



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMACIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO
TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS**

FABIANA PEREIRA SOARES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FARMACOQUÍMICO DE DERIVADO VEGETAL
ORIGINÁRIO DA FLORESTA NACIONAL DO ARARIPE – CARIRI: LÁTEX DE
JANAGUBA (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel)**

FORTALEZA

2015

FABIANA PEREIRA SOARES

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FARMACOQUÍMICO DE DERIVADO VEGETAL
ORIGINÁRIO DA FLORESTA NACIONAL DO ARARIPE – CARIRI: LÁTEX DE
JANAGUBA (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos das Universidades Federais do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de doutora.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Medeiros
Bandeira

Co-orientadora: Profa. Dra. Nirla Rodrigues
Romero

FORTALEZA

2015

Página reservada para ficha catalográfica

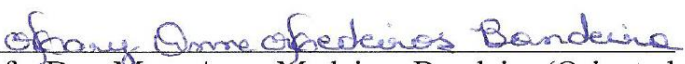
FABIANA PEREIRA SOARES

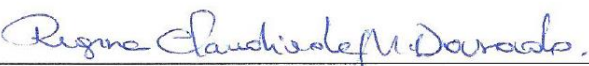
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FARMACOQUÍMICO DE DERIVADO VEGETAL
ORIGINÁRIO DA FLORESTA NACIONAL DO ARARIPE – CARIRI: LÁTEX DE
JANAGUBA (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel)

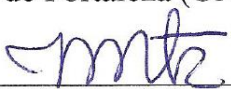
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos das Universidades Federais do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Rural de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de doutora. Área de concentração: Produtos Naturais.

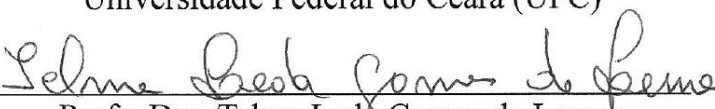
Aprovada em: 23/06/2015.


BANCA EXAMINADORA


Prof. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dra. Regina Cláudia de Matos Dourado
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)


Prof. Dra. Flávia Almeida Santos
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dra. Janete Eliza Soares de Lima
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao Eudes, Vanessa, Gisele e pequena Alice,
Aos meus pais Fábio e Jesus, sempre...

AGRADECIMENTOS

Ao Eudes de Medeiros, meu esposo, amigo, apoio essencial durante toda esta jornada;

Às minhas meninas Vanessa e Gisele, pela graça da presença; e Alice, que veio como um presente inesperado de Deus no meio do doutorado, simplesmente uma bênção;

Aos estudantes, hoje farmacêuticos, que participaram da realização deste trabalho: Angélica Freitas, Carlos Antonio Machado, Caroline Carvalho, Felipe Saraiva, Igor Moraes, Josely Pereira, Kaalyanna Costa, Larissa Cavalcante, Marília Viana, Paulo Henrique Carvalho, Rebecca Moura e Sonia Maria Neres.

Aos colegas professores da UNIFOR, pelas contribuições feitas nas avaliações de trabalhos de conclusão de curso sobre a janaguba: Roxeane Martins, Regina Cláudia Dourado, Jair Mafezoli, Flávio Costa, Sandra Rocha, Fábila Lobo, Hermes Fernandes e Ângela Veras.

À boa convivência com as colegas de doutorado: Andréa Ramalho da Silva e Sandra Araruna.

Às atitudes prestativas e valiosas de:

Patrícia Coelho (CENAUREMN), pela impressão e encaminhamento por e-mail dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN);

Kirley Canuto e Lorena Mara Alexandre (EMBRAPA), pela análise quantitativa do FitoHD por RMN ¹H;

Professora Telma Leda e André Martins, pela gentileza em ceder um padrão de acetato de lupeol para as análises quantitativas;

Patrícia Paula (UNIFOR), pelo acompanhamento aos estudantes, meus orientandos, nas análises de qualidade microbiológica e de avaliação de atividade antimicrobiana.

Aos queridos que, na sua maneira de ajudar, fizeram parte deste meu percurso: Lia Pereira, Silésia Leal, Igor Marques, Déborah Garruti, Wellyda Aguiar, Irineu Albuquerque, Arlândia Nobre, Geysa Aguiar, Ângelo Roncalli, Ana Cristina Moreira, Flávia Almeida, Fabíola Pereira, Sara Medeiros, Eilson Medeiros, Marcos Oreano, Letícia Medeiros, Luciana Garruti...

Ao ex-coordenador do curso de Farmácia da UNIFOR, Expedito Rogildo Carlos, e ao coordenador atual, Otacílio Benvindo, pelo apoio em minhas ausências do trabalho para cursar disciplinas do doutorado e realizar procedimentos práticos laboratoriais.

À UNIFOR, UFC, EMBRAPA-CE e EVIDENCE Farmácia com Manipulação, pelo espaço físico, pesquisadores colaboradores e/ou cessão de material para a realização deste trabalho.

À professora Nirla Rodrigues, pelas discussões na construção do trabalho e confiança;

À professora Mary Anne Bandeira, por ter acreditado ser a hora e ter me apoiado durante todos estes anos;

Ao meu bom Pai celestial, em quem confiei desde o início,

Agradeço pelo degrau que me ajudou a construir;

Agradeço por ter permitido que todas estas pessoas fizessem parte da minha história.

Foram pedras preciosas!

A Ele, toda honra e toda a glória para sempre!

A Floresta é uma mãe de todos que vivem em torno dela.

Ela é uma mãe, ela é um pai...

É por isso que devemos preservá-la e respeitá-la!

Luiz Galdino

(Extrativista da FLONA Araripe – Crato, CE)

Como pensar em desenvolvimento e inovação,

olhando para as 30 milhões de pessoas que

não tem acesso ao medicamento?

Professora Fernanda Nervo

(I Seminário sobre Propriedade Intelectual e Inovação, 2011 – Natal, RN)

A janaguba é a planta do futuro!

Professor Francisco José Matos

(UFC – Fortaleza, CE)

RESUMO

A Floresta Nacional do Araripe (Ceará) é uma unidade de conservação brasileira que possui diversas espécies da flora nativa que originam produtos de uso popular e científico. Destas, destaca-se a *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba), cujo látex do caule é um derivado vegetal popularmente empregado no tratamento de algumas doenças como câncer, úlcera gástrica e reumatismo. Segundo a literatura, o látex possui acetato de lupeol e proteínas, além dos efeitos antiúlcera, imunomodulador, anticancerígeno, analgésico e anti-inflamatório. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial farmacológico do látex de *H. drasticus*, que envolveu desde os estudos etnobotânico e etnofarmacológico à descoberta do fitocomplexo HD (FitoHD). O primeiro estudo foi realizado com os raizeiros das cidades de Fortaleza, Pacajus e Crato (CE), revelando que 85,7% dos entrevistados tinham mais de 10 anos de serviço e 61,9% estavam na faixa etária superior a 40 anos, o que representou um fator positivo quanto à experiência com plantas medicinais. As principais indicações foram para o tratamento de úlceras gástricas, inflamações em geral e câncer, que estão em concordância com os estudos farmacológicos feitos com a espécie. A caracterização físico-química e avaliação da qualidade microbiológica do látex serviram de parâmetros para analisar suas preparações comerciais. Constatou que todas as dez amostras analisadas apresentaram variabilidade em suas características e todas continham elevada contaminação microbiana; somente quatro possuíram perfil cromatográfico semelhante ao do marcador químico determinado no presente trabalho. Para o estudo químico preliminar, foram realizados testes qualitativos de identificação de metabólitos secundários, bem como a determinação de polifenóis totais (método Folin-Ciocalteu), quantificação de proteínas (técnica de Kjeldahl), carboidratos (método Fenol-Sulfúrico) e minerais (turbidimetria, espectrofotometria de absorção atômica, de absorção UV-VIS e fotometria de chama). No látex foram detectados a presença de fenóis simples, taninos, triterpenoides, iridoides, proteínas, carboidratos, P, N, K, Ca, Na, Mg, S, Fe, Zn e Mn. A atividade antimicrobiana (teste de difusão em ágar) foi também avaliada. A fração mais polar, obtida por partição do látex, foi ativa contra cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. No isolamento e identificação de substâncias ativas foram utilizadas técnicas cromatográficas usuais e determinação estrutural por RMN ^1H e ^{13}C , respectivamente. A técnica de RMN ^1H foi empregada para quantificação de substâncias isoladas. O látex particionado em acetato de etila 1:4 (v/v) forneceu 0,68% de um resíduo extrativo, que foi denominado FitoHD. Desse produto foram isoladas, identificadas e quantificadas as substâncias cinamato de α -amirina ($30,57 \pm 1,13\%$), acetato de lupeol

(14,54±2,61%) e cinamato de lupeol (25,35±0,31%). Os compostos isolados deste fitocomplexo são comuns a várias espécies do gênero *Himatanthus*. A presença de cinamato de α -amirina e de lupeol no látex de *H. drasticus* está sendo relatada pela primeira vez. O FitoHD se constitui em uma base farmacológica em potencial, bem como um importante marcador químico para a identificação do látex.

Palavras-chave: *Himatanthus drasticus*. Apocynaceae. Látex. Farmacoquímico.

ABSTRACT

The Araripe National Forest (Ceará) is a Brazilian conservation unit that has several species of the native flora which yield products of popular and scientific uses. Of these, there is the *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba), whose latex from the stalk is a vegetable derivative popularly used in the treatment of some diseases such as cancer, gastric ulcer and rheumatism. The latex has lupeol acetate and proteins, which presents anti-ulcer, immunomodulatory, anticancer, analgesic and anti-inflammatory effects. This study aimed to evaluate the *H. drasticus* latex chemical-pharmaceutical potential, which involved since the ethnobotanical and ethnopharmacological studies to the discovery of HD phytocomplex (FitoHD). The first study was carried out with herb doctors from Fortaleza, Pacajus and Crato (CE), revealing that 85.7% of respondents had more than 10 years of service and 61.9% were over 40 years of age, representing a positive factor regarding the experience with medicinal plants. The main indications were for the treatment of gastric ulcers, general inflammation and cancer, which are in agreement with the pharmacological studies of this species. The latex physicochemical characterization and microbiological quality evaluation served as parameters to analyze its commercial preparations. All ten analyzed samples showed variability in their characteristics and contained high microbial contamination; only four possessed chromatographic profile similar to a chemical marker determined in the present work. For the preliminary chemical study, qualitative tests were carried out for identification of secondary metabolites, as well as the determination of total polyphenols (Folin-Ciocalteu method), quantification of proteins (Kjeldahl technique), carbohydrates (phenol-sulfuric method) and minerals (turbidity, spectrophotometry and flame photometry). In the latex complex were detected phenols, tannins, triterpenoids, iridoids, proteins, carbohydrates and minerals (P, N, K, Ca, Na, Mg, S, Fe, Zn and Mn). The antimicrobial activity (agar diffusion test) was also evaluated. The more polar fraction, obtained by the latex partition, was active against strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. For the isolation and identification of the active compounds were used usual chromatographic techniques and structure determination by ^1H and ^{13}C NMR, respectively. The ^1H NMR technique was used for the quantification of single substances. The latex 1:4 (v/v) was partitioned in ethyl acetate to yield 0.68% of extractives residue, which was called FitoHD. From this product were isolated, identified and quantified the substances α -amyrin cinnamate (30.57 \pm 1.13%), lupeol acetate (14.54 \pm 2.61%) and lupeol cinnamate (25.35 \pm 0.31%). The compounds isolated from this phytocomplex are common to several species of the genus

Himatanthus. The presence of α -amyrin cinnamate and lupeol cinnamate in *H. drasticus* latex is being reported for the first time. The FitoHD constitutes a potential pharmacological basis as well as an important chemical marker for the identification of the latex.

Keywords: *Himatanthus drasticus*. Apocynaceae. Latex. Phytochemistry pharmaceutical.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Distribuição das espécies de <i>Himatanthus</i> no Nordeste brasileiro, através das representações de suas morfologias foliares	40
Figura 2	– <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel	46
Figura 3	– Folhas de <i>H. drasticus</i>	47
Figura 4	– Flores de <i>H. drasticus</i>	48
Figura 5	– Fruto de <i>H. drasticus</i>	48
Figura 6	– Sementes de <i>H. drasticus</i>	49
Figura 7	– Cascas do caule de <i>H. drasticus</i>	50
Figura 8	– Constituintes químicos do látex, cascas caule e folhas de <i>H. drasticus</i>	59
Figura 9	– Mapa do estado do Ceará com a localização das cidades onde foi realizada a pesquisa junto aos raizeiros e locais de fornecimento do leite de janaguba para o comércio	70
Figura 10	– Vista aérea da FLONA Araripe	78
Figura 11	– Mapa com os limites da FLONA Araripe	79
Figura 12	– Extração do látex de <i>H. drasticus</i>	81
Figura 13	– Cromatoplaça do teste de identificação de iridoides no látex de <i>H. drasticus</i> (mancha marrom-esverdeada)	103
Figura 14	– Atividade antimicrobiana de CIM da fração em acetato de etila do látex de <i>H. drasticus</i> contra <i>Candida albicans</i>	114
Figura 15	– Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de HD-1 (6)	123
Figura 16	– Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de HD-1(6)	124
Figura 17	– Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de HD-2 (1)	127
Figura 18	– Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de HD-2 (1)	127
Figura 19	– Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de Fr.39-40 (4)	130
Figura 20	– Espectro de RMN ^{13}C -BB (75 MHz, CDCl_3) de Fr.39-40 (4)	130

Figura 21	–	Espectro de RMN ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) de SEAcOEt	132
Figura 22	–	Visão geral da apresentação das amostras comerciais de leite de janaguba adquiridas do Mercado São Sebastião, Fortaleza, Ceará	136
Figura 23	–	Varição de cores entre as amostras comerciais e de referência de leite de janaguba	140
Figura 24	–	Cromatoplasmas das amostras comerciais de leite de janaguba, amostra de FitoHD e látex de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i> ; LM)	143

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1	– Procedimento para identificação de taninos e fenóis	93
Fluxograma 2	– Procedimento para identificação de alcaloides e bases quaternárias	95
Fluxograma 3	– Procedimento para identificação de quinonas e antranóis	96
Fluxograma 4	– Procedimento para identificação de cumarinas, esteroides e triterpenoides	98
Fluxograma 5	– Obtenção das substâncias extraíveis por AcOEt (SEAcOEt) a partir do látex de <i>H. drasticus</i> 1:4 (v/v)	117
Fluxograma 6	– Processo de obtenção de HD-1 e HD-2 a partir de SEAcOEt por cromatografia em camada delgada preparativa	119

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	– Lista das espécies de <i>Himatanthus</i> , distribuição geográfica no Brasil e outros países e biótopo	36
Quadro 2	– Lista das espécies de <i>Himatanthus</i> e respectivos constituintes químicos, partes da planta, dados etnofarmacológicos, farmacológicos e toxicológicos	53
Quadro 3	– Levantamento das ocorrências de <i>H. drasticus</i> no Ceará conforme registros do Herbário Prisco Bezerra, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará	72
Quadro 4	– Usos populares do látex de outras espécies de <i>Himatanthus</i>	75
Quadro 5	– Amostras de látex de <i>H. drasticus</i> , data de obtenção e apresentação	80
Quadro 6	– Aspecto geral das amostras de látex de <i>H. drasticus</i>	87
Quadro 7	– Pesquisa de flavonoides frente a pH ácido e alcalino	96
Quadro 8	– Pesquisa de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas frente a pH ácido e alcalino	97
Quadro 9	– Origem, embalagem, data de fabricação e tipos de informações presentes nas rotulagens das amostras comerciais leite de janaguba	137
Quadro 10	– Aspecto geral das amostras comerciais do leite de janaguba	140

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Distribuição do número de raizeiros entrevistados por mercados e respectivos municípios cearenses	67
Tabela 2	– Perfil social dos raizeiros que comercializam <i>H. drasticus</i> nos mercados cearenses de Pacajus, Crato e mercado São Sebastião de Fortaleza (período: agosto a setembro de 2013)	69
Tabela 3	– Posologias e períodos de tratamento com látex de <i>H. drasticus</i> , tal como expressas pelos entrevistados	73
Tabela 4	– Indicações terapêuticas do látex de <i>H. drasticus</i> e respectivos percentuais de citação e classificação CID 10	74
Tabela 5	– Resultados de pH, densidade e resíduo seco das amostras de látex de <i>H. drasticus</i>	88
Tabela 6	– Resultado da avaliação de volume de sedimentação das amostras de látex de <i>H. drasticus</i>	88
Tabela 7	– Rendimento em substâncias extraíveis por acetato de etila (SEAcOEt), obtido por partição do látex de <i>H. drasticus</i> 1:4 (v/v)	88
Tabela 8	– Resultado da determinação do rendimento em massa liofilizada de 15,0 mL de látex bruto de <i>H. drasticus</i>	89
Tabela 9	– Resultado da determinação do teor de cinzas totais do látex liofilizado de <i>H. drasticus</i>	89
Tabela 10	– Resultados da avaliação da qualidade microbiológica das amostras de látex de <i>H. drasticus</i>	90
Tabela 11	– Absorbâncias da solução de glicose para a construção da curva de calibração	100
Tabela 12	– Condições experimentais para as análises dos minerais	101
Tabela 13	– Resultados da abordagem fitoquímica do látex de <i>H. drasticus</i>	103
Tabela 14	– Resultados da determinação das concentrações de nitrogênio (N) e proteínas no látex de <i>H. drasticus</i>	104

Tabela 15 – Resultados das análises com látex de <i>H. drasticus</i> para determinação de carboidratos	105
Tabela 16 – Minerais presentes no látex de espécies de <i>Himatanthus</i> : <i>H. drasticus</i> e <i>H. succuuba</i>	105
Tabela 17 – Resultados das análises com látex bruto de <i>H. drasticus</i> para determinação de polifenóis solúveis totais	107
Tabela 18 – Atividade antimicrobiana das frações extrativas obtidas do látex de <i>H. drasticus</i>	113
Tabela 19 – Valores médios dos halos de inibição (mm) da avaliação da concentração inibitória mínima (CMI) da fração em acetato de etila do látex de <i>H. drasticus</i> contra <i>Candida albicans</i>	113
Tabela 20 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt	118
Tabela 21 – Dados referentes às substâncias isoladas da fração Fr.100-113 resultante do fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt	118
Tabela 22 – Dados referentes ao segundo fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt	119
Tabela 23 – Dados referentes às frações resultantes do segundo fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt	120
Tabela 24 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H do composto HD-1 (5) com dados descritos na literatura para cinamato de α -amirina, deslocamento químico em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz	124
Tabela 25 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C do composto HD-1 (5) com dados descritos na literatura para cinamato de α -amirina, deslocamento químico em ppm	125
Tabela 26 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H do composto HD-2 (1) com dados descritos na literatura para acetato de lupeol, deslocamento químico em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz	128

Tabela 27 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C do composto HD-2 (1) com dados descritos na literatura para acetato de lupeol, deslocamento químico em ppm	128
Tabela 28 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H da Fr.39-40 (3) com dados descritos na literatura para cinamato de lupeol, deslocamento químico em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz	131
Tabela 29 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C da Fr.39-40 (3) com dados descritos na literatura para cinamato de lupeol, deslocamento químico em ppm	131
Tabela 30 – Concentrações molares dos triterpenos cinamato de α -amirina (5), acetato de lupeol (1) e cinamato de lupeol (3) de SEAcOEt fornecidas pelo espectro de RMN ^1H	132
Tabela 31 – Resultados dos cálculos das concentrações dos triterpenos cinamato de α -amirina (5), acetato de lupeol (1) e cinamato de lupeol (3) em SEAcOEt ...	133
Tabela 32 – pH, densidade e resíduo seco das amostras comerciais de leite de janaguba	141
Tabela 33 – Resultado da avaliação de volume de sedimentação das amostras comerciais de leite de janaguba em 1 hora e em 24 horas	142
Tabela 34 – Rendimento das frações em acetato de etila obtidas a partir das amostras comerciais e de referência de látex de <i>H. drasticus</i>	142

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
ABS	Absorbância
ALD	Abaixo do limite de detecção
AQ	Tempo de aquisição (RMN)
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BB	<i>Broad band</i>
BHT	Butil-hidroxitolueno
CA	Câncer
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CENAUREMN	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CENDEP	Centro de Documentos, Estudos e Pesquisas, Crato, Ceará
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standard Institute</i>
CNPJ	Cadastro Nacional de Pessoa Jurídica
CID	Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde
CIM	Concentração inibitória mínima
DNA	Ácido desoxirribonucleico
D.P.	Desvio padrão
EAG	Equivalente de ácido graxo
E.P.M.	Erro padrão da média
FI	Fase intermediária
FitoHD	Fitocomplexo HD (<i>H. drasticus</i>)
FLONA	Floresta Nacional
Fr.	Fração
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
LJ	Amostra de referência de leite de janaguba (<i>H. drasticus</i>)
LM	Látex de mangabeira (<i>Hancornia speciosa</i>)

MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina-resistente
n.r.	Não reportado na literatura consultada
NR	Teste não realizado
OMS	Organização Mundial da Saúde
p.f.	Ponto de fusão
R	Reagente
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RMN	Ressonância magnética nuclear
SNUC	Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza
SR	Solução reagente
VIS	Visível
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
A	Alfa
B	Beta
Δ	Delta
Λ	Lambda (comprimento de onda)
%	Por cento
°C	Graus Celsius
R\$	Reais
<i>D</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>M</i>	Multipleto
<i>Q</i>	Quarteto
R^2	Coefficiente de regressão
R_f	Fator de retenção
<i>S</i>	Simpleto
<i>t</i>	Tripleto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	26
2	A FAMÍLIA APOCYNACEAE E ASPECTOS BOTÂNICOS DO GÊNERO <i>HIMATANTHUS</i>	30
2.1	Considerações gerais sobre a família Apocynaceae	31
2.2	Aspectos botânicos do gênero <i>Himatanthus</i>	32
2.2.1	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	41
2.2.2	<i>Himatanthus attenuatus</i> (Benth.) Woodson	41
2.2.3	<i>Himatanthus bracteatus</i> (A.DC.) Woodson	41
2.2.4	<i>Himatanthus tarapotensis</i> (K.Schum. ex Markgr.) Plumel_.....	42
2.2.5	<i>Himatanthus fallax</i> (Mull.Arg.) Plumel	42
2.2.6	<i>Himatanthus lancifolius</i> (Mull.Arg.) Woodson	43
2.2.7	<i>Himatanthus obovatus</i> (Mull.Arg.) Woodson	43
2.2.8	<i>Himatanthus phagedaenicus</i> (Mart.) Woodson	44
2.2.9	<i>Himatanthus semilunatus</i> Markgr.	44
2.2.10	<i>Himatanthus speciosus</i> (Mull.Arg.) Plumel	44
2.2.11	<i>Himatanthus stenophyllus</i> Plumel	45
2.2.12	<i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce ex Mull.Arg.) Woodson	45
2.2.13	<i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel	46
3	ASPECTOS QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DO GÊNERO <i>HIMATANTHUS</i>	51
4	PARTE EXPERIMENTAL	63
4.1	Estudo etnobotânico e etnofarmacológico de janaguba (<i>Himatanthus drasticus</i>) no Ceará	64
4.1.1	Considerações gerais sobre etnobotânica e etnofarmacologia	65
4.1.2	Metodologia	66
4.1.2.1	Local de estudo.....	66
4.1.2.2	Caracterização do local de estudo	67
4.1.2.3	População do estudo	67
4.1.2.4	Coleta de dados	67
4.1.2.5	Processamento e análises dos dados	68

4.1.3	Resultados e discussões	68
4.1.3.1	<i>Perfil social dos informantes</i>	68
4.1.3.2	<i>Aspectos etnobotânicos</i>	69
4.1.3.3	<i>Aspectos etnofarmacológicos</i>	72
4.2	Características físico-químicas e microbiológicas do látex de <i>Himatanthus drasticus</i>	77
4.2.1	<i>Material vegetal</i>	78
4.2.1.1	<i>Local de coleta</i>	78
4.2.1.1.1	Considerações sobre a FLONA Araripe	78
4.2.1.2	<i>Amostras de látex de <i>H. drasticus</i></i>	80
4.2.2	<i>Metodologia</i>	81
4.2.2.1	<i>Características físico-químicas do látex</i>	81
4.2.2.1.1	Avaliação do aspecto geral	81
4.2.2.1.2	Determinação de pH	82
4.2.2.1.3	Determinação da densidade	82
4.2.2.1.4	Determinação de resíduo seco	82
4.2.2.1.5	Determinação do volume de sedimentação	83
4.2.2.1.6	Substâncias extraíveis por acetato de etila (SEAcOEt) do látex 1:4 (v/v)	83
4.2.2.1.7	Liofilização da amostra de látex bruto	84
4.2.2.1.8	Cinzas totais do látex bruto liofilizado	84
4.2.2.2	<i>Tratamento estatístico dos dados analíticos</i>	84
4.2.2.3	<i>Qualidade microbiológica do látex</i>	84
4.2.2.3.1	Preparo das amostras	85
4.2.2.3.2	Ensaio para micro-organismos	85
4.2.2.3.3	Pesquisa de patógenos	85
4.2.3	<i>Resultados e discussões</i>	87
4.3	Estudo químico preliminar	91
4.3.1	<i>Material vegetal</i>	92
4.3.2	<i>Metodologia</i>	92
4.3.1.1	<i>Abordagem fitoquímica</i>	92
4.3.1.1.1	Pesquisa de saponinas	92
4.3.1.1.2	Pesquisa de auronas e chalconas	92
4.3.1.1.3	Pesquisa de taninos e fenóis	93

4.3.1.1.4	Pesquisa de alcaloides	94
4.3.1.1.5	Pesquisa de bases quaternárias	94
4.3.2.1.6	Pesquisa de quinonas e antranóis	95
4.3.2.1.7	Pesquisa de antocianinas, antocianidinas e outros flavonoides	96
4.3.2.1.8	Pesquisa de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas	96
4.3.2.1.9	Pesquisa de flavonóis, flavonas, flavononóis e xantonas	97
4.3.2.1.10	Pesquisa de cardiotônicos	97
4.3.2.1.11	Pesquisa de cumarinas, esteroides e triterpenoides	97
4.3.2.1.12	Pesquisa de iridoides	98
4.3.2.2	<i>Determinação de nitrogênio e proteínas</i>	99
4.3.2.3	<i>Determinação de carboidratos</i>	99
4.3.2.4	<i>Determinação de minerais</i>	100
4.3.2.5	<i>Determinação de polifenóis solúveis totais</i>	101
4.3.3	<i>Resultados e discussões</i>	102
4.3.3.1	<i>Abordagem fitoquímica</i>	102
4.3.3.2	<i>Determinação de nitrogênio e proteínas</i>	104
4.3.3.3	<i>Determinação de carboidratos</i>	104
4.3.3.4	<i>Determinação de minerais</i>	105
4.3.3.5	<i>Determinação de polifenóis solúveis totais</i>	106
4.4	<i>Avaliação da atividade antimicrobiana de H. drasticus</i>	108
4.4.1	<i>Amostras</i>	109
4.4.2	<i>Metodologia</i>	109
4.4.2.1	<i>Atividade antimicrobiana</i>	109
4.4.2.1.1	Preparo das amostras	109
4.4.2.1.2	Micro-organismos	110
4.4.2.1.3	Preparo dos inóculos	110
4.4.2.1.4	Preparo dos discos de papel de filtro	110
4.4.2.1.5	Método de difusão	111
4.4.2.1.6	Determinação da Concentração Inibitória Mínima	112
4.4.3	<i>Resultados e discussões</i>	112
4.4.3.1	<i>Atividade antimicrobiana</i>	112
4.5	<i>Isolamento, identificação e quantificação de metabólitos secundários de H. drasticus</i>	115

4.5.1	Material vegetal	116
4.5.2	Metodologia	116
4.5.2.1	<i>Obtenção de SEAcOEt</i>	116
4.5.2.2	<i>Testes químicos preliminares de SEAcOEt</i>	117
4.5.2.3	<i>Isolamento e determinação estrutural dos metabólitos secundários</i>	117
4.5.2.4	<i>Determinação da concentração dos triterpenos em SEAcOEt por RMN ¹H</i>	120
4.5.3	Resultados e discussões	122
4.5.3.1	<i>Identificação dos compostos químicos de SEAcOEt</i>	122
4.5.3.1.1	Testes químicos qualitativos	122
4.5.3.1.2	Determinação estrutural dos compostos isolados	122
4.5.3.2	<i>Determinação da concentração dos triterpenos em SEAcOEt por RMN ¹H</i>	132
4.6	Avaliação da qualidade de amostras comerciais de leite de janaguba	134
4.6.1	Considerações sobre qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos	135
4.6.2	Amostras	136
4.6.3	Metodologia	138
4.6.3.1	<i>Análise por cromatografia em camada delgada</i>	138
4.6.3.1.1	Preparo das soluções-amostras	138
4.6.3.1.2	Preparo das soluções de FitoHD e LM	138
4.6.3.1.3	Condições cromatográficas	138
4.6.3.2	<i>Tratamento estatístico dos dados analíticos</i>	139
4.6.4	Resultados e discussões	139
4.6.4.1	<i>Aspecto geral das amostras</i>	139
4.6.4.2	<i>pH, densidade e resíduo seco</i>	140
4.6.4.3	<i>Volume de sedimentação</i>	141
4.6.4.4	<i>Substâncias extraíveis por acetato de etila</i>	142
4.6.4.5	<i>Cromatografia em camada delgada</i>	142
4.6.4.6	<i>Qualidade microbiológica</i>	144
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	146
	REFERÊNCIAS	151
	APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	169
	APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN ¹H E ¹³C DA Fr.5 (6)	171
	ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	173

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	176
ANEXO C – PROJETO DO DR. JOSÉ ULISSES PEIXOTO JUNTO AO CENDEP (CE)	179

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A Floresta Nacional do Araripe, ou FLONA Araripe, é uma unidade de conservação brasileira situada na chapada do Araripe (região do Cariri, Ceará), administrada pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e integrante do SNUC (Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza) (IBAMA, 2009). Possui expressivo potencial ecológico e nela se encontram diversas espécies da flora nativa que originam produtos de uso popular e científico, tais como fibras, borrachas, gomas, ceras, oleaginosas, produtos alimentícios e aromáticos (CAVALCANTI; NUNES, 2002; IBAMA, 2009).

Dentre as várias espécies vegetais da FLONA Araripe, destaca-se a janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel), cujo látex é um derivado vegetal largamente utilizado na medicina popular e comercializado em várias regiões do país. A Resolução RDC nº 26/2014 (BRASIL, 2014) define derivado vegetal como produto da extração da planta medicinal *in natura* ou da droga vegetal, podendo ocorrer na forma de extrato, tintura, alcoolatura, óleo fixo e volátil, cera, exsudato e outros, o que inclui látex de plantas.

A janaguba é uma espécie prevalentemente brasileira, pertencente à família Apocynaceae, sendo também conhecida popularmente como tiborna, raivosa, pau-de-leite, joanaguba, sucúiba ou sucuba (PLUMEL, 1990). Ocorre em vários estados nordestinos, no Pará, Mato Grosso, Goiás, Tocantins e Minas Gerais (PLUMEL, 1990; FORZZA et al., 2010). Prevalece em vegetação de cerrado, caatinga, bem como na transição entre estes, carrasco, capoeira, mata de galeria, em solos arenoso-pedregosos e em campo com afloramento granítico (SPINA, 2004). Há relatos, ainda, de sua presença em menor quantidade nas Guianas e no Suriname, onde é chamada *carterpillar tree* e *frangipani* (MORAGAS, 2006). Das treze espécies de *Himatanthus* que ocorrem no Brasil, *H. drasticus* é a única encontrada no Ceará (PLUMEL, 1990; FORZZA et al., 2010), predominando na chapada do Araripe (MODESTO, 1997; AMARO et al., 2006).

A planta é encontrada na forma arbórea, podendo atingir cerca de sete metros de altura, apresentando folhagem densa nas extremidades dos ramos (PLUMEL, 1991; MODESTO, 1997; SPINA, 2004; MORAGAS, 2006; AMARO et al., 2006; LORENZI; MATOS, 2008). A extração do látex é realizada em plantas que tenham caules com perímetros iguais ou superiores a vinte e dois centímetros. Dependendo destes são feitos de dois a quatro

cortes no caule. O látex é então diluído em água na proporção 1:4 ou 1:10, armazenado em recipiente de vidro e comercializado (MODESTO, 1997; LORENZI; MATOS, 2008).

Seu uso é muito difundido na medicina popular para o tratamento de doenças que ainda permanecem como um desafio para os cientistas em todo o mundo. Os anúncios propagandísticos informam que se trata de “santo remédio” para curar alguns tipos de câncer (pulmonar e linfático), úlcera gástrica, gastrite, reumatismo, sendo utilizado interna ou externamente (NERES, 1990; PEIXOTO, 2001), além de combater vermes intestinais, febre, menstruações irregulares e infertilidade feminina (LORENZI; MATOS, 2008).

Segundo levantamento bibliográfico, estudos fitoquímicos e farmacológicos sobre a janaguba começaram nos últimos dez anos. Moragas (2006) isolou da casca do caule, majoritariamente, os triterpenos amirina e acetato de lupeol, além dos iridóides plumierídeo, isoplumierídeo, protoplumericina A, cafeoilplumierídeo e ácido-3-metoxi-3,4-dihidroplumierídeo; nas folhas foram encontrados os mesmos terpenoides descritos para a casca e o flavonoide rutina. Colares et al. (2008a) identificaram o triterpeno cinamato de lupeol na casca do caule, além de determinarem sua atividade antinociceptiva e citotóxica contra *Artemia salina*. Colares et al. (2008b) e Leite et al. (2009) determinaram a presença de atividade gastroprotetora do látex. Sousa (2009) observou que o látex (14,0 mL/Kg de peso do animal – camundongos Swiss machos) apresentou inibição significativa contra o carcinoma de Ehrlich; e Mousinho et al. (2011) encontraram atividade antitumoral numa fração proteica extraída do látex.

Segundo Peixoto (2001), há registros de que os índios Cariris utilizavam a janaguba existente na chapada do Araripe, no início da colonização, como cicatrizante. Em 1976, o médico cearense José Ulisses Peixoto afirmou que o látex de janaguba possuía alto poder imunológico contra alguns tipos de câncer. A declaração era de um conceituado clínico do Cariri, que se baseava em estudos procedidos ao longo de quatro anos, acompanhando de perto pacientes cancerosos que foram tratados consumindo ou aplicando a janaguba. Apesar de muitos questionamentos em torno da real eficácia, o fato é que litros com o leite diluído em água são vendidos para todo o país e para o exterior (PEIXOTO, 2001).

O pronunciamento desse médico alcançou repercussão no sul do país e virou notícia em jornais e revistas. Ele entregou o controle dos casos à Fundação Padre Ibiapina, vinculada à Diocese do Crato (CE). O bispo diocesano, Dom Vicente Matos, submeteu o assunto ao Ministério da Saúde, entretanto, as autoridades federais não demonstraram interesse em aprofundar os estudos sobre a eficácia da janaguba no tratamento de uma série de doenças (PEIXOTO, 2001).

Os dados obtidos através de levantamento bibliográfico em banco de dados indexados via Portal Periódicos Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) demonstraram a necessidade de desenvolvimento de estudos científicos que avaliassem o potencial farmacológico do látex de janaguba, objetivo geral do projeto de tese. Entende-se por farmacológica, o estudo químico da droga com vistas a sua aplicação farmacêutica (COSTA, 2002).

Este estudo envolveu, inicialmente, o conhecimento dos aspectos etnobotânico e etnofarmacológico relacionados à planta (parte usada, aplicações terapêuticas, preparo, posologia), seguida da caracterização físico-química e avaliação da qualidade microbiológica do látex oriundo da FLONA Araripe. Esta última serviu de parâmetro para avaliação das características físico-químicas e da qualidade microbiológica das preparações comerciais de leite de janaguba, que veio apresentar a situação dos produtos disponíveis num mercado de Fortaleza. O estudo químico preliminar do látex foi constituído por abordagem fitoquímica, doseamento de carboidratos, proteínas e minerais. Na literatura há registro de boa ação antimicrobiana para o látex de *H. articulatus* que conduziu à realização do mesmo procedimento com o látex de *H. drasticus*. Por fim, foi feito o isolamento, identificação e quantificação de metabólitos secundários.

O presente trabalho encontra-se organizado em seções que apresentam uma revisão bibliográfica sobre os aspectos botânicos, químicos e farmacológicos do gênero *Himatanthus*; a parte experimental, composta de metodologia, resultados e discussões; considerações finais; referências bibliográficas; apêndices e anexos. A parte experimental laboratorial foi desenvolvida nos laboratórios do curso de Farmácia da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), de Farmacognosia e do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC) e da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

**2 A FAMÍLIA
APOCYNACEAE E
ASPECTOS BOTÂNICOS
DO GÊNERO
*HIMANTHUS***

2 A FAMÍLIA APOCYNACEAE E ASPECTOS BOTÂNICOS DO GÊNERO *HIMATANTHUS*

Nessa seção, a descrição da família Apocynaceae é apresentada de forma sucinta, abordando além dos aspectos botânicos, os aspectos químicos. Esta família constitui uma rica fonte de metabólitos secundários, onde muitos gêneros a ela pertencentes são utilizados em larga escala para uso medicinal, tanto pelas pequenas comunidades, como pela indústria. Dentre estes será destacado o gênero *Himatanthus*.

Foi feita uma revisão dos aspectos botânicos do referido gênero, onde as informações foram fundamentalmente obtidas de Plumel (1990), Spina (2004) e Forzza et al. (2010). Estas incluem distribuição geográfica e biótopos.

Os dados foram compilados e apresentados em quadro (distribuição geográfica e biótopos), figuras (espécies ocorrentes no Nordeste e imagens de *H. drasticus*) e textos (descrição botânica). A representação gráfica do Quadro 1 e da Figura 1 são de autoria da pesquisadora. Os desenhos das folhas foram baseados nos trabalhos de Plumel (1990) e Spina (2004) e processados no programa Paint®.

2.1 Considerações gerais sobre a família Apocynaceae

Pertencente à subclasse Asteridae, ordem Gentianales, subordem Apocyninae (NICHOLAS; BAIJINATH, 1994), a família Apocynaceae engloba cerca de 550 gêneros e 3700 a 5100 espécies, distribuídas em todos os continentes, exceto a Antártida (MABBERLEY, 1997). Um terço de todas as espécies ocorrem em regiões tropicais (MORAGAS, 2006). Encontra-se atualmente subdividida em cinco principais subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Asclepiadoideae, Periplocoideae e Secamonoideae (ENDRESS; BRUYNS, 2000).

No Brasil foram catalogados 95 gêneros e 850 espécies. Estas podem ser encontradas nas florestas pluviais Amazônica, Atlântica e de Tabuleiro; e florestas secas, restinga, cerrado e caatinga (MORAGAS, 2006).

A Apocynaceae se apresenta na forma de árvores, arvoretas, ervas ou lianas. Possuem folhas opostas alternas ou, ocasionalmente, verticiladas, glabras ou pilosas, simples, inteiras, com ou sem estípulas. Suas inflorescências são cimosas ou solitárias, com brácteas e bractéolas, axilares ou laterais. Suas flores são pentâmeras simpétalas. O androceu apresenta-

se isostêmone com estames inseridos no tubo da corola. Já o gineceu possui ovário súpero ou semi-ínfero, geralmente bilocular, com estiletos nulos ou curtos, filiformes e coroados por um estigma deitado sobre as anteras. Frutos indeiscentes ou deiscentes; sementes, às vezes aladas ou com pelos. Gêneros como *Carissa* apresentam espinhos. Possui, ainda, sistema laticífero bem desenvolvido, onde o látex pode apresentar cor clara e raramente avermelhada ou amarelada (QUINETE; ADREATA, 2005; NICHOLAS, BAIJNATH, 1994; VAN DEN BERG, 1993).

Quimicamente essa família é caracterizada pela presença de alcaloides, glicosídeos cardiotônicos e iridoides. Dentre os alcaloides destacam-se os indólicos ajmalina, serpentina, serpentina, reserpina (gênero *Rauwolfia*), que possuem ação anti-hipertensiva; vimblastina e vincristina presentes na *Vinca major* e *Catharanthus roseus*, além da vincamina presente na *Vinca minor*, todos compostos antitumorais. É possível destacar ainda reserpina e alstonina (antipsicótico) presentes no gênero *Alstonia* (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; MORAGAS, 2006).

Glicosídeos cardiotônicos foram encontrados nas sementes de espécies de *Strophantus*, como *Strophantus gratus* (estrofantidina G, conhecida como ouabaína) e *S. kombe* (estrofantidina K). Outro gênero importante que possui glicosídeos cardiotônicos é *Nerium*, principalmente a espécie *Nerium oleander* que possui o cardiotônico oleandrina (ROBBERS; SPEDIE; TYLER, 1997).

Vários iridoides foram isolados das raízes de *Allamanda catartica*, principalmente a alamandina. São conhecidas ainda deste gênero os compostos isoplumericina, plumericina e alamicina (BARRY; JAMES, 1985; ANDERSON; CHANG; MC'LAUGHLIN, 1988).

Além das propriedades medicinais, a Apocynaceae possui uma relevante importância comercial. O látex produzido por espécies como *Landolphia* sp, *Macoubea guianensis*, *Lacmellea pauciflora* e *Couma rigida* são importantes para a produção da borracha, no preparo de gomas de mascar, sucos e sorvetes (QUINETE; ADREATA, 2005; BARATTO, 2010).

2.2 Aspectos botânicos do gênero *Himatanthus*

O gênero *Himatanthus* Willd. ex Schult., inicialmente incluído no gênero *Plumeria*, possui grandes brácteas envolvendo os botões florais, determinantes para a separação dos gêneros. A presença destas brácteas dá origem ao nome deste gênero, que significa “manto de

flor”. *Himatanthus* está inserido na subfamília Rauvolfioideae, tribo Plumerieae, que compartilha com os gêneros *Plumeria* e *Mortoniella*. Dentro desta tribo ainda pertencem *Allamanda*, *Anechites*, *Cameraria*, *Cerbera* e outros (PLUMEL, 1990; ENDRESS; BRUYNS, 2000).

De acordo com uma revisão feita por Plumel (1990), o gênero *Himatanthus* contém 13 espécies, incluindo oito variedades. Baseando-se nas características da morfologia foliar e floral, distinguiram-se dois subgêneros:

A) *Obovatae*: *Species foliis obovatis vel ellipticus; floribus tubi satis brevis; antherae apice acuto, clavuncula appendicibus evolutis longioribus tertia parte longitudinis styli* (Espécies foliares obovada ou elíptica; flores tubulares muito curtas, anteras de ápice agudo, apêndices clavunculares evoluídos em mais de um terço do comprimento do estilete).

Esse subgênero inclui as seguintes espécies: *H. obovatus* (Muell. Arg.) Woodson (*H. obovatus* var. *obovatus*, *H. obovatus* var. *puberulus* e *H. obovatus* var. *velutinus*), *H. drasticus* (Mart.) Plumel, *H. fallax* (Muell. Arg.) Plumel, *H. articulatus* (Vahl) Woodson, *H. sucuuba* (Spruce) Woodson e *H. tarapotensis* (Schumann ex Markgraf) Plumel.

