



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA – CAMPUS I

ANTONIO CARLOS SANTOS ROCHA JÚNIOR

IDENTIFICAÇÃO POR CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE COMPOSTOS APOLARES DAS
FOLHAS DE *Cnidoscolus quercifolius* POHL (EUPHORBIACEAE)

Campina Grande

2018

ANTONIO CARLOS SANTOS ROCHA JÚNIOR

**IDENTIFICAÇÃO POR CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE COMPOSTOS APOLARES DAS
FOLHAS DE *Cnidoscolus quercifolius* POHL (EUPHORBIACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharelado em Farmácia
Generalista.

Área de concentração: Fitoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Harley da Silva Alves.

Campina Grande

2018

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R672i Rocha Júnior, Antonio Carlos Santos.
Identificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de compostos apolares das folhas de *Cnidocolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae) [manuscrito] / Antonio Carlos Santos Rocha Junior. - 2019.
34 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.

"Orientação : Prof. Dr. Harley da Silva Alves ,
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Euphorbiaceae. 2. Produtos naturais. 3. Óleos fixos. 4. Cromatografia gasosa. I. Título

21. ed. CDD 615.321

**IDENTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE COMPOSTOS APOLARES DAS
FOLHAS DE *Cnidoscolus quercifolius* POHL (EUPHORBIACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Estadual da
Paraíba, como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharelado em Farmácia
Generalista.

Área de concentração: Fitoquímica.

Aprovado em: 26/11/2018.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Harley da Silva Alves (Orientador)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Ivana Maria Fechine

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico aos meus pais. Obrigado pelos grandes ensinamentos de vida e confiança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de ter esta experiência na minha vida;

Agradeço aos meus pais, Antonio e Magali, que são os pilares da minha vida, minha fonte de confiança que sempre me impulsiona em superar meus desafios;

À minha irmã, Brisa, que sempre me acompanha nos momentos bons e ruins, firme e forte, é uma das melhores companhias que já tive nessa vida. Muito obrigado por fazer parte disto!

À Laís pela excelente convivência e respeito mútuo, saiba que serei sempre grato por tudo;

Aos meus familiares e amigos de Irecê, Salvador e Campina Grande que torcem tanto por mim;

Agradeço à toda minha turma de farmácia, na qual passamos diversos momentos juntos, fiz muitos amigos para a vida inteira e foi possível verificar a importância da união para alcançar objetivos;

Ao meu orientador Dr. Harley Alves por ter me apresentado ao mundo da pesquisa e depositado tanta confiança em mim nesta e em muitas outras atividades além desta, espero poder continuar fazendo muito mais;

Aos amigos e colegas do laboratório de fitoquímica da Universidade Estadual da Paraíba;

Aos professores e técnicos do IPeFarM-UFPB, especialmente Dr. Sócrates Galzio, pelos ensinamentos e colaboração na realização das análises de CG-EM;

Aos professores do departamento de farmácia da UEPB que são responsáveis pelo meu aprendizado, especialmente os professores Dra. Ivana Fachine e Dr. Ricardo Olímpio, na qual tenho grande admiração e participam desta banca;

Ao programa de iniciação científica da UEPB, por possibilitar a realização de diversas atividades de pesquisa no período de graduação;

À todos que se certa forma participaram deste trabalho, muito obrigado!

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 Família Euphorbiaceae	10
2.2 Características gerais do gênero <i>Cnidoscolus</i>	10
2.3 <i>Cnidoscolus quercifolius</i> Pohl	11
2.4 Óleos fixos: características químicas e suas variedades mais comuns	11
2.5 Principais fatores que influenciam no conteúdo de metabólitos secundários	12
2.6 Técnicas analíticas hifenadas na identificação de produtos naturais	14
2.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	14
3. METODOLOGIA	16
3.1 Material vegetal	16
3.2 Extração e obtenção das frações oleosas	16
3.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Frações obtidas.....	19
4.2 Rendimentos dos compostos oleosos e possíveis causas	19
4.3 Cromatogramas obtidos por GC-MS	21
4.4 Tabelas de resultados.....	23
4.5 Alcanos lineares.....	25
4.6 Hidrocarbonetos terpênicos	26
4.7 Ésteres graxos	27
5. CONCLUSÃO	29
ABSTRACT	30
REFERÊNCIAS	31

