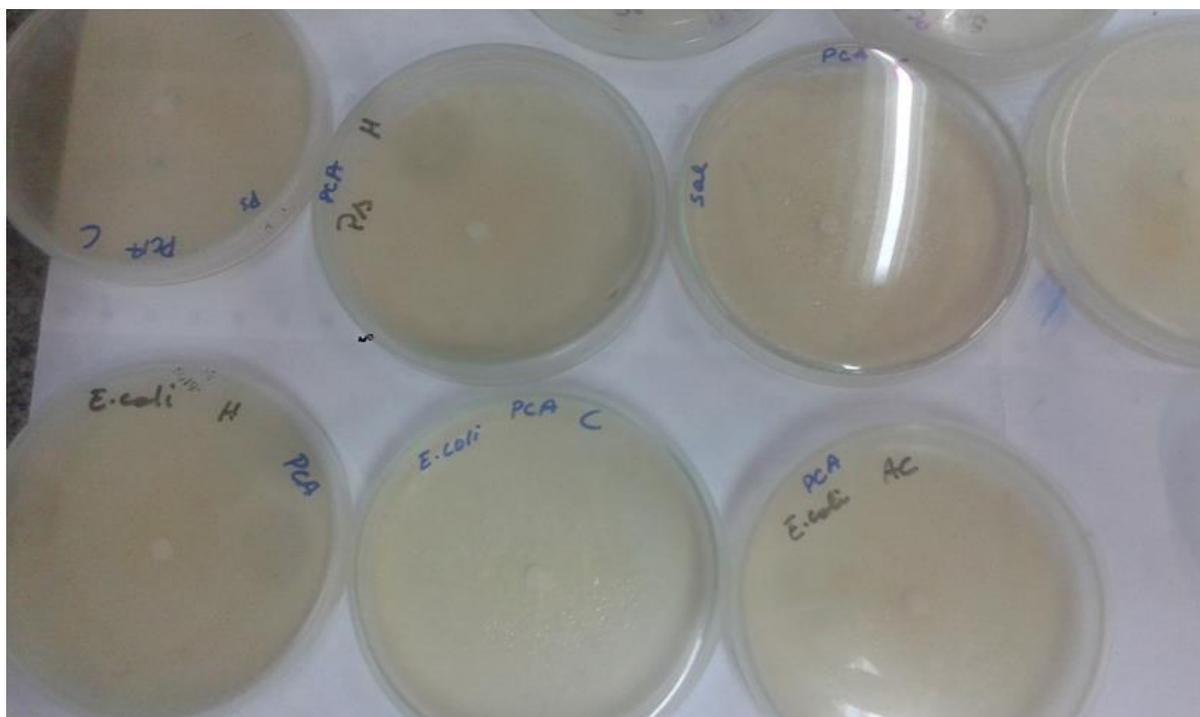


5.5 Atividade antimicrobiana do látex da espécie *H. drasticus*

O estudo da atividade antimicrobiana do látex da espécie *H. drasticus* não apresentou resultado satisfatório frente às cepas testadas, isto é, todos os resultados foram negativos não se verificando nenhum halo de inibição nas placas, como comprovado na Figura 16. Isso justifica o que relata o autor Nascimento *et al* 2018, descrito anteriormente.

Vale ressaltar também que o resíduo aquoso do látex quando em repouso por dois dias foi observada a presença de vários microorganismos, característicos de fungos, demonstrando também o seu efeito negativo para esses tipos de microorganismos, como mostra na Figura 17.

Figura 16: Resultados dos testes antimicrobianos



Fonte: Autora

Figura 17: Resíduo aquoso do látex da *H. drasticus*



Fonte: Autora

6 CONCLUSÃO

Esse trabalho de conclusão de curso foi realizado, inicialmente, mediante a um levantamento bibliográfico, onde se utilizou como ferramenta livros, dissertações, teses, revistas etc. Isto contribuiu na busca de informações a respeito da espécie vegetal em estudo.