B) *Lanceolatae*: *Species foliis lanceolatis, oblanceolatis, spatulatis, basi graduatim attenuate in petiolum; floribus tubi relative longo; antherae apice obtuse; clavoncula appendicibus brevibus, aequalibus vel brevioribus quarta parte longitudinis styli* (Folhas lanceoladas, oblanceoladas, espatuladas, com base gradualmente atenuada até ao pecíolo; flores de tubo relativamente longo; antera de ápice obtuso; apêndices clavunculares curtos, mais curtos do que ou igual a um quarto do comprimento do estilete).

Esse subgênero inclui as seguintes espécies: *H. lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, *H. phagedaenicus* (Mart.) Woodson, *H. speciosus* (Muell. Arg.) Plumel, *H. bracteatus* (A. DC.) Woodson (*H. bracteatus* var. *attenuates*, *H. bracteatus* var. *bracteatus* e *H. bracteatus* var. *revolutus*), *H. stenophyllus* Plumel, *H. attenuatus* (Benth.) Woodson (*H. attenuatus* var. *malongo* e *H. attenuatus* var. *obtusifolius*) e *H. semilunatus* Markgraf.

Dependendo do seu tamanho, as espécies do gênero *Himatanthus* distinguem-se em quatro grupos:

- De grandes árvores, crescendo até 20 ou 30 m: *H. articulatus*, *H. tarapotensis*, *H. speciosus* e *H. stenophyllus*;
- De árvores de médio porte, mais frequentemente de 10 a 20 m: *H. sucuuba*, *H. lancifolius*, *H. phagedaenicus* e *H. bracteatus*;
- De arbustos de 5 a 10 m: *H. fallax*, *H. drasticus*, *H. obovatus* e *H. attenuatus*;

- De arbusto espesso de 1,5 a 5 m: *H. semilunatus*.

Todas as espécies do gênero são notadamente heliófilas, e de uma maneira geral, a floração ocorre, em cada hemisfério, desde o início do aumento do fotoperíodo, com o aumento do fluxo luminoso, mais ou menos de acordo com a latitude, e ela continua durante o período de estio.

Trabalhos de Spina (2004) mostraram que muitas das espécies classificadas por Plumel eram sinônimas, reduzindo o número de espécies para nove: *H. attenuatus*, *H. phagedaenicus*, *H. revolutus*, *H. semilunatus*, *H. tarapotensis*, *H. articulatus*, *H. obovatus*, *H. bracteatus* e *H. drasticus*. Segundo Spina, este gênero é geralmente encontrado na forma de árvore com tronco lenhoso e definido, com ramificações terminais; e as folhas são simples, apresentando-se inteiras ou revolutas, pecioladas ou sésseis e com várias formas.

Plumel (1990) baseou-se principalmente nas características foliares, como ápice e base, para diferenciar as espécies desse gênero. Todavia, Spina (2004) considerou esta classificação inconcebível, porque se baseava em características muito variáveis entre as amostras do gênero.

Em 2010, foi publicado o Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil (FORZZA et al., 2010) que contou com a participação de mais de 400 especialistas botânicos. Este catálogo informa que o gênero *Himatanthus* possui 13 espécies e cinco variedades, todas endêmicas; são elas: *H. articulatus*, *H. attenuatus*, *H. bracteatus*, *H. bracteatus* var. *bracteatus*, *H. bracteatus* var. *revolutus*, *H. drasticus*, *H. fallax*, *H. lancifolius*, *H. obovatus*, *H. obovatus* var. *obovatus*, *H. obovatus* var. *puberulus*, *H. obovatus* var. *velutinus*, *H. phagedaenicus*, *H. semilunatus*, *H. speciosus*, *H. stenophyllus*, *H. sucuuba* e *H. tarapotensis*. Foram mantidas as 13 espécies citadas por Plumel (1990), excluindo as duas variedades de *H. attenuatus* e a variedade *H. bracteatus* var. *attenuatus*.

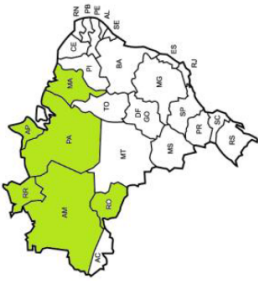
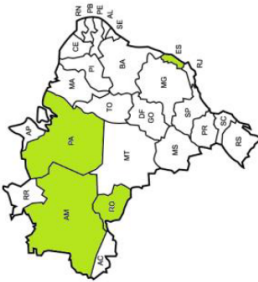
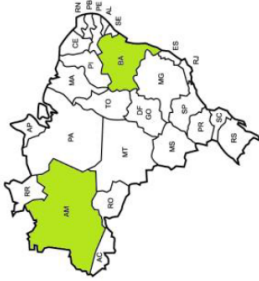
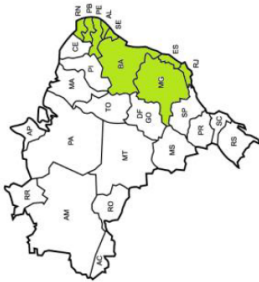
Himatanthus possui inflorescências terminais, articuladas e do tipo tirsoide. As brácteas são grandes, naviculares e petalóides. As flores são sésseis, hermafroditas, actinomorfas e pentâmeras. O cálice possui de uma a cinco lacínias de tamanhos variados. Possui, ainda, ovário formado por dois carpelos soldados da base até a metade, hemi-sincárpico, semi-ínfero com placentação axilar e multi-ovulado. Os frutos, folículos, são opostos, cilíndricos, estreitos na região apical, apresentando duas estrias laterais que se sobressaem cuja cor varia de castanho-claro a castanho-escuro (SPINA, 2004).




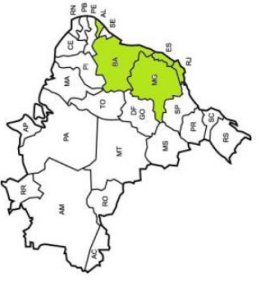


Sobre o plano geográfico, o gênero *Himatanthus* é generalizado na banda tropical e subtropical da América do Sul, de cerca de 10° de latitude Norte até à vizinhança do Trópico

de Capricórnio (PLUMEL, 1990). No Quadro 1 encontram-se listadas as espécies de *Himatanthus* com as respectivas distribuições geográficas no Brasil e outros países e biótopos (PLUMEL, 1990; FORZZA et al., 2010); e na Figura 1, a distribuição das 11 espécies de *Himatanthus* que ocorrem no Nordeste brasileiro, com as representações de suas morfologias foliares, conforme descrição de Plumel (1990). Sejam os dados de Forzza et al. (2010), sejam os de Plumel (1990), 20 anos antes, estes não podem ser rigorosamente considerados, e os mapas fornecem apenas uma ideia da distribuição destas plantas no Brasil. Como relatou Plumel (1990):

(...) a acessibilidade dos locais de coleta e, assim, a presença nos mesmos locais de coletores sucessivos, modificam as estatísticas, e é bem evidente que grande parte da floresta Amazônica, por exemplo, não tenha sido sistematicamente explorada. Além disso, devido às colheitas ao longo dos anos e a aceleração atual do desmatamento, a coincidência entre a distribuição geográfica do passado e os dados recentes não podem ser rigorosos.

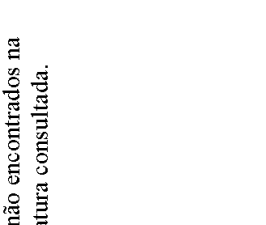

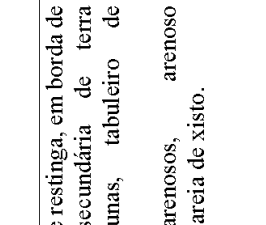
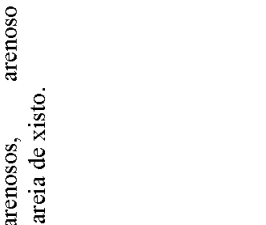
Quadro 1 – Lista das espécies de *Himatanthus*, distribuição geográfica no Brasil e outros países e biótopo

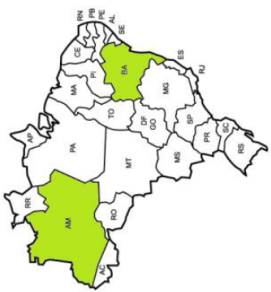
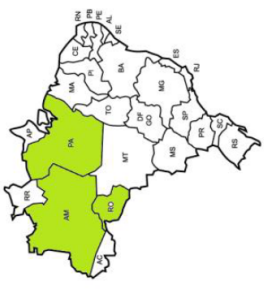
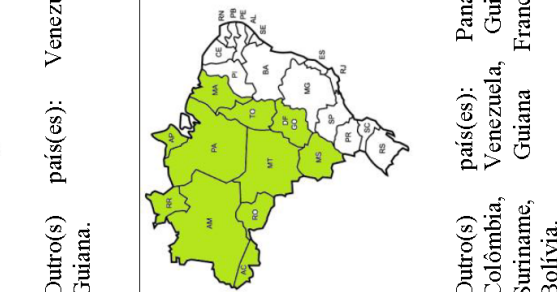
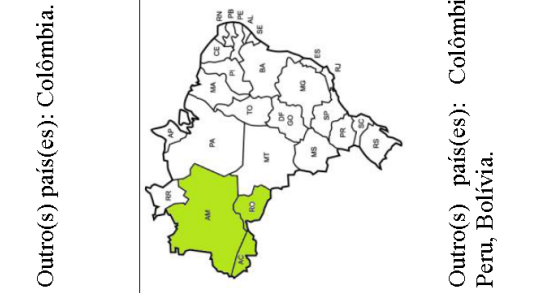
Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo	Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo
<i>Himatanthus articulatus</i>	 <p>Outro(s) país(es): Panamá, Colômbia, Peru, Venezuela, Guiana, Guiana Francesa.</p>	<p>Floresta tropical pluviosa: cresce em floresta primária, ou na margem de floresta secundária (capoeirão); rara. Solo arenoso ou arenoso rico em húmus.</p>	<i>Himatanthus attenuatus</i>	 <p>Outro(s) país(es): Venezuela.</p>	<p>Ao longo do rio Negro e seus afluentes, sobre as margens inundadas, nas bordas de floresta secundária (capoeira), margens dos rios, sobre as pradarias inundadas (campina de várzea), na borda dos vales inundados (igapó). Solo arenoso ou arenoso-argiloso.</p>
<i>Himatanthus bracteatus</i>	 <p>Outro(s) país(es): Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname.</p>	<p>Floresta primária alterada, floresta de várzea. Solo: arenoso úmido, arenoso argiloso de várzea</p>	<i>Himatanthus bracteatus</i> var. <i>bracteatus</i>	 <p>Dados não encontrados na literatura consultada.</p>	

Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo	Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo
<p><i>Himatanthus bracteatus</i> var. <i>revolutus</i></p>		<p>Dados não encontrados na literatura consultada.</p>	<p><i>Himatanthus drasticus</i></p>		<p>Floresta de restinga atlântica, cerrado, campo inundado e sobre os planaltos (tabuleiros). Solo arenoso, ou arenoso-argiloso, inundado ou pantanoso.</p>
<p><i>Himatanthus fallax</i></p>		<p>Cresce na floresta seca, na região do interior do país entre a restinga atlântica e a floresta úmida amazônica. Solo: terreno seco argiloso arenoso, savana arenosa aberta, floresta sobre areia branca, savana queimada (<i>brállee</i>) em solo argiloso.</p>	<p><i>Himatanthus lancifolius</i></p>		<p>Espécies heliófilas, crescem na borda de floresta secundária (capoeirão), nos cumes, nas encostas íngremes (Corcovado), ao longo das encostas que recebem chuva ou garoa. Solo pedregoso, rico em húmus.</p>
<p><i>Himatanthus obovatus</i></p>		<p>Savana arborea (cerrado); campo cerrado, cerrado intermediário com floresta seca. Solo arenoso, arenoso-argiloso, solo laterítico vermelho arenoso.</p>	<p><i>Himatanthus obovatus</i> var. <i>obovatus</i></p>		<p>Dados não encontrados na literatura consultada.</p>

Outro(s) país(es): Equador.

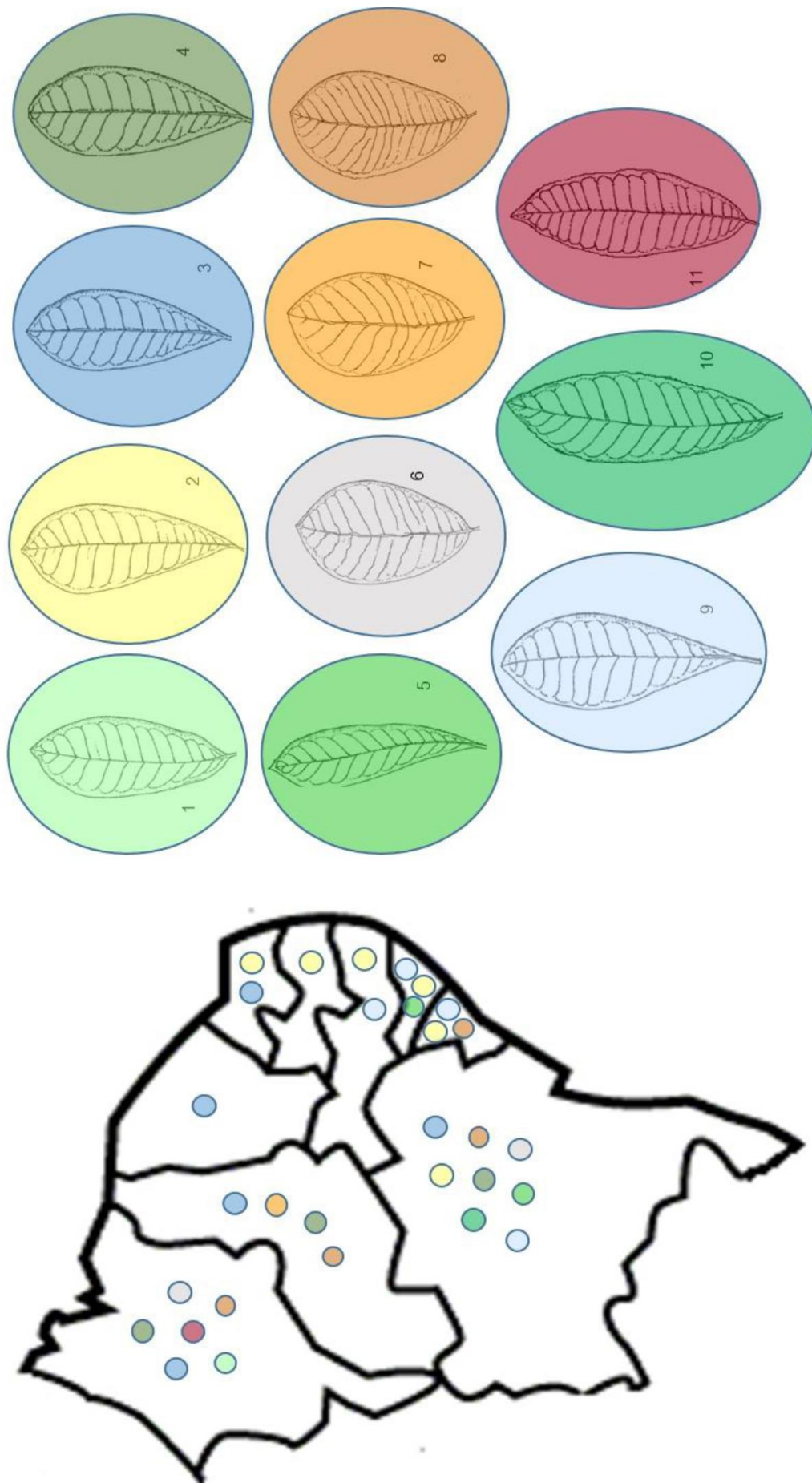
Outro(s) país(es): Suriname, Guiana.

Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo
<p><i>Himatanthus obovatus</i> var. <i>velutinus</i></p>		<p>Dados não encontrados na literatura consultada.</p>
<p><i>Himatanthus obovatus</i> var. <i>obovatus</i></p>		<p>Dados não encontrados na literatura consultada.</p>
<p><i>Himatanthus phagedaemicus</i></p>		<p>Floresta de restinga, em borda de floresta secundária de terra firme, dunas, tabuleiro de ardósia. Solo arenosos, arenoso inundado, areia de xisto.</p>
<p><i>Himatanthus semilunatus</i></p>		<p>Savana arbustiva, caatinga arbustiva, campo, e na Amazônia, próximo de Humaitá, em borda de floresta de terra firme e sobre campos inundados. Solo arenoso ou arenoso argiloso, solo laterítico argiloso vermelho, solos estéreis, ao longo de placas cristalinas de quartzo ou de xisto graníticos.</p>
<p>Outro(s) país(es): Venezuela, Colômbia.</p>		<p>Outro(s) país(es): Venezuela, Colômbia.</p>
<p>Outro(s) país(es): Venezuela: alguns remanescentes nas florestas antigas.</p>		<p>Outro(s) país(es): Venezuela: alguns remanescentes nas florestas antigas.</p>

Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo	Espécie	Distribuição geográfica	Biótopo
<i>Himatanthus speciosus</i>	 <p>Outro(s) país(es): Venezuela, Guiana.</p>	Floresta úmida de terra firme. Solo arenoso.	<i>Himatanthus stenophyllus</i>	 <p>Outro(s) país(es): Colômbia.</p>	Floresta primária de terra firme, ou floresta secundária em curso de reconstituição após queimada, resiste bem ao fogo. Solo laterítico jovem, arenoso ou arenoso argiloso.
<i>Himatanthus sucuba</i>	 <p>Outro(s) país(es): Panamá, Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Bolívia.</p>	Floresta tropical pluviosa de terra firme. Solo arenoso o arenoso-argiloso.	<i>Himatanthus tarapotensis</i>	 <p>Outro(s) país(es): Colômbia, Peru, Bolívia.</p>	Em floresta primária (AC), floresta secundária de terra firme (capoeira), floresta de várzea, sobre terrenos inundados (AM), cerrado. Terreno sobre areia branca, em solos argilosos e arenosos, solo argiloso, margem lamacentas de rios.

Fonte: elaborado pela autora conforme dados de Plumel (1990) e Forzza et al. (2010).

Figura 1 – Distribuição das espécies de *Himatanthus* no Nordeste brasileiro, através das representações de suas morfologias foliares. 1: *H. articulatus*; 2: *H. bracteatus* var. *bracteatus*; 3: *H. drasticus*; 4: *H. fallax*; 5: *H. lanceifolius*; 6: *H. obovatus* var. *obovatus*; 7: *H. obovatus* var. *puberulus*; 8: *H. obovatus* var. *velutinus*; 9: *H. phagedaenicus*; 10: *H. speciosus*; 11: *H. sucumba*



Fonte: elaborada pela autora conforme descrição de Plumel (1990).

A seguir são descritas as características botânicas de cada uma das espécies de *Himatanthus*.

2.2.1 *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson

Grandes árvores altas que crescem até 22 m de altura e 0,4 m de diâmetro. Os ramos são arredondados, carnosos e o topo possui folhas pouco numerosas.

As folhas são grossas subcoriáceas, glabras, verde-escuro e luzidias na face adaxial, mais pálidas na face abaxial, oblongas a lados sublineares, ápice obtuso a retangular, curtamente e obtusamente apiculado, base arredondada a cuneiforme, tornando-se frequentemente verrucosa na dessecação. O pecíolo é forte, relativamente curto, medindo cerca de sétima parte da folha. As nervuras secundárias são de 12 a 15, pouco inclinadas, formando um ângulo de cerca de 70° com a nervura primária, inicialmente retas, depois curvas, se unindo em nervuras submarginais regularmente sinuosas. Possui rede de nervação terciária densa, ramificada, distintamente aparente em relevo sobre as duas faces da folha após dessecação (PLUMEL, 1990; WOOD et al., 2001; SEQUEIRA et al. 2009).

2.2.2 *Himatanthus attenuatus* (Benth.) Woodson

Arbustos que atingem 7 m, com ramos finos e folhagem pouco densa.

As folhas são subcoriáceas, verde-glaucos, pouco brilhantes, oblanceoladas a lineares, ápice finamente acuminado, base aguda se estreitando gradualmente, atenuada, sobre um pecíolo demasiadamente curto, medindo cerca oitava parte da folha. As nervuras secundárias são apertadas, cerca de 25 de cada lado, ligeiramente inclinadas (75°), retas, quase paralelas; e nervura marginal com borda quase retilínea. A nervação terciária é aparente em relevo sobre as duas faces do limbo, com rede pouco distinta na face superior (PLUMEL, 1990).

2.2.3 *Himatanthus bracteatus* (A.DC.) Woodson

Árvores de tamanho mediano, atingindo 12 m, com ramos de inflorescências carnosas e articuladas.

As folhas são espessadas, tornando-se firmemente coriáceas na dessecação, pouco brilhantes, obovais, oblongas, espatuladas, ápice arredondado, às vezes truncado, mucronado, ou um pouco emarginado, base aguda decurrente sobre um pecíolo curto espesso, e borda

subrevoluta. As nervuras secundárias são cerca de 16 em cada lado, fortes, salientes, retas, perpendiculares ou pouco inclinadas, unindo-se à nervura marginal forte, reta ou um pouco sinuosa. Após dessecação, a nervura marginal apresenta um sulco na superfície adaxial da folha.

As sépalas são obsoletas ou ausentes.

Descrição das variedades:

- *Himatanthus bracteatus* var. *bracteatus* (A.DC.) Woodson: *Margo folii subrevolutus* (margem da folha sub-revoluta).
- *Himatanthus bracteatus* var. *revolutus* (Huber) Plumel: *Folia oblonga, basi attenuata, marginali nervo paulum sinuoso, margo folii conspicue revolutus* (folha oblonga, base atenuada, nervura marginal ligeiramente sinuosa, margem foliar visivelmente revoluta) (PLUMEL, 1990).

2.2.4 *Himatanthus tarapotensis* (K.Schum. ex Markgr.) Plumel

Grandes árvores que atingem 25 m de altura, com ramos pouco carnosos.

As folhas são membranosas, glabras, elípticas, quatro a cinco vezes mais longas que largas, com ápice obtusamente acuminado. As nervuras secundárias são em número de dez a 15 de cada lado, inclinadas, curvas, se unindo pouco antes da margem. A base é aguda; o pecíolo é longo (4 a 6 cm) e flexível (PLUMEL, 1990).

2.2.5 *Himatanthus fallax* (Mull.Arg.) Plumel

Arbusto de 4 a 5 m, com ramos folhosos até à extremidade.

As folhas são subcoriáceas, glabras, brilhantes, oblongas, ápice arredondado a obtuso, base obtusa, e o pecíolo é relativamente curto (1,5 a 2,5 cm). As nervuras secundárias são cerca de 18 de cada lado, quase retilíneas inicialmente, bruscamente arqueadas perto da borda, se unindo em nervuras marginais sinuosas. A rede de nervação terciária é densa, ramificada, distintamente aparente em relevo sobre as duas faces da folha após dessecação (PLUMEL, 1990).

2.2.6 *Himatanthus lancifolius* (Mull.Arg.) Woodson

Pequenas árvores delgadas de até 8 m, com ramos carnosos e folhagem densa.

As folhas são membranosas, brilhantes, verde escuras na face adaxial, verde pálido um pouco amarelado na face abaxial, oblanceoladas fechadas a lineares, ápice agudo acuminado, base aguda atenuada, pecíolo fino muito curto. A nervura principal é amarelo esverdeado, de secção transversal arredondada na face abaxial no material fresco, tornando-se marrom escuro a negro na secagem. As nervuras secundárias são cerca de 18 de cada lado, pouco inclinadas, retas ou encurvadas; e as nervuras marginais são finas, perto da borda e pouco aparente. Esta espécie, próxima de *H. phagedaenicus*, difere pelas folhas oblanceoladas mais fechadas, de comprimento superior a três vezes sua largura. Os ramos jovens são castanho-escuros e os mais velhos possuem manchas castanho-claro. São latescentes.

Os fragmentos da casca do caule têm formato plano, superfície irregular, exibindo gretas ou fendas mais ou menos profundas na superfície externa e lisa na superfície interna (PLUMEL, 1990; BARATTO et al., 2010).

2.2.7 *Himatanthus obovatus* (Mull.Arg.) Woodson

Arbusto de 4 a 6 m, densamente folhado, com ramos grossos e um pouco carnosos.

As folhas são subsésseis, firmemente membranosas, verde escuro na face adaxial e verde claro na face abaxial; obovais largas a obovais oblongas, ápice arredondado a obtuso, às vezes truncado e ligeiramente mucronado; base arredondada, às vezes, subcordada, cuneiforme nas folhas jovens. As nervuras secundárias são de 15 a 18, ligeiramente sinuosas, notadamente inclinadas em relação à nervura central, com a qual elas formam um ângulo de 60°, curvadas até à extremidade, juntando-se na nervura marginal sinuosa; nervação terciária, solta, pouco marcada. O pecíolo é muito curto, de 5 mm de comprimento e grosso.

A casca é acinzentada, fortemente suberosa e rachada na base do tronco.

Descrição das variedades:

- *Himatanthus obovatus* var. *obovatus* (Mull.Arg.) Woodson: *Planta totis partibus glabris* (todas as partes da planta são glabras);
- *Himatanthus obovatus* var. *puberulus* (Mull.Arg.) Woodson: *Folia cum pilis simplicibus, sparsis, in nervis vel in petiole locati* (folhas com pelos simples, escassos, localizados nas nervuras ou pecíolos);

- *Himatanthus obovatus* var. *velutinus* (Mull.Arg.) Woodson: *Folia inferior facie, tenui pube vestita* (face inferior das folhas com finos pelos) (PLUMEL, 1990).

2.2.8 *Himatanthus phagedaenicus* (Mart.) Woodson

Pequenas árvores, de até 8 m, com ramos curtos, um pouco carnosos e densamente folhosos.

As folhas são membranosas, verde claro, pouco brilhantes, oblanceoladas largas; com nervura principal arqueada para trás e limbo dobrado longitudinalmente em ângulo obtuso (aproximadamente 120°), ápice obtuso ligeiramente acuminado, base cuneiforme ligeiramente decurrente sobre pecíolo muito curto, de 2 a 4 cm. As nervuras secundárias são cerca de 20 em cada lado, ligeiramente inclinadas, finas, pouco salientes, quase retas, se unindo em uma nervura marginal fina, próxima da borda, muito pouco sinuosa.

A casca do tronco possui coloração cinza (PLUMEL, 1990).

2.2.9 *Himatanthus semilunatus* Markgr.

Arbusto denso, de 1,5 a 3 m de altura, com ramos finos.

As folhas são alternas, coriáceas, glabras, ternas, pequenas, de 9 a 15 cm de comprimento, 1,7 a 3 cm de largura, oblanceoladas, fechadas, ápice arredondado a obtuso, base se atenuando gradativamente até ao ponto de inserção sobre o ramo, sésseis. As folhas jovens são pequenas, obovais, ápice arredondado, base atenuada, sésseis. As nervuras secundárias são cerca de 25 pares, retas, apertadas e irregularmente inclinadas. A nervação terciária é pouco ramificada, aparente, em relevo sobre as duas faces e pouco distinta na face superior. A nervura marginal é quase retilínea (PLUMEL, 1990).

2.2.10 *Himatanthus speciosus* (Mull.Arg.) Plumel

Árvore de tronco cilíndrico, atingindo 15 m de altura e 15 cm de diâmetro.

As folhas jovens são grandes, com até 70 cm de comprimento, subcoriáceas, elípticas oblongas a elípticas espatuladas, ápice agudo a pouco acuminado. As nervuras secundárias são de 16 a 22, salientes, muito pouco inclinadas (80°), retilíneas até a margem; e a nervura marginal é quase reta. A base da folha se estreita gradualmente sobre o pecíolo muito curto e forte. As sépalas são desenvolvidas, laciniadas e agudas (PLUMEL, 1990).

2.2.11 *Himatanthus stenophyllus* Plumel

Árvores de 10 a 27 m de altura e 25 cm de diâmetro.

As folhas são coriáceas, verde pálido, ligeiramente luzidias, lanceoladas quando jovens, depois se tornam elípticas, 14 a 30 cm de comprimento, 3 a 4 cm de largura, ápice apiculado, base aguda e atenuada no pecíolo. O pecíolo tem cerca da nona parte do comprimento da folha. A nervura principal é ligeiramente canaliculada na superfície, semi-rotundulada e sublaminar. As nervuras secundárias são em número de 16 a 18, perpendiculares, retas, depois encurvadas, irregularmente inclinadas, às vezes para trás, de extremidade bífida, ligada a nervura marginal tênue e ligeiramente sinuosa. A nervação terciária é indistinta nas duas faces laminares.

A inflorescência é uma cima subfasciculada, pouco maior que a crista foliar, pedúnculo com 12 cm de comprimento; sumidade em turbina produtiva; secreção composta de goma e pectina. A bráctea é carinada, com 20 mm de comprimento, ápice apiculado; o pedicelo possui 3 mm de comprimento. A sépala é ligeiramente evoluída; longamente aciculada. O lóbulo da corola é longo, em tubo, com 40 mm de comprimento, 9 mm de largura e extremidade rotundulada. Tubo corolínico é tênue, com 31 mm de comprimento, 2 mm de diâmetro. A antera possui ápice obtuso. O ovário é semi-infero e ligeiramente projetado. A semente possui asa membranácea, circular e translúcida (PLUMEL, 1990).

2.2.12 *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Mull.Arg.) Woodson

Grandes árvores que podem alcançar 20 a 30 m de altura e 0,5 m de diâmetro, com folhagem densa.

As folhas são membranosas, ternas, oblongas a elíptico-oblongas, ápice arredondado, base arredondada a obtusa, pecíolo fino, flexível, mais longo, medindo a quarta ou quinta parte do comprimento da folha (4 a 7 cm). As nervuras secundárias são em número de 12 a 15 de cada lado, curvas, se unindo na margem, delimitando áreas triangulares, aparente na face abaxial; a nervação terciária é descartada. As nervuras da face abaxial das folhas adquirem cor marrom-avermelhada após a dessecação.

As brácteas possuem de 15 a 20 mm de comprimento; o cálice, de 4 x 2 mm, com cinco lacínias desiguais no tamanho podendo apresentar uma ou duas reduzidas. A corola possui de 25 a 40 mm de comprimento, com tubo extremamente glabro e internamente piloso a 3 a 7

mm do ápice da antera. Os estames são pilosos e distantes da base do tubo da corola cerca de 2 mm. A cabeça do estilete é obcônica, sem ornamentos, sem tricomas e com dois apêndices apicais longos (PLUMEL, 1990; LARROSA; DUARTE, 2005; MORAGAS, 2006).

2.2.13 *Himantanthus drasticus* (Mart.) Plumel

Encontrada na forma arbórea (Figura 2), pode atingir cerca de 7 m de altura, apresentando folhagem densa nas extremidades dos ramos.

Figura 2 – *Himantanthus drasticus* (Mart.) Plumel



Fonte: da autora.

As folhas são verde escuras na face abaxial e verde claras na face adaxial, brilhantes, glabras, com margem inteira e plana, obovais, subcoriáceas, com pecíolos curtos, lanceoladas, com ápice e base arredondados e obtusos, carnosas e muito grandes (Figura 3). As nervuras secundárias são de 15 a 19, retas ligeiramente sinuosas, pouco inclinadas (75 a 80°), e se juntam às nervuras submarginais ligeiramente sinuosas. A rede de nervuras terciárias é densa, ramificada, distintamente aparente em relevo sobre as duas faces foliares após dessecação.

Figura 3 – Folhas de *H. drasticus*



Fonte: da autora.

Possui flores brancas, campanuladas, grandes, dispostas em cimas terminais e aromáticas (Figura 4). A parte externa da corola é glabra e a interna pilosa. Os estames são distantes da base da corola. O cálice possui cinco sépalas desenvolvidas, de vários tamanhos, ovais e lanceoladas.

Figura 4 – Flores de *H. drasticus*

Fonte: <http://br.geoview.info>.

O fruto é do tipo folículo, cilíndrico, ligeiramente arqueado, em forma de chifre (Figura 5), polispérmico, possuindo uma média de 42 sementes, seco, deiscente; com abertura por única fenda na sutura ventral ao longo da linha de união dos bordos do carpelo, caracterizando a deiscência septicida. As dimensões variam entre 12 a 30 cm de comprimento, 1,8 a 3,0 cm de largura por 2,0 a 2,9 mm de espessura. Folículo quando imaturo apresenta epicarpo de coloração verde, quando maduro amarelo-esverdeado e após a deiscência marrom-escura; com 0,5 a 1,0 mm de espessura; com rugas longitudinais (da base ao ápice) e saliências laterais. O mesocarpo é coriáceo e de coloração marrom após a deiscência. O endocarpo é liso, brilhoso, de consistência papirácea, de coloração bege clara e com ligeiras depressões deixadas pelas sementes. A placenta possui aspecto esponjoso e ocupa grande parte do interior carpelar, apresentando depressões resultantes da sobreposição das sementes.

Figura 5 – Fruto de *H. drasticus*

Fonte: da autora.

A semente é alada (Figura 6), com 3,3 a 5,0 cm de comprimento por 2,5 a 4,7 cm de largura com ala, 1,1 a 2,5 cm de comprimento por 0,6 a 1,2 cm de largura sem ala e 0,76 a 1,50 mm de espessura. O núcleo seminífero é elíptico. A testa é áspera, rugosa, de coloração amarelo-madeira e sulcada; com expansão a ala concêntrica, membranácea, de coloração amarelo-madeira, transparente e quebradiça, facilmente destacável, com reentrâncias na margem e às vezes pontiaguda na base e no ápice. O tégmen é de consistência coriácea com coloração castanha. O hilo é sub-basal, sem forma definida, saliente, bem visível, apresentando tecido esponjoso no seu interior de coloração esbranquiçada, às vezes encontra-se voltado para o lado direito da semente. A rafe é lenhosa, linear (4,72 a 12,60 mm de comprimento por 0,95 a 1,86 mm de largura), ventral, saliente, longa, se estende do hilo ao ápice da semente, apresentando no seu interior um tipo de tecido esponjoso de coloração branca. Micrópila não perceptível. Endosperma delgado, plano, de coloração branco-amarelada, cobrindo os cotilédones e radícula. Embrião cotiledonar, axial, contínuo, de coloração branca leitosa e de consistência carnosa. Cotilédones brancos, opostos, planos, delgados e flexíveis, foliáceos, sésseis, com nervuras peninérveas pouco conspícuas, margem inteira, ápice romboide e base cordiforme. Eixo embrionário reto, cilíndrico, de coloração branca, mede aproximadamente um quinto do comprimento do embrião; eixo hipocótilo-radícula externo aos cotilédones, ponta da radícula lanceolada; plúmula não desenvolvida; gema apical rudimentar.

Figura 6 – Sementes de *H. drasticus*



Fonte: da autora.

A casca (Figura 7) é rugosa por causa dos fragmentos quase planos, que se encurvam na extremidade. A superfície externa é acastanhada, enquanto a interna é esbranquiçada e estriada no comprimento. É laticífera (PLUMEL, 1990; MODESTO, 1997; SPINA, 2004; AMARO et al., 2006; MORAGAS, 2006; LORENZI; MATOS, 2008).

Figura 7 – Cascas do caule de *H. drasticus*



Fonte: da autora.

**3 ASPECTOS QUÍMICOS E
FARMACOLÓGICOS DO
GÊNERO *HIMANTHUS***

3 ASPECTOS QUÍMICOS E FARMACOLÓGICOS DO GÊNERO *HIMANTHUS*

O método utilizado para este estudo se baseou em pesquisa bibliográfica em livros sobre plantas medicinais, teses, dissertações e artigos em revistas indexadas. Não foram considerados apresentações em conferências e simpósios. Realizou-se uma extensa busca no Portal Periódicos da Capes. Inicialmente, a palavra-chave utilizada na pesquisa foi *Himantanthus*; em seguida, buscou-se trabalhos sobre atividades biológicas dos compostos encontrados com maior frequência.

Sobre o gênero *Himantanthus*, foram coletadas informações das partes utilizadas de plantas, os usos na medicina popular, as atividades biológicas e os constituintes químicos. Com relação à parte usada, quando se tratar de casca e lenho, estes estão relacionados ao caule da planta. Os dados foram compilados e as informações foram organizadas no Quadro 2, onde as espécies foram dispostas em ordem alfabética.

Quanto à composição química, o gênero se destaca pela presença de ésteres triterpênicos e iridoides, encontrados principalmente no caule e no látex, podendo ocorrer, em menor quantidade, nas folhas e nas raízes (BARATTO, 2010).

A Figura 8 apresenta, especificamente, os constituintes químicos do látex, cascas e folhas de *H. drasticus*.

Quadro 2 – Lista das espécies de *Himatantibus* e respectivos constituintes químicos, partes da planta, dados etnofarmacológicos, partes da planta, dados etnofarmacológicos, farmacológicos e toxicológicos

Espécie	Parte	Dados etnofarmacológicos	Dados farmacológicos/toxicológicos	Constituintes químicos	Referências
<i>H. articulatus</i>	Látex	Antifúngico, antibacteriano, antiúlcera, antitumoral, anti-inflamatório, analgésico, antissifílico, antimalárico, tônico, afrodisíaco.	Antifúngico contra <i>Candida albicans</i> ; antígeno tóxico.	Cinamato de α -amirina e β -amirina, acetato de lupeol, cinamato de lupeol, cicloartenol.	BARRETO et al., 1998; ELIZABETSKY; CASTILHOS, 1990; MESQUITA et al., 2005; MILKEN, 1995; REBOUÇAS et al., 2011; REBOUÇAS et al., 2012; SEQUEIRA et al., 2009; VAN DEN BERG, 1993.
	Casca	Vermífugo, purgativo, antitussígeno, tônico, antissifílico, anti-inflamatório, analgésico, antitumoral, tripanomicida, leishmanicida.	Antimicrobiano contra <i>Bacillus subtilis</i> ; citotóxico (atividade antiproliferativa contra células NCI-H460, HT-29, MCF-7, RXF-393 e OVCAR-3); tripanomicida (<i>Trypanosoma cruzi</i>), leishmanicida (<i>Leishmania donovani</i>).	Saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos. Acetato de lupeol, cinamato de lupeol, estigmasterol, sitosterol, plumericina, ácido 1 β -O- β -D-glucopiranosilplumérico, 1 β -O- β -D-glucopiranosilplumerídeo, isoplumericina, metilmioinositol.	
<i>H. attenuatus</i>	Folha	Vermífugo, purgativo, antitussígeno, antissifílico, anti-inflamatório, analgésico, antitumoral, tripanomicida, leishmanicida.	Antimicrobiano contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>B. subtilis</i> ; tripanomicida (<i>T. cruzi</i>), leishmanicida (<i>L. donovani</i>).	Ácido ursólico.	
	n.r.*	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
	Látex	n.r.	n.r.	Plumierídeo, isoplumierídeo.	FERREIRA et al., 2009.
<i>H. bracteatus</i>	Casca	n.r.	n.r.	Plumierídeo, isoplumierídeo.	
	Folha	n.r.	n.r.	Plumierídeo, isoplumierídeo.	
<i>H. bracteatus</i> var. <i>bracteatus</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>H. bracteatus</i> var. <i>revolutus</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.

Espécie	Parte	Dados etnofarmacológicos	Dados farmacológicos/toxicológicos	Constituintes químicos	Referências
<i>H. drasticus</i>	Látex	Antitumoral, afecções gástricas e intestinais, verminoses, artrites, câncer, febre, menstruação irregular, infertilidade feminina, reumatismo, machucaduras, herpes.	Antitúlcera (indução por etanol e indometacina); imunomodulador; atividade antitumoral em carcinoma de Erlich, sarcoma 180 e carcinosarcoma de Walker 256; cicatrizante, analgésico e anti-inflamatório. Látex 1:1 apresentou efeitos excitatórios e estimulantes na dose de 42 mL/Kg (camundongo Swiss macho) e alterações histopatológicas (fígado, rins e pulmões).	Acetato de lupeol (1); proteínas.	COLARES et al., 2008a,b; FRANÇA et al., 2011; LEITE et al., 2009; LORENZI; MATOS, 2008; LUCETTI et al., 2010; MATOS, 1999; MATOS, 2013; MORAGAS, 2006; MOUSINHO et al., 2011; SOUSA, 2009; SOUSA et al., 2010; SOUZA, 2015.
	Casca	Antitumoral, afecções gástricas e intestinais, verminoses, artrites.	Citotóxico contra <i>Artemia salina</i> ; antinociceptivo.	β -amirina (2); acetato de lupeol, cinamato de lupeol (3), acetato de α -amirina (4), cinamato de α -amirina (5), plumierídeo (6), isoplumierídeo (7), protoplumiericina A (8), cafeoilplumierídeo (9), ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierídeo (10).	
<i>H. fallax</i>	Folha	Anti-herpético, impingens, verrugas; irritação uretral e inflamação uterina.	Antitumoral e baixa toxicidade.	Rutina (11), quercetina (12); β -amirina, acetato e cinamato de lupeol.	
	Raiz	Purgativas e vermífugas.	n.r.	n.r.	
	Casca	n.r.	n.r.	Isoplumiericina, plumiericina, plumierídeo; lignana 7(R)-metoxi-8- <i>epi</i> -matairesinol, matairesinol, pinoresinol.	ABDEL-KADER et al., 1997.

Espécie	Parte	Dados etnofarmacológicos	Dados farmacológicos/toxicológicos	Constituintes químicos	Referências
<i>H. lancifolius</i>	Látex	Doenças da pele, asma, sífilis, estimulante de contrações uterinas, auxiliar da concepção, regulação menstrual, anti-helmíntico e febrífugo; constipação; se utilizada em excesso pode causar cólicas menstruais e afecções gastrintestinais; e em crianças, diarreias e desidratação.	n.r.	n.r.	BAGGIO et al., 2005; BARATTO et al., 2010; CORRÊA, 1984; FRANCA; BROWN; SANTOS, 2000; LIMA et al., 2010; LOPES, 2008; MORAGAS, 2006; NARDIN et al., 2008; NARDIN et al., 2010; PLUMEL, 1990; RATTMANN et al., 2005; SOUZA; STINGHEN; SANTOS, 2004; SOUZA, 2007; SOUZA et al., 2007.
	Casca	Febrífuga, emenagoga, abortiva.	Antioxidante, citostático (células tumorais); antiúlcera, antimicrobiano (<i>S. aureus</i> , incluindo cepas MRSA, <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> ; <i>Acinetobacter baumannii</i> e <i>S. aureus</i> canino), antiespasmódico, gastroprotetor, anti-inflamatório, imunomodulador, anticolinesterásico.	Alcaloides indólicos uleína, ioimbina, epiuleína e demetoxiaspidospermina; plumierídeo.	
	Folha	Galactagoga.	n.r.	n.r.	
	Raiz	Afecções do útero e dos ovários.	n.r.	n.r.	
<i>H. obovatus</i>	Látex	Tratamento de úlceras gástricas	n.r.	n.r.	
	Casca	n.r.	Extrato em acetato de etila não possui ação antifúngica contra <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> ; inibe a replicação <i>in vitro</i> de linfócitos em sangue periférico humano estimulada pela fito-hemaglutinina.	β -amirina, acetato de lupcol, cinamato e acetato de α -amirina; plumierídeo e isoplumierídeo.	LIMA, 2005; MESQUITA et al., 2005; MORAGAS, 2006; PLUMEL, 1990; SOUSA-FACUNDES et al., 2002.