RESUMO

A caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro que apresenta uma grande variedade de espécies vegetais utilizadas na medicina popular para tratamento de doenças, demonstrando ter um grande potencial para descobertas de novos medicamentos. A espécie *Cnidoscolus quercifolius* Pohl é da família Euphorbiaceae, endêmica da caatinga e popularmente conhecida como “faveleira” ou “favela”. Para esta espécie, existem relatos de várias propriedades terapêuticas, muitas ainda sem comprovação científica. Entre os usos tradicionais, é conhecida por ter ação diurética, antibiótica, antiinflamatória e cicatrizante. Neste trabalho, foi realizada a coleta das folhas de *Cnidoscolus quercifolius* e, posteriormente, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar e pulverizado em moinho de facas para obter a droga vegetal. Foi realizado a maceração exaustiva em acetato de etila, seguido por rotoevaporação do líquido extrativo e obtenção do extrato acetato de etila bruto (AcOet). Parte do AcOet obtido foi cromatografado em coluna líquida clássica (CLC) e foi observado uma grande quantidade de compostos apolares com características oleosas em sua frações. As frações apolares A-01, A-02, A-03 e A-04 foram submetidas em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), identificando 14 moléculas características de óleo fixo. Alcanos lineares foram encontrados, como o hexacosano, hexatriacontano e tetratetracontano. Também foram identificados hidrocarbonetos terpênicos, como o diterpeno neofitadieno e triterpeno esqualeno. As maiores concentrações dessas frações correspondem às formas esterificadas de ácidos graxos, revelando como majoritário o linoleato de etila. Outros ésteres graxos encontrados foram o palmitato de etila, estereato de etila e o oleato de etila, entre outros. Este trabalho identificou e quantificou a composição química de frações apolares característicos de óleo fixo e, segundo o perfil químico, muitos desses compostos apresentam utilidades farmacológicas, cosméticas e alimentícias, demonstrando que o estudo do óleo das folhas de *Cnidoscolus quercifolius* precisa ser aprofundado em diferentes áreas de pesquisa das ciências farmacêuticas.

Palavras-chave: Euphorbiaceae. Produtos naturais. Cromatografia gasosa.

Trabalho de conclusão de curso em Farmácia Generalista na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.
Email: antoniocarlosjjunior@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Muito antes da invenção da escrita, o uso de plantas têm sido procurado pelos mais diferentes povos para tratar doenças (SIMÕES, 2007), sendo que nos últimos 50 anos, pesquisadores dos mais diversos países dedicam-se a isolar e identificar metabólitos secundários para comprovar os seus usos tradicionais na medicina popular. De acordo com o Ministério da Saúde, o uso das plantas é comum em práticas populares e tradicionais, como remédios caseiros, processo conhecido como medicina tradicional. É também a matéria-prima para a fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos (BRASIL, 2016).

No Brasil, muitas plantas nativas vem sendo conhecidas quimicamente e testadas quanto à seu potencial terapêutico, mas para muitas espécies ainda está faltando comprovação científica. De fato, o Brasil é o país com a maior biodiversidade do planeta com quase 45 mil espécies, que corresponde à 20% da diversidade mundial e muito ainda a ser descoberto cientificamente (OLIVEIRA JÚNIOR, 2017).

A caatinga é um bioma com grande diversidade que é exclusivamente brasileiro e apresenta um patrimônio biológico que, em muitos casos, não pode ser encontrado em outro lugar do planeta. Estudos etnobotânicos realizados com plantas medicinais encontradas na caatinga relatam o uso para diversas finalidades medicinais e isso alerta para a grande potencialidade terapêutica contida na flora desse bioma, que ainda é o menos estudado do país (PIO et al., 2018).