Pelo método de Cromatografia de Camada Delgada (CCD), foi possível isolar dois compostos FH1 e FH2, que através de análises espectroscópicas de IV foi sugerido a presença de um éster e um álcool respectivamente, sendo necessário o uso de outras ferramentas tais como: RMN ¹H e ¹³C, espectrometria de massas, dentre outras para elucidação destes compostos.

O látex da *Himatanthus drasticus* é uma fonte promissora de compostos bioativos, principalmente a presença dos triterpenos, que são as moléculas mais ativas nas inúmeras atividades terapêuticas, como é detalhado na literatura. E por ser uma espécie pouco estudada, existem muitas possibilidades de pesquisas científicas a serem desenvolvidas com o intuito de comprovar a sua eficácia farmacológica.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S.C. X et al. *Himatanthus drasticus*: a chemical and pharmacological review of this medicinal species, commonly found in the Brazilian Northeastern region. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, p.1-6, nov. 2017. Disponível em:

<www.scielo.br/pdf/rbfar>. Acesso em: 01 de setembro de 2019.

AMARO M.S., et al. Morfologia de frutos, sementes e de plântulas de janaguba [*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. – apocynaceae]. **Revista Brasileira de Sementes**. 28, 63-71, 2006. Disponível:

<<https://repositorio.ufpe.br/bitstream>>. Acesso em: 02 de setembro de 2019.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007. Disponível em: <www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 02 de setembro de 2019.

ANDRADE et al. **Arch. Pharm. Res.** vol. 31, n. 41, 2008. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and chemical toxicology** : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, v. 46, n. 2, p. 446–75, 2008. Disponível em:

<www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/dissertacoes>. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

BARATTO, L.C. **Estudo químico e analítico e morfoanatômico de espécies medicinais brasileiras da família Apocynaceae: *Himatanthus lancifolius***. 2010. 157p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Disponível em:

<<https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/23500/dissertacao%20leopoldo%20baratto%20versao%20final.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 25 de agosto de 2019.

BARRETO, R. L.; CORREIA, C. R.; MUSCARÁ, M. N. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Quim. Nova**, v. 28, p. 1046-1054, 2005. Disponível em: <www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/2010_dis_dllucetti>. Acesso em: 17 de setembro de 2019.

BERLINCK et al. A Química dos Produtos Naturais do Brasil do Século XXI. **Química Nova**, São Paulo, vol. 40, nº 6, p. 706-710, 2017. Disponível em:

<<https://bdpi.usp.br/item>>. Acesso em: 05 de agosto de 2019.

BFG - The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, 66, p. 1085-1113, 2015. Disponível em:

<<https://repositorio.ufrn.br> > [jspui](#) > [JaertonCarvalhoDeSousaJunior_DISSERT](#)>
Acesso em: 20 de agosto de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica.** Brasília, DF: Ed. Ministério da Saúde, 2012a. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31). Disponível em: <www.scielo.br > [pdf](#) > [rbpm](#)>. Acesso em: 10 de agosto de 2019.

CAMARGO et al. Chemical composition, ethnopharmacology and biological activity of *Geissospermum* Allemão species (Apocynaceae Juss.). **Rev. Fitos**, v.8, p.73-160, 2013. Disponível em: <www.scielo.br > [pdf](#) > [rbfar](#)>. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

CHATTERJEE, I.; CHAKRAVARTI, A. K.; GOMESA, A. *Daboia russellii* and *Naja Kaouthia* venom neutralization by lupeol acetate isolated from the root extract of Indian sarsaparilla *Hemidesmus indicus*. R. Br. **J. Ethnopharmacol.**, v. 106, p. 38-43, 2006. Disponível em: <www.repositorio.ufc.br > [bitstream](#) > [riufc](#) > [2010_dis_dllucetti](#)>. Acesso em: 17 de setembro de 2019.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data.** 2nd ed. Approved guideline M39-A2. Wayne, PA: CLSI, 2003. Acesso em: 20 de setembro de 2019.