Espécie	Parte	Dados etnofarmacológicos	Dados farmacológicos/toxicológicos	Constituintes químicos	Referências
<i>H. obovatus</i>	Folha	Tratamento de tumores cancerígenos; depurativo, no tratamento de pressão alta, de manchas na pele, espinhas e cocceiras.	Extrato em acetato de etila não possui ação antifúngica contra <i>A. fumigatus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> ; inibe a replicação <i>in vitro</i> de linfócitos em sangue periférico humano estimulada pela fito-hemaglutinina.	Isoquercetina; pinoresinol, isolaricitesinol, hidroxipinoresinol, laricitesinol e olivil; nor-isoprenóides: blumenol C, blumenol A; plumierídeo; acetato de lupeol, acetato de α -amirina e β -amirina, germanicol, estigmasterol, sitosterol, campesterol.	Página anterior.
	Lenho	n.r.	Extrato em acetato de etila não possui ação contra <i>A. fumigatus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> .	n.r.	
<i>H. obovatus</i> var. <i>obovatus</i>	Raiz	Emenagoga, purgativa e febrífuga.	Leishmanicida (<i>L. donovani</i>); extrato em acetato de etila não possui ação contra <i>A. fumigatus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> .	Plumericina, isoplumericina, fulvoplumerina.	
	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>H. obovatus</i> var. <i>velutinus</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
	Látex	Anti-helmíntica, em afecções herpéticas, úlceras, psoríase e verrugas	n.r.	n.r.	CORRÊA, 1984; VANDERLEI; BRITO, 1989; VANDERLEI et al., 1991; VELOSO; NAGEM; OLIVEIRA, 1999.
<i>H. phagedaenicus</i>	Casca	Catártica, depurativa, anti-helmíntica.	Espasmogênico.	Acetato de amirina e lupeol; sitosterol; lactonas iridóides plumericina, alamandina, isoplumericina, glicosídeo plumierídeo; sucrose.	

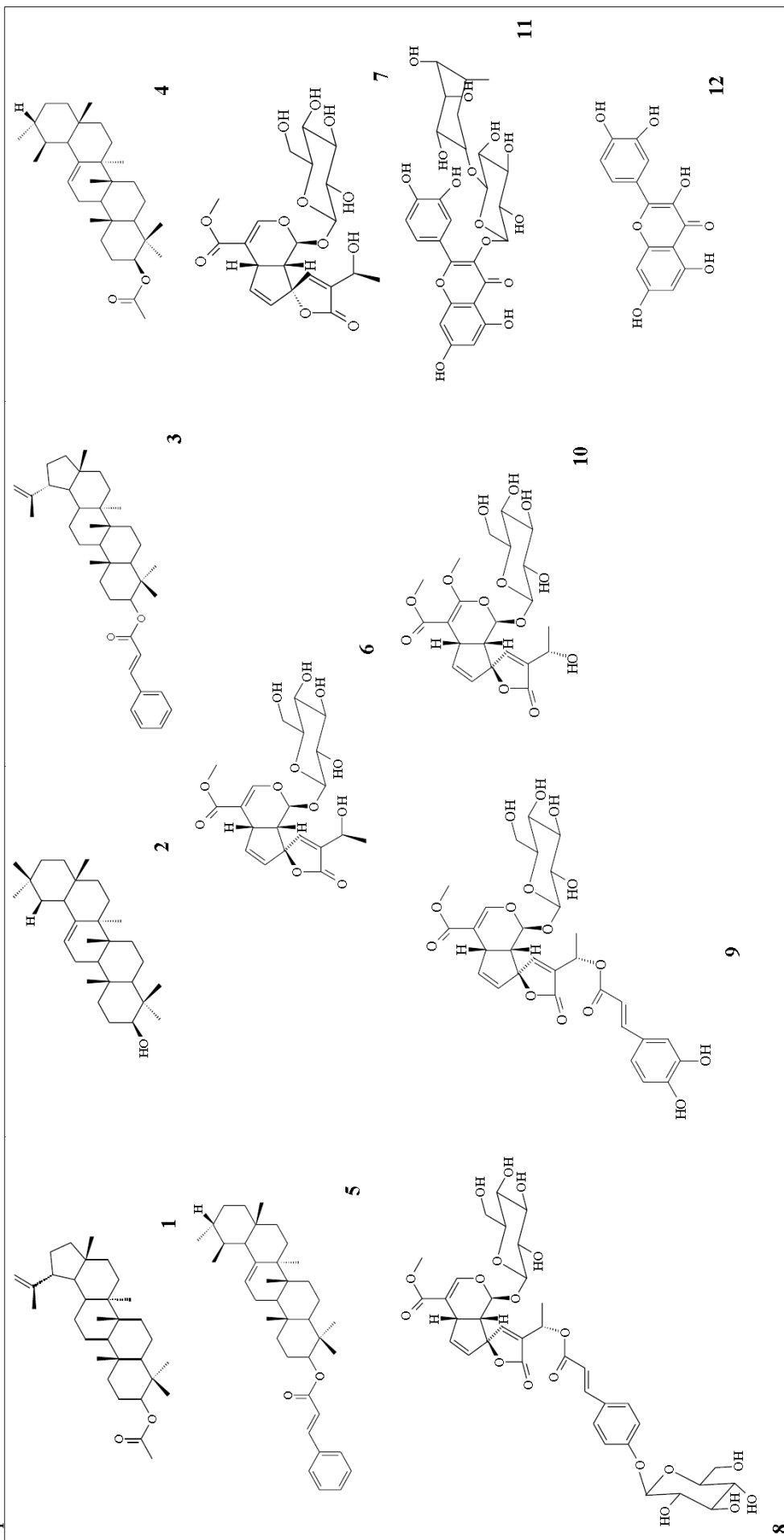
Espécie	Parte	Dados etnofarmacológicos	Dados farmacológicos/toxicológicos	Constituintes químicos	Referências
<i>H. phagedaenicus</i>	Lenho	n.r.	Inibição da diurese induzida por sobrecarga hídrica em ratos, aumento da glicemia em ratos aloxano-diabéticos, aumento da dor induzida por ácido acético em camundongos; ação espasmogênica.	Acetato de α -amirina, acetato de β -amirina, acetato de lupeol, plumericina, alamandina, isoplumericina, cumarato de glicosiloctadecilplumierídeo.	Página anterior.
	Raiz	n.r.	n.r.	Iridoide ácido diidropлумiericínico.	
<i>H. semilunatus</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>H. speciosus</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>H. stenophyllus</i>	Látex	n.r.	n.r.	Plumierídeo, isoplumierídeo.	FERREIRA et al., 2009.
	Casca	n.r.	n.r.	Plumierídeo, isoplumierídeo.	
	Folha	n.r.	n.r.	Plumierídeo, isoplumierídeo.	
<i>H. sucuba</i>	Látex	Anti-helmíntico, afecções da pele, especialmente no alívio a coccírias; anti-tumoral; antifúngico, antianemico, tratamento de gastrites e artrites.	Citotóxico seletivo; antimicrobiano; analgésico e anti-inflamatório; potente leishmanicida contra formas amastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> ; imunoregulador.	<i>cis</i> -poli-isopreno; Na, Al, K, Mn, Fe, Sr, Ca (354 $\mu\text{g/g}$) e Mg (250 $\mu\text{g/g}$); xilose, arabinose, glicose; ácido gálico, flavonoides miricetina, quercetina; fulvoplumierina, plumericina, isoplumericina, plumierídeo, isoplumierídeo, cinamato de α e β -amirina, cinamato e acetato de lupeol, ácido 15-desmetilplumierídeo, 15-desmetilplumierídeo.	AMARAL et al., 2007; BARRETO et al., 2007; CASTILHO et al., 2007; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; ENDO et al., 1994; FERNANDES et al., 2000; GRAEBNER, 2003; LARROSA; DUARTE, 2005; MIRANDA et al., 2000; MORAGAS, 2006; MOREL et al., 2006; PERDUE; BLOMSTER, 1978;

Espécie	Parte	Dados etnofarmacológicos	Dados farmacológicos/toxicológicos	Constituintes químicos	Referências
<i>H. sucuba</i>	Casca	Cicatrização de feridas, antitumoral, antiartrítico, vermífugo, laxativo e alucinógeno; antiulcerogênico, afrodisíaco; analgésico, antitussígeno; tratamento de furúnculos, edemas.	Antimicrobiano, citotóxico, analgésico, anti-inflamatório; inibidor seletivo da enzima monoaminaoxidase B; cicatrizante, antibacteriano contra <i>Clostridium histolyticum</i> e <i>Bacteroides fragilis</i> ; baixa toxicidade reprodutiva e teratogênica em ratas; imunoregulador; ação sobre a pressão sanguínea; musculatura lisa; permeabilidade capilar; antitumoral em diferentes linhagens celulares.	Plumeridoide C; alamandina, fulvoplumerina, isoplumericina, plumericina, plumierídeo, isoplumerídeo, ácido 15-desmetilisoplumerídeo; depsídeos ácido conflúente e ácido-2'-O-metilperlatólico; ácido vanílico, ácido p-cumárico e ácido p-hidroxibenzóico; lupeol β -fenil-propionato, cinamato de α e β -amirina, cinamato e acetato de lupeol.	REBOUÇAS et al., 2012; SILVA et al., 1998; SILVA et al., 2003; SILVA et al., 2010; SOARES et al., 2010; VAN DEN BERG, 1993; VILLEGAS et al., 1997; WALTENBERGER et al., 2011; WOOD et al., 2001.
	Folha	Constipação intestinal, antitumoral, antifúngico, antianêmico, vermífugo e no tratamento de gastrites e artrites.	Citotóxico; analgésico discreto no teste de contrações abdominais.	n.r.	
<i>H. sucuba</i>	Raiz	n.r.	Antimicrobiano	n.r.	n.r.
<i>H. tarapotensis</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.

*n.r.: não reportado na literatura consultada.

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 8 – Constituintes químicos do látex, cascas caule e folhas de *H. drasticus*. 1: acetato de lupeol; 2: β -amirina; 3: cinamato de lupeol; 4: acetato de α -amirina; 5: cinamato de α -amirina; 6: plumierideo; 7: isoplumierideo; 8: protoplumiericina A; 9: ácido-3-metoxi-3,4-diidroplumierideo; 11: rutina; 12: quercetina



8 Fonte: elaborada pela autora.

Das treze espécies de *Himatant*, quatro não têm nenhum registro relativo à composição química e às propriedades medicinais: *H. attenuatus*, *H. semilunatus*, *H. speciosus* e *H. tarapotensis*.

As espécies *H. bracteatus*, *H. fallax* e *H. stenophyllus* possuem apenas estudos de composição química, sendo comum a presença do iridoide plumierídeo nas cascas do caule destas espécies (ABDEL-KADER et al., 1997; FERREIRA et al., 2009). Esta substância, a plumericina e a isoplumericina são de uma forma geral encontradas nas cascas do caule, látex, folhas e/ou raízes das espécies de *Himatanthus* (VANDERLEI et al., 1991; ABDEL-KADER et al., 1997; BARRETO et al., 1998; LIMA, 2005; AMARAL et al., 2007; FERREIRA et al., 2009; BARATTO, 2010). Alguns estudos revelaram que o plumierídeo exibe efeitos antimicrobiano (TIWARI; PANDEY; DUBEY, 2002; TUNDIS et al., 2008), antioxidante (SINGH et al., 2014), citotóxico e capacidade de interromper a espermatogênese em ratos sem efeitos colaterais notáveis (REBOUÇAS et al., 2011); e a plumericina e isoplumericina apresentam ações leishmanicida (SHARMA et al., 2011) e antimicrobiana contra *Mycobacterium tuberculosis* (KUMAR et al., 2013).

As espécies *H. articulatus*, *H. drasticus*, *H. lancifolius*, *H. obovatus*, *H. phagedaenicus* e *H. sucuuba* apresentaram estudos químicos e biológicos, e, em geral, as cascas do caule são as mais estudadas, seguidas pelas folhas.

Embora seja relatada a presença de alcalóides nas cascas de *H. articulatus* (BARRETO et al., 1998), estes foram isolados e identificados somente nas cascas de *H. lancifolius* (LOPES, 2008; FRANCA; BROWN; SANTOS, 2000). Estes alcaloides são indólicos e possuem atividades antimicrobiana (SOUZA; STINGHN; SANTOS, 2004), gastroprotetora (BAGGIO et al., 2005), anti-inflamatória, antioxidante e citotóxica contra células tumorais (RATTMANN et al., 2005; SOUZA, 2007; SOUZA et al., 2007). No entanto, não há dados para uso etnofarmacológico da planta como um antitumoral (CORRÊA, 1984; BARATTO, 2010; SOUZA, 2007).

O látex de *H. articulatus* é usado popularmente como antifúngico e antitumoral, efeitos comprovados por estudos biológicos (SEQUEIRA et al., 2009). Suas cascas apresentaram efeitos citotóxicos, tripanocida e leishmanicida, também relatados na medicina popular (BARRETO et al., 1998; REBOUÇAS et al., 2011; MESQUITA et al., 2005; REBOUÇAS et al., 2012). A atividade leishmanicida também foi determinada nas folhas de *H. articulatus*, raízes de *H. obovatus* e látex de *H. sucuuba* (LIMA, 2005; SEQUEIRA et al., 2009; CASTILLO et al., 2007).

O látex de *H. drasticus* apresentou efeitos antiulcerogênico, antitumoral, analgésico, cicatrizante e anti-inflamatório, o que de alguma forma justifica seus usos populares no tratamento de câncer, distúrbios gástricos, reumatismo e contusões (MATOS, 1999; MORAGAS, 2006; COLARES et al., 2008a, b; LEITE et al., 2009; SOUSA, 2009; LUCETTI et al., 2010; SOUSA et al., 2010; FRANÇA et al., 2011; MOUSINHO et al., 2011; SOUZA, 2015). Em relação à toxicidade, Sousa (2009), empregando o látex 1:1 (v/v) em soro fisiológico, avaliou a toxicidade aguda pelo método OECD 423 (*Organization for Economic Cooperation and Development*) em camundongos Swiss machos (*Mus musculus*). As doses de 14 e 28 mL/Kg não apresentaram alteração comportamental durante os primeiros 30 minutos e ao final dos 14 dias. Na dose de 42 mL/Kg, inicialmente, os animais apresentaram reações excitatórias e estimulantes (piloereção, aumento da frequência respiratória, irritabilidade, reação de fuga) e depois, surgiram sinais depressores, possivelmente resultantes de uma fadiga neuronal. Observou-se um aumento da excreção fecal com perda de peso até o quinto dia do experimento, logo após, os animais voltaram a ganhar peso. No final dos 14 dias não houve registro de óbito e nem mudanças comportamentais; porém, ocorreram alterações histopatológicas no fígado (processo inflamatório crônico), rins (glomerulonefrite proliferativa, congestão renal) e pulmões (pneumonia intersticial crônica). Matos (2013) avaliou a toxicidade aguda por via oral do látex e de uma fração protéica obtida do mesmo e demonstrou ausência de efeitos tóxicos mesmo utilizando doses 5000 vezes maiores que as recomendadas.

H. sucuuba é a espécie mais estudada, com registros da composição química do látex, cascas, folhas, raízes e sementes, sendo comum a presença de triterpeno cinamato de amirina (SILVA et al., 1998; MIRANDA et al., 2000; WOOD et al., 2001; GRAEBNER, 2003; AMARAL et al., 2007). O látex, cascas e folhas possuem ação antitumoral, o que justifica a utilização popular para a mesma finalidade (VILLEGAS et al., 1997; MIRANDA et al., 2000; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; GRAEBNER, 2003; LARROSA; DUARTE, 2005; AMARAL et al., 2007; SILVA et al., 2010). O látex e casca do caule mostraram efeitos anti-inflamatório e analgésico, os quais justificam alguns usos populares da planta como tratamento de artrite, de furúnculos e edema (VILLEGAS et al., 1997; DI STASI; MIRANDA et al., 2000; HIRUMA-LIMA, 2002; GRAEBNER, 2003; LARROSA; DUARTE, 2005; AMARAL et al., 2007).

Os estudos biológicos com as raízes de *H. obovatus* (MESQUITA et al., 2005) não possuem relação com a informação etnofarmacológica da planta (LIMA, 2005). No entanto, o

uso popular das folhas como antitumoral (LIMA, 2005) pode ser justificado pela presença de iridoides (REBOUÇAS et al., 2011) e ésteres triterpênicos (AKIHISA et al., 2010).

Os triterpenos são considerados medicamentos promissores devido às suas diversas atividades farmacológicas. Estudos realizados com α - e β -amirina revelaram atividades antimicrobiana (RIVERO-CRUZ et al., 2009; EL-HAGRASSI et al., 2011; JABEEN et al., 2011), anti-inflamatória (HOLANDA-PINTO et al., 2008; VITOR et al., 2009; MELO et al., 2010; BULANI et al., 2011), anticancerígena (LASZCZYK, 2009; LIN et al., 2011), inibidora da agregação plaquetária (CHING et al., 2010), gastroprotetora, antipruriginosa, hepatoprotetora (VÁZQUEZ; PALAZON; NAVARRO-OCANÃ, 2012), sedativa, antidepressiva (ARAGÃO, 2008) e hipoglicemiante (FROTA, 2011). Especificamente o acetato de β -amirina apresentou efeitos antidislipidêmico (MAURYA et al., 2012), antioxidante e citotóxico (FABIYI et al., 2012), e o acetato de α -amirina, ação larvívica contra vetor da malária *Anopheles stephensi* (KUPPUSAMY et al., 2009). O lupeol apresentou atividades antimicrobiana (AHMED et al., 2007; SHAI et al., 2008; SALEEM; SIDDIQUE, 2011), tripanocida, leishmanicida (ZIEGLER; STAALS; JAROSZEWSKI, 2006; RODRIGUES; SOUZA, 2008); antidiabética (ALI; HOUGHTON; SOUMYANATH, 2006; NA et al., 2009), cardioprotetora (SUDHAHAR et al., 2007), anti-inflamatória (NGUEMFO et al., 2009; SALEEM, 2009), protetora da pele (HARISH et al., 2008), hepatoprotetora (PRASAD; KALRA; SHUKLA, 2007), nefroprotetora (VIDYA; LENIN; VARALAKSHMI, 2002) e antitumoral (CMOCH et al., 2008; SALEEM et al., 2008; LASZCZYK, 2009; MURTAZA et al., 2009; SALEEM et al., 2009; ZHANG et al., 2009). O acetato de lupeol apresentou efeitos anti-inflamatório, antinociceptivo (LUCETTI et al., 2010; CHEN et al., 2012), hipoglicemiante (RAGASA et al., 2013) e neutralizante dos venenos das cobras *Daboia russellii* e *Naja kaouthia* (CHATTERJEE; CHAKRAVARTY; GOMES, 2006). Estudos realizados por Akihisa et al. (2010) mostraram que os ésteres triterpênicos de acetato e cinamato de lupeol e amirinas apresentam ação antitumoral, bem como atividade anti-inflamatória.

Os triterpenos com esqueleto lupano e oleanano e iridoides, provavelmente, são os principais responsáveis pelas propriedades medicinais relatadas na medicina popular e estudos biológicos, podendo ser considerados marcadores quimiosistemáticos.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Estudo etnobotânico e etnofarmacológico de *Himatanthus drasticus* no Ceará

4.2 Caracterização físico-química e microbiológica do látex de *Himatanthus drasticus*

4.3 Estudo químico preliminar

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

4.5 Isolamento, identificação e quantificação de metabólitos secundários

4.6 Avaliação da qualidade de amostras comerciais de leite de janaguba

**4.1 ESTUDO ETNOBOTÂNICO E
ETNOFARMACOLÓGICO DE
JANAGUBA
(*Himatanthus drasticus*)
NO CEARÁ**

4.1 Estudo etnobotânico e etnofarmacológico de janaguba (*Himatanthus drasticus*) no Ceará

4.1.1 Considerações gerais sobre etnobotânica e etnofarmacologia

O resgate dos conhecimentos sobre plantas medicinais é feito através dos levantamentos etnobotânicos e etnofarmacológicos (ELISABETSKY, 2001). Segundo Beck e Ortiz (1997), a etnobotânica compreende o estudo das sociedades humanas, passadas e presentes, e suas interações ecológicas, genéticas, evolutivas, simbólicas e culturais com as plantas. Vem defender a manutenção de espécies vegetais, como também, a perpetuação da cultura humana integrada a estes cultivos e recursos. As pesquisas nesta área tendem a facilitar o modo correto de manejo da vegetação com finalidade utilitária, pois empregam os conhecimentos tradicionais obtidos para solucionar problemas de saúde ou para fins conservacionistas.

De acordo com Di Stasi et al. (2002), as pesquisas etnofarmacológicas possuem importantes ferramentas de registros e documentações dos usos empíricos de plantas medicinais em comunidades tradicionais, tendo a finalidade de gerar o conhecimento útil para levar ao desenvolvimento de novos medicamentos, da conservação da biodiversidade e a valorização do saber e da cultura local. A abordagem etnofarmacológica na investigação de plantas medicinais consiste em combinar informações adquiridas junto a usuários da flora medicinal, com estudos químicos e farmacológicos existentes na literatura. Tal fato permite a formulação de hipóteses quanto à(s) atividade(s) farmacológica(s) e à(s) substância(s) ativa(s) responsável (eis) pelas ações terapêuticas relatadas (ELISABETSKY, 2003).

A etnobotânica e a etnofarmacologia têm demonstrado ser poderosas ferramentas na busca por substâncias naturais de ação terapêutica (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006), onde estudos comparativos entre o método etnodirigido e o randômico tem revelado a superioridade do primeiro em relação ao segundo (SLISH et al., 1999; KHAFAGI; DEWEDAR, 2000; OLIVEIRA et al., 2011). Oliveira et al. (2011), por exemplo, em trabalho sobre seleção de métodos de abordagem (etnofarmacológica *versus* randômica) para avaliação de atividade antimicrobiana de plantas, obtiveram os melhores resultados para a referida atividade com a abordagem etnofarmacológica (50%), contra 16,7%, para a abordagem randômica.

O estudo de plantas medicinais, a partir de seu emprego pelas comunidades, pode fornecer informações úteis para a elaboração de estudos farmacológicos, fitoquímicos e agrônômicos sobre estas plantas, com grande economia de tempo e dinheiro. Desta forma, pode-se planejar a pesquisa a partir de conhecimento empírico já existente, muitas vezes consagrado pelo uso contínuo, que deverá ser testado em bases científicas (SIMÕES et al., 2001).

Os raizeiros têm um importante papel na divulgação e manutenção da medicina popular, através da comercialização de plantas medicinais e a orientação de como utilizá-las. Comercializam plantas medicinais e preparados líquidos denominados “garrafadas” e “leites”, orientando como usá-las e prepará-las para curar as mais diversas doenças, apesar de não terem, em geral, um conhecimento profundo sobre os verdadeiros usos dos vegetais que comercializam, seus efeitos adversos e interações medicamentosas (DOURADO; DOCA; ARAUJO, 2005). Assim, levantamentos etnobotânico e etnofarmacológico são necessários, pois permitem a realização de estudos comparativos entre os dados coletados e dados científicos, para uma posterior devolução à comunidade de informações para um uso seguro e racional de plantas medicinais (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

4.1.2 Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido baseado em orientações sobre pesquisa etnodirigida descritas por Albuquerque e Hanazaki (2006). O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Fortaleza sob o parecer de número 355.532 (ANEXO A).

4.1.2.1 Local de estudo

A pesquisa foi realizada em três mercados do estado do Ceará: Mercado Público Municipal do Crato; Mercado Público do Município de Pacajus e Mercado São Sebastião do Município de Fortaleza. Os mercados de Fortaleza e Pacajus foram selecionados por serem de fácil acesso aos pesquisadores do presente trabalho, bem como por possuírem raizeiros que comercializam janaguba; e o mercado de Crato, porque a referida cidade é conhecida como produtora de leite de janaguba (NERES, 1990).

4.1.2.2 Caracterização do local de estudo

O Mercado São Sebastião localiza-se no Centro de Fortaleza, onde há maior concentração de raizeiros que comercializam janaguba. O município de Fortaleza, capital do estado, possui uma população de 2.447.409 habitantes (BRASIL, 2010a). O município de Pacajus, por sua vez, faz parte da região metropolitana de Fortaleza, com distância de 51,1 km para a capital e com uma população de 61.838 habitantes (BRASIL, 2010a). O município de Crato fica no interior do estado, no sopé da Chapada do Araripe no extremo-sul do estado, microrregião do Cariri, com distância de 567 km de Fortaleza e população de 121.428 habitantes (BRASIL, 2010a).

4.1.2.3 População do estudo

A amostra foi constituída por 21 (vinte e um) raizeiros que se dispuseram a participar do estudo. A Tabela 1 apresenta a distribuição do número de raizeiros por mercados e respectivos municípios.

Tabela 1 – Distribuição do número de raizeiros entrevistados por mercados e respectivos municípios cearenses

Município	Mercado	Nº de raizeiros
Crato	Mercado Público Municipal	09
Fortaleza	Mercado São Sebastião	11
Pacajus	Mercado Público	01

Fonte: elaborada pela autora.

Foram incluídos no estudo os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO B), segundo determinações da Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

4.1.2.4 Coleta de dados

Os dados foram obtidos através de entrevista semiestruturada guiada por um questionário com 20 (vinte) questões (APÊNDICE A), abordando os seguintes aspectos:

- Perfil social dos informantes: gênero, idade, estado civil, tempo de profissão e escolaridade;

- Aspectos etnobotânicos: fonte do conhecimento, locais de obtenção e partes utilizadas da planta;
- Aspectos etnofarmacológicos: indicação terapêutica, posologia e toxicidade.

O questionário foi aplicado em Fortaleza e Pacajus (CE) no período de agosto de 2013 e em Crato (CE), no período de setembro de 2013.

Adicionalmente foi realizado um levantamento no banco de dados do Herbário Prisco Bezerra da UFC sobre os registros de *H. drasticus*, com o objetivo de observar a ocorrência da espécie no Ceará.

4.1.2.5 Processamento e análises dos dados

Os resultados dos questionários foram devidamente processados e interpretados, utilizando-se o programa Microsoft Office Excel 2007[®]. As indicações populares foram classificadas por categorias de doenças proposta pela Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, 10^a Revisão (CID 10) (BRASIL, 2008).

Foi montado um banco de dados sobre as informações descritivas obtidas nas entrevistas para estabelecer a comparação entre as referidas informações e a literatura científica. As referências bibliográficas consultadas foram obtidas das bases de dados do Portal Periódicos Capes e de livros sobre plantas medicinais.

Os dados foram agrupados em tabelas, cuja frequência foi demonstrada em valores unitários e/ou percentuais.

4.1.3 Resultados e discussões

4.1.3.1 Perfil social dos informantes

Dos 21 raizeiros que responderam ao questionário, 71,4% são do gênero masculino. A idade variou entre 20 a 72 anos, sendo 61,9% com idade superior a 40 anos. Com relação ao estado civil, predominaram os casados (85,7%). Quanto à escolaridade, 42,9% não são alfabetizados; e 85,7% dos entrevistados já trabalham no ramo há mais de 10 anos, o que representa um fator positivo quanto à experiência com plantas medicinais. Esses dados estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2 – Perfil social dos raizeiros que comercializam *H. drasticus* nos mercados cearenses de Pacajus, Crato e mercado São Sebastião de Fortaleza (período: agosto a setembro de 2013)

Características	Categorias	Nº
Gênero	Feminino	06
	Masculino	15
Faixa etária	20-39 anos	08
	40-59 anos	10
	60-72 anos	03
Escolaridade	Não alfabetizado	09
	Ensino fundamental incompleto	04
	Ensino fundamental completo	03
	Ensino médio completo	05
Nupcialidade	Casados	18
	Não casados	03
Tempo de serviço (anos)	01-09	03
	10-19	08
	20-29	05
	30-39	05

Fonte: elaborada pela autora.

Percebeu-se então que a população predominante foi de homens com mais de 40 anos, casados e com pouca escolaridade. O mesmo perfil social foi observado em trabalho realizado por Linhares e Pinheiro (2013) na caracterização do sistema de extração de látex de *H. drasticus* e *H. obovatus*, no município de Alcântara, Maranhão.

4.1.3.2 Aspectos etnobotânicos

Com relação à origem dos conhecimentos sobre *H. drasticus*, 90,5% dos entrevistados os adquiriram com seus pais ou familiares, o restante através de livros e televisão. Em um estudo de caso realizado por Baldauf e Santos (2013) na FLONA Araripe foram observados como formas de transmissão de conhecimento associados à *H. drasticus*, a transmissão de pais para filhos, e entre indivíduos da mesma geração; assim, este tipo de transmissão constitui a principal forma de repasse de informações sobre a referida espécie.

A parte comercializada é o látex, sendo o mesmo diluído em água e acondicionado em garrafas de vidro transparente com vedações de plástico ou cortiça. No comércio esta preparação é conhecida como leite de janaguba.

A maioria dos entrevistados não produzem as garrafas de látex de *H. drasticus* (90,5%), adquirindo-as de outras cidades cearenses (Quixadá, Juazeiro do Norte e Cascavel) (Figura 9), mas principalmente da cidade do Crato. Somente um raizeiro do Crato e outro de Pacajus realizam a extração do látex da planta, o qual informou: “(...) já extraio o leite da janaguba há 15 anos, só tiro pela manhã cedinho, tiro a casca com uma faca com cuidado para não matar a planta, passo uma esponja na planta onde está o leite e espremo a esponja em um

balde de plástico com água e deixo em repouso, depois coloco em uma garrafa de vidro, e é usada para câncer, gastrite, úlcera e inflamação”.

Figura 9 – Mapa do estado do Ceará com a localização das cidades onde foi realizada a pesquisa junto aos raizeiros e locais de fornecimento do leite de janaguba para o comércio



Fonte: elaborada pela autora a partir de mapa do Ceará disponível em defensoriaacidadania.blogspot.com.

Matos e Lorenzi (2008) descrevem a obtenção do látex também de forma artesanal, onde é retirada uma parte da casca do tronco, numa faixa de 10 x 30 cm, retirando-se o látex com auxílio de uma colher e água. A operação está concluída quando a mistura “leite” e água, colocada em uma garrafa plástica de um litro, deixa sedimentar um depósito esbranquiçado com cerca de um quarto ou um terço da garrafa cheia, com um sobrenadante levemente róseo.

Baldauf e Santos (2013) realizaram uma caracterização etnobotânica dos sistemas de manejo de látex de *H. drasticus* e identificaram três sistemas de manejo empregados para coleta do látex: realização de vários cortes na casca, semelhante à do processo usado para obter

o látex das seringueiras, com baixa exsudação de látex; remoção de maiores quantidades de casca, com intervalos de tempo mais curtos entre colheitas; e remoção de quantidades menores de casca de cada árvore e com intervalos mais longos entre colheitas. Segundo os autores, estes sistemas de manejo podem ter impactos ecológicos distintos sobre as populações exploradas, uma vez que se diferenciam em função da quantidade de casca retirada e intervalos entre explorações; e a caracterização do conhecimento etnobotânico relacionada com a gestão dos sistemas de manejo representa um passo fundamental para a elaboração de estratégias de sustentabilidade para qualquer espécie de planta (BALDAUF; SANTOS, 2013).

O Quadro 3 expõe os resultados do levantamento das espécies de *H. drasticus* registradas no Herbário Prisco Bezerra da UFC. Verificou-se que a maior parte dos registros é de espécimes coletados na chapada do Araripe, Crato, coincidindo com as informações dos raizeiros quando relatam que o látex é proveniente principalmente desta cidade.

Quadro 3 – Levantamento das ocorrências de *H. drasticus* no Ceará conforme registros do Herbário Prisco Bezerra, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará

Cidade	Localidade	Exsicata/ ano de coleta
Aquiraz	Serrote da Preaoca	35.526/ 2004
	Lagoa do Catu, Iguape	47.047/ 2010
	Vila dos Martins	54.618/ 2012
Aracati	CE-040	52.584/ 2012
Barbalha	FLONA Araripe	32.736/ 2000
		32.744/ 2000
Barroquinha	Estrada de Camocim-Chaval	3.488/ 1977
Cascavel	Tijuçu	16.377/ 1988
	Camurim, Caponga	15.964/ 1990
	Estrada da Caponga	21.920/ 1992
	Cidade dos Funcionários	20.759/ 1993
Crato	Chapada do Araripe/ FLONA Araripe	3.046/ 1976
		4.232/ 1978
		5.187/ 1978
		9.613/ 1980
		13.065/ 1983
		20.424/ 1993
		21.741/ 1993
		43.009/ 1999
		43.010/ 1999
		32.411/ 2001
31.685/ 2002		
32.394/ 2002		
Fortaleza	Casa José de Alencar, Messejana	26.180/ 1998
		16.935/ 1990
		18.354/ 1990
Fortaleza	Cidade dos Funcionários	14.753/ 1986
		20.749/ 1993
		40.408/ 2007
Fortaleza	Bairro Edson Queiroz	-
		43.495/ 2008
Guaraciaba	Serra da Ibiapaba	6.512/ 1990
Horizonte	Barra	33.773/ 2004
	Estrada da Coluna, Cascavel	43.878/ 2008
Icapuí	Aracati	11.999/ 1983
Nova Olinda	Estrada Nova Olinda	25.064/ 1996
Paracuru	-	51.676/ 2012
São Gonçalo do Amarante	do Pecém	41.493/ 2007
		41.494/ 2007
		44.620/ 2008
Viçosa do Ceará	Chapada de Ibiapaba	14.914/ 1987

Fonte: elaborado pela autora.

No referido banco de dados, há alguns registros de espécimes coletados em outros estados, como Piauí (5), Maranhão (5), Rio Grande do Norte (2) e Bahia (1).

4.1.3.3 Aspectos etnofarmacológicos

O látex de *H. drasticus* é utilizado pela grande maioria da população através de informações populares para fins curativos, preventivos e/ou paliativo. A Tabela 3 apresenta as

diferentes posologias do látex de *H. drasticus*, com respectivos períodos de tratamentos, conforme relatados pelos entrevistados.

Tabela 3 – Posologias e períodos de tratamento com látex de *H. drasticus*, tal como expressas pelos entrevistados

Posologia diária	Período	Nº de raizeiros
1 copinho de café, 2x	3 Meses	1
2 copinhos de café diluído, 2x	Até melhorar	1
1 colher de sopa, 2x	Até melhorar	2
1 colher de sopa, 2x	1 Semana	1
1 colher de sopa, 2x	15 Dias	1
1 colher de sopa, 3x	Até melhorar	2
2 colheres de sopa, 2x	2 Meses	1
2 colheres de sopa, 3x	1 Mês	2
3 colheres de sopa, 3x	2 Meses	1
6 colheres de sopa, 1x	1 Ano	1
6 colheres de sopa, 3x	1 Mês	1
8 colheres de sopa, 2x	1 Mes	1
8 colheres de sopa, 3x	3 Meses	2
8 colheres de sopa	1 Mês	1
1 xícara de chá	1 Mês	1
1 xícara de chá	3 Meses	2

Fonte: elaborada pela autora.

Observou-se que a população faz o uso de forma bastante diversificada, variando entre uma colher de sopa duas vezes ao dia até melhora dos sintomas, e uma xícara de chá por dia durante três meses. O médico José Ulisses Peixoto, em seu projeto de desenvolvimento e expansão da pesquisa sobre a aplicação da seiva da planta nativa janaguba no tratamento do câncer (ANEXO C) junto ao CENDEP (Centro de Documentos, Estudos e Pesquisas, Crato, CE), recomendava seis colheres de sopa por dia, distribuídas em três tomadas antes das principais refeições durante um ano. O documento encontra-se disponível no acervo do Espaço Francisco José de Abreu Matos, do Horto de Planta Mediciniais da UFC. Na literatura há relato apenas sobre a forma de uso do látex de *H. sucuuba*: emprego de três colheres de sopa, três vezes por dia, antes das refeições (AMARAL et al., 2007).

Noventa e cinco vírgula dois por cento (95,2%) dos raizeiros afirmaram haver eficácia no uso de *H. drasticus* através de informações de usuários. O látex é utilizado no tratamento de diversas doenças, desde *Pitiríase versicolor* (conhecido popularmente como pano branco) até câncer. A Tabela 4 expressa as indicações do látex de *H. drasticus* e respectivos percentuais de citação e classificação CID 10. As três indicações principais foram: tratamento

de úlcera gástrica (85,7%), de inflamação (aparelho geniturinário, digestivo e resultante de infecções em geral) (66,7%) e câncer (66,7%). A literatura já mencionava o uso popular para o tratamento do câncer e úlceras gástricas, porém, o uso contra vermes intestinais, febre, menstruações irregulares e infertilidade feminina (LORENZI; MATOS, 2008; LUCETTI et al., 2010; MOUSINHO et al., 2011) não foi relatado por nenhum dos entrevistados.

Tabela 4 – Indicações terapêuticas do látex de *H. drasticus* e respectivos percentuais de citação e classificação CID 10

Indicações específicas*	Percentual de citação (%)	Cid 10
Úlcera	85,7	XI
Inflamação	66,7	I; XIV; XI
Câncer	66,7	II
Diabetes	42,9	I
Gastrite	14,3	XI
Reumatismo	9,5	XIII
Hemorroida	9,5	IX
Disfunção erétil	9,5	IX
Mioma	4,8	II
Pano branco	4,8	I; XII
Vesícula	4,8	XI

* Indicações específicas tal como expressas pelos entrevistados.

Fonte: elaborada pela autora.

Apenas um raizeiro relatou que o uso do látex de *H. drasticus* apresenta efeitos indesejáveis, sendo o mais comum o vômito; e que em paciente com câncer em estado avançado, além de vômito, apresentam dores de cabeça. Este efeito difere do mencionado para o uso em excesso do látex de *H. lancifolius*, que causa cólicas menstruais e afecções gastrintestinais; e em crianças, diarreias e desidratação (BARATTO, 2010).

Em levantamento sobre usos populares do látex de outras espécies do gênero *Himatanthus*, observou-se que, de uma forma geral, os usos mais comuns são como anti-inflamatório, antitumoral, antiúlcera gástrica e afecções de pele (Quadro 4), como relatados para *H. drasticus*.

Quadro 4 – Usos populares do látex de outras espécies de *Himatanthus*

Espécie*	Usos populares	Referências
<i>H. articulatus</i>	Antiúlcera, anti-inflamatório, antitumoral, antifúngico, antibacteriano, analgésico, antissifílico, antimalárico, tônico, afrodisíaco	SEQUEIRA et al., 2009; MILLIKEN, 1995; REBOUÇAS et al., 2011
<i>H. lancifolius</i>	Doenças da pele (podendo-se incluir o pano branco), asma, antissifílico, estimulante de contrações uterinas, auxiliar da concepção, regulação menstrual, anti-helmíntico, febrífugo, laxativo	BARATTO, 2010
<i>H. obovatus</i>	Ação antiúlcera	LIMA, 2005; MORAGAS, 2006
<i>H. phagedaenicus</i>	Ação anti-helmíntica, em afecções herpéticas, úlceras, psoríase e verrugas	CORRÊA, 1984
<i>H. sucubba</i>	Ação antitumoral, tratamento de gastrites e artrites, afecções da pele, anti-helmíntica, especialmente no alívio a coceiras, antifúngico e antianêmico	AMARAL et al., 2007

*Não foram encontradas informações sobre o uso popular do látex das demais espécies do gênero.

Fonte: elaborado pela autora.

Os raizeiros informaram que, no tratamento da úlcera gástrica com o látex de *H. drasticus*, há melhora dos sintomas (100%) e cura (90,5%). Segundo Colares et al. (2008a), o látex previne a lesão gástrica causada por etanol e indometacina nos modelos experimentais mais comuns para avaliação da atividade antiulcerogênica.

Com relação ao emprego como anti-inflamatório, Lucetti et al. (2010) avaliaram a ação anti-inflamatória de uma fração orgânica obtida do látex de *H. drasticus* e concluíram que o referido efeito provavelmente envolve o sistema opioide, pois a fração teve sua ação completamente inibida pela naloxona (antagonista opioide). A participação do sistema opioide na ação da referida fração foi ainda confirmada pelo teste da placa quente, onde o seu efeito antinociceptivo foi, como no caso da morfina, também inibido pela naloxona (LUCETTI et al., 2010).

H. drasticus tem uma longa história de emprego popular na cura do câncer no Nordeste brasileiro. A seguir, algumas transcrições de relatos dos raizeiros sobre a eficácia do látex contra o câncer: “A esposa do meu tio e uma prima minha foram curadas com o uso do látex da janaguba (...), a esposa era portadora de CA no fígado e a minha prima, de leucemia” (raizeiro A); “Uma médica tinha três meses de vida e hoje tem cinco anos de cura” (raizeiro B); “Conheço uma pessoa que tinha câncer na mama e ela se curou com dois litros do látex da janaguba” (raizeiro C); “A pessoa se curou com cinco litros tomado” (raizeiro D). Estudo realizado por Mousinho et al. (2011) avaliou a atividade antitumoral das proteínas do látex usando dois modelos experimentais, Sarcoma 180 e carcinosarcoma de Walker 256, e demonstrou haver ação anticancerígena que pode estar associada com as propriedades imunostimulantes do látex.

Não foram encontrados na literatura estudos farmacológicos referentes ao emprego do látex da planta e demais espécies do gênero *Himatanthus* no tratamento de doenças endócrinas, do sistema circulatório e osteomuscular.

4.2 CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DO
LÁTEX DE
Himatanthus drasticus

4.2 Características físico-químicas e microbiológicas do látex de *Himatanthus drasticus*

4.2.1 Material vegetal

4.2.1.1 Local de coleta

Amostras de látex de *H. drasticus* foram coletadas na FLONA Araripe por um extrativista florestal cadastrado pelo IBAMA.

4.2.1.1.1 Considerações sobre a FLONA Araripe

A Floresta Nacional do Araripe, FLONA Araripe (Figura 10), criada em 2 de maio de 1946, constitui a primeira unidade de conservação de sua categoria estabelecida no Brasil, cuja estratégia é conservar os recursos florestais para manter as nascentes d'água que irrigam os vales. O nome Araripe, “rio das araras”, foi dado pelos índios tupis, embora os habitantes daquela região fossem os índios da nação Cariri (MMA, 2014a).

Figura 10 – Vista aérea da FLONA Araripe



Fonte: <http://www.icmbio.gov.br>.

É um dos últimos redutos da Mata Atlântica, ocupando uma extensa área que atravessa a fronteira do Ceará com Pernambuco, abrangendo um total de 39.262,326 hectares (IBAMA, 2009; MMA, 2014b) (Figura 11).

Figura 11 – Mapa com os limites da FLONA Araripe



Fonte: <http://www.revistas.una.ac.cr>.