A espécie *Cnidoscolus quercifolius*, popularmente conhecida como “faveleira ou favela”, pertencente à família Euphorbiaceae, é uma planta bastante comum no semiárido nordestino, sendo bastante adotada na medicina popular por apresentar propriedades medicinais atribuídas pelos usuários, sendo empregada no tratamento de doenças agudas e crônicas, além de curar ferimentos. Estudos realizados em comunidades no semiárido paraibano relatam uma variedade de propriedades que os usuários atribuem à espécie. Dentre elas são citadas a ação cicatrizante, analgésica, anti-inflamatória, antibiótica e diurética (GOMES et al, 2014a; MORAIS et al, 2016; PAREDES et al, 2016).

Segundo Cavalcanti et al., (2012), a faveleira é uma espécie com um potencial produtor de óleo, e a completa caracterização desse óleo nunca foi estudada, tendo um estudo conhecido do teor de ácidos graxos na composição de sementes e em algumas frações de extratos da fase hexânica de partes aéreas (SILVESTRE, 2017). Também verificou-se uma importante atividade antioxidante e estabilidade oxidativa do óleo extraído das sementes (SANTOS et al., 2017).

Óleos vegetais vêm sendo utilizados para uma grande variedade de funções ao longo da história com a sua complementação como alimento, produtos cosméticos e farmacêuticos. Atualmente, estes produtos naturais estão cada vez mais reconhecidos por seus efeitos em doenças de pele e restauração da homeostasia cutânea (LIN et al, 2018).

Portanto, apesar da faveleira ser bastante conhecida na medicina tradicional por muitas utilidades terapêuticas, possui muito a ser estudado do ponto de vista químico dos seus extratos, inclusive do óleo produzido nas folhas. Desta forma, apresenta potencial para o descobrimento de novos compostos que possam indicar o surgimento de novos bioprodutos.

O objetivo deste trabalho foi selecionar parte das frações obtidas do extrato acetato de etila bruto (AcOet) e realizar análises em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) com a finalidade de identificar e quantificar metabólitos secundários que possam apresentar propriedades terapêuticas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Família Euphorbiaceae

Euphorbiaceae é a maior família da ordem Malpighiales, que compreende por 246 gêneros e mais de 6300 espécies catalogadas, podendo ser encontradas em diversos lugares do mundo (WURDACK et al, 2009), sobretudo em regiões de clima tropical dos continentes americano e africano, existindo sob a forma de ervas, arbustos, árvores e trepadeiras, e tendo como maior característica em comum a presença de látex incolor ou leitoso (HIROTA et al, 2010).

São conhecidas por apresentar espécies oleaginosas, sobretudo nas sementes, e raízes tuberosas que podem ser utilizadas para finalidade alimentícia, apresentam propriedade antinoceptiva e purgativa, como na mamona, *Ricinus communis* L, (ESFANDYARI, 2018), além de possuir representantes com alto grau de toxicidade (HIROTA et al, 2010).

No Brasil, a espécie desta família que possui maior valor comercial é a mandioca, *Manihot esculenta*, que através de suas raízes é feita farinhas que é utilizada como alimento para humanos e animais (PARENTE, 2018).

A família Euphorbiaceae dispõe de uma grande variedade de classes de metabólitos secundários, porém os mais representativos são os terpenoides e compostos fenólicos, principalmente os flavonoides, sugestivo para ação antiinflamatória de várias espécies medicinais dessa família (OLIVEIRA JÚNIOR, 2017).

2.2 Características gerais do gênero *Cnidoscolus*

A principal característica deste gênero da família Euphorbiaceae é a presença de tricomas urticantes (*Cnidoscolus*, do grego: *knide* = urtiga, *skolos* = ponta) em suas partes aéreas. Esses tricomas quando tocados provocam dores localizadas e urticária (MELO et al, 2008).