COLARES et al. Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (Janaguba). **Infarma**, 20, 34-36, 2008. Disponível em: <revistas.cff.org.br > [journal=infarma](#)>. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

COLARES et al. 2008. Phytochemical and biological preliminar study of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (Janaguba). **Pharmacognosy Magazine**, vol. 4, p. 73–77, 2008. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br> > [bitstream](#)>. Acesso em 02 de setembro de 2019.

COUTINHO, G. S. L. **Bioprospecção das Folhas, Casca e Látex da Espécie Vegetal *Himatanthus drasticus*(Janauaba).** Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio ambiente) Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente. Departamento de Saúde e Meio Ambiente. Universidade Federal do Maranhão. São Luís, 2013. Disponível em: <tedebc.ufma.br > [jspui](#) > [handle](#) > [tede](#)>. Acesso em: 25 de agosto de 2019.

CUNHA, A. Proença da. **Farmacognosia e Fitoquímica.** 3ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian (serviço de Educação e Bolsas), 58 p., 2010. Acesso em: 10 de agosto de 2019.

CUNHA, A. (org). **Farmacognosia e Fitoquímica.** 4ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 2014. Acesso em: 8 de setembro de 2019.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Secondary Metabolites. **Biochemistry Molecular Biology of Plants**, v. 7, n. 7, p. 1250–1318, 2000. Disponível em:

www.iac.sp.gov.br > areadoinstituato > posgraduacao > dissertacoes>. Acesso em: 10 de setembro de 2019. Acesso em: 11 de setembro de 2019.

CROWELL, P. L.; LIN, S.; VEDEJS, E.; GOULD, M. N. Identification of metabolites of the antitumor agent d-limonene capable of inhibiting protein isoprenylation and cell growth. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 31, n. 3, 1992, p. 205. Disponível em:

www.iac.sp.gov.br > areadoinstituato > posgraduacao > dissertacoes>. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

DEWICK, P.M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3 rd ed., John Wiley & Sons Ltd., 2009. Disponível em:

<https://teses.usp.br> > tde-29092015-103721 > publico > LD_DEBORAH>. Acesso em: 03 de novembro de 2009.

DEY, P. M., Harborne, J.B. **Plant biochemistry**. Academic Press, San Diego, 1997. Disponível em:

<https://teses.usp.br> > tde-29092015-103721 > publico > LD_DEBORAH>. Acesso em: 03 de novembro de 2019.

DI STASI LC, HIRUMA-LIMA CA. Gentianales medicinais. In: Di Stasi, L. C, Hiruma-Lima, C. A. (orgs.). **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Editora UNESP, 2002, p. 375-385. Disponível em:

<https://www.acervodigital.ufpr.br> > dissertacao leopoldo baratto versao final>. Acesso em: 21 de agosto de 2019.

DUBEY, V. S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R. **J. Biosci.** vol.28, n. 5, p. 637, 2003. Acesso em: 11 de setembro de 2019.

ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **Botanical Review**, 66, 1-56, 2000. Disponível em:

www.scielo.br > scielo>. Acesso em: 20 de agosto de 2019.

ENDRESS, M.E.; LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. An updated classification for Apocynaceae. **Phytotaxa**, 159, 175-194, 2014. Disponível em:

<https://www.seasino.com.br> > revista>. Acesso em: 20 de agosto de 2019.

EVANS, W. C. **Trease and Evans' Pharmacognosy**. 15. ed. Londres: Saunders, 2002, 585 p. Disponível em:

<https://repositorio.ufpe.br> > bitstream>. Acesso em: 20 de agosto de 2019.

FERREIRA, C. Manaus: UFAM/INPA, Aspectos morfoanatômicos, bioquímicos e genéticos de *Himatanthus sucuba* Wood., em ambiente de várzea e de terra firme da bacia Amazônica. 90f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais. – INPA/UFAM, Manaus, 2006. Disponível em: www.scielo.br/pdf/rbpm/v13nspe/a08v13nspe.pdf. Acesso em: 25 de agosto de 2019.