A vegetação predominante é de cerradão, existindo faixas de transição que apresentam traços de Mata Atlântica, cerrado e caatinga. Classifica-se nas seguintes tipologias:

- Floresta úmida semi-perenifólia – constituída por vegetação lenhosa de médio porte, com alguns elementos alcançando 11 a 15 m de altura. Espécies que mais se destacam: murici (*Byrsonima* spp), faveira (*Dimorphandra gardineriana*), copaíba (*Copaifera langsdorfii*), jatobá (*Hymenaea courbaril*) e pequi (*Caryocar coriaceum*).
- Transição floresta úmida/ cerrado – possui vegetação lenhosa mais esparsa, de médio porte, com altura máxima de 11 m. Destacam-se o pequi, copaíba e janaguba (*Himatanthus drasticus*).
- Carrasco – formado por vegetação arbóreo-arbustiva de pequeno porte, densa, apresentando xeromorfismo acentuado com espécies caducifólias que alcançam altura máxima de 5 m.
- Cerradão – apresenta vegetação formada por maciços intercalados por grandes clareiras, com solo descoberto ou sob a cobertura escassa de gramíneas. Apresentam árvores tortuosas de médio e pequeno portes, bastante esgalhadas e um sub-bosque arbustivo denso. Principais representantes são o pequi, o cajuí (*Anacardium humile*) e o visgueiro (*Parkia platycephala*) (MMA, 2014b).

A FLONA Araripe apresenta um grande potencial para a pesquisa científica e educação ambiental, importantes para o desenvolvimento científico, pedagógico e social das populações, direta e indiretamente envolvidas com a mesma (MMA, 2014a). Nela encontram-se diversas espécies da flora nativa que originam produtos de uso popular e científico (CAVALCANTI; NUNES, 2002; IBAMA, 2009), sendo as espécies mais exploradas o pequi, a faveira e a janaguba. Esta última já se encontra ameaçada de extinção no ambiente de cerrado da FLONA (MMA, 2014b).

4.2.1.2 Amostras de látex de *H. drasticus*

Foram obtidas, em períodos diferentes, cinco amostras de látex de *H. drasticus*: novembro de 2009 (LJ-I), julho de 2011 (LJ-II), fevereiro de 2012 (LJ-III), março de 2012 (LJ-IV) e novembro de 2012 (LJ-V). A obtenção foi gradativa conforme as necessidades do trabalho de tese. O Quadro 5 apresenta de forma sumarizada, as amostras com respectivas datas de obtenção e apresentação.

Quadro 5 – Amostras de látex de *H. drasticus*, data de obtenção e apresentação

Amostra	Data de obtenção	Apresentação
LJ-I	11/2009	*Suspensão aquosa 1:4 (v/v)
LJ-II	07/2011	Suspensão aquosa 1:4 (v/v)
LJ-III	02/2012	Suspensão aquosa 1:4 (v/v)
LJ-IV	03/2012	Látex bruto
LJ-V	11/2012	Suspensão aquosa 1:4 (v/v)

* Ou látex 1:4 (v/v).

Fonte: elaborado pela autora.

Segundo relato de extrativista do Crato, o IBAMA autoriza o extrativismo apenas nas sexta-feiras, sendo suspensa durante os meses de dezembro a fevereiro, por se tratar de período de floração da planta. Os horários recomendados para extração são de 5 às 10 h e 16 às 18 h, pois próximo de 12 h, a planta fornece pouco látex. Faz-se raspagem suave no caule da planta, colhe-se o látex com uma colher e armazena-se em recipiente higienizado (látex bruto) (Figura 12). Para comercializar, o látex bruto é diluído em água filtrada e fervida na proporção de 25 partes de látex para 75 de água (1:4, v/v). No comércio é determinada a validade de quatro meses, a contar da data de extração, sob refrigeração.

A suspensão aquosa do látex, ou seja látex:água 1:3, passará a ser designada na tese como látex 1:4 (v/v).

Figura 12 – Extração do látex de *H. drasticus*

Fonte: <https://www.youtube.com>.

Amostras da planta, coletadas em novembro de 2009, foram identificadas por comparação com amostra depositada no Herbário Prisco Bezerra da UFC, sob o número 31685.

4.2.2 Metodologia

4.2.2.1 Características físico-químicas do látex

4.2.2.1.1 Avaliação do aspecto geral

Volumes de 2,0 mL das amostras de látex 1:4 (v/v) e de látex bruto foram transferidos para tubos de ensaio para determinação das características organolépticas e aspecto visual (homogeneidade e consistência). A cor foi determinada após prévia agitação manual dos tubos. Para a determinação do sabor, cerca de 1,0 mL das amostras contidas nos tubos de ensaio foi transferido para recipientes descartáveis e provado.

4.2.2.1.2 Determinação de pH

Para a determinação do pH foi empregado pHmetro (Marconi, modelo MAPA200), sendo utilizados 20,0 mL das amostras de látex 1:4 (v/v) e látex bruto (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). A determinação foi feita em triplicata.

4.2.2.1.3 Determinação da densidade

Foi utilizado um picnômetro limpo e seco, com capacidade de 10,0 mL previamente calibrado. A calibração consistiu na determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água destilada 20°C. A amostra de látex 1:4 (v/v) foi transferida para o picnômetro e pesada. Foi obtido o peso da amostra através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio e calculada a densidade relativa, determinando a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água, ambas a 20°C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Não foi possível determinar a densidade do látex bruto, por se tratar de líquido muito espesso e aderente. A determinação foi feita em triplicata.

4.2.2.1.4 Determinação de resíduo seco

Foram transferidos 2,0 mL das amostras de látex 1:4 (v/v) e látex bruto para placas de Petri, medindo aproximadamente 50,0 mm de diâmetro e 30,0 mm de altura, previamente tarada. Em seguida, foram evaporados até secura em banho-maria e dessecados em estufa a 100-105°C, por 1 h e 30 minutos. As placas foram esfriadas em dessecador e pesadas, onde o resíduo seco foi calculado em porcentagem sobre o volume (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). A determinação foi feita em triplicata.

4.2.2.1.5 Determinação do volume de sedimentação

Esta metodologia foi feita conforme Gabriels e Plaizier-Vercammen (2004), com modificações. Para estudar a sedimentação das suspensões, o volume de sedimentação foi determinado em função do tempo. Este teste é utilizado para suspensões mantidas em uma condição estacionária, onde as partículas sedimentam somente no sentido vertical devido à ação da força da gravidade (SHOJAEIA; AREFINIA, 2006).

As amostras de látex 1:4 (v/v) e látex bruto foram transferidas para provetas de 10,0 mL e deixadas em repouso para decantação da suspensão. A determinação foi feita em triplicata.

Foram feitas duas leituras de sedimentação: a primeira em 1 hora, e a segunda em 24 h. O volume de sedimentação F é definido como a relação do volume final do sedimento em equilíbrio (V_f) com o volume total da suspensão (V_t), tal como expresso na seguinte equação:

$$F = [V_f/V_t]$$

Este parâmetro é utilizado para verificar a estabilidade física da suspensão, sendo que quanto maior for o valor da razão F mais elevado é o grau de floculação (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001).

4.2.2.1.6 Substâncias extraíveis por acetato de etila (SEAcOEt) do látex 1:4 (v/v)

A Farmacopeia Brasileira (2010) descreve o método para determinação de substâncias extraíveis por álcool, sugerindo o uso de outros solventes desde que especificados em monografia. *H. drasticus* não é uma planta oficial, e neste caso, optou-se por usar o acetato de etila (AcOEt) por se constituir em solvente orgânico com polaridade intermediária, possibilitando a realização de partição do látex.

Para cada uma das amostras de látex 1:4 (v/v) foi separado um volume de 100,0 mL que foi submetido à extração por partição com o solvente AcOEt. Foram realizadas cinco extrações com volumes de 25,0 mL cada. Houve formação de uma fase intermediária, sendo esta separada em um béquer e posteriormente submetida a lavagens com AcOEt (10 x 10,0 mL).

A fase orgânica foi reunida com as extrações obtidas pela partição da amostra. Os solventes foram evaporados em banho-maria (50°C) e o resíduo extrativo, pesado em uma balança analítica.

4.2.2.1.7 Liofilização da amostra de látex bruto

O látex bruto (LJ-IV) foi seco em liofilizador (L202, Liotop), em três volumes de 15,0 mL cada. Os tubos contendo as amostras foram previamente pesados para realização de cálculo para determinação do peso da matéria liofilizada para o volume utilizado de látex.

4.2.2.1.8 Cinzas totais do látex bruto liofilizado

Empregou-se a metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Um grama (1,0 g) de látex bruto liofilizado foi depositado em cadinho previamente dessecado em forno mufla a 450°C por 30 minutos. A amostra foi incinerada aumentando-se a temperatura gradativamente até no máximo 600°C. Em seguida, foi resfriada em dessecador e as cinzas pesadas em balança analítica. A determinação foi feita em triplicata.

4.2.2.2 Tratamento estatístico dos dados analíticos

Os resultados das análises físico-químicas foram expressos calculando-se a média aritmética de cada determinação (triplicata), sendo a amplitude de variação em torno da média determinada através do cálculo do desvio padrão (D.P.) e em torno de várias médias, pelo erro padrão da média (E.P.M.) (LEITE, 1998).

4.2.2.3 Qualidade microbiológica do látex

A verificação da qualidade microbiológica foi realizada conforme metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (2010). A contagem de micro-organismos viáveis totais foi realizada pelo método da semeadura em profundidade ou *Pour Plate*.

As análises das amostras de látex não ocorreram simultaneamente, porém foram descritas em conjunto.

4.2.2.3.1 Preparo das amostras

Os frascos contendo amostras de látex 1:4 (v/v) e látex bruto foram limpos externamente com etanol 70% e, após agitação manual em capela de fluxo laminar, 5,0 mL de cada amostra foi transferido para erlenmeyers, contendo cada um 45,0 mL de água peptonada. As misturas foram homogeneizadas, obtendo ao final uma diluição 1:10. A partir desta, foram feitas novas diluições em água peptonada, obtendo-se 20,0 mL de soluções 1:10², 1:10³, 1:10⁴ e 1:10⁵ das referidas amostras (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

4.2.2.3.2 Ensaio para micro-organismos

Pelo método da semeadura em profundidade, foi adicionado 1,0 mL da amostra preparada, em placa de Petri e verteu-se, separadamente, 20,0 mL de ágar soja-caseína e, ágar sabouraud mantidos a 45-50°C. Foram utilizadas duas placas para cada meio e diluição. As placas contendo ágar soja-caseína foram incubadas a 32,5°C±2,5°C durante 3 a 5 dias e as placas contendo ágar sabouraud dextrose, a 22,5°C±2,5°C durante 5 a 7 dias para determinação do número de micro-organismos aeróbicos totais e bolores e leveduras, respectivamente. Somente as placas que apresentarem número de colônias inferior a 250 (bactérias) e 50 (bolores e leveduras) por placa foram consideradas para o registro dos resultados. Tomou-se a média aritmética das placas de cada meio e calculou-se o número de UFC (Unidade Formadora de Colônia) por mililitro (mL) da amostra.

Foram empregados como valores de referência: 10⁴ UFC de bactérias/mL e 10² UFC de fungos ou leveduras/mL (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

4.2.2.3.3 Pesquisa de patógenos

Escherichia coli

Preparou-se uma diluição 1:10 de 1,0 mL do látex em água peptonada. Utilizou-se 10,0 mL da diluição para 90,0 mL de caldo de enriquecimento (caldo caseína-soja). Homogeneizou-se e incubou-se a 32,5°C±2,5°C durante 24 horas (amostra enriquecida).

Agitou-se e transferiu-se 1,0 mL da amostra enriquecida para 100,0 mL de caldo MacConkey. Incubou-se a $43^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Realizou-se subcultura em placa de ágar MacConkey e incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas.

O crescimento de colônias vermelhas, geralmente não mucosas, com micromorfologia característica de bacilo Gram-negativo, indica presença provável de *E. coli*.

Pseudomonas aeruginosa

Agitou-se e transferiu-se uma alça da amostra enriquecida para placa contendo ágar cetrimida. Incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

O crescimento de colônias indica presença provável de *Pseudomonas aeruginosa*.

Staphylococcus aureus

Agitou-se e transferiu-se uma alça da amostra enriquecida para placa contendo ágar sal manitol. Incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

O crescimento de colônias amarelas ou brancas rodeadas por uma zona amarela indica presença provável de *S. aureus*.

Salmonella

Preparou-se a amostra usando a diluição 1:10 de 10,0 mL do látex. Homogeneizou-se e incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

Agitou-se e transferiu-se 0,1 mL do conteúdo para 10 mL de caldo enriquecimento *Salmonella* Rappaport Vassiliadis. Incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Realizou-se subcultura em placa contendo ágar xilose lisina desoxicolato e incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas.

O crescimento de colônias bem desenvolvidas, vermelhas com ou sem centro negro indica presença provável de *Salmonella*.

Bactérias Gram-negativas bile tolerantes

Preparou-se a amostra usando a diluição 1:10 de 10,0 mL do látex em caldo caseína-soja (Diluição A). Homogeneizou-se e incubou-se a $22,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 3 horas.

Decorrido o tempo, homogeneizou-se a Diluição A e transferiu-se 10 mL para o Caldo de Enriquecimento de Enterobactérias segundo Mossel. Incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

Preparou-se subcultura em placas contendo ágar violeta vermelho neutro bile glicose e incubou-se a $32,5^{\circ}\text{C}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

4.2.3 Resultados e discussões

A suspensão aquosa de látex de *H. drasticus* (1:4, v/v) apresentou coloração bege leitosa escura, odor forte e ácido, sabor ácido, não-amargo e não-adstringente, e aspecto bifásico fluido (Quadro 6); pH ácido de $5,30\pm 0,02$; densidade de $1,0032\pm 0,0005$ g/mL; resíduo seco, $1,27\pm 0,04\%$ (p/v) (Tabela 5); volume de sedimentação (24 h), $0,126\pm 0,001$ (Tabela 6); e rendimento em SEAcOEt de $0,68\pm 0,02\%$ (p/v) (Tabela 7).

Quadro 6 – Aspecto geral das amostras de látex de *H. drasticus*

Amostras	Cor	Odor	Sabor	Aspecto visual
LJ-I	Bege leitoso escuro	Forte e ácido	Ácido, não-amargo, não adstringente	Bifásico e fluido
LJ-II	Bege leitoso escuro	Forte e ácido	Ácido, não-amargo, não adstringente	Bifásico e fluido
LJ-III	Bege leitoso escuro	Forte e ácido	Ácido, não-amargo, não adstringente	Bifásico e fluido
LJ-IV	Castanho leitoso escuro	Muito forte e ácido	Ácido, não-amargo, não adstringente	Bifásico, espesso, aderente
LJ-V	Bege leitoso escuro	Forte e ácido	Ácido, não-amargo, não adstringente	Bifásico e fluido

Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 5 – Resultados de pH, densidade e resíduo seco das amostras de látex de *H. drasticus*

Amostra	pH	Densidade (g/mL)	Resíduo seco (% p/v)
LJ-I	5,01±0,08	1,0041±0,0022	1,26±0,02
LJ-II	5,96±0,02	1,0058±0,0002	1,28±0,01
LJ-III	4,67±0,07	1,0004±0,0008	1,27±0,13
LJ-IV	4,96±0,02	- ^a	12,46±0,04
LJ-V	5,57±0,00	1,0024 ±0,0005	1,29±0,14
Média±E.P.M.^b	5,30±0,02	1,0032±0,0005	1,27±0,04

^aNão foi possível realizar esta determinação, material muito espesso e aderente; ^bLJ-IV foi excluída deste cálculo por se tratar de amostra diferente.

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 6 – Resultado da avaliação de volume de sedimentação das amostras de látex de *H. drasticus*

Amostra	F _{1h} ^a	F _{24h} ^a
LJ-I	0,203±0,006	0,120±0,000
LJ-II	0,217±0,006	0,127±0,006
LJ-III	0,220±0,010	0,137±0,006
LJ-IV	0,980±0,010	0,790±0,000
LJ-V	0,200±0,000	0,120±0,000
Média±E.P.M.^b	0,210±0,003	0,126±0,001

^aF_{1h} e F_{24h}: Volume de sedimento em 1 hora e em 24 horas, respectivamente; ^bLJ-IV foi excluída deste cálculo por se tratar de amostra diferente.

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 7 – Rendimento em substâncias extraíveis por acetato de etila (SEAcOEt), obtido por partição do látex de *H. drasticus* 1:4 (v/v)

Amostras	Massa (g)	%
LJ-I	0,678	0,68
LJ-II	0,657	0,66
LJ-III	0,670	0,67
LJ-V	0,698	0,70
Média±D.P.	0,676±0,018	0,68±0,02

Fonte: elaborada pela autora.

Pelos resultados do volume de sedimentação, observou-se que as amostras têm o sedimento diminuído cerca de 40,0% em 24 horas, fato que pode estar relacionado ao tamanho das partículas em suspensão: quanto maiores forem estas partículas, maior será sua sedimentação.

Com relação ao rendimento em SEAcOEt, um litro (1,0 L) de látex 1:4 (v/v) fornece em média de 6,8 g de resíduo extrativo.

O látex bruto, por sua vez, possui coloração mais escura, odor muito forte e ácido, sabor ácido, não-amargo e não-adstringente, e aspecto bifásico, espesso e aderente (Quadro 6); pH ácido de $4,96 \pm 0,02$; resíduo seco de $12,46 \pm 0,04\%$ (Tabela 5); e volume de sedimentação (24 h), $0,790 \pm 0,000$ (Tabela 6). O látex bruto de *H. succuba*, segundo estudo realizado por Silva et al. (2009), consistiu em uma suspensão com pH 4,54, coloração marrom e sabor amargo, aspecto semelhante ao látex de *H. drasticus*, exceto pelo sabor amargo.

O rendimento de LJ-IV liofilizado foi $15,81 \pm 0,35\%$ (Tabela 8). Observou-se que há uma diferença de aproximadamente 3% de matéria seca quando o látex é submetido à secagem com o uso de estufa de aquecimento a 100°C (método para determinação de resíduo seco) e por liofilização (congelamento e secagem por sublimação). Provavelmente há perda de massa por oxidação, decomposição e volatilização de substâncias quando se emprega aquecimento na secagem do látex, pois o resíduo sólido possui coloração marrom escura enquanto o liofilizado possui cor castanha.

Tabela 8 – Resultado da determinação do rendimento em massa liofilizada de 15,0 mL de látex bruto de *H. drasticus*

LJ-IV	Massa de 15,0 mL (g)	Liofilizado (g)	Rendimento (%)
1	14,9431	2,4212	16,20
2	15,3045	2,3745	15,52
3	14,7738	2,3213	15,71
Média±D.P.			15,81±0,35

Fonte: elaborada pela autora.

Com a determinação da massa liofilizada, verificou-se que 6,33 mL de látex bruto fornece 1,0 g de látex liofilizado, ou seja, há uma relação de látex liofilizado: látex bruto de 1:6,33.

O teor de cinzas totais foi $6,53 \pm 0,55\%$ (Tabela 9). Silva et al. (2003) identificaram no látex de *H. succuba*, cálcio, magnésio, ferro, cobre, manganês, zinco e potássio. Não há trabalhos de determinação de cinzas totais em látex de espécies de *Himatanthus*.

Tabela 9 – Resultado da determinação do teor de cinzas totais do látex liofilizado de *H. drasticus*

LJ-IV	Pi(g)*	Pf (g)*	Cinzas (%)
1	1,000	0,071	7,1
2	1,005	0,065	6,5
3	1,000	0,060	6,0
Média±D.P.			6,53±0,55

*Pi=peso inicial de L-IV; Pf=peso final, das cinzas.

Fonte: elaborada pela autora.

Com relação à qualidade microbiológica das amostras, os resultados estão expressos na Tabela 10, onde se observou que estes se encontram no limite das especificações da Farmacopeia (2010). Todas foram negativas para presença de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella* e Gram-negativas bile tolerantes. Os cuidados básicos de higiene durante a extração, como o uso de utensílios limpos (faca, recipiente de coleta e colher), e de água filtrada e fervida na diluição do látex são fundamentais para uma boa qualidade microbiológica do mesmo.

Tabela 10 – Resultados da avaliação da qualidade microbiológica das amostras de látex de *H. drasticus*

Amostras	Aeróbios totais ^a (UFC/mL)	Fungos e leveduras ^b (UFC/mL)
LJ-I	1,3x10 ⁴	1,0x10 ²
LJ-II	1,0x10 ⁴	1,3x10 ²
LJ-III	1,2x10 ⁴	1,5x10 ²
LJ-IV	1,3x10 ³	1,0x10 ²
LJ-V	1,2x10 ⁴	1,4x10 ²

^aValor de referência: 10⁴ UFC de bactérias/mL; ^bValor de referência: 10² UFC de fungos ou leveduras/mL.

Fonte: elaborada pela autora.

A Organização Mundial de Saúde estabelece para materiais vegetais de uso interno, 10⁵ UFC/g para contagem total de bactérias aeróbicas e 10³ UFC/g para fungos e leveduras (WHO, 1998). Neste caso, os resultados da avaliação da qualidade microbiana do látex de *H. drasticus* se encontram dentro dos limites, e com uma maior faixa de aceitação.

Em suma, com relação às características físico-químicas do látex de *H. drasticus* 1:4 (v/v), embora as amostras tenham sido adquiridas em períodos diferentes, estas apresentaram resultados semelhantes. Assim os dados obtidos foram considerados como referência para avaliação da qualidade de amostras comerciais de Fortaleza, Ceará.

O restante das amostras ensaiadas foi utilizado no desenvolvimento do estudo químico e de avaliação de atividade antimicrobiana.

4.3 ESTUDO QUÍMICO PRELIMINAR

4.3 Estudo químico preliminar

O estudo químico preliminar do látex de *H. drasticus* envolveu a realização de uma abordagem fitoquímica, determinação de proteínas, carboidratos e minerais.

4.3.1 *Material vegetal*

Foram utilizados 100,0 mL de látex 1:4 (v/v), 2,0 mL de látex bruto e 0,7 g, de látex bruto liofilizado.

4.3.2 *Metodologia*

4.3.2.1 *Abordagem fitoquímica*

O látex 1:4 (v/v) foi utilizado nos testes fitoquímicos descritos por Matos (1997) e na pesquisa de iridoides descrito por Ferreira et al. (2009).

4.3.2.1.1 Pesquisa de saponinas

Transferiu-se para um tubo de ensaio 3,0 mL de látex 1:4 (v/v) e agitou-se vigorosamente. Aguardou-se por 15 min.

4.3.2.1.2 Pesquisa de auronas e chalconas

Transferiu-se 10,0 mL de látex 1:4 (v/v) para um funil de separação e efetuou-se extração com 2,0 mL de AcOEt, três vezes (3x). Em seguida dividiu-se a fração orgânica em dois béqueres. Evaporou-se até quase *secura* a fração de um dos béqueres e adicionou-se 1,0 mL de solução de hidróxido de amônio 4 N (NH₄OH 4 N). A outra fração orgânica foi reservada para servir de comparação.

4.3.2.1.3 Pesquisa de taninos e fenóis

Transferiu-se 10,0 mL de látex 1:4 (v/v) para um funil de separação e efetuou-se extração com 2,0 mL de éter etílico (3x). A fase etérea foi destinada ao teste para fenóis e a fase aquosa para taninos.

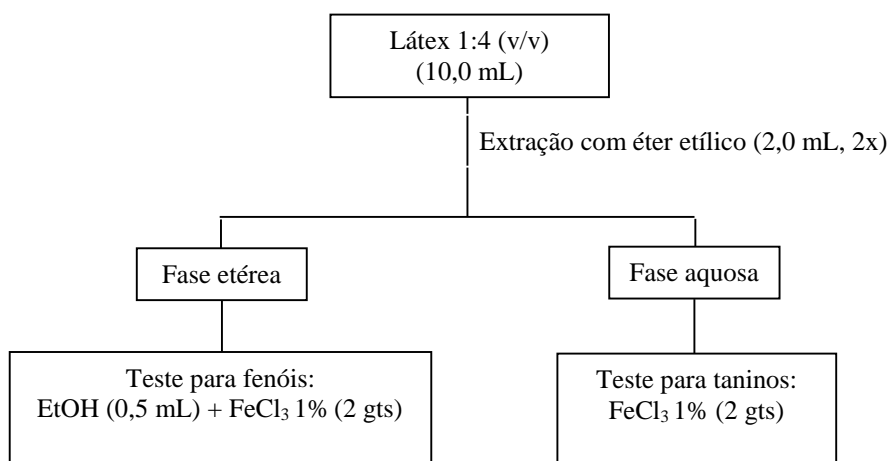
Teste para fenóis

Evaporou-se o solvente da fase etérea até metade de seu volume. Em seguida adicionou-se 0,5 mL de etanol (EtOH) e duas gotas de solução de cloreto férrico a 1% (FeCl_3 1%).

Teste para taninos

Retirou-se 1,0 mL da fase aquosa e transferiu-se para um tubo de ensaio. Adicionou-se duas gotas de FeCl_3 1% (Fluxograma 1).

Fluxograma 1 – Procedimento para identificação de taninos e fenóis



Fonte: elaborado pela autora.

4.3.2.1.4 Pesquisa de alcaloides

Transferiu-se 10,0 mL de látex 1:4 (v/v) acidificada com 1,0 mL de HCl SR para um funil de separação e efetuou-se extração com 2,0 mL de clorofórmio (CHCl_3) (2x). Após partição, desprezou-se a fase clorofórmica.

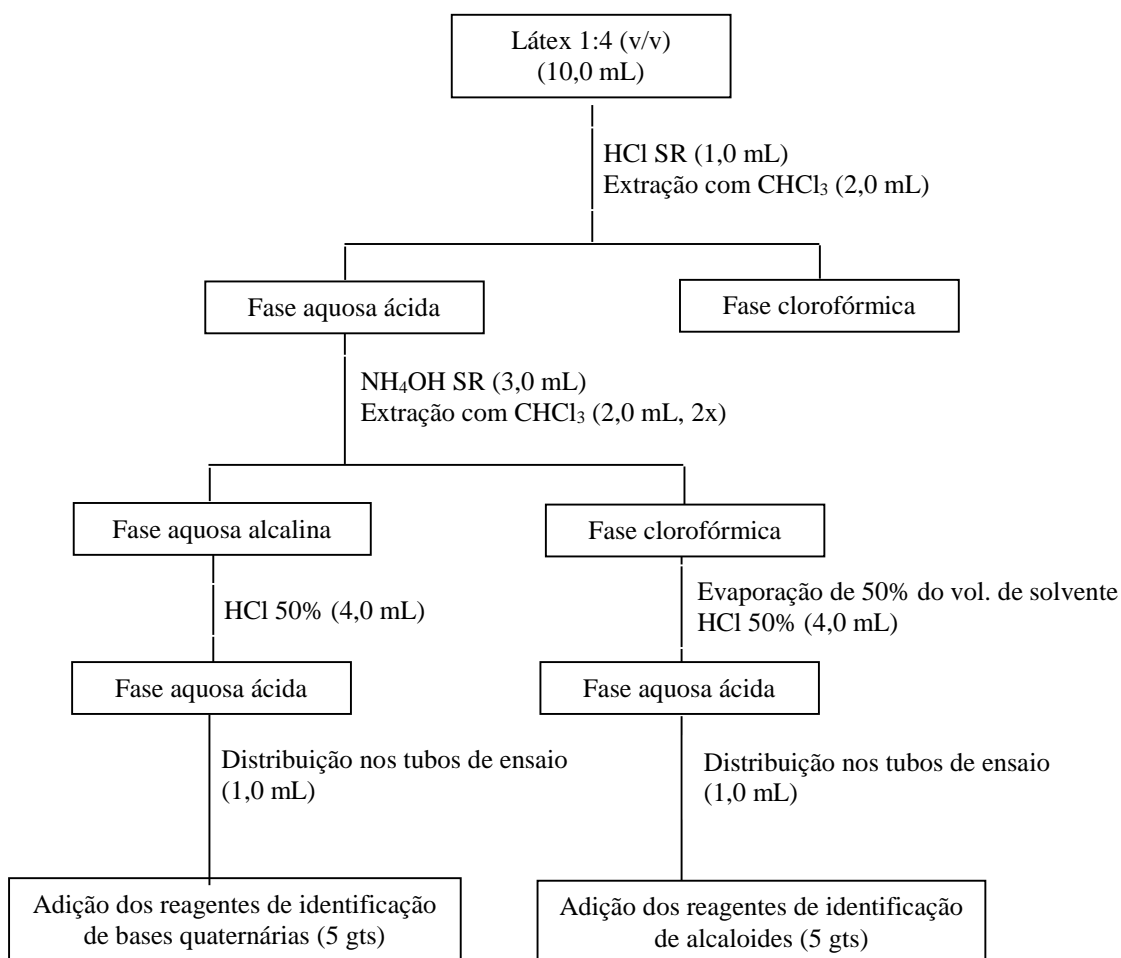
A fase aquosa ácida foi alcalinizada com 3,0 mL de NH_4OH SR e transferido novamente para o funil de separação. Efetuou-se extração com 2,0 mL de CHCl_3 (2x). Separou-se a fase clorofórmica e evaporou-se o solvente até a metade de seu volume (a fase aquosa alcalinizada foi empregada na pesquisa de bases quaternárias).

Acidificou-se a fase clorofórmica com 4,0 mL de HCl 50% e separou-se a fase aquosa ácida que foi distribuída em três tubos de ensaio (1,0 mL por tubo). A cada um dos tubos foram adicionadas cinco gotas dos reagentes: Hager, Bertrand e Dragendorff (Fluxograma 2).

4.3.1.1.5 Pesquisa de bases quaternárias

Acidificou-se novamente a fase aquosa alcalinizada do teste anterior com aproximadamente 4,0 mL de HCl 50%. A solução foi distribuída em três tubos de ensaio (1,0 mL por tubo). A cada um dos tubos foram adicionadas cinco gotas dos reagentes: Hager, Bertrand e Dragendorff (Fluxograma 2).

Fluxograma 2 – Procedimento para identificação de alcaloides e bases quaternárias

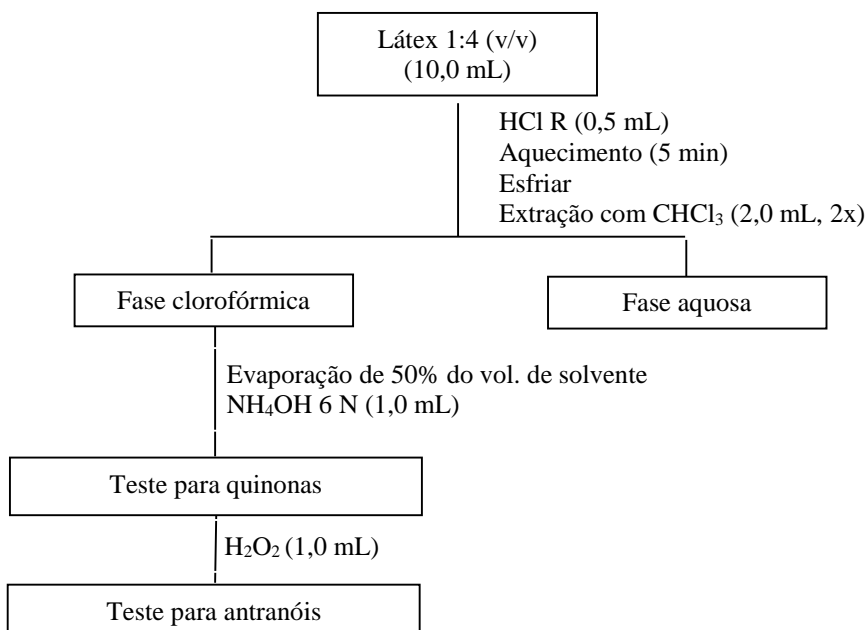


Fonte: elaborado pela autora.

4.3.2.1.6 Pesquisa de quinonas e antranóis

Efetua-se hidrólise de 10,0 mL de látex 1:4 (v/v) com 0,5 mL de HCl R em chapa térmica por 5 min. Após esfriar, transferiu-se para funil de separação e efetuou-se extração com 2,0 mL de CHCl_3 (2x). Separou-se a fase clorofórmica, evaporou-se o solvente até metade de seu volume e transferiu-se para um tubo de ensaio. Foi adicionado lentamente 1,0 mL de NH_4OH 6 N (teste para quinonas). Em seguida, adicionou-se ao mesmo tubo de ensaio 1,0 mL de água oxigenada (H_2O_2) (teste para antranóis) (Fluxograma 3).

Fluxograma 3 – Procedimento para identificação de quinonas e antranóis



Fonte: elaborado pela autora.

4.3.2.1.7 Pesquisa de antocianinas, antocianidinas e outros flavonoides

Distribui-se em três tubos de ensaio 3,0 mL de látex 1:4 (v/v). Acidificou-se o tubo I até pH 3,0 com HCl SR; e alcalinizou-se os tubos II a pH 8,5 e III a pH 11,0 com solução de hidróxido de sódio (NaOH SR). O Quadro 7 apresenta os grupos de flavonoides que podem ser detectados com as mudanças de pH da solução.

Quadro 7 – Pesquisa de flavonoides frente a pH ácido e alcalino

Flavonoides	pH ácido	pH alcalino (8,5)	pH alcalino (11)
Antocianinas e antocianidinas	X	x	x
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	x
Flavononóis	-	-	x

x: composto reage ao pH do meio; -: composto não reage ao pH do meio.

Fonte: elaborado pela autora.

4.3.2.1.8 Pesquisa de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas

Utilizou-se os tubos I e III do teste anterior e dividiu-se seus volumes em duas partes iguais (uma das partes serviu de referência). Submeteu-se a aquecimento durante dois a três minutos cada uma das metades dos tubos I e III, cuidadosamente. Observou-se o resultado após aproximadamente 10 min. O Quadro 8 apresenta os grupos de compostos que podem ser detectados nos tubos I (pH ácido) e III (pH alcalino).

Quadro 8 – Pesquisa de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas frente a pH ácido e alcalino

Constituintes	pH ácido	pH alcalino
Leucoantocianidinas	x	-
Catequinas	x	-
Flavononas	-	x

x: composto reage ao pH do meio; -: composto não reage ao pH do meio.

Fonte: elaborado pela autora.

4.3.2.1.9 Pesquisa de flavonóis, flavonas, flavononóis e xantonas

Transferiu-se 2,0 mL de látex 1:4 (v/v) para um tubo de ensaio. Adicionou-se ao tubo 0,5 mL de HCl R e um pedaço de fita de magnésio metálico.

4.3.2.1.10 Pesquisa de cardiotônicos

A 2,0 mL de látex 1:4 (v/v) adicionou-se 2,0 mL de solução de ácido 3,5-dinitrobenzôico, seguido da adição de solução de hidróxido de potássio (KOH) 2 N.

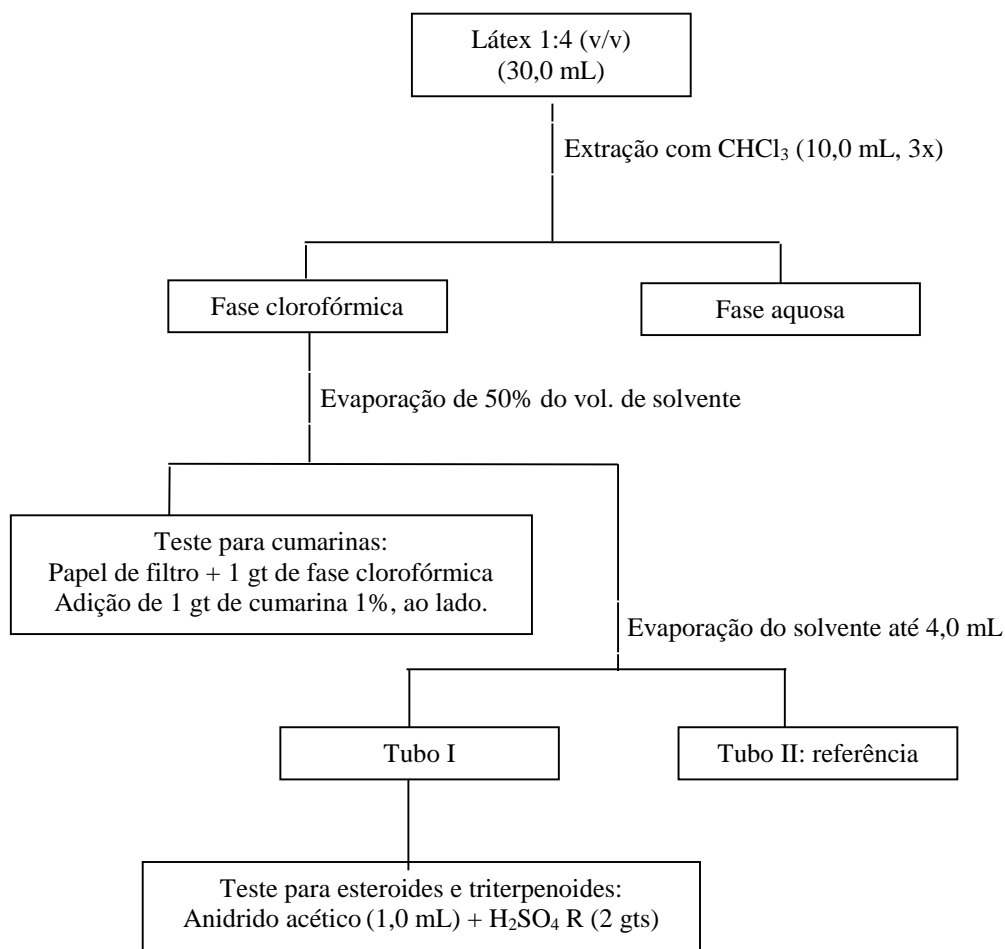
4.3.2.1.11 Pesquisa de cumarinas, esteroides e triterpenoides

Realizou-se extração por partição, utilizando 30,0 mL de látex 1:4 (v/v) e 10,0 mL de CHCl_3 (3x). Separou-se a fase clorofórmica e evaporou-se o volume do solvente até 20,0 mL.

Em um pedaço de papel de filtro (6,0x3,0 cm), colocou-se uma gota da fase clorofórmica ao lado de uma gota de solução clorofórmica de cumarina a 1% (solução padrão). Em seguida adicionou-se uma gota de solução etanólica de KOH a 5% sobre cada mancha e observou-se sob irradiação ultravioleta (UV – λ 366 nm).

Evaporou-se o restante de solvente da fase clorofórmica até aproximadamente 4,0 mL e dividiu-se o volume final em dois tubos de ensaio (um serviu de referência). Adicionou-se 1,0 mL de anidrido acético e 2 gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4 R) a um dos tubos (teste para triterpenoides e esteroides) (Fluxograma 4).

Fluxograma 4 – Procedimento para identificação de cumarinas, esteroides e triterpenoides



Fonte: elaborado pela autora.

4.3.2.1.12 Pesquisa de iridoides

Realizou-se extração por partição, utilizando 20,0 mL de látex 1:4 (v/v) e 5,0 mL de AcOEt (3x). Separou-se a fase AcOEt e evaporou-se o volume do solvente até quase securo. Aplicou-se uma alíquota em cromatoplaça de gel de sílica de 6,0x3,0 cm (cromatofolha Merck, gel de sílica 60 F254, 0,2 mm) que foi eluída em fase móvel constituída por CHCl₃. Em seguida a cromatoplaça foi seca à temperatura ambiente e o resultado visualizado após revelação com o reagente vanilina-sulfúrica e aquecimento em chapa térmica (FERREIRA et al., 2009).

4.3.2.2 Determinação de nitrogênio e proteínas

A determinação de proteína foi feita por meio da técnica de Kjeldahl, pela determinação de nitrogênio total (A.O.A.C, 1990).

A determinação do teor de nitrogênio (N) total foi feita com 0,2 g do látex bruto liofilizado em mistura digestora contendo 15,0 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄ R), sulfato de cobre penta-hidratado (CuSO₄.5H₂O) e sulfato de sódio (Na₂SO₄), em bloco digestor (Tecnal, modelo TE-040/25) a 150°C por 1 h; em seguida, o sistema foi mantido a 400°C por 2 h. Um volume de 10,0 mL da amostra foi destilada em destilador de Kjeldahl (Tecnal, modelo TE-036/1) com a adição de 25,0 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 40%; e a amônia (NH₃) foi arrastada pelo vapor de água e coletada em 15,0 mL de mistura de ácido bórico (H₃BO₃) 2% e indicadores vermelho de metila 0,04% e verde de bromocresol 0,1%. Em seguida, a amostra foi titulada com solução padronizada de H₂SO₄ 0,010080 N.

Foram feitas duas titulações com a prova em branco, onde a média dos volumes gastos de H₂SO₄ 0,010080 N foi 0,60 mL.

Para calcular percentual de nitrogênio e proteína na amostra, foram utilizadas as seguintes equações:

$$N\% = \frac{[(V_2 - V_1) \times N_{H_2SO_4} \times 1,4]}{\text{Peso da amostra}}$$

Onde:

V₂ = volume gasto de H₂SO₄ para titular a amostra

V₁ = volume gasto de H₂SO₄ para titular a prova em branco = 0,60 mL

N_{H₂SO₄} = normalidade do H₂SO₄ utilizado na titulação = 0,010080 N

Peso amostra em g = 0,2 g.

$$\text{Proteínas\%} = N\% \times 6,25$$

A análise foi feita em sextuplicata.

4.3.2.3 Determinação de carboidratos

A determinação de carboidratos totais foi avaliada por meio do método Fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956).

Primeiramente realizou-se a diluição de 1,0027 g de látex bruto em 100,0 mL de água destilada em balão volumétrico (100,0 mL), seguida de filtração (látex 1%). Em triplicata,

foi retirada uma alíquota de 500,0 µL desta amostra e transferiu-se para um tubo de ensaio com rosca. A esta alíquota adicionou-se 500,0 µL de fenol 5%. Os tubos foram homogeneizados e adicionou-se 2,5 mL de H₂SO₄ R, homogeneizando-se novamente em aparelho agitador (Vortex). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Femto, modelo 600 Plus) a 490 nm.

Os valores obtidos foram comparados com a curva padrão de glicose, que foi construída com concentrações variando de 0,1 a 0,6 µmol/mL plotadas no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y, com equação da reta $y=1,4337x-0,01331$ e coeficiente de correlação $R^2=0,9987$ (Tabela 11).

Tabela 11 – Absorbâncias da solução de glicose para a construção da curva de calibração

Concentração µmol/mL	ABS* 1	ABS 2	ABS 3	Média das ABS
0,1	0,137	0,136	0,138	0,137
0,2	0,264	0,261	0,262	0,262
0,3	0,411	0,422	0,420	0,418
0,4	0,529	0,573	0,573	0,558
0,5	0,699	0,743	0,713	0,718
0,6	0,864	0,821	0,833	0,839

*Absorbância.

Fonte: elaborada pela autora.

A análise foi feita em triplicata.

4.3.2.4 Determinação de minerais

As concentrações totais de minerais foram feitas conforme procedimentos descritos em Miyazawa et al. (1999).

Para a determinação de fósforo (P), potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn), a amostra de látex liofilizado (0,5 g) foi submetida à digestão com 10,0 mL da mistura de ácido nítrico (HNO₃ R) e ácido perclórico (HClO₄) a 30% (3:1, v/v) em bloco digestor (Tecnal, modelo TE-040/25) a 180°C até completa mineralização. Após o resfriamento, a amostra foi transferida para balão volumétrico de 50,0 mL e o volume foi completado com água deionizada (solução-amostra – Sol.A).