PHILLIPSON, G. W.; ANDERSON, A. C.; J. **Ethnopharmacol.** 25, 61, 1998. Disponível em:

[www.scielo.br > scielo](http://www.scielo.br/scielo)>. Acesso em: 10 de agosto de 2010.

GIBBONS, S. Plants as a source of bacterial resistance modulators and anti-infective agents. **Phytochemistry reviews**, v.04, n.1, p.63-78, 2005. Acesso em: 9 de setembro de 2019.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**. 68, 2831-2846, 2007. Disponível em: [https://teses.usp.br > tde-29092015-103721 > publico > LD_DEBORAH](https://teses.usp.br/tde-29092015-103721/publico/LD_DEBORAH)>. Acesso em: 03 de novembro de 2019.

HEDDEN, P.; KAMIYA, Y. GIBBERELLIN BIOSYNTHESIS: Enzymes, Genes and Their Regulation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 431–460, 1997. Disponível em: [www.iac.sp.gov.br > areadoinstituto > posgraduacao > dissertacoes](http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/dissertacoes)>. Acesso em: 9 de setembro de 2019.

IKEDA, Y.; MURAKAMI, A.; OHIGASHI, H. **Mol. Nutr. Food Res.** vol.52, n.1, p.26, 2008. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

JUDD et al. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/262757703_Taxonomic_diversity_of_Apocynaceae_at_Serra_Negra_Minis_Gerais_State_Brazil>. Acesso em: 20 de agosto de 2019.

KAUFMAN, P. B.; CSEKE, L. J.; WARBER, S.; DUKE, J. A.; BRIELMANN, H. L. **Natural products from plants**. Boca Raton: CRC Press, FL, 1999. Disponível em: [https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br > infoteca > bitstream > doc > docu...>](https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/docu...). Acesso em: 9 de setembro de 2019.

KINGHORN, D.; O'Neil, M. O.; **ACS Symp. Ser.** 179, 647, 1996. Disponível em: [www.scielo.br > scielo](http://www.scielo.br/scielo)>. Acesso em: 10 de Agosto de 2019.

LEITE et al. Gastroprotective effect of medicinal plants from Chapada do Araripe. Brasil. **J. Young Pharm**, n.1, p. 54-56, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net > publication > 2663116](https://www.researchgate.net/publication/2663116)>. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

LIMA, L. Fitoterápicos e usos de plantas medicinais. **Jornal da Unesp**, ano XVI, n. 166. Disponível em: <http://www.unesp.br/aci/jornal/166/farmacologia.htm>>. Acesso em: 12 de Agosto de 2019.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2a edição. SP Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2008, p. 87–88. Disponível em: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102>. Acesso em: 01 de setembro de 2019.

LUCETTI et al. Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. **J. Inflamm.** 2010. Disponível:

<<https://journal-inflammation.biomedcentral.com> › artic...> Acesso em: 18 de novembro de 2019.

LUZ, H.S.; SANTOS, A.C.G.; MACHADO, K.R.G. Prospecção fitoquímica de *Himatanthus drasticus* Plumel (Apocynaceae), da mesorregião leste maranhense. **Rev.Bras. Pl. Med.** Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.657–662, 2014. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n3s1/04.pdf>>. Acesso em 01 de setembro de 2019.

MAHATO, S. B.; SEM, S. Advances in triterpenoids research. **Phytochemistry**, v. 44, n. 7, p. 1185-1236, 1997. Disponível em:

<www.repositorio.ufc.br › bitstream › riufc › 2010_dis_dllucetti>. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of pentacyclitriterpenoids – A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, vol. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994. Disponível em:

<www.repositorio.ufc.br › bitstream › riufc › 2010_dis_dllucetti>. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

MARZZOCO, A. e Torres, B. B. **Bioquímica Básica**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 736p. Disponível em:

<<https://www.todafruta.com.br> › wp-content › uploads › 2016/09 › Metaból...>

Acesso em: 8 de setembro de 2019.

MATOS et al. Ethnopharmacological use and pharmacological activity of latex from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. **Int. J. Ind. Med. Pl.** 29, 1123-1131, 2013. Disponível em:

<<https://www.researchgate.net> › publication › 2623007...> Acesso em: 18 de novembro de 2019.

MOURA, D. F. **Avaliação da toxicidade e efeitos biológicos do látex extraído de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel**. 54 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/18940>>. Acesso em: 15 de novembro de 2019.

MOUSINHO, K.C. et al. Antitumor effect of laticifer proteins of *Himatanthus drasticus* (mart.) Plumel–Apocynaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, vol.137, p. 421–426, 2011. Disponível em:

<repositorio.ufc.br › riufc › 2011_art_aacarvalho1>. Acesso em 01 de setembro de 2019.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of Clinic Microbiology**. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 8 ed., 2003. 2322p. Acesso em: 10 de outubro de 2019.

NASCIMENTO et al. **Importância da Química de Produtos Naturais e Sintéticos no Desenvolvimento de Novos Medicamentos**. In: Congresso Nacional de Ciências da Saúde, 1, 2014, Cajazeiras. Anais [...] Cajazeiras: Conacis, 2014. v.1. Disponível em:
<<https://www.editorarealize.com.br> > [revistas](#) > [conacis](#) > [trabalhos](#) > [Modali...](#)>
Acesso em 10 de agosto de 2019.

NASCIMENTO et al. Estudo fitoquímico e potencial antibacteriano do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. **Bioamazonia**. Macapá, v. 8, n.4, p.28-32, 2018. Disponível em:
<<https://periodicos.unifap.br> > [index.php](#) > [biota](#) > [article](#) > [download](#)>. Acesso em: 02 de setembro de 2019.

NEWMAN D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. J. **Nat. Prod.** 66, p. 1022. 2003. Acesso em: 9 de setembro de 2019.

PADUCH, R.; KANDERFER-SZERSZEN, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. **Arch Immunol. Ther. Exp.** 55.315 (2007). Disponível em:
<www.revistageintec.net > [index.php](#) > [revista](#) > [article](#) > [download](#)>. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

PATOCKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. **J. Appl. Biomed.**, v. 1, p. 7-12, 2003. Disponível em:
<www.repositorio.ufc.br > [bitstream](#) > [riufc](#) > [2010_dis_dllucetti](#)>. Acesso em: 16 de setembro de 2019.

PERES, E. P. L. **Metabolismo Secundário**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, São Paulo, 2008, 25p. Disponível em:
<<https://cursosextensao.usp.br> > [mod](#) > [resource](#) > [view](#)>. Acesso em: 8 de setembro de 2019.

PINTO, C. A. et al. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Quimica Nova**, São Paulo, vol.25, supl.1, 45-61, 2002. Disponível em:
<www.scielo.br > [pdf](#) > [v25s1](#)>. Acesso em: 12 de agosto de 2019.

PLUMEL, M.M., 1991. Le genre *Himatanthus* (Apocynaceae) revision taxonomique. **Bol. Herb. Bradeanum.** 5, 1–20, 1991. Disponível em:
<www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102>. Acesso em: 01 de setembro de 2019.

RAPINI, A. **Apocynaceae dogbane or milkweed Family**. In: SMITH, N. et al. (Eds). Flowerings plants of the neotropics. Oxford: Princeton University Press, 2004. p.23-26. Acesso em: 20 de agosto de 2019.