A determinação de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn foi realizada em um espectrofotômetro de absorção atômica (Perkin Elmer, modelo AAnalyst 300). As curvas analíticas foram preparadas a partir de soluções estoques de 1000 mg/L, as quais foram diluídas nas concentrações referentes à curva de cada elemento. Para a leitura de Ca e Mg diluiu-se 1,0 mL

de Sol.A com 19,0 mL de água destilada. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 2,0 mL que foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL, onde completou-se o volume com a solução de lantânio ($\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) a 5%. As determinações de Fe, Cu, Zn e Mn foram feitas nas amostras sem diluições.

Para a quantificação de P foi adicionada a 5,0 mL de Sol.A, 10,0 mL de solução ácida de molibdato de amônio diluída e 1,0 mL de solução de ácido ascórbico a 3%, deixada em repouso por 30 min e leitura em espectrofotômetro a 660 nm (Femto, modelo 600 Plus). O S foi quantificado por meio do método da turbidimetria, onde a 5,0 mL de Sol.A, adicionou-se 0,5 mL de HCl 6 N e 250,0 mg de cristais de cloreto de bário (BaCl_2), seguido de agitação por 30 segundos, repouso por 5 minutos e leitura em espectrofotômetro a 420 nm.

As concentrações de K e Na foram determinadas por meio de leitura direta da Sol.A em fotômetro de chama (Digimed, modelo DM-62).

As condições instrumentais para as análises dos minerais estão ilustradas na Tabela 12. Todas estas análises foram realizadas em sextuplicata.

Tabela 12 – Condições experimentais para as análises dos minerais

Elemento	Técnica	Equação da reta	R ²	Curva analítica (mg/L)	λ (nm)
Ca		$y=0,0019x+0,001$	0,998	1,0 a 5,0	422,7
Mg		$y=0,0309x+0,004$	0,997	0,10 a 0,50	285,2
Cu	Espectrofotometria de absorção atômica	$y=0,0049x-0,004$	0,997	1,0 a 5,0	324,8
Fe		$y=0,0031x-0,003$	0,998	1,0 a 10,0	248,3
Zn		$y=0,0169x+0,004$	0,997	0,5 a 2,5	213,9
Mn		$y=0,1741x+0,0186$	0,9963	0,25 a 2,5	279,5
P	Espectrofotometria de absorção UV/VIS	$y=0,1083x+0,0134$	0,9950	0,5 a 5,0	660
S		$y=0,0136x+0,0026$	0,9971	5,0 a 50,0	420
K	Fotometria de chama	$y=0,0079x+0,01955$	0,9876	1,0 a 20,0	766,5
Na		$y=0,0082x+0,1758$	0,9868	1,0 a 40,0	589

Fonte: elaborada pela autora.

4.3.2.5 Determinação de polifenóis solúveis totais

O conteúdo de polifenóis solúveis totais (PST) foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (OBANDA; OWUOR, 1997) adaptado por Rufino et al. (2006).

Amostra de 1,0 g de látex bruto foi adicionada a 4,0 mL da solução de metanol (MeOH) 50%, homogeneizada e deixada em repouso por 1 h à temperatura ambiente. Posteriormente, o material foi centrifugado a 15000 rpm por 15 minutos a 27°C, e o sobrenadante recolhido. O decantado dessa extração foi ressuspensão em 4,0 mL da solução de acetona 70%, homogeneizado, deixado em repouso por 1 hora à temperatura ambiente e

centrifugado a 15000 rpm por 15 min a 27°C. O sobrenadante foi recolhido, colocado em balão volumétrico junto ao primeiro e o volume aferido para 10,0 mL com água destilada.

Em ambiente escuro, 1,0 mL do preparado foi homogeneizado com 1,0 mL da solução de Folin-Ciocalteu 1 N, 2,0 mL da solução de Na₂CO₃ 20% e 2,0 mL de água destilada. Após 30 minutos de repouso, as leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro (Varian, modelo Cary 50) a 700 nm. O conteúdo de PST foi calculado com base em uma curva padrão de doses crescentes de ácido gálico 98% (0,0 a 50,0 µg), utilizado como referência, com equação da reta $y=0,0108x+0,00005$, e coeficiente de regressão $R^2=0,9982$. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por cem gramas de látex (mg EAG/100 g de látex). A análise foi realizada em triplicata.

4.3.3 Resultados e discussões

4.3.3.1 Abordagem fitoquímica

O látex foi positivo para fenóis simples, taninos, triterpenoides e iridoides. A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos com os grupos de metabólicos pesquisados e a Figura 13, a cromatoplaça do teste de identificação de iridoides.

Tabela 13 – Resultados da abordagem fitoquímica do látex de *H. drasticus*

Pesquisa realizada	Especificações do teste	Resultado
Saponinas	Espuma persistente após a adição de HCl SR	Negativo
Auronas e chalconas	Coloração avermelhada	Negativo
Fenóis	Coloração escura	Positivo
Taninos	Coloração escura	Positivo
Alcalóides	Precipitado e/ou mudança de coloração	Negativo
Bases quaternárias	Precipitado e/ou mudança de coloração	Negativo
Quinonas	Coloração rosada a avermelhada	Negativo
Antranóis	Coloração rosada a avermelhada	Negativo
Antocianinas e antocianidinas	Cor vermelha em pH 3,0; cor lilás em pH 8,5 e cor azul-púrpura em pH 11,0	Negativo
Flavonas, flavonóis e xantonas	Coloração amarela em pH 11,0	Negativo
Flavononóis	Coloração vermelho-laranja em pH 11,0	Negativo
Leucoantocianidinas	Coloração vermelha em pH ácido	Negativo
Catequinas	Coloração pardo-amarelada em pH ácido	Negativo
Flavanonas	Coloração vermelho-laranja em pH alcalino	Negativo
Flavonóis, flavonas, flavononóis e xantonas	Coloração avermelhada	Negativo
Cardiotônicos	Coloração avermelhada	Negativo
Cumarinas	Fluorescência verde a azulada	Negativo
Esteroides	Coloração verde	Negativo
Triterpenoides	Coloração castanha	Positivo
Iridoides	Coloração verde a marrom-esverdeada	Positivo

Fonte: elaborada pela autora.

Figura 13 – Cromatoplaça do teste de identificação de iridoides no látex de *H. drasticus* (mancha marrom-esverdeada)



Fonte: da autora.

Luz et al. (2014) realizaram abordagem fitoquímica das cascas do caule de *H. drasticus* e encontraram resultados positivos para taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas, triterpenos, esteroides e cumarinas. Os autores não realizaram teste para iridoides.

A importância dos compostos triterpenoides e iridoides na terapêutica já foi exposta na seção 3. Os compostos fenólicos desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação

como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOUSA et al., 2007). Taninos, por sua vez, são compostos de natureza polifenólica, presentes na maioria das plantas, dotados de atividade anti-inflamatória, cicatrizante, antimicrobiana e antioxidante (ROBBERS; SPEDIE; TYLER, 1997).

4.3.3.2 Determinação de nitrogênio e proteínas

O látex liofilizado apresentou $0,35 \pm 0,01\%$ de nitrogênio total e $2,19 \pm 0,09\%$ de proteínas, conforme resultados expressos na Tabela 14.

Tabela 14 – Resultados da determinação das concentrações de nitrogênio (N) e proteínas no látex de *H. drasticus*

V ₂ * (mL)	N%	Proteína%
5,40	0,3387	2,1188
5,85	0,3704	2,3125
5,40	0,3387	2,1188
5,80	0,3669	2,2938
5,40	0,3387	2,1188
5,55	0,3493	2,1813
Média±D.P.	$0,35 \pm 0,01\%$	$2,19 \pm 0,09\%$

*Volume de H₂SO₄ gasto na titulação da amostra.

Fonte: elaborada pela autora.

As proteínas desempenham o papel de crescimento, manutenção e reparo de tecidos orgânicos (WOOD, 2004). Mousinho et al. (2011) mostraram que as proteínas do látex de *H. drasticus* exibem atividade antitumoral, que podem estar relacionadas ao seu efeito imunestimulante, sem toxicidade substancial.

4.3.3.3 Determinação de carboidratos

O látex bruto apresentou $0,43 \pm 0,01\%$ (4,31 mg/g) de carboidratos (Tabela 15). Silva et al. (2003), encontraram no látex de *H. sucuuba* 1,9 mg/mL (0,19%) de carboidratos no látex bruto. Em termos percentuais, *H. drasticus* possui teor de carboidratos aproximadamente duas vezes maior que o teor de *H. sucuuba*.

Tabela 15 – Resultados das análises com látex de *H. drasticus* para determinação de carboidratos

ABS ^a	Látex 1%			Látex bruto	
	C ^b (μmol/mL)	Cx180 ^c (μg/mL)	C (mg/mL)	C (g/g)	C (%)
0,340	0,246	44,3315	0,044332	0,004433	0,44
0,319	0,232	41,6949	0,041695	0,004169	0,42
0,332	0,241	43,3271	0,043327	0,004333	0,43
Média±D.P.				0,43±0,01	

^aAbsorbância; ^bConcentração; ^cPeso molecular da glicose.

Fonte: elaborada pela autora.

4.3.3.4 Determinação de minerais

Os seguintes elementos foram detectados e quantificados no látex bruto liofilizado:

Ca (7,72±0,39 mg/g); Mg (7,05±2,12 mg/g); Fe (18,83±6,63 μg/g); Cu (não quantificado); Zn (4,93±0,97 μg/g); Mn (21,55±8,56 μg/g); P (0,16±0,01 mg/g); S (10,07±1,24 mg/g); K (14,47±0,27 mg/g); e Na (10,33±0,50 mg/g).

Dentre os macroelementos doseados, os mais abundantes foram potássio, sódio e enxofre. Com relação aos microelementos, predominaram o manganês, seguido do ferro. Conforme estudos realizados por Silva et al. (2003) com *H. sucuuba*, os elementos predominantes no látex bruto foram cálcio (0,354 mg/g) e magnésio (0,250 mg/g), e estes, comparados com os obtidos no trabalho, após ajustes das concentrações para látex bruto, possuem concentrações inferiores aos encontrados no látex de *H. drasticus* (Tabela 16).

Tabela 16 – Minerais presentes no látex de espécies de *Himatanthus*: *H. drasticus* e *H. sucuuba*

Elemento	<i>H. drasticus</i>		<i>H. sucuuba</i> ^c
	Látex liofilizado	Látex bruto ^b	
Ca	7,72±0,39 mg/g	1,216 mg/g	0,354 mg/g
Mg	7,05±2,12 mg/g	1,122 mg/g	0,250 mg/g
Fe	18,83±6,63 μg/g	3,0 μg/g	4,45 μg/g
Cu	ALD ^a	ALD	0,08 μg/g
Zn	4,93±0,0,97 μg/g	0,8 μg/g	<0,01 μg/g
Mn	21,55±8,56 μg/g	3,5 μg/g	8,88 μg/g
P	0,16±0,01 mg/g	0,0253 mg/g	NR ^d
S	10,07±1,24 mg/g	1,596 mg/g	NR
K	14,47±0,27 mg/g	2,291 mg/g	0,123 mg/g
Na	10,33±0,50 mg/g	1,627 mg/g	NR

^aALD: Abaixo do Limite de Detecção; ^bA concentração de constituintes no látex bruto corresponde as suas concentrações no látex liofilizado/6,33; ^cReferência: Silva et al. (2003); ^dTeste não realizado.

Fonte: elaborada pela autora.

A massa total dos minerais doseados no látex liofilizado de *H. drasticus* foi aproximadamente 49,85 mg/g ou 4,99%. Comparando este percentual com o valor encontrado

para cinzas totais, 6,53%, há uma média de 1,5% de minerais não identificados no látex da planta.

Os minerais são de grande importância para a dieta nutricional do ser humano e de outros animais, pois desempenham funções específicas no organismo, bem como possuem propriedades farmacológicas.

O magnésio e o cálcio desempenham funções na formação de ossos, dentes e tecidos (ALMEIDA et al., 2002). A suplementação de magnésio na dieta tem auxiliado no tratamento de acidente vascular cerebral, eclampsia, osteoporose, enxaquecas, desordens do sistema imunológico e asma brônquica (ANASTASSOPOULOU; THEOPHANIDES, 2002); possui atividade anti-inflamatória, catártica e anticonvulsivante (DISCHER; MEDWICK, 2004); o cálcio é antiespasmódico, gastroprotetor e analgésico (CALLAHAN, 2004).

O enxofre possui efeito fungicida e catártico (DISCHER; MEDWICK, 2004) e a associação do potássio com o sódio, regulariza os batimentos cardíacos, agindo também no funcionamento do sistema muscular (ALMEIDA et al., 2002). O potássio possui efeito diurético e o sódio, devido a propensão em promover retenção de água nos tecidos, deve ser empregado com cautela (indivíduos hipertensos) (DISCHER; MEDWICK, 2004).

Zinco e manganês servem como ativadores essenciais em uma série de reações metabólicas catalisadas por enzimas, sendo, portanto, elementos importantes para a reprodução e crescimento (BURTON, 1979). O manganês possui ação antimicrobiana (DISCHER; MEDWICK, 2004) e o zinco está relacionado com as células do sistema imune, incluindo atividade das células T-Helper, desenvolvimento de linfócitos T-citotóxicos, hipersensibilidade retardada, proliferação de linfócitos T, produção de interleucina-2 e morte programada de células de origem mieloide e linfoide (MAFRA; COZZOLINO, 2004).

O ferro, por fazer parte de moléculas do sangue como hemoglobina e mioglobina, é um nutriente indispensável no transporte de oxigênio e respiração celular (BURTON, 1979).

4.3.3.5 Determinação de polifenóis solúveis totais

A amostra de látex bruto apresentou $394,97 \pm 16,30$ mg EAG/100 g de látex ou $0,39 \pm 0,02\%$ de polifenóis (Tabela 17).

Tabela 17 – Resultados das análises com látex bruto de *H. drasticus* para determinação de polifenóis solúveis totais

ABS ^a	Cp ^b (µg)	P ^c (g)	P ^d (g)	Cp ^e (mg/100 g)	Cp (%)
0,473	43,80	1,0611	0,01061	412,78	0,41
0,430	39,85	1,0465	0,01047	380,79	0,38
0,442	40,95	1,0464	0,01046	391,34	0,39
Média±D.P.				394,97±16,30	0,39±0,02

^aAbsorbância; ^bConcentração de polifenóis na alíquota de 0,1 mL de solução da amostra a 10% (1,0 g em 10,0 mL); ^cMassa da amostra pesada; ^dMassa da amostra na alíquota de 0,1 mL (100,0 µL); ^eConcentração de polifenóis expressa em mg de equivalente de ácido gálico/100 g de látex.

Fonte: elaborada pela autora.

Segundo dados obtidos por Gallice, Messersch e Zamora (2011) em amostras de vinho tinto, a concentração de polifenóis em 47 amostras variaram de 0,97 (0,097%) a 2,91 g/L (0,291%), com valor médio de 1,91 g/L (0,19%). Assim, verificou-se que mesmo sendo o vinho tinto um dos produtos com maior teor de compostos fenólicos, os resultados com o látex bruto foram superiores em cerca de duas vezes ao valor médio. Não foram encontrados na literatura dados relativos a polifenóis extraíveis totais do látex de espécies do gênero *Himatanthus*.

**4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DE
*H. drasticus***

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana de *H. drasticus*

Diversas razões justificam a necessidade urgente por novos agentes antibióticos, tais como: doenças infecciosas são a segunda maior causa de mortalidade do mundo; e existem altas taxas de resistência microbiana. Diante desses problemas, algumas das alternativas de solução tem sido a modificação química da estrutura dos antibióticos já existentes na tentativa de torná-los mais eficientes; e, principalmente, a busca de novos fármacos a partir de recursos naturais (SOUZA, 1998; GUIMARÃES et al., 2010).

Há estudos de avaliação de atividade antimicrobiana relacionados ao látex das espécies *H. succuba* e *H. articulatus* (SILVA et al., 2010; SEQUEIRA et al., 2009). O primeiro empregou compostos isolados do látex e o segundo, o látex bruto. *H. articulatus* apresentou uma boa atividade antimicrobiana contra cepa de *Candida albicans* na concentração de 0,5 mg de látex/disco (SEQUEIRA et al., 2009). Em adição, são conhecidas as atividades antimicrobianas de compostos comumente encontrados no gênero *Himatanthus*: triterpenos (RIVERO-CRUZ et al., 2008; SHAI et al., 2008; AHMED et al., 2010; EL-HAGRASSI et al., 2011; JABEEN et al., 2011; SALEEM; SIDDIQUE, 2011) e iridoides (TIWARI; PANDEY; DUBEY, 2002; TUNDIS et al., 2008). Assim, foram avaliadas as atividades antimicrobianas do látex e suas frações extrativas obtidas por partição.

4.4.1 Amostras

Látex 1:4 (v/v) (2,5 L).

4.4.2 Metodologia

4.4.2.1 Atividade antimicrobiana

4.4.2.1.1 Preparo das amostras

Dois volumes de um litro (1,0 L) de suspensão aquosa de látex 1:4 (v/v) foram submetidos, separadamente, à extração por partição com os solventes n-hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt em ordem crescente de polaridade. Para cada solvente foram feitas quatro extrações de 400,0 mL cada. Após separação das fases orgânicas, os solventes foram evaporados por pressão

reduzida em aparelho rotaevaporador.

Ao final obteve-se as seguintes frações secas: hexânica (0,6379 g), CH₂Cl₂ (11,0118 g) e AcOEt (0,5810 g). Todas as frações foram acondicionadas em frascos âmbar e conservadas sob refrigeração a 5°C até o momento do uso.

4.4.2.1.2 Micro-organismos

Foram utilizadas as seguintes cepas padrões de micro-organismos ATCC (*American Type Culture Collection*): *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Candida albicans* (ATCC 26790).

4.4.2.1.3 Preparo dos inóculos

As cepas padrões utilizadas nos testes foram reativadas por três repiques sucessivos; e os inóculos destes micro-organismos em fase logarítmica de crescimento foram obtidos preparando-se suspensões diretas em solução salina padronizadas de acordo com a escala 0,5 de MacFarland.

4.4.2.1.4 Preparo dos discos de papel de filtro

Foram utilizados discos estéreis de papel de filtro com seis milímetros (6,0 mm) de diâmetro. Estes foram impregnados com as frações extrativas hexânica, CH₂Cl₂ e AcOEt diluídas nos respectivos solventes extratores na concentração de 200,0 mg/mL. O volume final das frações em cada disco foi de 50,0 µL obtido após cinco aplicações de 10,0 µL (carga de 10,0 mg por disco), seguidas da evaporação do solvente em estufa a 36°C. Foram preparados discos com a amostra de látex 1:4 (50,0 µL) e amostra de SEAcOEt (200 mg/mL em AcOEt; carga de 10,0 mg por disco). Discos impregnados com os solventes extratores foram utilizados como controle negativo.

4.4.2.1.5 Método de difusão

Para a avaliação da atividade antimicrobiana das frações extrativas foi utilizado o método de difusão em discos de papel, de acordo com os critérios do CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*), antigo NCCLS (NCCLS, 2004), modificado para as frações obtidas.

As suspensões dos micro-organismos foram semeadas com swab (DME) estéril na superfície do ágar Muller-Hinton (Merck) em placa Petri. Para *Candida albicans*, o ágar sabouraud dextrose (Merck), específico para o crescimento de fungos, foi empregado. Após a semeadura, os discos de papel de filtro contendo as amostras das frações em estudo foram aplicadas com o auxílio de uma pinça estéril. Discos contendo apenas os solventes de extração foram utilizados como controle negativo da atividade e, como não existe padronização do teste de difusão para as frações extrativas, antimicrobianos normalmente utilizados nos testes de avaliação da sensibilidade bacteriana e fúngica a drogas, específicos para os micro-organismos testados, foram utilizados como controle das condições de realização do teste. Como controle positivo para bactérias foi utilizado o disco de cloranfenicol (30,0 µg) e para fungos, o disco de nistatina (100,0 µg).

Após 18 h de incubação a 36°C, foi verificada a atividade antimicrobiana por meio da medida do diâmetro dos halos de inibição do crescimento microbiano em torno dos discos com uma régua. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em milímetros (mm) por meio da média aritmética do diâmetro dos halos de inibição em torno dos discos e cálculo do desvio padrão (D.P.).

Foram considerados ativos os extratos que originaram halos de inibição com diâmetros iguais ou superiores a oito milímetros (8,0 mm). Como os discos apresentam um diâmetro de 6,0 mm, halos menores do que 8,0 mm foram considerados insignificantes nas concentrações testadas.

4.4.2.1.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), foi empregada metodologia adotada por Sequeira et al. (2009) com modificações. Preparou-se uma solução da fração AcOEt na concentração de 200,0 mg/mL e o micro-organismo testado foi *Candida albicans* (ATCC 26790). Os demais micro-organismos não foram testados devido ao pequeno rendimento da fração acetato de etila.

O preparo do inóculo e do meio para difusão dos discos foram realizados conforme descrito anteriormente. Discos estéreis de papel de filtro (6,0 mm de diâmetro) foram impregnados com a solução da fração AcOEt dissolvida em AcOEt nos volumes de 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; e 50,0 μ L, sendo assim obtidos discos com concentrações diferentes da referida fração com cargas de 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10,0 mg/disco, respectivamente. Discos impregnados com AcOEt foram utilizados como controle negativo e o disco de nistatina (100,0 μ g), como controle positivo.

Foi considerada como CIM, a menor concentração da fração capaz de inibir completamente o crescimento fúngico, ou seja, apresentar halo igual ou superior a 8,0 mm. Os testes foram realizados em duplicata.

4.4.3 Resultados e discussões

4.4.3.1 Atividade antimicrobiana

De acordo com a Tabela 18, a fração extrativa em acetato de etila apresentou halo de inibição de $19,0 \pm 0,5$ mm de diâmetro contra cepa de *S. aureus*; $12,5 \pm 0,7$ mm de diâmetro contra cepa de *P. aeruginosa*; $13,0 \pm 0,7$ mm de diâmetro contra cepa de *E. coli* e $15,0 \pm 0,0$ mm de diâmetro contra cepa de *C. albicans*. Esta amostra foi a única ativa contra as cepas testadas, ou seja, o látex (1:4 v/v), as demais frações da partição e o SEAcOEt não apresentaram atividade contra as cepas testadas.

Tabela 18 – Atividade antimicrobiana das frações extrativas obtidas do látex de *H. drasticus*

Micro-organismos	Média do diâmetro do halo de inibição (mm) \pm desvio padrão					
	Látex 1:4	SEAcOEt (200,0 mg/mL)	Frações extrativas (200,0 mg/mL)			Controle*
			Hexano	CH ₂ Cl ₂	AcOEt	C+
<i>Staphyococcus aureus</i>	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	19,0 \pm 0,5	39,0 \pm 0,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	12,5 \pm 0,7	22,1 \pm 0,6
<i>Escherichia coli</i>	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	13,0 \pm 0,7	33,0 \pm 1,0
<i>Candida albicans</i>	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	15,0 \pm 0,0	25,0 \pm 0,0

*C+ = Controle positivo. Discos de controle negativo foram inativos.

Fonte: elaborada pela autora.

Os resultados, em termos de valor da CIM para Fr.AcOEt contra *C. albicans*, estão expressos na Tabela 19 e visualizados na Figura 14.

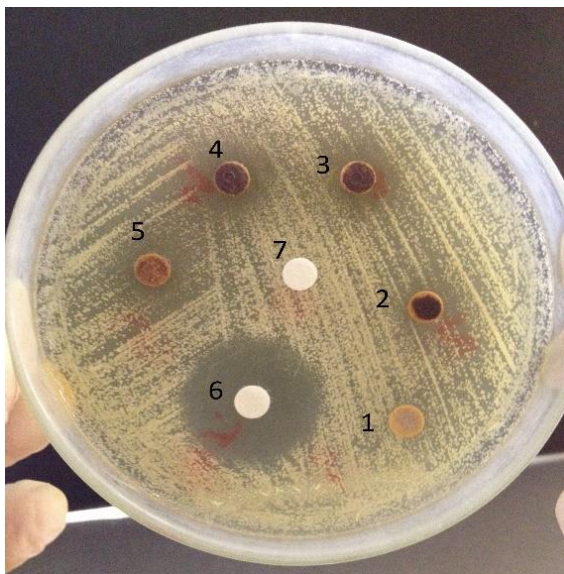
Tabela 19 – Valores médios dos halos de inibição (mm) da avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) da fração em acetato de etila do látex de *H. drasticus* contra *Candida albicans*

Concentração da fração (mg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)
2,0 mg/disco	Não formou halo
4,0 mg/disco	5,0 \pm 0,7
6,0 mg/disco	10,0 \pm 0,0
8,0 mg/disco	14,0 \pm 1,4
10,0 mg/disco	15,0 \pm 0,0
Nistatina (100,0 μ g)*	25,0 \pm 0,0

*Controle positivo.

Fonte: elaborada pela autora.

Figura 14 – Atividade antimicrobiana de CIM da fração em acetato de etila do látex de *H. drasticus* contra *Candida albicans*. 1: 2,0 mg/disco (não formou halo); 2: 4,0 mg/disco (halo de 0,5 mm); 3: 6,0 mg/disco (halo de 10,0 mm); 4: 8,0 mg/disco (halo de 14,0 mm); 5: 10,0 mg/disco (halo de 15,0 mm); 6: Controle positivo - Nistatina 100,0 µg (halo de 25,0 mm); 7: Controle negativo – Acetato de etila (não formou halo)



Fonte: da autora.

Observou-se que a fração AcOEt apresentou CIM de 6,0 mg/disco contra a cepa de *C. albicans*, formando um halo de 10,0 mm de diâmetro. Sequeira et al. (2009), também utilizando o método de difusão em discos de papel (Kirby-Bauer) a partir do látex liofilizado diluído em metanol de *H. articulatus* prepararam discos com carga de 0,5 mg de látex/disco e obtiveram um halo de inibição de 14,0 mm contra *C. albicans*. Comparando estes resultados, o látex bruto de *H. articulatus* mostrou-se bem mais ativo que a fração extrativa de *H. drasticus*.

Estudos fitoquímicos realizados com látex de *H. bracteatus* e *H. stenophyllus* determinaram a presença de iridoides em frações mais polares (FERREIRA et al., 2009). Morel et al. (2006) realizaram avaliação de atividade antimicrobiana dos iridoides alamandina e plumericina, presentes em raízes de *H. sucuuba*, contra cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, dentre outros micro-organismos, onde as referidas substâncias foram ativas contra todos os micro-organismos testados. Assim, o efeito antimicrobiano da fração AcOEt pode estar relacionado à presença de iridoides no látex de *H. drasticus*.

**4.5 ISOLAMENTO,
IDENTIFICAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE
METABÓLITOS SECUNDÁRIOS
DE *H. drasticus***

4.5 Isolamento, identificação e quantificação de metabólitos secundários de *H. drasticus*

Esta etapa foi realizada a partir das SEAcOEt (substâncias extraíveis por AcOEt), por apresentar bom rendimento a partir do látex 1:4 (v/v). Foram empregados métodos cromatográficos clássicos e para quantificação, a ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN ^1H).

4.5.1 *Material vegetal*

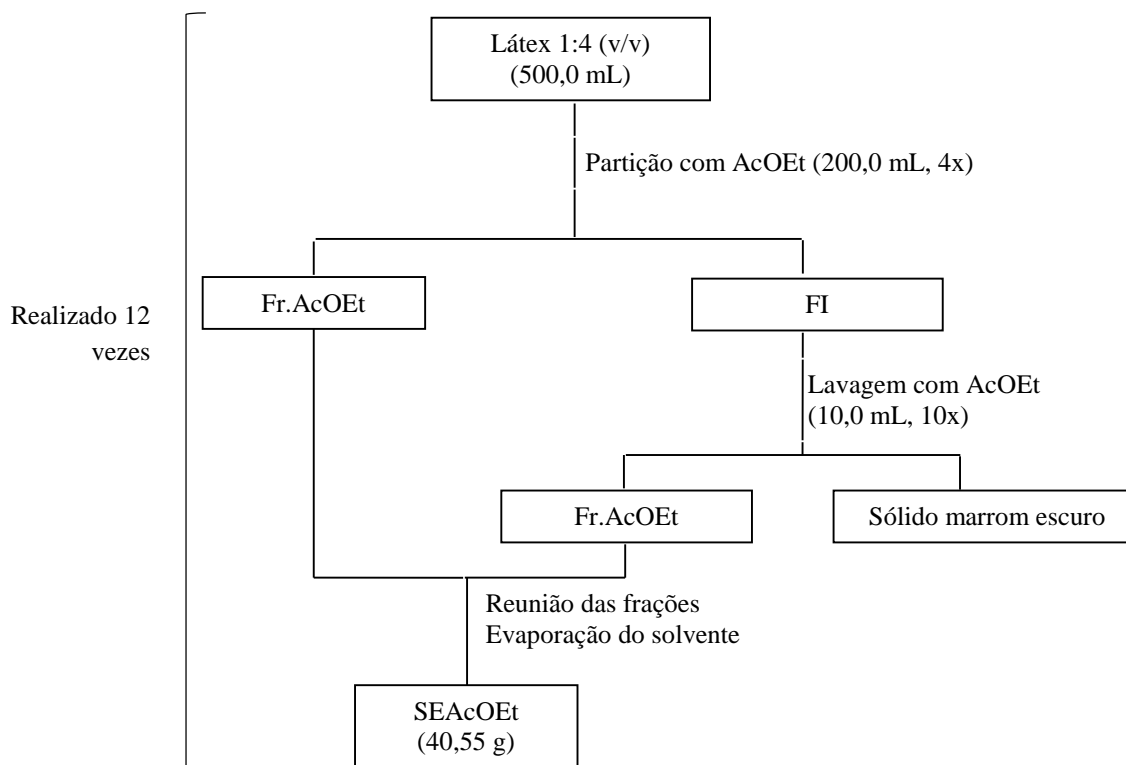
Foram utilizados 6,0 L de látex 1:4 (v/v).

4.5.2 *Metodologia*

4.5.2.1 *Obtenção de SEAcOEt*

Doze alíquotas de 500,0 mL de látex 1:4 (v/v) foram submetidas à extração por partição em AcOEt. Na partição de cada alíquota foram utilizados volumes de 200,0 mL de AcOEt, sendo o processo repetido por quatro vezes. Houve a formação de fases intermediárias (FIs) durante as extrações que foram separadas e submetidas a lavagens com AcOEt (10x10,0 mL cada), onde estas novas frações foram reunidas à Fr.AcOEt inicial. Após evaporação do AcOEt em aparelho rotaevaporador, o resíduo extrativo se apresentou como um pó de coloração castanha (40,55 g) (Fluxograma 5).

Fluxograma 5 – Obtenção das substâncias extraíveis por AcOEt (SEAcOEt) a partir do látex de *H. drasticus* 1:4 (v/v)



Fonte: elaborado pela autora.

4.5.2.2 Testes químicos preliminares de SEAcOEt

Para identificação de fenóis e triterpenos utilizou-se a metodologia descrita por Matos (1997), com adequações para o preparo das amostras. Para o teste de fenóis, pesou-se 0,01 g de SEAcOEt que foi dissolvido em 1,0 mL de mistura de EtOH:AcOEt (1:1); para o teste de triterpenos, pesou-se 0,01 g de SEAcOEt que foi dissolvido em 1,0 mL de AcOEt.

O teste para iridoides foi realizado conforme metodologia descrita anteriormente.

4.5.2.3 Isolamento e determinação estrutural dos metabólitos secundários

Uma cromatografia em coluna (CC) foi feita com 8,27 g de SEAcOEt pulverizado com 2,0 g de gel de sílica e colocado sobre 80,0 g de gel de sílica (Si 60-Merck; 0,063–0,200 mm) em coluna de vidro (10,5 cm de comp. x 2,0 cm de diâmetro interno) empacotada com n-hexano. A eluição foi realizada com os solventes n-hexano, diclorometano (CH_2Cl_2), AcOEt e MeOH puros e em misturas binárias com grau de polaridade crescente. Foram coletadas 120 frações de 50,0 mL cada. Os resultados estão contidos na Tabela 20.

Tabela 20 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt

Eluente	Fração
n-Hexano	1-18
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (9,7:0,3)	19-70
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (9,5:0,5)	71-87
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (7,5:2,5)	88-98
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (5:5)	99-105
CH ₂ Cl ₂	106-109
AcOEt	110-113
MeOH	114-120

Fonte: elaborada pela autora.

As frações Fr.100-113, após análise por CCD (fase móvel CHCl₃; revelador UV- λ 254 nm e vapores de iodo) foram reunidas (6,53 g) e fracionadas por CCD preparativa (CCDP), sob as mesmas condições, exceto revelação por vapores de iodo. Na revelação por UV foi utilizado um equipamento modelo UVSL-25 da Mineral Light com dois comprimentos de onda (λ 254 e 366 nm). Na CCD foram empregadas cromatofolhas Merck (Si 60 F254, 0,2 mm de espessura) e na CCDP, placas com aproximadamente 2,0 mm de espessura de sílica Merck (Si 60 F254), preparadas manualmente.

Obteve-se ao final 829,1 mg (10,03% p/p) de um sólido amorfo branco (HD-1) (p.f.=111-120°C, R_f=0,68, fluorescente em UV) e 172,1 mg (2,08% p/p) de sólido amorfo de cor amarelada (HD-2) (p.f.=186-195°C, R_f=0,58, não fluorescente em UV). Estes dados estão expressos na Tabela 21 e o procedimento para obtenção de HD-1 e HD-2 a partir de SEAcOEt está expresso no Fluxograma 6. O ponto de fusão foi determinado em aparelho digital MQAPF-302, Microquímica Equipamentos Ltda.

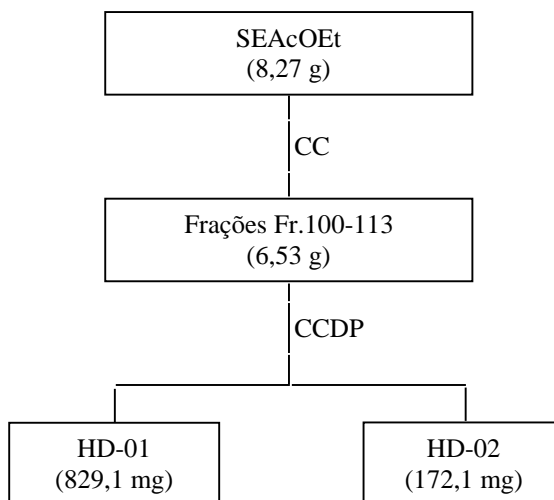
Tabela 21 – Dados referentes às substâncias isoladas da fração Fr.100-113 resultante do fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt

Substância	Características	Massa	Rendimento ^a (p/p)	p.f. ^b	R _f ^c	Revelação CCD
HD-1	Sólido amorfo branco	829,1 mg	10,03%	111- 120°C	0,68	Fluorescente em UV
HD-2	Sólido amorfo amarelado	172,1 mg	2,08%	186- 195°C	0,58	Não fluorescente em UV

^aRendimento (% p/p) em relação a SEAcOEt; ^bPonto de fusão; ^cFator de retenção das amostras em cromatografia de camada delgada.

Fonte: elaborada pela autora.

Fluxograma 6 – Processo de obtenção de HD-1 e HD-2 a partir de SEAcOEt por cromatografia em camada delgada preparativa



Fonte: elaborado pela autora.

Uma segunda CC foi realizada com 30,5 g de SEAcOEt misturados com 8,0 g de sílica gel, homogeneizados em gral de porcelana e colocados sobre 177,0 g de gel de sílica (Si 60-Merck; 0,063–0,200 mm), em coluna de vidro (40,0 cm de comp.x4,5 cm de diâmetro interno) empacotada com n-hexano. A eluição foi realizada com os solventes n-hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH, puros e em misturas binárias com grau de polaridade crescente. Foram obtidas 145 frações de 50,0 mL cada. Os resultados estão contidos na Tabela 22.

Tabela 22 – Dados referentes ao segundo fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt

Eluente	Fração
n-Hexano	1-29
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (8:2)	30-39
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (6:4)	40-49
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (4:6)	50-59
n-Hexano:CH ₂ Cl ₂ (2:8)	60-69
CH ₂ Cl ₂	70-81
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (8:2)	82-89
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (6:4)	90-99
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (4:6)	100-109
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (2:8)	110-115
AcOEt	116-119
AcOEt:MeOH (8:2)	120-124
AcOEt:MeOH (6:4)	125-130
AcOEt:MeOH (4:6)	131-134
AcOEt:MeOH (2:8)	135-139
MeOH	140-145

Fonte: elaborada pela autora.

As frações Fr.5 a 40 (29,101 g) se apresentaram como sólido amorfo branco, correspondente a 95,41% de SEAcOEt. Após análise por CCD (fase móvel CHCl₃; revelação

com vapores de iodo) algumas destas frações foram reunidas conforme perfil cromatográfico idêntico. As frações Fr.5 (0,340 g) e 39-40 (0,683 g) foram submetidas a recristalização com MeOH e resultaram, respectivamente em 56,0 mg (0,18% p/p; p.f.=132,3-134,3°C) e 598,0 mg (1,96% p/p; p.f.=174-176,6°C) de sólido amorfo branco (Tabela 23). As referidas frações foram positivas para triterpenos conforme teste descrito anteriormente na abordagem fitoquímica.

Tabela 23 – Dados referentes às frações resultantes do segundo fracionamento cromatográfico em coluna de SEAcOEt

Substância	Características	Massa	Rendimento ^a (p/p)	p.f. ^b
Fr.5	Sólido amorfo branco	56,0 mg	0,18%	132,3-134,30°C
Fr.39-40	Sólido amorfo branco	598,0 mg	1,96%	174,0-176,6°C

^aRendimento (% p/p) em relação a SEAcOEt; ^bPonto de fusão.

Fonte: elaborada pela autora.

As substâncias codificadas como HD-1, HD-2 (Tabela 23), Fr.5 e Fr.39-40 (Tabela 25) foram identificadas com base nos dados espectrais de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1 (RMN ¹H) e Carbono-13 (RMN ¹³C). Estes espectros foram registrados em espectrômetros Bruker, modelos DPX-300 e DRX-500, operando a 300 e 500 MHz para hidrogênio-1 (RMN ¹H) e 75 e 125 MHz para carbono-13 (RMN ¹³C), respectivamente. O solvente utilizado na dissolução das amostras foi clorofórmio deuterado (CDCl₃). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e foram referenciados para RMN ¹H pelo pico de hidrogênio pertencente à fração não deuterada do clorofórmio deuterado (δ_H 7,24) e para RMN ¹³C-BB (*broad band*), pelo pico do carbono-13 do mesmo (δ_C 77,0). As multiplicidades das bandas em RMN ¹H foram indicadas segundo convenção: *s* (simpleto), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete), *q* (quarteto) e *m* (multiplete). O TMS (tetrametilsilano) foi utilizado como padrão interno destas análises.

4.5.2.4 Determinação da concentração dos triterpenos em SEAcOEt por RMN ¹H

O método utilizado foi baseado em um princípio da ressonância no qual a intensidade integrada do sinal no espectro de RMN ¹H é proporcional ao número de núcleos responsáveis por essa ressonância em particular, como também à concentração molar da substância geradora daquele sinal (BHARTI; ROY, 2012; PAULI et al., 2013).

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento Agilent DD2 de 600 MHz (para núcleo de ¹H) e equipado com uma sonda One Probe de 5,0 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P) de detecção inversa e gradiente de campo no eixo “z”.

O equipamento foi previamente calibrado com concentração conhecida de solução de sacarose de pureza analítica. Deste modo, o sinal do hidrogênio anomérico da sacarose (δ_H 5,42) foi integrado e informado ao equipamento que esta integral é relativa a concentração conhecida de sacarose. Assim, ao integrar um sinal de amostra desconhecida, o equipamento calcula a concentração utilizando o valor de calibração da sacarose.

Para realizar a quantificação, o pulso de 90° foi calibrado e a sonda, devidamente sintonizada. Inicialmente a sequência de pulsos de inversão-recuperação foi utilizada para estimar o tempo de relaxação dos núcleos amostrais. O valor encontrado foi distribuído entre o d1 (tempo de espera para relaxação dos núcleos) e o tempo de aquisição (AQ). Assim, os espectros unidimensionais de 1H foram adquiridos com um tempo de espera entre cada aquisição de 25 s a 35 s, AQ de 5,01 s, ganho de 30 dB, 16 transientes, em uma janela espectral de 22 ppm e 32 k de número de pontos reais a 26°C.

Os cálculos da concentração (mmol/L) foram realizados automaticamente pelo *software* VnmrJ 4.0, utilizando a proporcionalidade do sinal de interesse e o sinal do hidrogênio da sacarose, o padrão externo.

Na quantificação foram utilizados 5,1 mg de SEAcOEt dissolvido em 700,0 μ L de clorofórmio deuterado. A concentração de cada um dos triterpenos foi dada conforme fórmula abaixo:

$$M_1 \text{ (g/L)} = C \cdot 10^{-3} \text{ (mol/L)} \times M \text{ (g/mol)}$$

Onde:

M = massa molar do composto.

M_1 = massa em g do composto em 1 L de solução.

Os triterpenos cinamato de α -amirina (**6**) e cinamato de lupeol (**4**) possuem $M=556,86$ g/mol; e acetato de lupeol (**1**), $M=468,75$ g/mol.

Para calcular a massa em mg (M_2) em 700,0 μ L, empregou-se as fórmulas abaixo:

$$M_2 = M_1 \text{ (g/L)} \times 0,7 \cdot 10^{-3} \text{ (L)}$$

$$M_2 = M_1 \times 0,7 \text{ (mg)}$$

A análise foi realizada em triplicata.

4.5.3 Resultados e discussões

4.5.3.1 Identificação dos compostos químicos de SEAcOEt

4.5.3.1.1 Testes químicos qualitativos

SEAcOEt apresentou teste positivo para fenóis, triterpenos e iridoides. Neste caso, como fenóis considera-se os taninos e os fenóis simples.

4.5.3.1.2 Determinação estrutural dos compostos isolados

Determinação estrutural de HD-1

No espectro de RMN de ^1H de HD-1 (Figura 15) observaram-se sinais na região δ_{H} 7,38 e 7,54 características de hidrogênios aromáticos; e sinais em δ_{H} 7,66 (1H, d, $J=17,5$ Hz) e 6,47 (1H, d, $J=17,5$ Hz) que confirmam a presença de hidrogênios olefínicos (*trans* posicionados) do grupo $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CHCO}_2$. A carbonila deste grupo foi evidenciada no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 16) pelo sinal em δ_{C} 167,02. Na região das olefinas foram observados dois pares de sinais, δ_{CH} 124,54 e δ_{C} 139,84, referentes aos carbonos C-12 e C-13, respectivamente, típicos de esqueleto triterpênico ursano (PAULETTI et al., 2002). O sinal tripleto largo com integração para um hidrogênio em δ_{H} 5,15 caracteriza o hidrogênio vinílico H-12.

As Tabelas 24 e 25 mostram os deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C de HD-1 em comparação aos descritos na literatura para cinamato de α -amirina (SILVA et al., 1998). De acordo com os valores tabelados, na substância HD-1 pode-se identificar o cinamato de α -amirina (5).

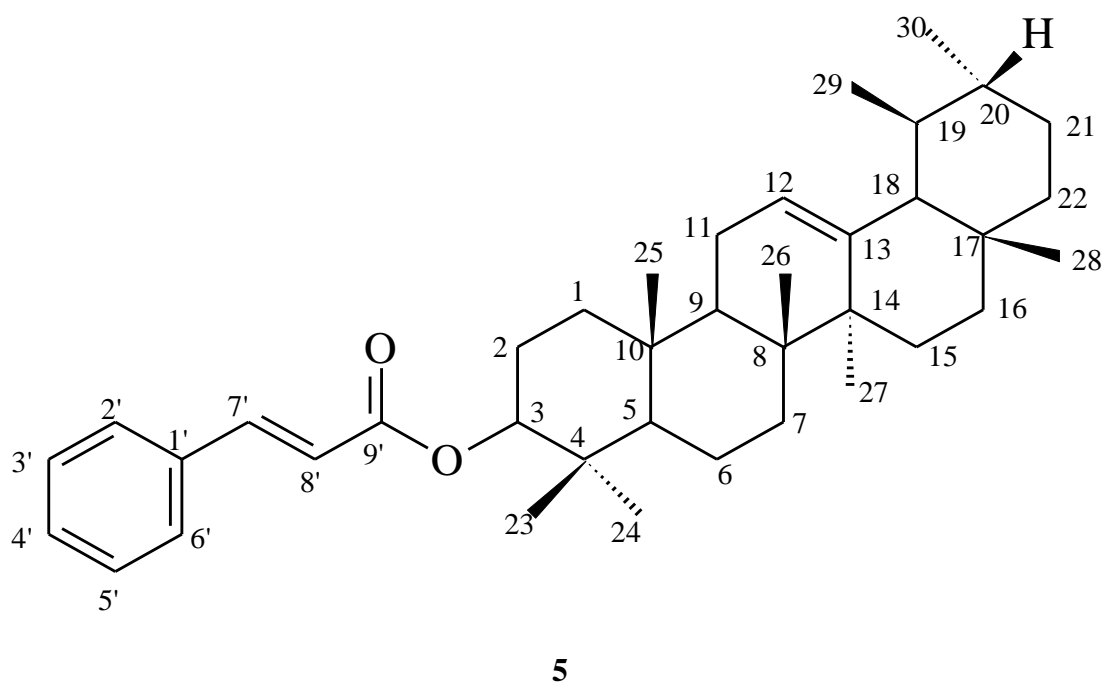
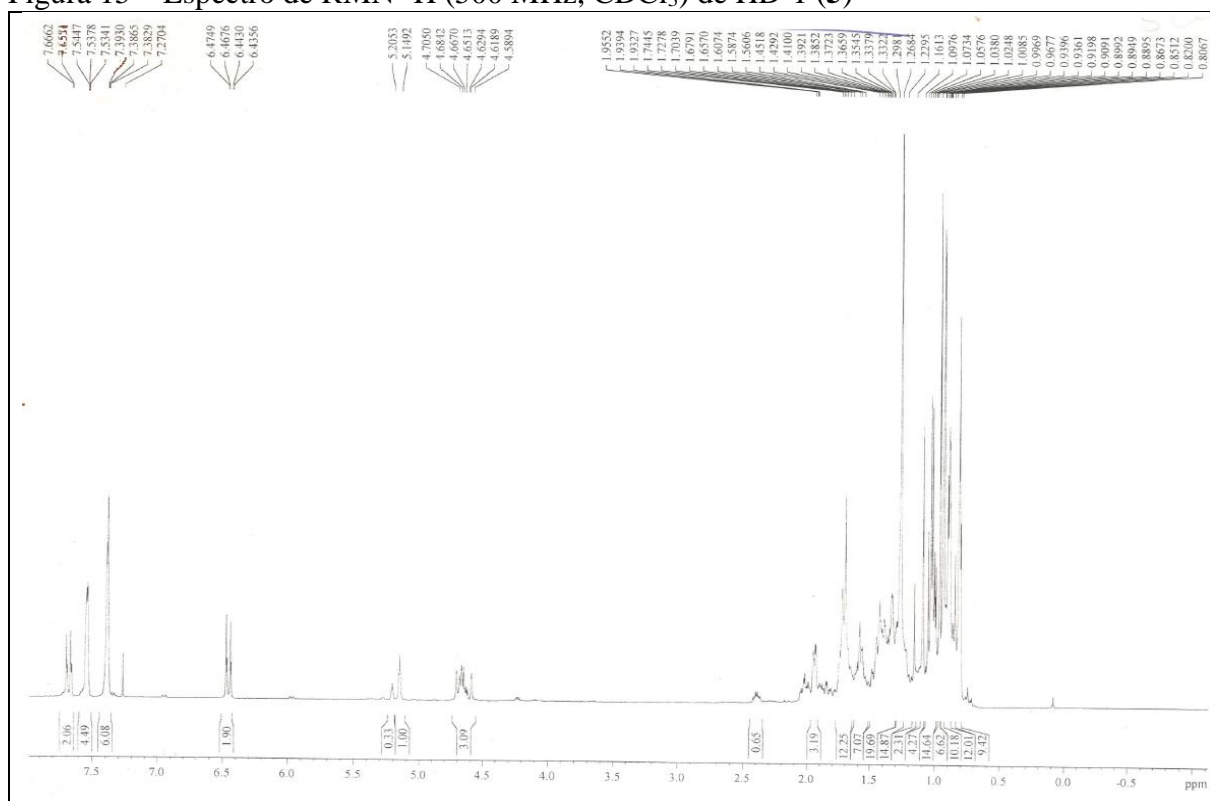
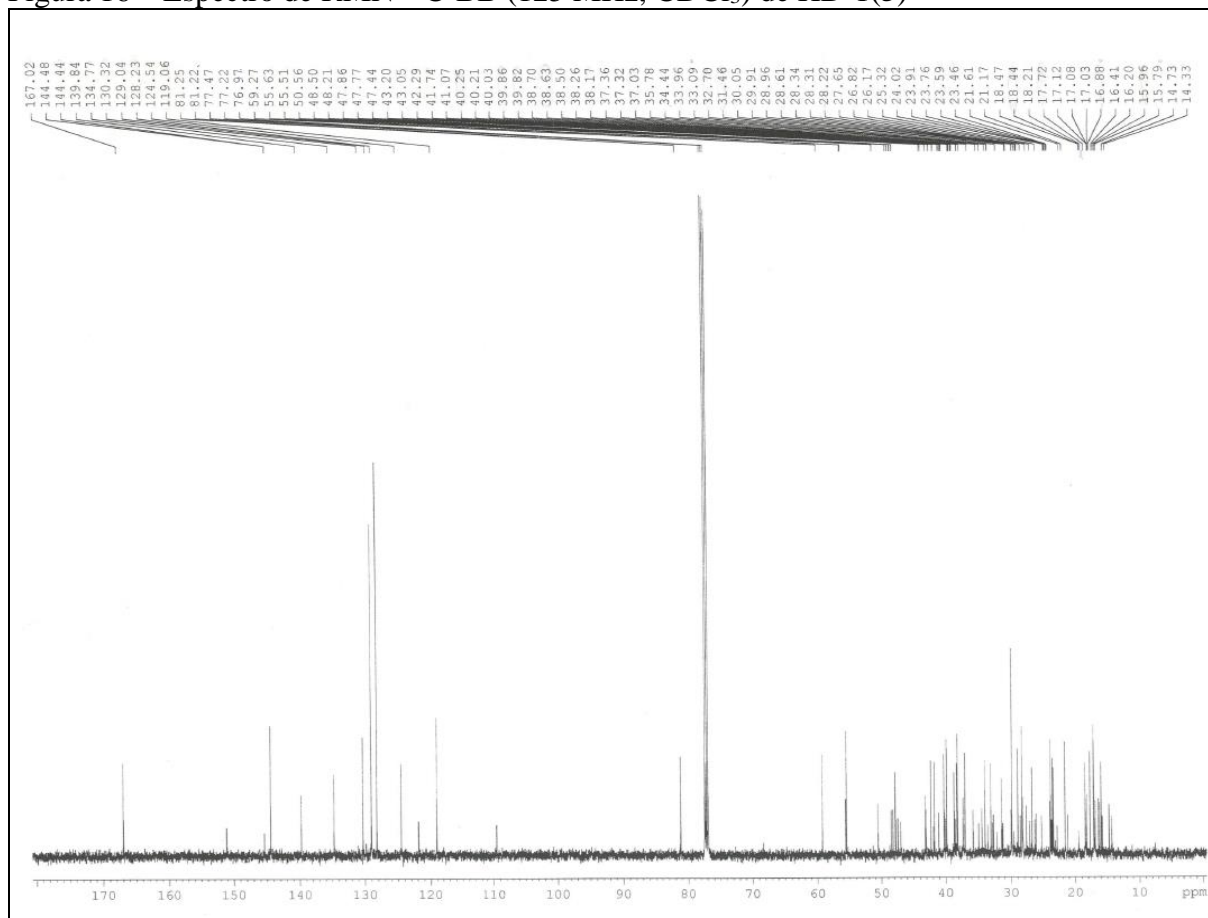


Figura 15 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de HD-1 (5)



Fonte: da autora.

Figura 16 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de HD-1(5)


Fonte: da autora.

Tabela 24 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H do composto HD-1 (5) com dados descritos na literatura para cinamato de α -amirina, deslocamento químico em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

Hidrogênio	HD-1 (6) (500 MHz, CDCl_3)	Cinamato de α -amirina* (300 MHz, CDCl_3)
3	4,65 (1H)	4,65 (1H)
12	5,15 (1H, t, $J=2,6$ Hz)	5,14 (1H, t, $J=3,4$ Hz)
7'	7,66 (1H, d, $J=17,5$ Hz)	7,65 (1H, d, $J=16,0$ Hz)
8'	6,47 (1H, d, $J=17,5$ Hz)	6,48 (1H, d, $J=16,0$ Hz)
Ar-H	7,38-7,54 (5H, m)	7,35-7,55 (5H, m)

*Referência: Silva et al. (1998).

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 25 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^{13}C do composto HD-1 (5) com dados descritos na literatura para cinamato de α -amirina, deslocamento químico em ppm

Carbono	HD-1 (6) (125 MHz, CDCl_3)	Cinamato de α -amirina* (75,25 MHz, CDCl_3)
1	38,63	38,6
2	23,59	23,6
3	81,25	81,2
4	38,17	38,1
5	55,51	55,5
6	18,44	18,4
7	32,70	32,8
8	40,25	40,2
9	47,86	47,8
10	37,03	37,0
11	17,72	17,7
12	124,54	124,5
13	139,84	139,8
14	42,29	42,3
15	28,61	28,6
16	26,82	26,8
17	33,96	33,9
18	59,27	59,2
19	39,86	39,8
20	39,82	39,8
21	31,46	31,3
22	41,74	41,7
23	28,22	28,2
24	16,88	16,8
25	15,96	15,9
26	16,88	16,8
27	23,46	23,4
28	28,22	28,1
29	23,46	23,4
30	21,61	21,6
1'	134,77	134,7
2'	128,23	128,2
3'	129,04	129,0
4'	130,32	130,3
5'	129,04	129,0
6'	128,23	128,2
7'	144,4	144,4
8'	119,06	119,0
9'	167,02	167,0

*Referência: Silva et al. (1998).

Fonte: elaborada pela autora.

Determinação estrutural de HD-2

O espectro de RMN de ^1H de HD-2 (Figura 17) mostrou sinais entre δ_{H} 0,73-0,98 e 1,63 característicos de grupos metila em carbono não hidrogenado de triterpenoides, sendo este último, ligado a carbono sp^2 , além de um duplete em δ_{H} 4,69 e um multiplete em δ_{H} 4,57, atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios vinílicos H-29b e H-29a em triterpenoide de esqueleto lupano. O sinal em δ_{H} 2,04 é característico de grupo acetila, confirmado pelo sinal em δ_{C} 171,22 de carbonila. Os sinais em δ_{C} 151,15 e δ_{CH_2} 109,57 são característicos dos carbonos C-20 e C-29 da dupla terminal do esqueleto lupano (Figura 18) (COSTA et al., 2010).

As Tabelas 26 e 27 mostram os deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C de HD-2, respectivamente, em comparação aos descritos na literatura para acetato de lupeol (SILVA et al., 1998). De acordo com os valores tabelados, a substância HD-2 foi identificada como acetato de lupeol (1).

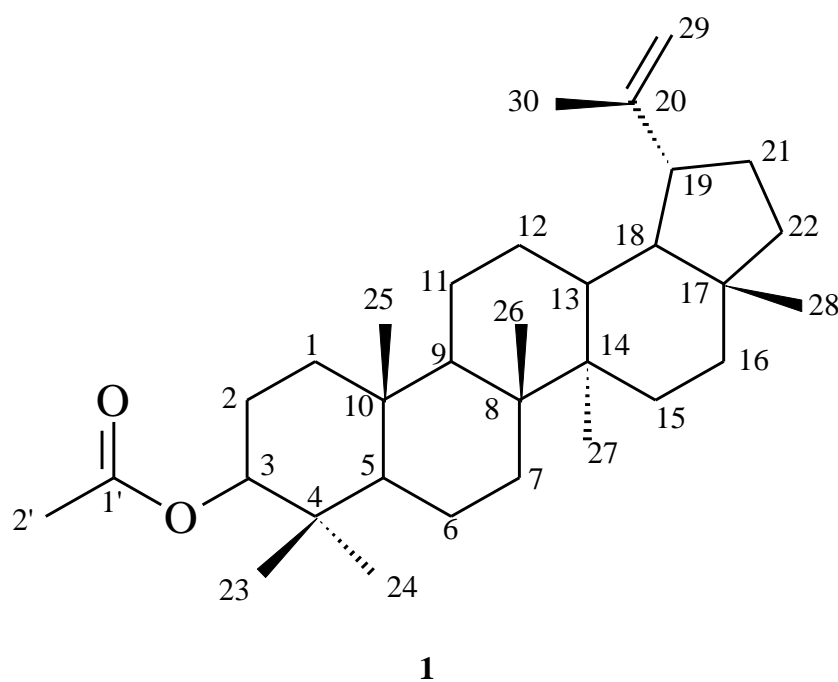
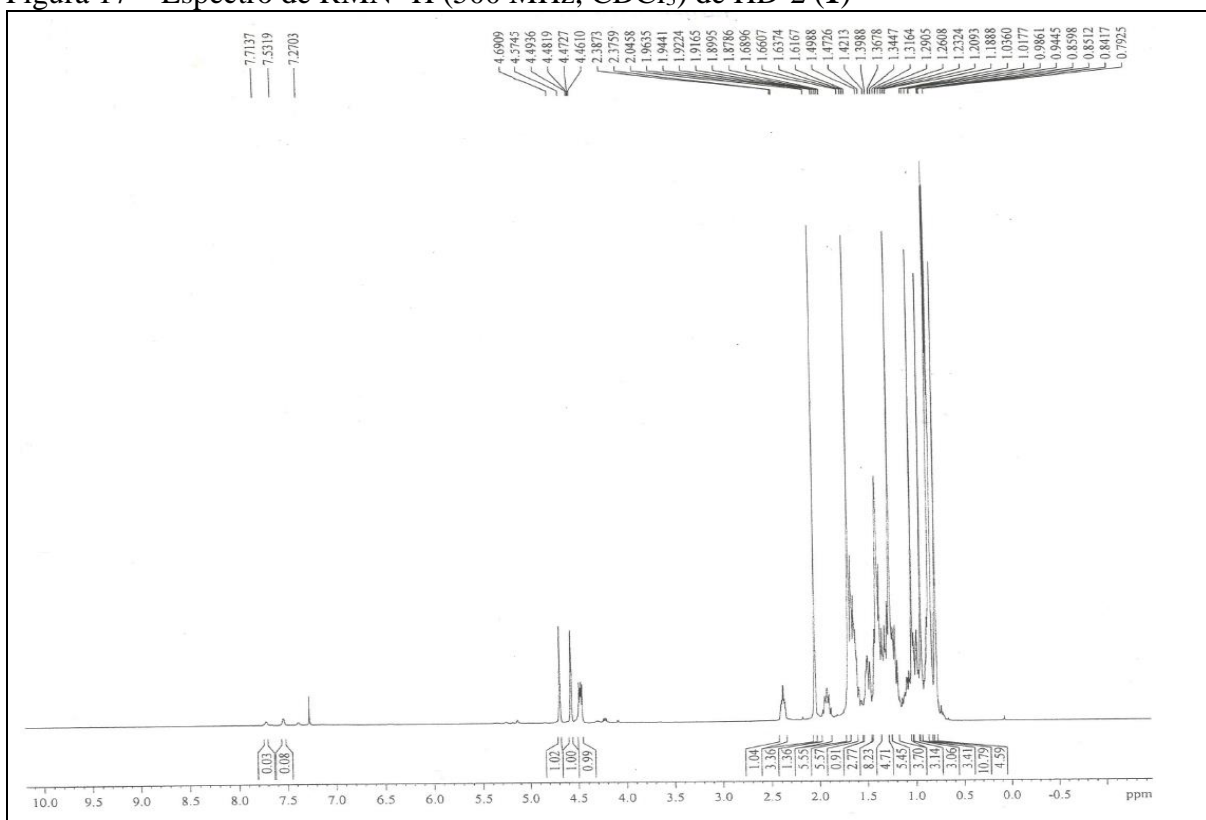
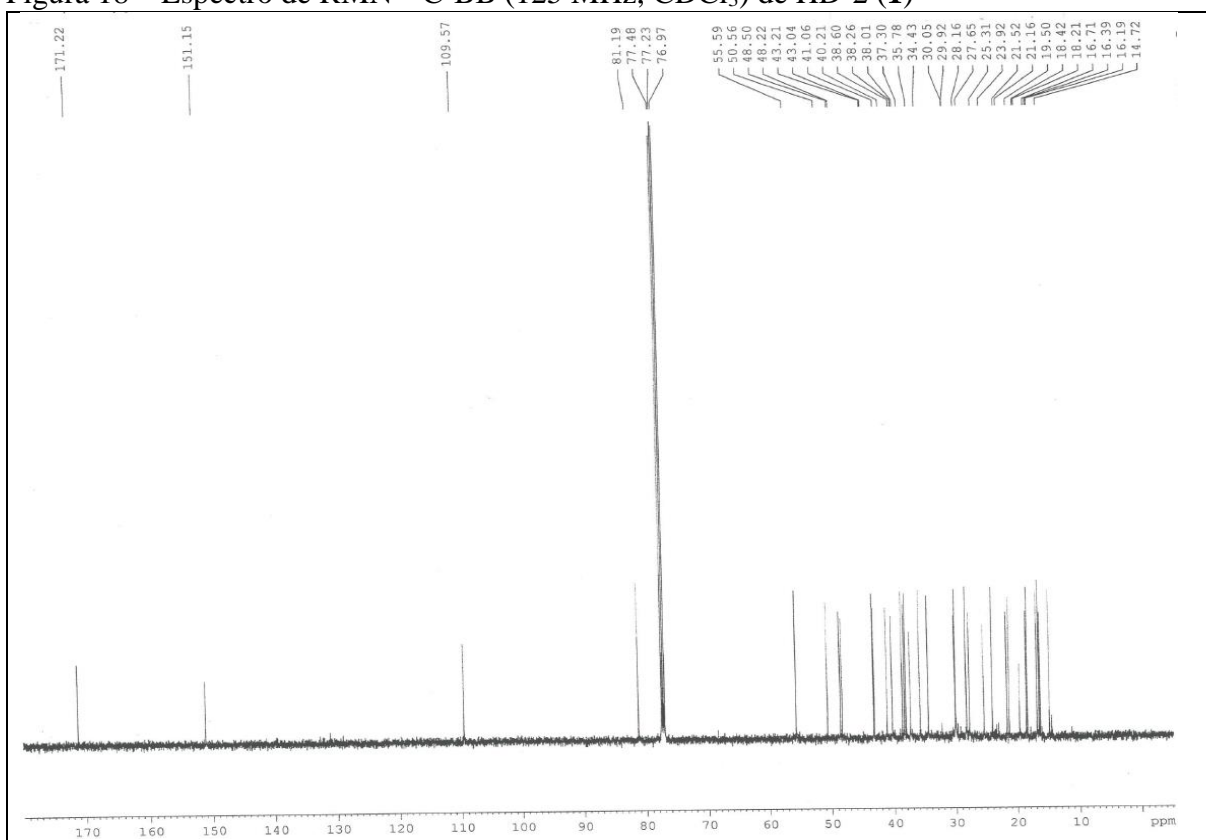


Figura 17 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de HD-2 (1)



Fonte: da autora.

Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de HD-2 (1)



Fonte: da autora.

Tabela 26 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H do composto HD-2 (1) com dados descritos na literatura para acetato de lupeol, deslocamento químico em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

Hidrogênio	HD-2 (1) (500 MHz, CDCl_3)	Acetato de lupeol* (300 MHz, CDCl_3)
3	4,47 (1H, m)	4,48 (1H, m)
2'	2,04 (3H, s)	2,04 (3H, s)
29a	4,57 (1H, m)	4,57 (1H, m)
29b	4,69 (1H, d)	4,69 (1H, d)

*Referência: Silva et al. (1998).

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 27 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C do composto HD-2 (1) com dados descritos na literatura para acetato de lupeol, deslocamento químico em ppm

Carbono	HD-2 (1) (125 MHz, CDCl_3)	Acetato de lupeol* (75,25 MHz, CDCl_3)
1	38,6	38,4
2	23,92	23,6
3	81,19	80,9
4	38,01	37,7
5	55,59	55,3
6	18,21	18,1
7	34,43	34,3
8	41,06	40,9
9	50,56	50,3
10	37,30	37,1
11	21,16	20,9
12	25,31	25,0
13	38,26	38,0
14	43,22	42,9
15	27,65	27,5
16	35,78	35,5
17	43,21	43,0
18	48,50	48,2
19	48,22	48,0
20	151,15	150,9
21	29,92	29,8
22	40,21	40,0
23	28,16	28,0
24	16,71	16,5
25	16,39	16,1
26	16,19	16,0
27	14,72	14,4
28	18,21	18,1
29	109,57	109,3
30	19,50	19,2
1'	171,22	171,0
2'	21,16	21,3

*Referência: Silva et al., 1998.

Fonte: elaborada pela autora.

Determinação estrutural de Fr.5

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C de Fr.5 (APÊNDICE B) apresentaram os mesmos sinais encontrados no espectro do composto HD-1 (**5**), tratando-se, pois, do cinamato de α -amirina.

Determinação estrutural de Fr.39-40

No espectro de RMN de ^1H de Fr.39-40 (Figura 19) observou-se sinais na região δ_{H} 4,71 e 4,60 característicos dos hidrogênios vinílicos H-29b e H-29a, respectivamente; os sinais em δ_{H} 7,68 (1H, d, $J=17,5$ Hz) e 6,46 (1H, d, $J=17,5$ Hz) confirmaram a presença dos hidrogênios olefínicos (*trans* posicionados) do grupo $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CHCO}_2$. Os pares de deslocamentos químicos δ_{C} 151,17 e δ_{CH_2} 109,58 são característicos dos carbonos C-20 e C-29 da dupla terminal do esqueleto lupano (Figura 20) (COSTA et al., 2010). As Tabelas 28 e 29 mostram os deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C , respectivamente, de Fr.39-40 em comparação aos descritos na literatura para cinamato de lupeol (SILVA et al., 1998). De acordo com os valores tabelados, a substância Fr.39-40 foi identificada como cinamato de lupeol (**3**).

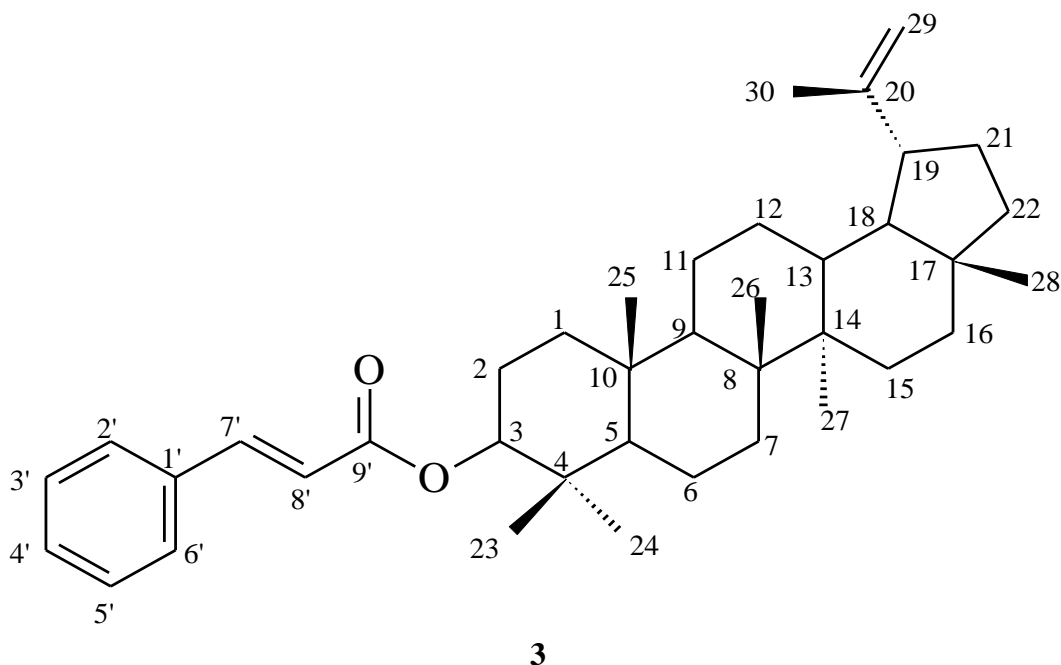
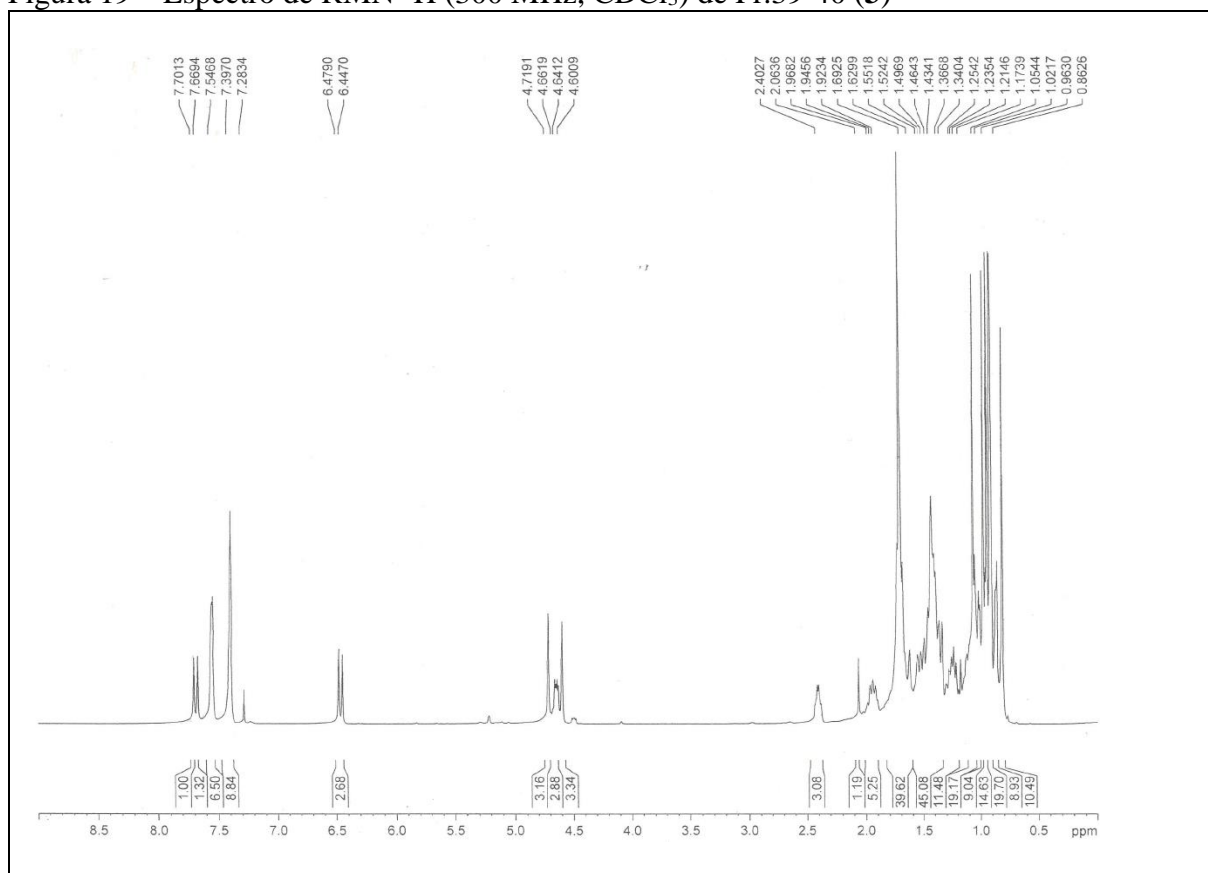
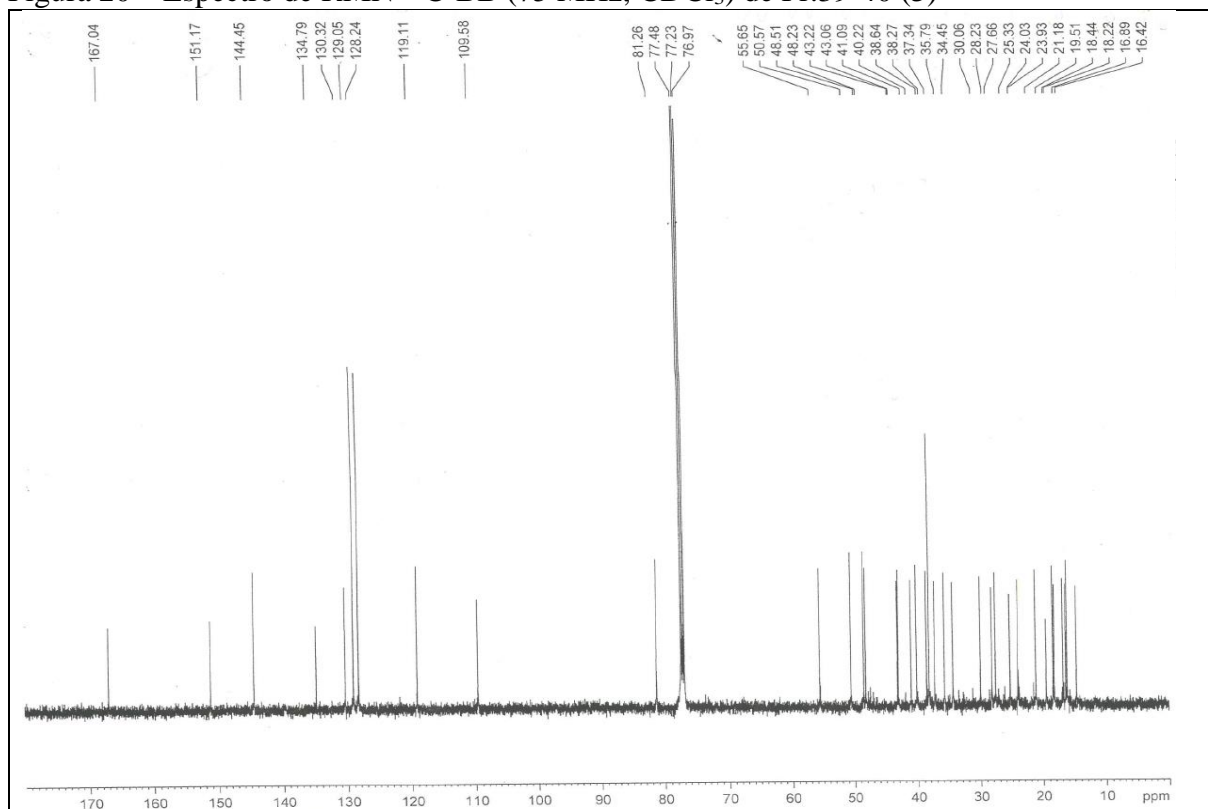


Figura 19 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) de Fr.39-40 (3)



Fonte: da autora.

Figura 20 – Espectro de RMN ¹³C-BB (75 MHz, CDCl₃) de Fr.39-40 (3)



Fonte: da autora.

Tabela 28 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN de ^1H da Fr.39-40 (3) com dados descritos na literatura para cinamato de lupeol, deslocamento químico em ppm e constante de acoplamento (J) em Hz

Hidrogênio	Fr.39-40 (4) (500 MHz, CDCl_3)	Cinamato de lupeol* (300 MHz, CDCl_3)
7'	7,68 (1H, d, $J=17,5$ Hz)	7,70 (1H, d, $J=16,0$ Hz)
8'	6,46 (1H, d, $J=17,5$ Hz)	6,42 (1H, d, $J=16,0$ Hz)
29a	4,60 (1H, m)	4,57 (1H, m)
29b	4,71 (1H, d)	4,69 (1H, d)
Ar-H	7,39-7,54 (5H, m)	7,35-7,55 (5H, m)

*Referência: Silva et al. (1998).

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 29 – Comparação dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C da Fr.39-40 (3) com dados descritos na literatura para cinamato de lupeol, deslocamento químico em ppm

Carbono	Fr.39-40 (4) (125 MHz, CDCl_3)	Cinamato de lupeol* (75,25 MHz, CDCl_3)
1	38,60	38,6
2	23,61	23,6
3	81,20	81,2
4	37,30	37,3
5	55,52	55,5
6	17,14	17,7
7	34,43	34,4
8	41,06	41,0
9	50,56	50,5
10	37,05	37,0
11	21,16	21,1
12	26,83	26,8
13	38,19	38,1
14	43,04	43,0
15	27,65	27,6
16	35,79	35,7
17	43,06	43,0
18	48,23	48,2
19	47,87	47,8
20	151,19	151,1
21	30,05	29,9
22	39,83	39,8
23	28,32	28,2
24	15,99	15,9
25	16,20	16,1
26	16,42	16,4
27	14,73	14,7
28	17,74	17,7
29	109,58	109,6
30	21,55	21,6
1'	134,78	134,7
2'	128,26	128,2
3'	129,06	129,0
4'	130,34	130,3
5'	129,06	129,0
6'	128,26	128,2
7'	144,46	144,4
8'	119,08	119,0
9'	167,05	167,0

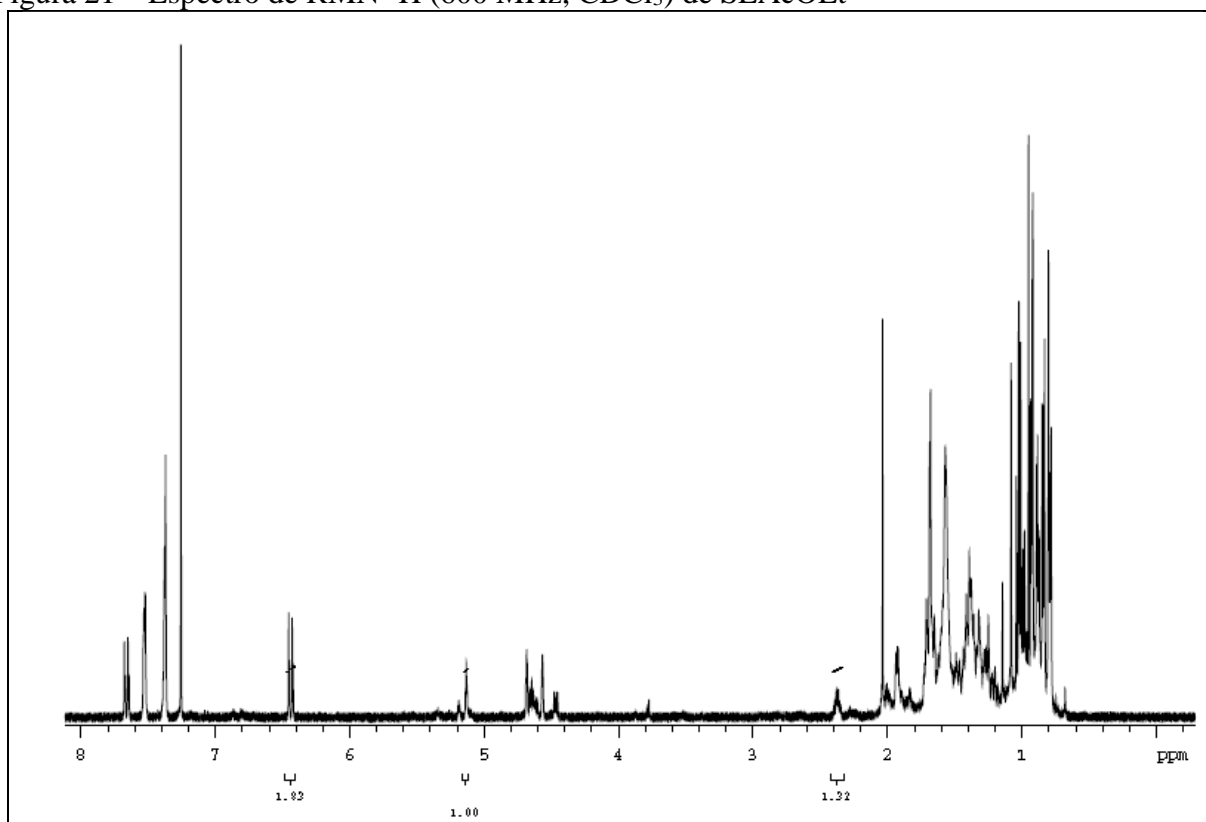
*Referência: Silva et al. (1998).

Fonte: elaborada pela autora.

4.5.3.2 Determinação da concentração dos triterpenos em SEAcOEt por RMN ^1H

No espectro de RMN ^1H de SEAcOEt (Figura 21) foram selecionados os sinais em δ 5,15-5,11 ppm (H-12) do composto HD-1 (**5**); em δ 2,42-2,32 ppm (H-19) comum ao HD-2 (**1**) e Fr.39-40 (**3**); e δ 6,47-6,40 ppm (H-8'), comum ao HD-1 (**5**) e Fr.39-40 (**3**). A Tabela 30 apresenta os resultados das concentrações molares (mmol/L) de cada um dos triterpenos e a Tabela 31 expressa os resultados dos cálculos das concentrações dos triterpenos em SEAcOEt.

Figura 21 – Espectro de RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) de SEAcOEt



Fonte: da autora.

Tabela 30 – Concentrações molares dos triterpenos cinamato de α -amirina (**5**), acetato de lupeol (**1**) e cinamato de lupeol (**3**) de SEAcOEt fornecidas pelo espectro de RMN ^1H

Triterpeno	^1H	δ (ppm)	C_i^* (mmol/L)	C_{ii}^* (mmol/L)	C_{iii}^* (mmol/L)
5	12/ 1H	5,15-5,11	4,10	4,06	3,83
5+3	8'/ 1H	6,47-6,40	7,41	7,42	7,11
1+3	19/ 1H	2,42-2,32	6,04	5,37	5,32
3	-	-	3,31	3,36	3,28
1	-	-	2,73	2,01	2,04

*Resultado da triplicata.

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 31 – Resultados dos cálculos das concentrações dos triterpenos cinamato de α -amirina (**5**), acetato de lupeol (**1**) e cinamato de lupeol (**3**) em SEAcOEt

Triterpeno Triplícata	5			1			3		
	M ₁ ^a (g/L)	M ₂ ^b (mg)	% FitoHD	M ₁ (g/L)	M ₂ (mg)	% FitoHD	M ₁ (g/L)	M ₂ (mg)	% FitoHD
i	2,2831	1,5981	31,34	1,2797	0,8958	17,56	1,8432	1,2902	25,30
ii	2,2609	1,5826	31,09	0,9422	0,6595	12,93	1,8710	1,3097	25,68
iii	2,1328	1,4930	29,27	0,9563	0,6694	13,13	1,8265	1,2786	25,07
Média±D.P.	2,23± 0,08	1,56± 0,06	30,57± 1,13	1,06± 0,19	0,74± 0,13	14,54 ±2,61	1,85± 0,02	1,29± 0,02	25,35± 0,31

^a Massa em g (grama) do composto em um litro de solução; ^b Massa em mg (miligrama) do composto em 700,0 μ L de solução.

Fonte: elaborada pela autora.

Em suma: há 30,57±1,13% de **5**; 14,54±2,61% de **1**; e 25,35±0,31% de **3**, ou seja, aproximadamente 70% de SEAcOEt é formada pela mistura dos três triterpenos. A referida fração constitui-se em um fitocomplexo rico em triterpenoides e obtidos com elevado rendimento a partir de produto natural (0,68%). Este passou a ser denominado fitocomplexo HD (FitoHD), constituindo-se em uma base farmacológica em potencial.

4.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE AMOSTRAS COMERCIAIS DE LEITE DE JANAGUBA

4.6 Avaliação da qualidade de amostras comerciais de leite de janaguba

4.6.1 Considerações sobre qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos

A fitoterapia é o tratamento de enfermidades utilizando plantas medicinais. Seu uso seguro e racional deve ser buscado por profissionais de saúde e até por usuários, porém a automedicação é um fato frequente devido ao seu fácil acesso. Isso é preocupante, pois a população está exposta a vários riscos devido à má utilização das plantas medicinais (SIMÕES et al., 2001).

Nas últimas décadas, tem havido uma tendência mundial de aumento na demanda por fitoterápicos, influenciada por fatores econômicos, sociais e culturais. Este aumento associado à falta de fiscalização efetiva, que garanta desde a exploração racional dos recursos naturais empregados como matéria-prima, até chegar ao produto acabado, contribui para a disponibilidade e acesso a produtos, muitas vezes sem condições adequadas ao uso, sem garantia da qualidade, segurança e eficácia ou efetividade fundamentais para recuperação e manutenção da saúde do paciente (SOUZA; MACIEL, 2010).

Com o crescimento da produção de fitoterápicos, aumenta também a dificuldade em se fazer o controle de qualidade desses produtos. Este controle é dividido em várias etapas, começando com a obtenção da matéria-prima, finalizando com a análise do produto acabado (NASCIMENTO et al., 2005). A preocupação com a qualidade desses fitoterápicos tem aumentado, e raizeiros e ervanários deveriam conhecer os critérios de adequação a saúde e garantir ao consumidor um produto seguro. A má qualidade das plantas medicinais e a farmacovigilância incipiente são os principais fatores observados que fazem com que este problema se agrave (FREITAS, 2009).

Dentre as várias preparações fitoterápicas comercializadas em ervanários e feiras livres do Ceará, encontram-se aquelas à base de látex de *Himatanthus drasticus*, conhecidas popularmente como leite de janaguba (LORENZI; MATOS, 2008). Lorenzi e Matos (2008) relatam que é comum a troca do leite de janaguba por leite de mangabeira (*Hancornia speciosa*), uma outra preparação de uso tradicional na região como medicação contra tuberculose.

Diante da possibilidade de troca de derivados vegetais no preparo de leite de janaguba, bem como a qualidade dessas preparações, a presente subseção apresentará a metodologia, resultados e discussões da avaliação da qualidade físico-química, química e

microbiológica de amostras comerciais do leite de janaguba em comparação com o látex de *H. drasticus* 1:4 (v/v; LJ).