REINA et al. Indole alkaloids from *Geissospermum reticulatum*. **J. Nat. Products**. 75, 928-934, 2012. Disponível em:

www.scielo.br/pdf/rbfar. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

SANTOS et al. Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de Apocynaceae Juss. ocorrentes no Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.** 15, 442-458, 2013. Disponível em:

www.scielo.br/pdf/rbfar. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1994, 387p. Tradução de: Ricardo Bicca de Alencastro; Laura F. Wircker; Roseane Aguiar San Gil. Acesso em: 25 de novembro de 2019.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora UFSC, 2003, p. 615-656. Disponível em:

<https://periodicos.ufsm.br/revistas/revista-saude/article/download>. Acesso em: 12 de agosto de 2019.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 1102p. Disponível em:

www.scielo.br/pdf/rbpm. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

SKAZIEL, A.; WASIUKIEWICZ, I.; JANISZOWSKA, W. Metabolism of [3-3H] oleanolic acid in the isolated *Calendula officinalis* leaf cells and transport of the synthesized glycosides to the cell wall and the extracellular space. **Acta Biochim. Pol.**, v. 42, p. 25-29, 1995. Disponível em: www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/2010_dis_dllucetti. Acesso em: 17 de setembro de 2019.

SOUSA, V. C; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiosperma da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2005. 640 p. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

SOUSA et al. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (janaguba) in the treatment of Sarcoma 180 tumor. **Braz. J. Pharm. Sci.** 46, 199-203, 2010. Disponível em:

www.scielo.br/scielo/pid=S1984-82502010000200005. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 260 p. Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/docu...>
Acesso em: 8 de setembro de 2019.

SPINA, A.P. **Estudos taxonômico, micro-morfológico e filogenético do gênero *Himatanthus* Willd. ex Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae - Plumerieae)**. 191f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. Departamento de Botânica. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

Disponível em:

<https://repositorio.ufpe.br/bitstream>>. Acesso em: 25 de agosto de 2019.

Spina, A.P., 2016. **Himatanthus in:** Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Available from: <www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102>. Acesso em: 01 de setembro de 2019.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Califórnia: The Benjamin/Cumming Publishing Company. 1991. 565p. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle>>. Acesso em: 03 de novembro de 2019.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 Ed. Artmed, Porto Alegre, 2009. Disponível em: https://teses.usp.br/tde-29092015-103721/publico/LD_DEBORAH>. Acesso em: 03 de novembro de 2019.

TIONG et al. Vindogentianine, a hypoglycemic alkaloid from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae). **Fitoterapia** 102, 182-188, 2015. Disponível em: www.scielo.br/pdf/rbfar>. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

VAN GELDRE, E.; VERGAUWE, A.; VAN DEN EECKHOUT, E. State of the art of the production of the antimalarial compound artemisinin in plants. **Plant Molecular Biology**, v. 33, n. 2, p. 199–209, 1997. Disponível em: www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/posgraduacao/dissertacoes>. Acesso em: 10 de setembro de 2019.

VICENTINI, A.; OLIVEIRA, A. A. **Apocynaceae e Asclepiadaceae**. In: Ribeiro, J.E.L.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C. A, Costa, M.A.S.; Brito, J. M. Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central [Internet]. Manaus: INPA/DFID; 2002. p.568-81. [citado 2009 jun 23]. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream>>. Acesso em: 20 de agosto de 2019.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. **Secondary Plant Metabolism**. The Macmillan Press Ltd, Hong Kong, 1981. Acesso em: 11 de setembro de 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The world medicines situation: traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva: WHO Press, 2011. Disponível em: <www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 12 de agosto de 2019.

YA'U, et al. Anticonvulsant activity of *Carissa edulis* (Vahl) (Apocynaceae) root bark extract. **J. Ethnopharmacol.** 120, 255-258, 2008. Disponível em: www.scielo.br/pdf/rbfar>. Acesso em: 18 de novembro de 2019.

YUNES, R. A.; FILHO, V.C. **Química dos produtos naturais, novos fármacos e moderna farmacognosia**. 2 ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2009. 319p. Acesso em: 9 de setembro de 2019.