4.6.2 Amostras

Dez amostras comerciais de leite de janaguba (codificadas de A a J) foram adquiridas no mercado São Sebastião de Fortaleza, CE, localizado entre as ruas Clarindo de Queiroz, Padre Ibiapina, Menton de Alencar e Tereza Cristina, onde são comercializadas por raizeiros. Foram obtidas durante os meses de maio a junho de 2011 (A a E), e março de 2012 (F a J). A Figura 22 apresenta uma visão geral da apresentação das amostras e o Quadro 9, a origem, embalagem, data de fabricação e tipos de informações presentes nas rotulagens de cada uma delas.

Figura 22 – Visão geral da apresentação das amostras comerciais de leite de janaguba adquiridas do Mercado São Sebastião, Fortaleza, Ceará



Fonte: da autora.

Quadro 9 – Origem, embalagem, data de fabricação e tipos de informações presentes nas rotulagens das amostras comerciais leite de janaguba

Amostras	Origem	Embalagem	Data de fabricação	Tipo de informações na rotulagem
A	Chorozinho*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de plástico.	Maio/2011*	Não possui rotulagem
B	Crato*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de plástico.	Maio/2011*	Nome comercial; indicação terapêutica
C	Cascavel*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de plástico.	Abril/2011	Nome comercial; indicação terapêutica; modo de usar; data de fabricação; validade (6 meses)
D	Crato	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de cortiça.	Junho/2011*	Nome comercial; indicação terapêutica; conservação; modo de usar; endereço do fabricante
E	Crato*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de cortiça.	Junho/2011*	Nome comercial; indicação terapêutica; modo de usar
F	Crato*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de plástico.	Março/2012*	Nome comercial; indicação terapêutica; modo de usar
G	Crato*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de plástico.	Março/2012*	Nome comercial; indicação terapêutica
H	Crato*	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de plástico.	Março/2012*	Nome comercial; indicação terapêutica; validade (6 meses)
I	Crato	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de cortiça.	Março/2012*	Nome comercial; indicação terapêutica; conservação; modo de usar; endereço do fabricante
J	Crato	Garrafa de vidro transparente (1 L) com vedação de cortiça.	Março/2012*	Nome comercial; indicação terapêutica; modo de usar; endereço do fabricante

*Provável origem e/ou data de fabricação; informações fornecidas pelos raizeiros.

Fonte: elaborado pela autora.

Para fins comparativos foram utilizados os parâmetros físico-químicos determinados para o látex de *H. drasticus* 1:4 (v/v) (LJ) (subseção 4.2, p. 78), bem como uma amostra do FitoHD para o teste de cromatografia em camada delgada (CCD).

Uma amostra de látex de caule de mangabeira (*Hancornia speciosa*) (5,0 mL) foi diluída em 15,0 mL de água destilada, submetida a partição em acetato de etila (4 x 5,0 mL) e o solvente evaporado por pressão reduzida em aparelho rotaevaporador. O resíduo extrativo foi denominado LM e utilizado no teste de CCD. Este látex foi coletado em um sítio localizado em Paracuru (CE), em março de 2012, e exemplares das partes aéreas da planta foram identificadas por comparação com amostra depositada no Herbário Prisco Bezerra da UFC, sob o número 48849.

4.6.3 Metodologia

Os procedimentos para determinação do aspecto geral das amostras, pH, densidade, resíduo seco, volume de sedimentação e rendimento em substâncias extraíveis por acetato de etila (ou FitoHD) foram descritos na subseção 4.2 (p. 78).

A verificação da qualidade microbiológica das amostras foi feita conforme procedimento descrito na Farmacopeia Brasileira (2010).

4.6.3.1 Análise por cromatografia em camada delgada

4.6.3.1.1 Preparo das soluções-amostras

Inicialmente, um volume de 100,0 mL de cada uma das amostras de leite de janaguba (A a J) foram submetidas a partição em acetato de etila (4 x 25,0 mL). O solvente foi evaporado por pressão reduzida em aparelho rotaevaporador. Foram preparadas soluções em AcOEt nas concentrações de 5,0 mg/mL a partir dos resíduos extrativos, totalizando dez soluções-amostras (A a J).

4.6.3.1.2 Preparo das soluções de FitoHD e LM

Foram preparadas soluções em acetato de etila nas concentrações de 5,0 mg/mL a partir dos resíduos extrativos FitoHD e LM.

4.6.3.1.3 Condições cromatográficas

Alíquotas de 10,0 μ L das amostras foram aplicadas na linha de partida (largura de aplicação de 1,0 cm), localizada a 1,5 cm da borda inferior da cromatoplaça e distanciadas 1,5 cm entre si. As aplicações foram realizadas manualmente com auxílio de micropipeta de 10,0 μ L

Foram empregadas placas pré-elaboradas de gel de sílica de 12,0x11,5 cm (cromatofolha Merck, gel de sílica 60 F254, 0,2 mm) e para fase móvel foi utilizado o solvente orgânico clorofórmio de pureza analítica.

As cromatoplasmas foram colocadas em cubas de vidro 15,0x15,0x5,0 cm, que continha a fase móvel (10,0 mL). O desenvolvimento foi unidimensional, ascendente simples, em câmara saturada, num percurso de 10,0 cm (VALENTE et al., 2006).

A revelação foi realizada pelo método físico da luz ultravioleta (254 nm) e emprego de vapores de iodo.

4.6.3.2 Tratamento estatístico dos dados analíticos

Os resultados das análises físico-químicas foram expressos calculando-se a média aritmética de cada determinação (triplicata), sendo a amplitude de variação em torno da média determinada através do cálculo do desvio padrão (D.P.) (LEITE, 1998).

4.6.4 Resultados e discussões

4.6.4.1 Aspecto geral das amostras

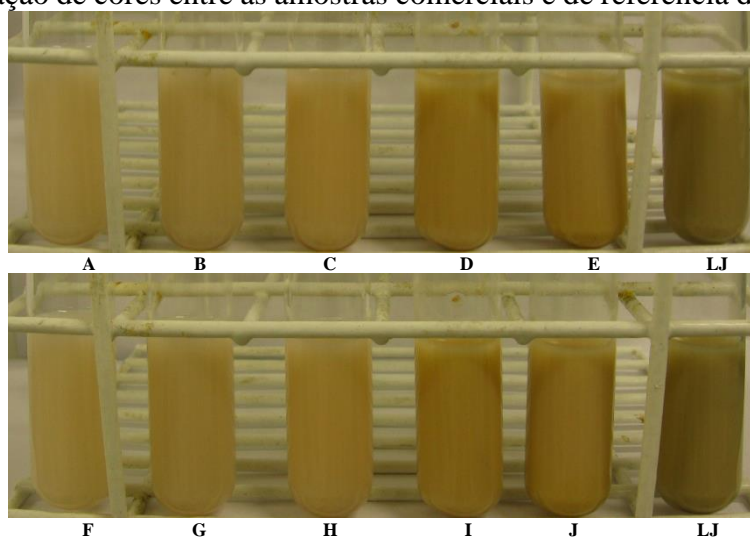
Observou-se que as amostras A, B, C, F, G e H são, de uma forma geral, distintas de D, E, I e J. As amostras B e G, pelo odor forte e fétido, podem estar com a qualidade microbiológica claramente comprometida. As amostras D, E, I e J apresentaram aspecto visual e odor compatíveis com LJ, porém a cor apresentou-se mais clara, provavelmente devido a diferenças na diluição do látex nas preparações. O Quadro 10 apresenta os resultados da avaliação do aspecto geral das amostras comerciais, e a Figura 23, as amostras em tubos de ensaio para determinação das cores.

Quadro 10 – Aspecto geral das amostras comerciais do leite de janaguba

Amostras	Cor	Odor	Aspecto visual
A	Branco leitoso claro	Fraco	Homogêneo e fluido, mas com presença de partículas estranhas na superfície
B	Branco leitoso claro	Forte e fétido	Homogêneo e fluido, mas com presença de partículas estranhas na superfície
C	Branco leitoso claro	Fraco	Homogêneo e fluido, mas com presença de partículas estranhas na superfície
D	Bege leitoso	Forte e ácido	Bifásico e fluido
E	Bege leitoso	Forte e ácido	Bifásico e fluido
F	Branco leitoso claro	Fraco	Homogêneo e fluido, mas com presença de partículas estranhas na superfície
G	Branco leitoso claro	Forte e fétido	Homogêneo e fluido, mas com presença de partículas estranhas na superfície
H	Branco leitoso claro	Fraco	Homogêneo e fluido, mas com presença de partículas estranhas na superfície
I	Bege leitoso	Forte e ácido	Bifásico e fluido
J	Bege leitoso	Forte e ácido	Bifásico e fluido
LJ	Bege leitoso escuro	Forte e ácido	Bifásico e fluido

Fonte: elaborado pela autora.

Figura 23 – Variação de cores entre as amostras comerciais e de referência de leite de janaguba



Fonte: da autora.

4.6.4.2 pH, densidade e resíduo seco

As amostras B e G apresentaram pHs diferentes de LJ, sendo a primeira mais ácida e a segunda, neutra. As densidades de C, D e E apresentaram valores de aproximadamente 50% das demais amostras, inclusive de LJ. Os resultados de resíduo seco também foram variados, sendo que apenas as amostras D e E apresentaram valores equivalentes a LJ. Tais variações

podem estar relacionadas às diferentes diluições do látex nas preparações comerciais. A Tabela 32 apresenta os resultados das determinações de pH, densidade e resíduo seco.

Tabela 32 – pH, densidade e resíduo seco das amostras comerciais de leite de janaguba

Amostra	pH	Densidade (g/mL)	Resíduo seco (%)
A	4,96 ± 0,06	1,0012±0,0000	0,33±0,01
B	3,61 ± 0,01	1,0016±0,0002	0,38±0,03
C	4,98 ± 0,07	0,5024±0,0022	0,45±0,02
D	4,82 ± 0,15	0,5018±0,0001	1,32±0,04
E	4,87 ±0,12	0,5022±0,0006	1,17±0,09
F	5,11 ± 0,02	1,0013±0,0040	0,25±0,04
G	7,18 ± 0,04	1,0005±0,0014	0,33±0,02
H	4,95 ± 0,03	1,0001±0,0004	0,37±0,02
I	5,77 ± 0,05	1,0038±0,0004	1,73±0,08
J	4,96 ±0,02	1,0053±0,0008	2,75±0,18
LJ	5,30±0,02	1,0032±0,0005	1,27±0,04

Fonte: elaborada pela autora.

4.6.4.3 Volume de sedimentação

Através dos resultados de volume de sedimentação, observou-se que LJ, tem o sedimento compactado em 24 horas de repouso, ou seja, há redução do volume de sedimentação. Comportamento contrário ocorreu com as amostras D, E, I e J, cujo sedimento aumentou em 24 horas e com valores distintos entre si. Provavelmente estas amostras possuem partículas com tamanhos menores que as presentes em LJ, permanecendo suspensas por mais tempo. As demais amostras praticamente não apresentaram sedimento. A Tabela 33 mostra os valores de determinação do volume de sedimentação (F) de cada amostra.

Tabela 33 – Resultado da avaliação de volume de sedimentação das amostras comerciais de leite de janaguba em 1 hora e em 24 horas

Amostra	F _{1h}	F _{24h}
A	0,01±0,00	0,01±0,00
B	0,01±0,00	0,01±0,00
C	0,00±0,00	0,00±0,00
D	0,02±0,00	0,09±0,01
E	0,01±0,00	0,06±0,00
F	0,00±0,00	0,01±0,00
G	0,00±0,00	0,00±0,00
H	0,00±0,00	0,01±0,00
I	0,00±0,00	0,05±0,01
J	0,03±0,01	0,12±0,06
LJ	0,21±0,00	0,13±0,00

*F_{1h} e F_{24h}: Volume de sedimento em 1 hora e em 24 horas, respectivamente.

Fonte: elaborada pela autora.

4.6.4.4 Substâncias extraíveis por acetato de etila

A Tabela 34 apresenta a quantidade (massa em gramas) do conteúdo solúvel em acetato de etila extraído das amostras. Os rendimentos das amostras são variáveis e distintos de LJ.

Tabela 34 – Rendimento das frações em acetato de etila obtidas a partir das amostras comerciais e de referência de látex de *H. drasticus*

Amostra	Rendimento (%)
A	0,05
B	0,16
C	0,11
D	0,59
E	0,78
F	0,45
G	0,32
H	0,33
I	0,54
J	0,50
LJ	0,68±0,02

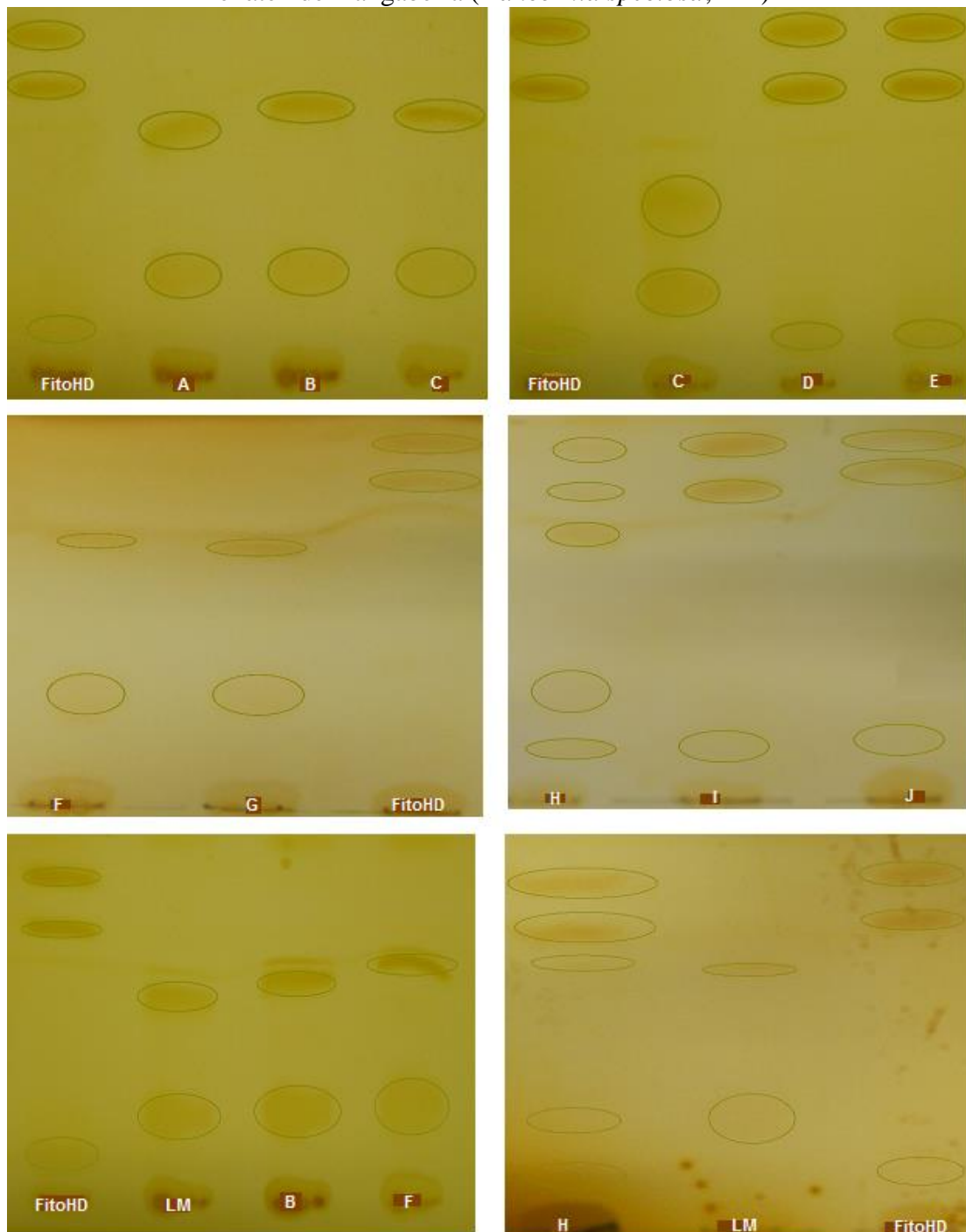
Fonte: elaborada pela autora.

4.6.4.5 Cromatografia em camada delgada

A CCD revelou que as amostras D, E, I e J correspondem à janaguba por apresentarem perfil cromatográfico semelhante ao FitoHD: três manchas principais com R_{fs}

aproximadamente de 0,13, 0,54 e 0,64. Por outro lado, as amostras A, B, C, F e G apresentaram um perfil distinto, porém idêntico ao do látex de mangabeira (LM), com duas manchas principais com R_{fs} aproximadamente de 0,18 e 0,46. A amostra H apresentou manchas com R_{fs} de FitoHD e LM, podendo se tratar de uma mistura de látex das duas plantas. A Figura 24 apresenta as imagens do perfil cromatográfico das amostras analisadas.

Figura 24 – Cromatoplasas das amostras comerciais de leite de janaguba, amostra de FitoHD e látex de mangabeira (*Hancornia speciosa*; LM)



Fonte: da autora.

Apenas 40,0% das amostras ensaiadas correspondem à amostra autêntica de *H. drasticus*. A substituição ou mistura com látex de mangabeira (*Hancornia speciosa*) pode estar relacionada a ocorrência comum da planta no Ceará, bem como em outros estados brasileiros (AGUIAR FILHO; BOSCO; ARAÚJO, 1998), constituindo-se em planta laticífera de fácil acesso. Por outro lado, é pouco provável que haja confusão na identificação botânica das espécies, pois são plantas bastante distintas pela morfologia das folhas, flores e frutos (SAMPAIO, 2008).

4.6.4.6 Qualidade microbiológica

Os resultados obtidos da análise microbiológica de preparações comerciais à base de leite de janaguba revelaram contaminação bacteriana e fúngica em todas as amostras, cerca de 10^5 UFC/g para aeróbios totais e fungos.

Considerando que o valor de referência para contagem de fungos e leveduras é de 10^2 UFC/g (mL) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), a elevada contagem de fungos constitui um risco, em virtude da possibilidade desses serem produtores de micotoxinas. Estas substâncias podem ocasionar intoxicações agudas ou crônicas quando da ingestão de produtos contaminados por bolores, mesmo na forma de chá, pois são termoestáveis. É importante ressaltar que as aflatoxinas produzidas pelo gênero *Aspergillus* possuem elevado ponto de fusão (269°C) e apresentam potencial carcinogênico. Alguns bolores (espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*) podem causar doenças, como alergias, além de problemas graves em imunossuprimidos. Também representam risco para quem prepara tais fitoterápicos, tendo em vista a possível inalação durante o processo produtivo (ROCHA; SOARES; CORREA, 2004; ZARONI et al., 2004).

O leite de janaguba, pela forma de apresentação (embalagem reaproveitada e rotulagem com ausência do nome de fabricante e CNPJ), possui fabricação artesanal, sendo, pois, um produto passível de várias fontes de contaminação.

Um importante meio de contaminação é a qualidade da água utilizada, sendo esta o veículo mais comum em formulações farmacêuticas. Segundo a OMS, 85% das doenças conhecidas estão relacionadas com água (BARBOSA; LAGE; BADARÓ, 2009). Na fabricação do leite de janaguba, o látex extraído é diluído em água em uma proporção de 1:4 ou 1:10. A água utilizada tem origem incerta e não se sabe se a mesma passa por algum tipo de tratamento

ou descontaminação, o que aumenta a preocupação acerca de sua qualidade (MARIANO; VIDAL; SOUZA, 2008).

O armazenamento desse produto constitui também um importante fator de contaminação. Fitoterápicos sofrem decomposição por bactérias e aumento da temperatura (MATOS, 1998); ao serem armazenados em recipientes inadequados podem ser contaminados por fungos, acelerando a decomposição do produto e causando efeitos indesejáveis (SILVEIRA; BANDEIRA; ARRAIS, 2008).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O látex de *H. drasticus*, vulgarmente chamado de leite de janaguba, é um derivado vegetal largamente empregado na medicina popular do Ceará. Nas localidades próximas à chapada do Araripe, constitui-se em importante fonte de renda para muitas pessoas que vivem do extrativismo. Sua obtenção é regulamentada pelo Instituto Chico Mendes (ICMBio), vinculado ao IBAMA, e os extrativistas vendem o litro de látex diluído em água (1:4, v/v) a um valor médio de vinte reais (R\$ 20,00).

A avaliação do potencial farmacológico do látex de *H. drasticus* se iniciou com a necessidade de conhecer mais sobre as indicações terapêuticas empíricas, as formas de utilização, tempo de tratamento e possíveis relatos de toxicidade. Tais informações e outras envolvendo perfil social dos informantes, origem do látex e do conhecimento a respeito das propriedades da planta, foram obtidas por meio do estudo etnobotânico e etnofarmacológico realizado em Fortaleza, Pacajus e Crato (CE). O estudo foi conduzido por meio de entrevistas com raizeiros, onde predominaram homens com idade superior a 40 anos e pouca escolaridade. As principais indicações foram para o tratamento de úlceras gástricas, inflamações em geral e câncer, que estão em concordância com os resultados de alguns estudos farmacológicos feitos com a espécie. Apenas um raizeiro informou que o látex poderia causar algum efeito indesejável, como vômito e dor de cabeça; efeito diferente ao relatado para *H. lancifolius* (cólicas menstruais, afecções gastrintestinais; diarreia e desidratação em crianças).

O epíteto específico *drasticus* (drástico) infere que a planta possua algum efeito purgativo enérgico, no entanto, tal atividade foi relatada no uso popular de suas raízes, não com tamanha intensidade. Na avaliação da toxicidade aguda do látex (SOUSA, 2009), os animais que receberam a maior dose (42 mL/Kg de látex 1:1, v/v) apresentaram, nos primeiros cinco dias, um aumento da excreção fecal. A referida dose gerou também sintomas de toxicidade, o que pressupõe que o efeito purgativo seja manifesto nesta situação. A presença de Mg e S na composição do látex pode ser responsável por este efeito catártico.

Para o trabalho laboratorial, as amostras de látex foram adquiridas de um fornecedor, extrativista da FLONA Araripe, em períodos diferentes entre os anos de 2009 e 2012. Estas amostras foram caracterizadas quanto aos aspectos físico-químico e microbiológico e apresentaram homogeneidade em seus resultados e boa qualidade microbiológica, o que permitiu utilizá-los como parâmetros para caracterização de amostras comerciais oriundas de outros fornecedores.

No mercado São Sebastião de Fortaleza há muitos comerciantes de leite de janaguba, cuja origem relatada para o produto foi, além da cidade do Crato (principal), as cidades de Cascavel e Chorozinho (CE). A determinação das características físico-químicas e qualidade microbiológica de dez produtos apresentou resultados preocupantes. Há uma grande variabilidade nas referidas características e contaminação microbiana excedente aos valores preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010). Apesar deste último, o perfil fitoquímico revelado pela CCD mostrou-se inalterado para quatro amostras que corresponderam ao látex de *H. drasticus*; as demais eram látex de mangabeira (*Hancornia speciosa*), com exceção de uma, que era mistura de látex das duas plantas.

Visualmente é fácil distinguir a preparação autêntica de adulterada: o leite de janaguba apresenta um decantado bege e um sobrenadante límpido castanho-claro; enquanto o leite de mangabeira se apresenta como uma emulsão branca, sem decantado no fundo da garrafa. Outro problema observado foi a elevada contaminação microbiana de todas as preparações comerciais. O fato é que, apesar do problema, as pessoas que fazem uso relatam cura com o tratamento; ou seja, a elevada carga microbiana não está decompondo os princípios ativos, como também, parece não se tratar de micro-organismos patogênicos. Entretanto, há a necessidade de treinamento para os extrativistas de látex, a fim de que conheçam cuidados básicos para evitar excessiva contaminação microbiana. Em adição, o látex de mangabeira também possui atividades anti-úlceras (MORAES et al., 2008), anti-inflamatória (MARINHO et al., 2011) e antitumoral *in vitro* (RIBEIRO et al., 2012), o que provavelmente não elimina a credibilidade no uso das preparações rotuladas como leite de janaguba.

A fitoquímica preliminar mostrou a presença de fenóis simples, taninos, triterpenoides, iridoides, proteínas, carboidratos e minerais. Todos estes constituintes colaboram com as propriedades terapêuticas do látex. Para as proteínas do látex foi relatada ação antitumoral; também constatada em estudos farmacológicos com iridoides e triterpenoides (amirinas e lupeol). E os minerais contribuem para diversas ações, tais como anti-inflamatória (Mg), antimicrobiana (S, Mn), antiespasmódica, analgésica e gastroprotetora (Ca).

A avaliação da atividade antimicrobiana do látex e suas frações extrativas foi motivada por registros de ação antimicrobiana dos triterpenoides, iridoides, bem como de compostos fenólicos (fenóis simples e taninos) e do látex de *H. articulatus*. A fração mais polar da partição (em acetato de etila) foi a única ativa contra as cepas testadas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Esta ação pode estar relacionada especificamente à presença dos iridoides e compostos fenólicos.

Um litro da suspensão aquosa do látex 1:4 (v/v) fornece aproximadamente 7,0 g (0,7%) de fração em acetato de etila obtida por partição. Esta fração, denominada de FitoHD, é rica nos triterpenos cinamato de α -amirina, acetato de lupeol e cinamato de lupeol, que juntos perfazem cerca de 70% da fração. Considerando que, em extratos vegetais, encontrar um teor de princípio ativo em torno de 1% é normalmente difícil (SIXEL; PECINALLI, 2005), a obtenção do FitoHD com bom rendimento e elevado teor de ativos o coloca como uma fração enriquecida viável para a produção de medicamentos.

Os compostos identificados no FitoHD são comuns a várias espécies do gênero *Himatanthus* e estão presentes nas cascas de *H. drasticus*; no entanto, sua presença específica no látex é relatada pela primeira vez, com exceção do acetato de lupeol. Lupeol e amirinas são dotados de diversas atividades farmacológicas, como relatadas na seção 3, destacando-se as ações antitumoral, anti-inflamatória, gastroprotetora, hipoglicemiante e hepatoprotetora.

O emprego de fitocomplexos na produção de medicamentos tem aumentado, uma vez que a propriedade terapêutica de muitas plantas medicinais é resultado da associação dos vários compostos presentes em sua composição (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001). A RDC 26/2014 define fitocomplexo como conjunto de todas as substâncias, originadas do metabolismo primário ou secundário, responsáveis, em conjunto, pelos efeitos biológicos de uma planta medicinal ou de seus derivados (BRASIL, 2014). Assim, por exemplo, das folhas de Ginkgo (*Ginkgo biloba*) obtêm-se um extrato padronizado EGb 761, com 24% de fitoestrógenos, empregado como ativo em medicamentos para tratamento de insuficiência cerebral (déficit de memória, baixa concentração, depressão), tontura, zumbido e doença vascular periférica (LUCINDA et al., 2010; BARNES; ANDERSON; PHILLIPSON, 2012). Do fruto do abacateiro (*Persea gratissima*) obtém-se uma fração de substâncias insaponificáveis, rica em β -sitosterol (80%), a partir do óleo fixo, empregada como um potente anti-inflamatório, antioxidante e analgésico, eficaz no tratamento de distúrbios que afetam os tecidos conjuntivos (MOREIRA, 2012; TSURUMAKI, 2014)

A técnica de RMN ^1H na quantificação dos triterpenos apresentou a vantagem de dispensar a necessidade de padrões das substâncias a serem doseadas. O emprego da CCD (fase móvel: CHCl_3 ; revelador: vapores de iodo) para caracterização química do FitoHD permitiu detectar duas substâncias pelos R_{fs} 0,58 e 0,68, o acetato de lupeol e cinamato de α -amirina, respectivamente. Trata-se de uma técnica simples de identificação que poderá auxiliar no controle de qualidade químico do leite de janaguba.

O FitoHD se constitui em uma base farmacológica em potencial, bem como um importante marcador químico para a identificação do látex. Uma possível inserção futura da espécie no elenco das plantas medicinais do Programa Farmácias Vivas, atualmente adotado pelo SUS (BRASIL, 2010), contribui para valorização da cultura popular, agrega valor à flora nordestina na medida em que busca potenciais produtos terapêuticos de origem vegetal, contribui para o manejo sustentável da região, podendo gerar alternativas de emprego e renda e contribuir para a melhoria das condições de saúde da população.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDEL-KADER, M. S.; WISSE, J.; EVANS, R.; VAN DER WERFF, H.; KINGSTON, D. G. I. Bioactive iridoids and a new lignan from *Allamanda cathartica* and *Himatanthus fallax* from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 1294-1297, 1997.

AGUIAR FILHO, S. P.; BOSCO, J.; ARAÚJO, I. A. **A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes): domesticação e técnicas de cultivo**. João Pessoa: Emepa-PB, 1998.

AHAMED, B. K. M.; KRISHNA, V.; GOWDRU, H. B.; RAJANAIIKA, H.; KUMARASWAMY, H. M.; RAJSHEKARAPPA, S.; DANDIN, C. J.; MAHADEVAN, K. M. Isolation of bactericidal constituents from the steam bark extract of *Grewia tiliaefolia* Vahl. **Research Journal of Medicinal Plants**, v. 1, p. 72-82, 2007.

AKIHISA, T.; KOJIMA, N.; KIKUCHI, T.; YASUKAWA, K.; TOKUDA, H.; MASTERS, E. T.; MANOSROI, A.; MANOSROI, J. Anti-inflammatory and chemopreventive effects of triterpene cinnamates and acetates from shea fat. **Journal of Oleo Science**, v. 59, n. 6, p. 273-280, 2010.

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 678-89, 2006.

ALI, H.; HOUGHTON, P. J.; SOUMYANATH, A. α -Amilase inhibitory activity of some Malayzian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 10, p. 449-455, 2006.

ALMEIDA, M. M. B.; LOPES, M. F. G.; NOGUEIRA, C. M. D.; MAGALHÃES, C. E. C.; MORAIS, N. M. T. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 94-97, 2002.

AMARAL, A. C. F.; FERREIRA, J. L. P.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. A. Monograph of *Himatanthus sukuuba*, a plant of Amazonian folk medicine. **Pharmacognosy Review**, v. 1, n. 2, p. 305-313, 2007.

AMARO, M, S.; MEDEIROS FILHO, S.; GUIMARÃES, R. M.; TEÓFILO, E. M. Morfologia de frutos, sementes e de plântulas de janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel - Apocynaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 1, p. 63-71, 2006.

ANASTASSOPOULOU, J.; THEOPHANIDES, T. Magnesium-DNA interactions and the possible relation of magnesium to carcinogenesis. **Critical Reviews in Oncology and Hematology**, v. 42, n. 1, p. 79-91, 2002.

ANDERSON, J. E.; CHANG, C. J.; MC'LAUGHLIN, J. L. Bioactive components of *Allamanda schottii*. **Journal of Natural Products**, v. 51, p. 307-308, 1988.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1990.

- ARAGÃO, G. F. **Estudos dos triterpenos α - e β -amirina e de seus derivados acetilados no sistema nervoso central**. 2008. 196 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- BAGGIO, C. H.; OTOFUJI, G. D.; SOUZA, W. M.; SANTOS, C. A. D.; TORRES, L. M. B.; RIECK, L.; MARQUES, M. C. D.; MESIA-VELA, S. Gastroprotective mechanisms of indole alkaloids from *Himatanthus lancifolius*. **Planta Medica**, v. 71, p. 733-738, 2005.
- BALDAUF, C.; SANTOS, F. A. M. Ethnobotany, traditional knowledge and diachronic changes in non-timber forest products management: a case study of *Himatanthus drasticus* (Apocynaceae) in the Brazilian Savanna. **Economic botany**, v. 67, n. 2, p. 110 -120, 2013.
- BARATTO, L. C. **Estudo químico e analítico e morfoanatômico de espécies medicinais brasileiras da família Apocynaceae: *Himatanthus lancifolius***. 2010. 157 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- BARATTO, L. C.; HOHLEMWERGER, S. V. A.; GUEDES, M. L. S.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. M. *Himatanthus lancifolius* (Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae: estudo farmacobotânico de uma planta medicinal da Farmacopeia Brasileira 1ª edição. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 651-658, 2010.
- BARBOSA, D. A.; LAGE, M. M.; BADARÓ, A. C. L. Qualidade microbiológica da água dos bebedouros de um campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. **Revista Digital de Nutrição**, v. 3, n. 5, p. 505-517, 2009.
- BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Fitoterápicos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.
- BARRETO, A. S.; CARVALHO, M. G.; NERY, I. A.; GONZAGA, L.; KAPLA, M. A. C. Chemical constituents from *Himatanthus articulata*. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 9, n. 5, p. 430-434, 1998.
- BARRETO, A. S.; AMARAL, A. C. F.; SILVA, J. R. A.; SCHRIPSEMA, J.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Ácido 15-desmetilisoplumierídeo, um novo iridóide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himatanthus sucuuba*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1133-1135, 2007.
- BARRY, M. T.; JAMES M. B. The total synthesis of allamandin. **Tetrahedron Letters**, v. 26, n. 15, p. 1807-1810, 1985.
- BECK, H. T.; ORTIZ, A. Proyecto etnobotánico de la comunidad Awá en El Ecuador. In: RIOS, M.; PEDERSEN, H.B (eds). **Uso e manejo de recursos vegetales**. Memorias Del II Simpósio Ecuatoriano de Etnobotánica y Botánica Económica, Quito, 1997. p.159-76.
- BHARTI, S. K.; ROY, R. Quantitative ¹H NMR spectroscopy. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 5-26, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID)**. 10. ed. 2008. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br/cid10/V2008/cid10.htm>>. Acesso em: 10 set. 2013.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo 2010a**. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=23&dados=1>>. Acesso em: 12 abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 886 de 20 de abril de 2010b**. Institui a Farmácia Viva no âmbito no Sistema Único de Saúde (SUS). Diário Oficial da União, 22.04.10. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/portaria886_20_04_2010.pdf>. Acesso em 16 mai. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 26 de 13 de maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Diário Oficial da União, 14.05.14. Disponível em: <http://www.abiquifi.org.br/legislacao/do/do2014/DOU_14_05_2014.pdf>. Acesso em: 8 jul. 2014.

BREKSA, A.P.; TAKEOKA, G.R.; HIDALGO, M.B.; VILCHES, A.; VASSE, J.; RAMMING, D.W. Antioxidant activity and phenolic content of 16 raisin grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars and selections. **Food Chemistry**, n. 121, p. 740-745, 2010.

BULANI, V.; BIYANI, K.; KALE, R.; JOSHI, U.; CHARHATE, K.; KUMAR, D.; PAGORE, R. Inhibitory effect of *Calotropis gigantea* extract on ovalbumin-induced airway inflammation and arachidonic acid induced inflammation in a murine model of asthma. **International Journal of Current Biological and Medical Science**, v. 1, p. 2, p. 19-25, 2011.

BURTON, B.T. **Nutrição humana**. São Paulo: Mc Graw-Hill do Brasil, 1979.

CALLAHAN, K. S. Sangue, líquidos, eletrólitos e drogas hematológicas. *In*: Gennaro, A. R. **Remington: a ciência e a prática farmacêutica**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, p. 1798-1811, 2004.

CASTILLO, D.; AREVALO, J.; HERRERA, F.; RUIZ, C.; ROJAS, R.; RENGIFO, E.; VAISBERG, A.; LOCK, O.; LEMESRE, J. L.; GORNITZKA, H.; SAUVAIN, M. Spirolactone iridoides might be responsible for the antileishmanial activity of a Peruvian traditional remedy made with *Himatanthus sucuuba* (Apocynaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 410-414, 2007.

CAVALCANTI, F. S.; NUNES, E. P. Reflorestamento de clareiras na floresta nacional do Araripe com *Vanillosmopsis arborea* Baker. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 94-96, 2002.

CHATTERJEE, I.; CHAKRAVARTY, A. K.; GOMES, A. *Daboia russellii* and *Naja kaouthia* venom neutralization by lupeol acetate isolated from the root extract of Indian sarsaparilla *Hemidesmus indicus* R.Br. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 38-43, 2006.

CHEN, Y. F.; CHING, C.; WU, T. S.; WU, C. R.; HSIEH, W. T.; TSAI, A. H. Y. *Balanophora spicata* and lupeol acetate possess antinociceptive and anti-inflammatory activities in vivo and in vitro. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-10, 2012.

- CHING, J.; CHUA, T.; CHIN, L.; LAU, A.; PANG, Y.; JAYA, J. M.; TAN, C.; KOH, H. β -Amyrin from *Ardisia elliptica* Thunb. Is more potent than aspirin in inhibiting collagen-induced platelet aggregation. **Indian Journal of Experimental Biology**, n. 48, p. 275-279, 2010.
- CMOCH, P.; PAKULSKI, Z.; SWACZYNOVA, J.; STRNAD, M. Synthesis of lupine type saponins bearing mannosyl and 3,6-branched trimannosyl residues and their evaluation as anticancer agents. **Carbohydrate Research**, v. 343, p. 995-1003, 2008.
- COLARES, A. V.; CORDEIRO, L. N.; COSTA, J. G. M.; SILVEIRA, E. R.; CAMPOS, A. R.; CARDOSO, A. H. Phytochemical and biological preliminary study of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba). **Pharmacognosy Magazine**, v. 4, n. 14, p. 73-77, 2008a.
- COLARES, A. V.; CORDEIRO, L. N.; COSTA, J. G. M.; CAMPOS, A. R.; CARDOSO, A. H. Efeito gastroprotetor do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (Janaguba). **Infarma**, v. 20, n. 11/12, p. 34-36, 2008b.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. v. 1. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. v. 1. 6. ed. Lisboa: Editora Fundação Calouste Gullbenkian, 2002.
- COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, W. C. S.; COSTI, C. L. S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 207-212, 2010.
- DI STASI, C. L.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Unesp, 2002.
- DI STASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A.; QUEIROZ, M. J. R.; TIEN, O. S.; KAKINAMI, S. H.; REIS, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. 69-91, 2002.
- DISCHER, C. A. D.; MEDWICK, T. Química farmacêutica inorgânica. In: Gennaro, A. R. **Remington: a ciência e a prática farmacêutica**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, p. 1798-1811, 2004.
- DOURADO, E.R.; DOCA, K.N.P.; ARAUJO, T.C.C. Comercialização de plantas medicinais por “raizeiros” na cidade de Anápolis-GO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, p. 67-69, 2005.
- DUBOIS, M.; GILES, K. J. K.; REBES, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- EL-HAGRASSI, A. M.; ALI, M. M.; OSMAN, A. F.; SHAABAN, M. Phytochemical investigation and biological studies of *Bombax malabaricum* flowers. **Natural Products Research**, v. 25, n. 2, p. 141-151, 2011.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. *In*: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 3. ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade/ UFRGS, 2001. p. 87-99.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 35-6, 2003.

ELIZABETSKY, E.; CASTILHOS, C. Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. **International Journal of Crude Drug Research**, v. 28, p. 309-320, 1990.

ENDO, Y.; HAYASHI, H.; SATO, T.; MARUNO, M.; OHTA, T.; NOZOE, S. Confluent acid and 2'-O-methylperlatolic acid, monoamine oxidase B inhibitors in a Brazilian plant, *Himatanthus sucuuba*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, p. 1198-1201, 1994.

ENDRESS, M. E.; BRUYNS P. V. A Revised Classification of the Apocynaceae. **Botanical Review**, v. 60, n. 1, p. 2-56, 2000.

FABIYI, O. A.; ATOLANI, O.; ADEYEMI, O. S.; OLATUNJI, G. A. Antioxidant and Cytotoxicity of β -Amyrin acetate fraction from *Bridelia ferruginea* Leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p.S981-S984, 2012.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1%2020110216.pdf>. Acesso em: 30 mai. 2011.

FERNANDES, M. Z. L. C. M.; FERNANDES, R. M.; SOUSA, M. C. B. B.; LOPES, J. B. Determinação da toxicidade aguda da *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson (Apocynaceae) em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 81, p. 98-100, 2000.

FERREIRA, J. L. P.; AMARAL, A. C. F.; ARAUJO, R. B.; CARVALHO, J. R.; PROENÇA, C. E. B.; FRAGA, S. A. P. M.; SILVA, J. R. A. Pharmacognostical comparison of three species of *Himatanthus*. **International Journal of Botany**, v. 5, n. 2, p. 171-175, 2009.

FORZZA, R. C. (org.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. v. 1. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio/Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 626.

FRANCA, O. O.; BROWN, R. T.; SANTOS, C. A. Uleine and demethoxyaspidospermine from the bark of *Plumeria lancifolia*. **Fitoterapia**, v. 71, n. 2, p. 208-10, 2000.

FRANÇA, W. C. S. C.; SOUZA, A. C. R. L. A.; CORDEIRO, J. A.; CURY, P. M. Análise da ação da *Himatanthus drasticus* na progressão do câncer de pulmão induzido por uretana em camundongos. **Einstein**, v. 9, n. 3, p. 350-353, 2011.

FREITAS, A. V. L. **Recursos genéticos em quintais de comercialização de plantas de uso medicinal no município de São Miguel-RN**. 2009. 192 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2009.

FROTA, J. T. **Avaliação das atividades hipoglicemiantes e hipolipidêmica da mistura de α,β -amirina, triterpenos pentacíclicos isolados do *Protium heptaphyllum*, em camundongos.** 2011. 110 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

GABRIELS, M.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J. Experimental designed optimization and stability evaluation of dry suspensions with artemisini derivatives for paediatric use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 283, p. 19-34, 2004.

GALLICE, W.C.; MESSERSCH, I.; ZAMORA, P.P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Química Nova**, v. 34, p. 397-403, 2011.

GRAEBNER, I. B. **Estudo dos constituintes químicos isolados de plantas medicinais da Região do Vale do Purus no Acre (Amazônia).** 2003. 116 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HARISH, B. G.; KIRSHNA, V.; KUMAR, H. S. S.; AHAMED, B. M. K.; SHARATH, R.; SWAMY, H. M. K. Wound healing activity and docking of glycogen-synthase-kinase-3- β -protein with isolated triterpenoid lupeol in rats. **Phytomedicine**, v. 15, p. 763-767, 2008.

HOLANDA PINTO, S. A.; PINTO, L. M. S.; CUNHA, G. M. A.; CHAVES, M. H.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Anti-inflammatory effect of α -, β -amyrin, a pentacyclic triterpene from *Protium heptaphyllum* in rat model of acute periodontitis. **Inflammopharmacology**, n. 16, p. 48-52, 2008.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Nacionais Renováveis. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/recursosflorestais/araripe.htm>>. Acesso em: 20 out. 2009.

JABEEN, K.; JAVAID, A.; AHMAD, E.; ATHAR, M. Antifungal compounds from *Melia azederach* leaves for management of *Ascochyta rabiei*, the cause of chickpea blight. **Natural Products Research**, v. 25, n. 3, p. 264-276, 2011.

KHAFAGI, I. K.; DEWEDAR, A. The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of sinai medicinal plants of bioactive compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 365-376, 2000.

KUMAR, P.; SINGH, A.; SHARMA, U.; SINGH, D.; SINGH, S.; DOBHAL, S. Anti-mycobacterial activity of plumericin and isoplumericin against MDR *Mycobacterium tuberculosis*. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**, v. 26, n. 3, p.332-335, 2013.

KUPPUSAMY, C.; KUPPUSAMY, C.; MURUGAN, K.; ARUL, N.; YASODHA, P. Larvicidal and insect growth regulator effect of α -amyrin acetate from *Catharanthus roseus* Linn against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Entomological Research**, v. 39, n. 1, p.78-83, 2009.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. v. 2. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 2001.

LASZCZYK, M. N. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. **Planta Medica**, v. 75, p. 1549-1560, 2009.

LARROSA, C. R. R.; DUARTE, M. R. Contribuição ao estudo anatômico do caule de *Himatanthus sukuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 110-114, 2005.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 3. ed. Campinas: Átomo, 1998.

LEITE, G. O.; PENHA, A. R. S.; SILVA, G. Q.; COLARES, A. V.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; CARDOSO, A. L. H.; CAMPOS, A. R. Gastroprotective effect of medicinal plants from Chapada do Araripe, Brazil. **Journal of Young Pharmacy**, v. 1, n. 1, p. 54-56, 2009.

LIMA, V. B. **Estudo fitoquímico de *Himatanthus obovatus* (Muell. Arg.) Woodson (Apocynaceae)**: isolamentos, elucidação estrutural e atividade biológica. 2005. 176 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

LIMA, M. P.; HILST, L. F.; MATTANA, F. V. R.; SANTOS, C. A. M.; WEFFORT-SANTOS, A. M. Alkaloid-rich fraction of *Himatanthus lancifolius* contains anti-tumor agents against leukemic cells. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, 2010.

LIN, K.; HUANG, A.; TU, H.; LEE, L.; WU, C.; HOUR, T.; YANG, S.; PU, Y.; LIN, C. Xanthine oxidase inhibitory triterpenoid and phloroglucinol from guttiferaceous plants inhibit growth and induced apoptosis in human NTB1 cells through a ROSdependent mechanism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 407-414, 2011.

LINHARES, J. F.; PINHEIRO, C. U. B. Caracterização do sistema de extração de látex de janaúba (*Himatanthus* Willd. Ex Schult. – Apocynaceae), no município de Alcântara, estado do Maranhão, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, n. 1, p. 23-31, 2013.

LOPES, J. F. **Ioimbina e uleína isolados de *Himatanthus lancifolius* (Muell.-Arg.) Woodson, Apocynaceae**. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008.

LUCETTI, D. L.; LUCETTI, E. C. P.; BANDEIRA, M. A. M.; VERAS, H. N. H.; SILVA, A. H.; LEAL, L. K. A. M.; LOPES, A. A.; ALVES, V. C. C.; SILVA, G. S.; BRITO, G. A.; VIANA, G. B. Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. **Journal of Inflammation**, v. 7, n. 60, p. 1-11, 2010.

LUCINDA, L. M. F.; VIEIRA, B. J.; SALVADOR, P. A.; OLIVEIRA, T. T.; PETERS, V. M.; REIS, J. E. P.; GUERRA, M. O. Efeito do extrato de *Ginkgo biloba* L., Ginkgoaceae, na

osteoporose induzida em ratas Wistar. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 429-434, 2010.

LUZ, H. S.; SANTOS, A. C. G.; LIMA, F. C.; MACHADO, K. R. G. Prospecção fitoquímica de *Himatanthus drasticus* Plumel (Apocynaceae), da mesorregião leste maranhense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 657-662, 2014.

MABBERLEY, D. J. **The plant-book**: a portable dictionary of vascular plants. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p.79-87, 2004.

MARIANO, M. B; VIDAL, C. M. D. S; SOUZA, J. B. Avaliação da qualidade microbiológica da água para balneabilidade do Salto Manduri, Prudentópolis – PR. *In*: VI Semana de Estudos da Engenharia Ambiental, 2008, Paraná. **Anais**. Paraná: DENAM, 2008. p. 1-9.

MARINHO, D. G.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 2, p. 530-537, 2011.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas**: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 3. ed. Fortaleza: Editora da UFCE, 1998.

MATOS, F. J. A. **Plantas da medicina popular do Nordeste**: propriedades atribuídas e confirmadas. Fortaleza, CE: UFC Edições, 1999.

MATOS, M. P. V. **Aspectos bioquímicos e etnofarmacológicos do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel**. 2013. 90 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

MAURYA, R.; SRIVASTAVA, A.; SHAH, P.; SIDDIQI, M. I.; RAJENDRAN, S. M.; PURI, A.; YADAV, P. P. Beta-Amyrin acetate and beta-amyrin palmitate as antidyslipidemic agents from *Wrightia tomentosa* leaves. **Phytomedicine**, v. 19, n. 8-9, p.682-685, 2012.

MELO, C. M.; CARVALHO, K. M.; NEVES, J. C.; MORAIS, T. C.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A.; BRITO, G A.; CHAVES, M. H. α,β -Amirina, a natural triterpenoid ameliorates L-arginine-induced acute pancreatitis in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 34, p. 4272-4280, 2010.

MESQUITA, M. L.; DESRIVOT, J.; BORIES, C.; FOURNET, A.; PAULA, J. E.; GRELLIER, P.; ESPINDOLA, L. S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian cerrado plants. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 100, p. 783-787, 2005.

MILLIKEN, W. Plants used in the treatment of malaria in Roraima state - Preliminary report. **Royal Botanic Garden, Kew**, 1995. p. 67.

MIRANDA, A. L. P.; SILVA, J. R. A.; REZENDE, C. M.; NEVES, J. S.; PARRINI, S. C.; PINHEIRO, M. L. B.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; PINTO, A. C. Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuuba*. **Planta Medica**, v. 66, p. 284-286, 2000.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S.; MELLO, W. J. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Org.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 171-223.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Unidade de Conservação: Floresta Nacional do Araripe**. Disponível em: < <http://sistemas.mma.gov.br/cnuc/index.php?ido=relatorioparametrizado.exibeRelatorio&relatorioPadrao=true&idUc=115>>. Acesso em: 18 jul. 2014a.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Plano de manejo da Floresta Nacional do Araripe**. Disponível em: < www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/.../flona_araripe_pm_diag2.pdf>. Acesso em: 3 nov. 2014b.

MODESTO, M. M. L. S. **Aspectos ecológicos e socioeconômicos de *Himatanthus articulata* (Wahl.) Woodson. janaguba da Chapada do Araripe**. 1997. 55 f. Monografia (Especialização em Botânica) – Universidade Regional do Cariri, Crato, 1997.

MORAES, T. M.; RODRIGUES, C. M.; KUSHIMA, H.; BAUAB, T. M.; VILLEGAS, W.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A. R.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Hancornia speciosa*: indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 161-168, 2008.

MORAGAS, C. J. **Estudo do gênero *Himatanthus*: anatomia vegetal, fitoquímica, farmacologia e biotransformação**. 2006. 287 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

MOREIRA, J. C. H. **Agentes fitoquímicos da *Persea americana* Mill e seu potencial contributo na dermocosmética**. 2012. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

MOREL, A. F.; GRAEBNER, I. B.; PORTO, C.; DALCOL, I. I. Study on the antimicrobial activity of *Hymatanthus sucuuba*. **Fitoterapia**, v. 77, p. 50-53, 2006.

MURTAZA, I.; SALEEM, M.; ADHAMI, V. M.; HAFEEZ, B. B.; MUKHTAR, H. Suppression of cFLIP by lupeol, a dietary triterpene, is sufficient to overcome resistance to TRAIL-mediated apoptosis in chemoresistant human pancreatic cancer cells. **Cancer Research**, v. 69, p. 1156-1165, 2009.

MOUSINHO, K. C.; OLIVEIRA, C. C.; FERREIRA, J. R. O.; CARVALHO, A. A.; MAGALHÃES, H. I. F.; BEZERRA, D. P.; ALVES, A. P. N. N.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C.; MATOS, M. P. V.; RAMOS, M. V.; MORAES, M. O. Antitumor effect of

laticifer proteins of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel – Apocynaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 421-426, 2011.

NA, M.; KIM, B. Y.; OSADA, H.; AHN, J. S. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by lupeol and lupenone isolated from *Sorbus commixta*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 24, p. 1056-1059, 2009.

NARDIN, J. M.; SOUZA, W. M.; LOPES, J. F.; FLORÃO, A.; SANTOS, C. A. M.; WEFFORT-SANTOS, A. M. Effects of *Himatanthus lancifolius* on human leukocyte chemotaxis and their adhesion to integrins. **Planta Medica**, v. 74, p. 1253-1258, 2008.

NARDIN, J. M.; LIMA, M. P.; MACHADO, J. C.; HILST, L. F.; SANTOS, C. A. M.; WEFFORT-SANTOS, A. M. The uleine-rich fraction of *Himatanthus lancifolius* blocks proliferative responses of human lymphoid cells. **Planta Medica**, v. 76, p. 697-700, 2010.

NASCIMENTO, V. T.; LACERDA, E. U.; MELO, J. G.; LIMA, C. S. A.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Controle de qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados na cidade de Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 3, p.56-64, 2005.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test**. 8th ed. Approved Standard M2-A8 and Supplement M100-S14. Wayne, Pa, 2004.

NERES, A. Janaguba, a planta milagrosa. **Tribuna do Ceará**, Fortaleza, CE, 21 de junho de 1990. p. 5.

NGUEMFO, E. L.; DIMO, T.; DONGMO, A. B.; AZEBAZE, A. G. B.; ALAOUI, K.; ASONGALEM, A. E.; CHERRAH, Y.; KAMTCHOUING, P. Anti-oxidative and anti-inflammatory activities of some isolated constituents from the stem bark of *Allanblackia monticola* Staner L. C. (Guttiferae). **Inflammopharmacology**, v. 17, p. 37-41, 2009.

NICHOLAS, A.; BAIJNATH, H. A consensus classification for the order Gentianales with additional details on the suborder Apocyninae. **The Botanical Review**, v. 60, n. 4, p. 441-482, 1994.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. Flavonol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 74, p. 209-215, 1997.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; COELHO, T. S.; SILVA, P. E. A.; LOURENÇO, M. C. S.; ARQMO; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological versus random plant selection methods for the evaluation of the antimicrobial activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 5, p. 793-806, 2011.

PAULETTI, P. M.; ARAÚJO, A. R.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M. Triterpenos de *Styrax camporum* (Styracaceae). **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 349-352, 2002.

PAULI, G. F.; GÖDECKE, T.; JAKI, B. U.; LANKIN, D. C. Quantitative ¹H NMR: Development and potential of an analytical method – an update. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 4, p. 834-851, 2013.

PEIXOTO, M. Janaguba. **Diário do Nordeste**, Fortaleza, CE, 26 de setembro de 2001. p. 4.
PERDUE, G. P.; BLOMSTER, R. N. South-American plants 3. Isolation of fulvoplumierin from *Himatanthus sucuuba* (M. Arg.) Woodson (Apocynaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 67, p. 1322-1323, 1978.

PLUMEL, M. M. Repartition géographique du genre *Himatanthus* em Amérique Tropicale. **Comptes Rendus Society of Biogeography**, v. 66, n. 3, p. 103-127, 1990.

PLUMEL, M. M. Le genre *Himatanthus* (Apocinaceae): revisión taxonomique. **Boletim do Herbarium Bradeanu**, v. 5, p. 1-20, 1991.

PRASAD, S.; KALRA, N.; SHUKLA, Y. Hepatoprotective effects of lupeol and mango pulp extract of carcinogen induced alteration in Swiss albino mice. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 51, p. 352-359, 2007.

QUINET, C. G. P.; ANDREATA, R. H. P. Estudo taxonômico e morfológico das espécies de Apocynaceae Adans. na Reserva Rio das Pedras, Município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas – Botânica**, n. 56, p. 13-74, 2005.

RAGASA, C. Y.; LIM, K. F.; SHEN, C. C.; RAGA, D. D. Hypoglycemic potential of triterpenes from *Alstonia scholaris*. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 47, n. 1, p. 54-57, 2013.

RATTMANN, Y. D.; TERLUK, M. R.; SOUZA, W. M.; SANTOS, C. A. M.; BIAVATTI, M. W.; TORRES, L. B. Effects of alkaloides of *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae, on smooth muscle responsiveness. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 3, p. 268-275, 2005.

REBOUÇAS, S. O.; GRIVICICHA, I.; SANTOS, M. S.; RODRIGUEZ, P.; GOMES, M. D.; OLIVEIRA, S. Q.; SILVA, J.; FERRAZ, A. B. F. Antiproliferative effect of a traditional remedy, *Himatanthus articulatus* bark, on human cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 926-929, 2011.

REBOUÇAS, S. O.; SILVA, J.; GROFF, A. A.; NUNES, E. A.; IANISTCKI, M.; FERRAZ, A. B. F. The antigenotoxic activity of latex from *Himatanthus articulatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 2, p. 389-396, 2012.

RIBEIRO, S. S.; JESUS, A. M.; ANJOS, C. S.; SILVA, T. B.; SANTOS, A. D. C.; JESUS, J. R. Evaluation of the cytotoxic activity of some Brazilian medicinal plants. **Planta Medica**, v. 78, n. 14, p. 1601-1606, 2012.

RIVERO-CRUZ, F.; SÁNCHEZ-NIETO, S.; BENÍTEZ, G.; CASIMIRO, X.; IBARRA-ALVARADO, C.; ROJAS-MOLINA, A.; RIVERO-CRUZ, B. Antibacterial compounds isolated from *Byrsonima crassifolia*. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 37, n. 2, p. 155-163, 2009.

ROBBERS, J. E.; SPEDIE, M. K.; TYLER, V. R. **Farmacognosia e biotecnologia**. São Paulo: Premier, 1997.

ROCHA, L. D. O.; SOARES, M. M. S. R.; CORREA, L. C. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, p. 521-527, 2004.

RODRIGUES, J. C. F.; SOUZA, W. Ultrastructural alterations in organelles of parasitic protozoa induced by diferente classes of metabolic inhibitors. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, p. 925-938, 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS.+ Embrapa Agroindústria Tropical, **Comunicado Técnico**, n. 128, 2006.

SALEEM, M.; MADDODI, N.; ABU ZAID, M.; KHAN, N.; BIN HAFEEZ, B.; ASIM, M.; SUH, Y.; YUN, J. M.; SETALURI, V.; MUKHTAR, H. Lupeol inhibits growth of highly aggressive human metastatic melanoma cells in vitro and in vivo by inducing apoptosis. **Clinical Cancer Research**, v. 14, p. 2119-2127, 2008.

SALEEM, M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. **Cancer Letters**, v. 285, n. 2, p. 109-15, 2009.

SALEEM, M.; MURTAZA, I.; WITKOWSKY, O.; KOHL, A. M. Lupeol triterpene, a novel diet-based microtubule targeting agent: disrupts survivin/cFLIP activation in prostate cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 388, n. 3, p. 576-582, 2009.

SALEEM, M.; SIDDIQUE, H. R. Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. **Life Sciences**, p. 285-293, 2011.

SAMPAIO, T. S. **Estudo fitoquímico de *Hancornia speciosa* Gomes: isolamento, determinação estrutural e atividade biológica**. 2008. 190 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2008.

SANTOS, G. M. **Contribuição da vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos no potencial antioxidante de produtos comerciais do açaí e cupuaçu**. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

SEQUEIRA, B. J.; VITAL, M. J. S.; POHLIT, A. M.; PARAROLS, I. C.; GLAUCIA CAÚPER, S. B. Antibacterial and antifungal activity of extracts and exudates of the Amazonian medicinal tree *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (common name: sucuba). **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 4, p. 659-661, 2009.

SHAI, L. J.; MCGAW, L. J.; ADEROGBA, M. A.; MDEE, L. K.; ELOFF, J. N. Four pentacyclic triterpenoids with antifungal and antibacterial activity from *Curtisia dentate* (Burm. F.) C.A. Sm. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 238-244, 2008.

- SHARMA, U.; SINGH, D.; KUMAR, P.; SINGH, S.; DOBHAL, S. Antiparasitic activity of plumericin & isoplumericin isolated from *Plumeria bicolor* against *Leishmania donovani*. **Indian Journal of Medical Research**, v. 134, n. 11, p.709-716, 2011.
- SHOJAEIA, A.; AREFINIA, R. Analysis of the sedimentation process in reactive polymeric suspensions. **Chemical Engineering Science**, v. 61, p. 7565-7578, 2006.
- SILVA, J. R. A.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C.; PINHEIRO, M. L. B.; CORDEIRO, M. C.; TAMBORINI, E.; YOUNG, C. M.; BOLZANI, V. S. Ésteres triterpênicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. **Química Nova**, v. 21, p. 702-704, 1998.
- SILVA, J. R. A.; AMARAL, A. C. F.; SIANI, A. C.; REZENDE, C. M.; FELCMAN, J.; PINTO, A. C.; Contribution to the study of *Himatanthus sucuuba*: látex macromolecul, microfilaments and carbohydrates. **Acta Amazônica**, v. 33, n. 1, p. 105-110, 2003.
- SILVA, J. R. A.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C.; AMARAL, A. C. F. Cytotoxicity and antibacterial studies of iridoids and phenolic compounds isolated from the latex of *Himatanthus sucuuba*. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 43, p. 7357-7360, 2010.
- SILVA, R. S.; VENDRUSCOLO, J. L.; TORALLES, R. P. Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região Sul do país. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 17, p. 392-400, 2011.
- SILVEIRA, P. F. D.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 618-626, 2008.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da Universidade, 2001.
- SINGH, D.; ARYA, P. V.; SHARMA, A.; AGGARWAL, V. P.; DOBHAL, M. P.; GUPTA, R. S. Antioxidant potential of plumieride against CCL4-induced peroxidative damage in rats. **Antioxidants**, v. 3, p. 798-813, 2014.
- SIXEL, P. J.; PECINALLI, N. R. Características farmacológicas gerais das plantas medicinais. **Infarma**, v. 16, n. 13-14, p. 74-76, 2005.
- SLISH, D. F.; UEDA, H.; ARVIGO, R.; BALICK, M. J. Ethnobotany in the search for the vasoactive herbal medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 159-165, 1999.
- SOARES, D. C.; ANDRADE, A. L. S.; DELORENZI, J. C.; SILVA, J. R. A.; FREIRE-DE-LIMA, L.; FALCÃO, C. A. B.; PINTO, A. C.; ROSSI-BERGMANN, B.; SARAIVA, E. M. Leishmanicidal activity of *Himatanthus sucuuba* latex against *Leishmania amazonensis*. **Parasitology International**, v. 59, p. 173-177, 2010.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; JUNIOR, G. M. V.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAUJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.;

BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, E. L. **Atividade Anti-tumoral de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel – Apocynaceae (janaguba)**. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SOUSA, E. L.; GRANGEIRO, A. R. S.; BASTOS, I. V. G. A.; RODRIGUES, G. C. R.; SILVA, M. J.; ANJOS, F. B. R.; SOUZA, I. A.; SOUSA, C. E. L. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (Janaguba) in the treatment of Sarcoma 180 tumor. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, p. 199-203, 2010.

SOUSA-FACUNDES, E. M.; QUEIROZ, A. B. R.; MARTINS-FILHO, O. A.; CORREA-OLIVEIRA, R.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L. Screening and fractionation of plant extracts with antiploriferative activity on human peripheral blood mononuclear cells. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1207-1212, 2002.

SOUZA, E. C. Bactérias ultra-resistentes: uma guerra quase perdida. **Ciência Hoje**, v. 23, n. 138, p. 26-35, 1998.

SOUZA, W. M.; STINGHEN, A. E.; SANTOS, C. A. M. Antimicrobial activity of alkaloidal fraction from barks of *Himatanthus lancifolius*. **Fitoterapia**, v. 75, p. 750-753, 2004.

SOUZA, W. M. **Estudo químico e das atividades biológicas dos alcalóides indólicos de *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae – (agoniada)**. 2007. 152 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SOUZA, W. M.; BREHMER, F.; NAKAO, L. S.; STINGHEN, A. E. M.; SANTOS, C. A. M. Ação da uleína sobre a produção de óxido nítrico em células RAEC e B16F10. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 191-196, 2007.

SOUZA, F. S.; MACIEL, C. C. S. Produtos fitoterápicos e a necessidade de um controle de qualidade microbiológico. **Revista Eletrônica de Ciências**, v. 3, n. 2, p. 22-30, 2010.

SOUZA, T. F.G. **Modulação da resposta inflamatória e aceleração da cicatrização de feridas cutâneas experimentais pelas proteínas isoladas do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel**. 2015. 107 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

SPINA, A. P. **Estudos taxonômico, micro-morfológico e filogenético do gênero *Himatanthus* Wild. Ex. Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae-Plumerieae)**. 2004. 197 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

SUDHAHAR, V.; KUMAR, S. A.; SUDHARSAN, P. T.; VARALAKSHMI, P. Protective effect of lupeol and its ester on cardiac abnormalities in experimental hypercholesterolemia. **Vascular Pharmacology**, v. 46, p. 412-418, 2007.

TIWARI, T. N.; PANDEY, V. B.; DUBEY, N. K. Plumieride from *Allamanda cathartica* as an antidermatophytic agent. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 393-394, 2002.

TSURUMAKI, J. N. **Avaliação da eficácia do extrato de óleo insaponificável de abacate e soja (Piascledine) no tratamento da doença periodontal induzida em ratos com artrite**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2014.

TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; MENICHINI, F.; STATTI, G. A.; MENICHINI, F. Biological and pharmacological activities of iridoids: recent developments. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 399-420, 2008.

VALENTE, L. M. M.; ALVES, F. F.; BEZERRA, G. M.; ALMEIDA, M. B. S.; ROSÁRIO, S. L.; MAZZEI, J. L.; D'AVILA, L. A.; SIANI, A. C. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcalóides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 216-223, 2006.

VAN DEN BERG, M. E. **Plantas medicinais da Amazônia**: contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém: Coleção Adolpho Ducke, 1993.

VANDERLEI, M. F.; BRITO, A. R. S. Ações espasmogênicas do extrato etanólico bruto de *Himatanthus phagedaeniica* (Mart.) Woodson, em óleo isolado de cobaia. **Caderno de Farmácia**, v. 5, n. 1/2, p. 49-71, 1989.

VANDERLEI, M. F.; SILVA, M. S.; GOTTLIEB, H. E.; BRAZ-FILHO, R. Iridoids and triterpenes from *Himatanthus phagedaenicus*: the complete assignment of the ¹H and ¹³C NMR spectra of two iridoid glycosides. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 2, p. 51-58, 1991.

VÁZQUEZ, L. H.; PALAZON, J.; NAVARRO-OCANÃ, A. The pentacyclic triterpenes, α and β -amyrins: a review of sources and biological activities, phytochemicals. **A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health**, v. 23, p. 487-502, 2012.

VELOSO, M. P.; NAGEM, T. J.; OLIVEIRA, T. T. Dihidroplumericinic acid from *Himatanthus phagedaenicus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, p. 669-671, 1999.

VIDYA, L.; LENIN, M.; VARALAKSHMI, P. Evaluation of the effect of triterpenes on urinary risk factors of stone formation in pyridoxine deficient hyperoxaluric rats. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 514-518, 2002.

VILLEGAS, L. F.; FERNÁNDEZ, I. D.; MALDONADO, H.; TORRES, R.; ZA VALETA, A.; VAISBERG, A. J.; HAMMOND, G. B. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 55, p. 193-200, 1997.

VITOR, C. E.; FIGUEIREDO, C. P.; HARA, D. B.; BENTO, A. F.; MAZZUCO, T. L.; CALIXTO, J. B. Therapeutic action and underlying mechanisms of a combination of two pentacyclic triterpenes, α - and β -amyrin, in a mouse model of colitis. **British Journal**

of **Pharmacology**, v. 157, p. 1034-1044, 2009.

WALTENBERGER, B.; ROLLINGER, J. M.; GRIESSER, U. J.; STUPPNER, H.; GELBRICH, T. Plumeridoid C from the Amazonian traditional medicinal plant *Himatanthus sukuuba*. **Acta Crystallographica**, v. 67, p. 409-412, 2011.

WHO. World Health Organization. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: WHO, 1998.

WOOD, C. A.; LEE, K.; VAISBERG, A. J.; KINGSTON, D. G. I.; NETO C. C.; HAMMOND, G. B. A bioactive spiro lactone iridoid and triterpenoids from *Himatanthus sukuuba*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, p. 1477-1478, 2001.

WOOD, O. B. Nutrição na prática farmacêutica. In: Gennaro, A. R. **Remington: a ciência e a prática farmacêutica**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, p. 1798-1811, 2004.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de Fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W. S. M.; FÁVERO, M. L. D; CORREA JÚNIOR, C.; STREMEL, D. P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira da Farmacognosia**, v. 14, n. 1, p. 29-39, 2004.

ZHANG, L.; ZHANG, Y.; ZHANG, L.; YANG, X. Lupeol, a dietary triterpene, inhibited growth, and induced apoptosis through downregulation of DR3 in SMMC7721 cells. **Cancer Investigation**, v. 27, p. 163-170, 2009.

ZIEGLER, H. L.; STAALS, T.; JAROSZEWSKI, J. W. Loading of erythrocyte membrane with pentacyclic triterpenes inhibits *Plasmodium falciparum* invasion. **Planta Medica**, v. 72, p. 640-642, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Questionário a ser aplicado junto aos raizeiros dos mercados público e horto dos Municípios de Crato; Fortaleza e Redenção do Estado do Ceará sobre etnobotânica e etnofarmacologia de *Himatanthus drasticus* (Mart) Plumel (janaguba).

Nome do entrevistado: _____

Município: _____ UF: _____

1. Sexo: () M () F
2. Estado Civil: _____
3. Escolaridade: () Fundamental () Médio () Graduação () Pós graduação
4. Idade: _____
5. Tempo de profissão: _____
6. Como o(a) Sr(a) adquiriu o conhecimento sobre a janaguba?

7. Há quanto tempo o Sr(a) realiza este trabalho?

8. O Sr.(a) conhece esta planta por qual nome?

9. O Sr.(a) é quem faz a coleta?
() sim () não
10. O Sr.(a) recebeu alguma instrução de como fazer a coleta?
() sim () não

Qual? _____
11. Em que período ou época é feita esta coleta?
() manhã () tarde () noite

Outro: _____
12. Onde é feita a coleta (cidade)?

13. Que parte da planta é utilizada como remédio?

() fresca () seca

Outra: _____

14. Como é feita a preparação?

15. Para que tipo de doença essa planta é utilizada?

16. Como se toma?

() uma colher de sopa () uma colher de sobremesa

Outra forma: _____

17. Quantas vezes ao dia?

() uma vez () duas vezes () três vezes

18. Por quanto tempo é utilizado?

() uma semana () um mês

19. O (a) Sr(a) sabe informar se o remédio gerou resultado positivo após o uso da planta?

() sim () não

Qual? _____

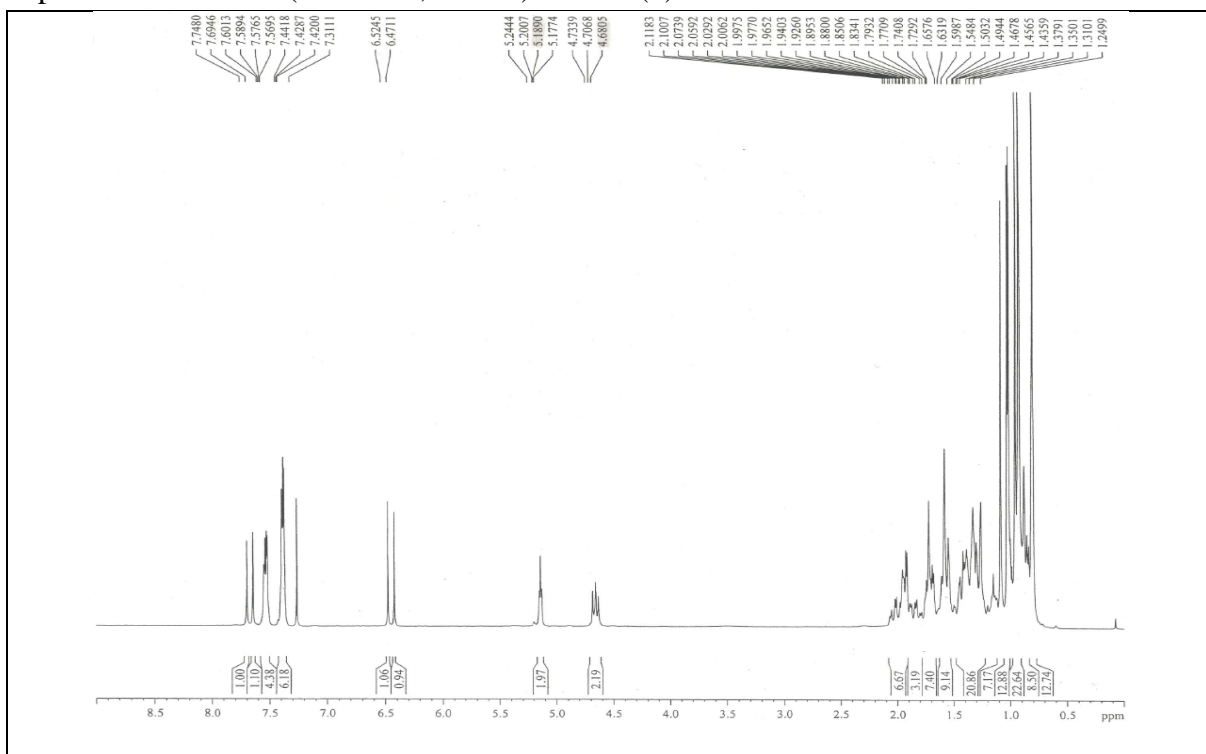
20. O (a) Sr(a) sabe informar se já ocorreu algum efeito indesejável devido ao uso desta planta?

() sim () não

Qual? _____

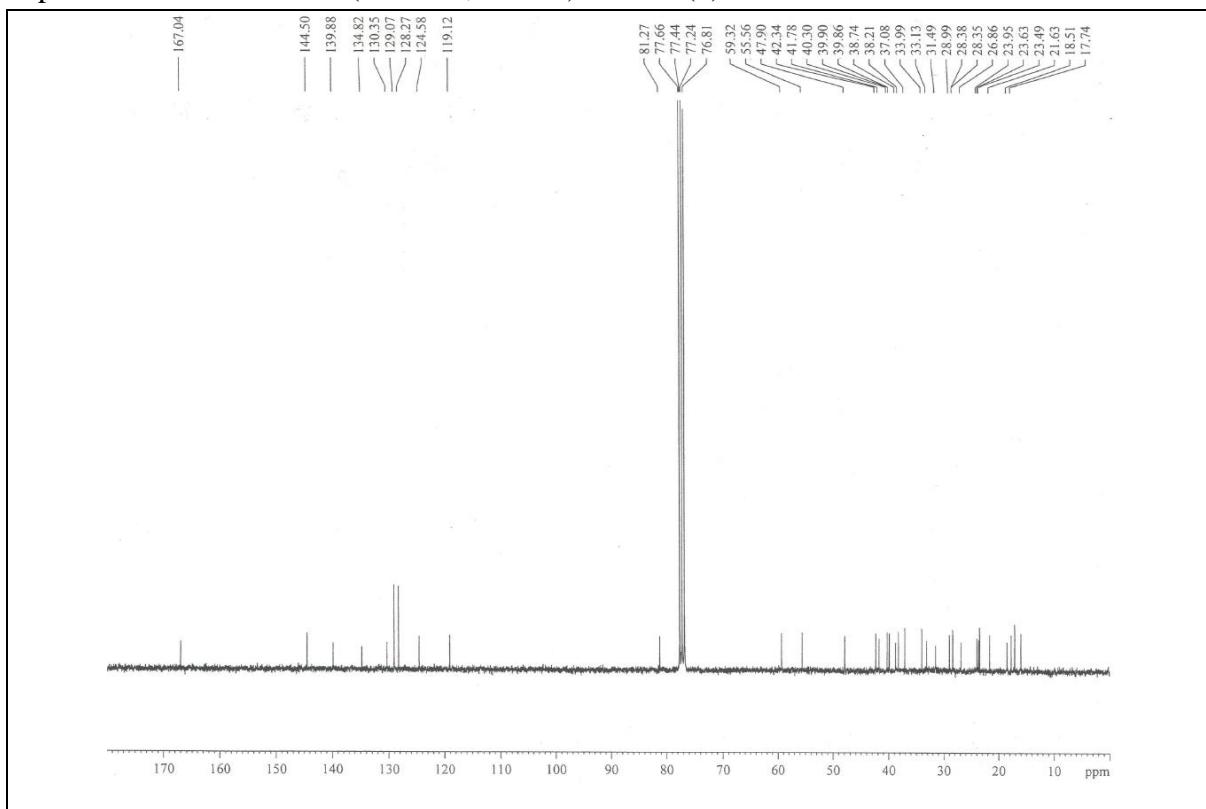
APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN ¹H E ¹³C DA Fr.5 (5)

Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) da Fr.5 (5).



Fonte: da autora.

Espectro de RMN ¹³C-BB (75 MHz, CDCl₃) da Fr.5 (5).



Fonte: da autora.

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE DE
FORTALEZA (UNIFOR)/
FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO E ETNOBOTÂNICO DE HIMANTHUS DRASTICUS (MART) PLUMEL (JANAGUBA)

Pesquisador: FABIANA PEREIRA SOARES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 10657613.9.0000.5052

Instituição Proponente: Fundação Edson Queiroz

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 355.532

Data da Relatoria: 09/08/2013

Apresentação do Projeto:

Através de um estudo qualitativo, descritivo e observacional se fará um levantamento etnobotânico e etnofarmacológico sobre a espécie de planta *Himatanthus drasticus*, conhecida popularmente como janaguba, cujo latex é empregado para tratamento de diversas enfermidades, incluindo câncer. Realizar estudo etnofarmacológico e etnobotânico de *Himatanthus drasticus* (Mart) Plumel, vulgarmente conhecido por janaguba. O estudo consistirá em aplicar um questionário de levantamento de informações junto aos raizeiros de municípios do estado do Ceará; descrever as características etnobotânicas e etnofarmacológicas de *Himatanthus drasticus* utilizada nos municípios selecionados; e realizar estudos comparativos entre as informações coletadas e dados científicos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Realizar estudo etnofarmacológico e etnobotânico de *Himatanthus drasticus* (Mart) Plumel, vulgarmente conhecido por janaguba.

Objetivo Secundário:

¿Aplicar um questionário de levantamento etnofarmacológico e etnobotânico junto aos raizeiros de municípios do estado do Ceará; ¿Descrever as

Endereço: Av. Washington Soares 1321 Bloco da Reitoria
Bairro: sala da VRPPG - Edson Queiroz **CEP:** 60.811-905
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3477-3122 **Fax:** (85)3477-3056 **E-mail:** coetica@unifor.br

UNIVERSIDADE DE
FORTALEZA (UNIFOR)
FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ



Continuação do Parecer: 355.532

características etnobotânicas e etnofarmacológicas de *Himatanthus drasticus* utilizada nos municípios selecionados; 4 Realizar estudos comparativos entre as informações coletadas e dados científicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

As informações coletadas serão utilizadas única e exclusivamente para o desenvolvimento de um trabalho científico, não implicando em risco aos entrevistados; porém, como todo projeto de pesquisa envolvendo seres humanos possui risco, este pode ser a perda do anonimato do indivíduo entrevistado.

Benefícios:

A realização da pesquisa resulta em contribuição ao conhecimento da espécie *Himatanthus drasticus* (janaguba), comumente utilizada no Ceará; colabora com a valorização das medicinas tradicionais das comunidades, no que diz respeito ao uso de plantas medicinais e a ampliação do conhecimento sobre as propriedades úteis de espécies vegetais; sendo os resultados posteriormente revertidos aos sujeitos da pesquisa na forma de livreto informativo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é claro e apresenta metodologia pertinente com as proposituras investigativas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os documentos necessários para a adequada apreciação ética.

Recomendações:

Não há recomendações a serem feitas ao projeto de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sugere-se a Aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado está de acordo com o parecer da relatoria quanto a Aprovação do projeto de pesquisa

Endereço: Av. Washington Soares 1321 Bloco da Reitoria
Bairro: sala da VRPPG - Edson Queiroz CEP: 60.811-905
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3477-3122 Fax: (85)3477-3056 E-mail: costica@unifor.br

UNIVERSIDADE DE
FORTALEZA (UNIFOR)/
FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ



Continuação do Parecer: 355.532

visto atender às determinações da Res. CNS/MS 196/96.

FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ
FORTALEZA, 09 de Agosto de 2013
Universidade de Fortaleza - UNIFOR
Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Marilva Joffily Pereira da Costa Parahyba
Assinado por:
Marilva Joffily Pereira da Costa Parahyba
(Coordenador)
Presidente do Conselho de Ética - COÉTICA

Endereço: Av. Washington Soares 1321 Bloco da Reitoria
Bairro: sala da VRPPG - Edson Queiroz **CEP:** 60.811-905
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3477-3122 **Fax:** (85)3477-3056 **E-mail:** coetica@unifor.br

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ
UNIVERSIDADE DE FORTALEZA
VICE-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DA PESQUISA: Estudo etnofarmacológico e etnobotânico de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba).

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Fabiana Pereira Soares

Prezado(a) Colaborador(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa que irá fazer um levantamento etnofarmacológico e etnobotânico de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba). Sabe-se que o Brasil abriga uma das floras mais ricas do globo, mas sendo boa parte desconhecida quimicamente. Assim, tanto a etnobotânica como a etnofarmacologia têm demonstrado ser poderosas ferramentas na busca por substâncias naturais de ação terapêutica. É através do conhecimento popular dos raizeiros que grande parte da população carente recebe orientação sobre as propriedades terapêuticas e formas de uso da janaguba. Com o levantamento de informações proposto por esta pesquisa é possível fazer estudos comparativos entre os dados coletados e dados científicos, e assim disponibilizar informações científicas à população para que façam uso de forma segura e racional de planta medicinal.

1. PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA: Ao participar desta pesquisa você responderá a um questionário contendo 20 (vinte) questões enfocando seu grau de conhecimento acerca da janaguba, informações quanto à fonte de obtenção, emprego terapêutico e o grau de conhecimento sobre riscos e benefícios do seu uso.

Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado a ENTREVISTA sem nenhum prejuízo para você.

2. RISCOS E DESCONFORTOS: O procedimento utilizado, aplicação do questionário, poderá trazer algum desconforto como a possibilidade de perda de anonimato. O tipo de procedimento apresenta um risco mínimo que será reduzido pelo acesso aos questionários aplicados apenas pelos pesquisadores do projeto.

3. BENEFÍCIOS: Os benefícios esperados com o estudo são no sentido contribuir com o conhecimento da espécie *Himatanthus drasticus* (janaguba), comumente utilizada no Ceará, colaborando com a valorização das medicações tradicionais das comunidades, no que diz respeito ao uso de plantas medicinais e a ampliação do conhecimento sobre as propriedades úteis de espécies vegetais; sendo os resultados posteriormente revertidos à população na forma de livreto informativo pelo Programa Farmácias-Vivas do Ceará e publicação de artigo científico.

4. FORMAS DE ASSISTÊNCIA: Se você precisar de alguma orientação por se sentir prejudicado por causa da pesquisa você será encaminhado(a) por Josely Neves ou Angélica Freitas

(pesquisadoras que aplicarão o questionário) para a Unifor (av. Washington Soares, 1321, bloco F, sala 45) para conversar com a pesquisadora responsável, professora Fabiana Pereira.

5. CONFIDENCIALIDADE: Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer serão utilizadas somente para esta pesquisa. Suas respostas ficarão em segredo e o seu nome não aparecerá em lugar nenhum dos QUESTIONÁRIOS, nem quando os resultados forem apresentados.

6. ESCLARECIMENTOS: Se tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Nome do pesquisador responsável: Fabiana Pereira Soares.
Endereço: Av. Washington Soares, nº1321; Bairro Edson Queiroz. CEP: 60811-905.
Telefone para contato: 3477-3284.
Horário de atendimento: 13:30-17:00 h.

Se desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa poderá consultar o Comitê de Ética da Universidade de Fortaleza, Ce.

Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos - COÉTICA
Universidade de Fortaleza.
Av. Washington Soares, 1321, Bloco da Reitoria, Sala da Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, 1º andar.
Bairro Edson Queiroz, CEP 60811-341.
Telefone (85) 3477-3122, Fortaleza, Ce.

7. RESSARCIMENTO DAS DESPESAS: Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira.

8. CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO: Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, e receberá uma cópia deste Termo.

O **sujeito de pesquisa** ou seu representante legal, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE - apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O **pesquisador responsável** deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE - apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) _____, portador(a) da cédula de identidade _____, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa. E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza-Ce., _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante

Ou Representante legal



Impressão dactiloscópica

Assinatura do Pesquisador

ANEXO C – PROJETO DO DR. JOSÉ ULISSES PEIXOTO JUNTO AO CENDEP (CE)

PROJETO DE DESENVOLVIMENTO E EXPANSÃO DA PESQUISA SOBRE A APLICAÇÃO DA SEIVA DA PLANTA NATIVA "JANAGUBA" NO TRATAMENTO DO CÂNCER.

1. Informações sobre a Janaguba:

- 1.1. Árvore nativa da Chapada do Araripe, da família das apocináceas, do gênero: pluméria, de variedade botanicamente não identificada até o momento;
- 1.2. A seiva da Janaguba é colhida ao natural e quando conservada em isopor com gelo ou em geladeira, dura aproximadamente 35 dias;
- 1.3. Quando em estado de repouso, o látex se condensa no fundo do litro, ficando um líquido sobrenadante, de tonalidade amarelada, pois o referido látex é colhido com emulsão de aproximadamente 500cc de água destilada ou potável.

2. Instruções Práticas:

- 2.1. Conservar sempre em geladeira ou isopor com gelo, durante assim, até 35 dias;
- 2.2. O sabor do leite é amargo e travoso.

3. Modo de Usar:

- 3.1. Em Geral: 30cc por dia. Em linguagem popular, duas colheres de sopa após o café, o almoço e jantar, com um total, portanto, de 6 colheres de sopa por dia.
- 3.2. Nos Cânceres Uterinos e Retais: fazer duchas com a seiva à noite, de 3 em 3 dias, além da dose por via oral.
- 3.3. Nos Cânceres Externos: aplicar diariamente a seiva sobre a lesão, além da dose oral, conforme a indicação dada acima.

4. Duração do Tratamento: 12 (Doze) Meses.

5. Controle do Tratamento: Fazer exames médicos de 30 em 30 dias, exigindo do médico assistente os seguintes exames:

1. Hemograma completo; com Scanning de Linfócitos
2. Eristrossedimentação;
3. Testes de imunidade celular;
4. Reação de Mantoux ou PP-D;
5. Controle radiológico da lesão, se for o caso.

6. Condições para continuação do tratamento:

Enviar ao pesquisador em cópias xerox o resultado dos exames e do laudo radiográfico acompanhados de um pequeno relatório do médico assistente sobre o estado do paciente, para o seguinte endereço:

CENTRO DE DOCUMENTAÇÃO, ESTUDOS E PESQUISAS - CENDEP

Cx. Postal, 54

63.100 CRATO (C.E.)

Dr. José Ulisses Peixoto
Res. Praça da 53, 59 - Fone: 450

Dr. José Ulisses Peixoto
Res. Praça da 53, 59 - Fone: 450
Consultório: Fone: 560 / 404
63100 - CRATO - CEARÁ - BRASIL