Existem 50 espécies neste gênero, onde 26 se encontram no México (GORDILLO, 2012). No bioma da caatinga, existem quatro representantes de plantas medicinais: *Cnidoscolus infestus* Pax e K. Hoffm, *Cnidoscolus pubescens* Pohl, *Cnidoscolus quercifolius* Pohl e *Cnidoscolus urens* (L). Arthur. Para finalidades medicinais, estas espécies apresentam mecanismos como agente antitumoral e antiinflamatório para o sistema genito-urinário, como antiséptico e para o tratamento de infecções renais, dermatológicas, hematomas, fraturas, feridas, verrugas, disenteria, hemorragia,

apendicite e reumatismo. Quimicamente, estas espécies apresentam terpenoides, esteroides, cumarinas, flavonoides e taninos como principais representantes do metabolismo secundário (PEIXOTO SOBRINHO, 2012).

2.3 *Cnidoscolus quercifolius* Pohl

A espécie *Cnidoscolus quercifolius* Pohl é uma planta decídua, xerófila e está distribuída em todos os estados do nordeste e parte norte de Minas Gerais, predominando nas regiões de caatinga. Popularmente é conhecida como faveleira, favela, cansanção e favela-de-galinha. São arbustos produtores de látex, que podem atingir quatro metros de comprimento e que apresentam tricomas urticantes em suas partes aéreas (SÁTIRO & ROQUE, 2008).

Através de estudos farmacológicos realizados previamente foi constatado que extratos etanólicos obtidos das folhas e cascas do caule da espécie apresentam atividade antinociceptiva (GOMES et al., 2014a) e anti-inflamatória (GOMES et al., 2014b) em animais.

Também foi demonstrado que a planta é um potencial antitumoral em diferentes extratos (PAULA et al., 2016). Além disso, existe análise da composição química do óleo das sementes, que indica ter bom rendimento, estabilidade oxidativa e adequada para a alimentação (SANTOS et al., 2017).

2.4 Óleos fixos: características químicas e suas variedades mais comuns

Os óleos fixos são produtos naturais que tem como principal função a reserva de energia, atuando também como mensageiros em diferentes processos metabólicos e marcadores imunológicos. São chamados de lipídeos ou ácidos graxos, insolúveis em água e apresentam solubilidade em solventes orgânicos. Diferentemente dos óleos essenciais, possuem alto ponto de ebulição e baixa tensão de vapor, o que impossibilita a sua separação por destilação. Os métodos de extração são por prensagem mecânica ou por esgotamento de solvente, geralmente o hexano (SIMÕES et al., 2007).

Os ácidos graxos são glicerídeos de ácidos graxos de cadeia longa derivados biosinteticamente do complexo enzimático ácido graxo sintetase (FAS). Os exemplos mais comuns de ácidos graxos saturados são ácido láurico ($C_{12}H_{24}O_2$), mirístico ($C_{14}H_{28}O_2$), palmítico ($C_{16}H_{32}O_2$) e esteárico ($C_{18}H_{36}O_2$). Já quando se trata dos

insaturados, os principais representantes são o ácido oleico ($C_{18}H_{34}O_2$), linoleico ($C_{18}H_{32}O_2$) e linolênico ($C_{18}H_{30}O_2$) (ROBBERS et al., 1997).

É comum na composição de óleos vegetais, sobretudo nas superfícies das folhas e caule, a presença de cera vegetal. Esses compostos são uma mescla de compostos lipofílicos de alto peso molecular (200-700 unidades de massa atômica) que pode ser formado por hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, ésteres e aldeídos de cadeia longa (SIMÕES et al., 2007).

Além disso, podem ser encontrados junto ao óleo fixo sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, carotenoides, esteroides, compostos fenólicos, entre outros (ZAYED, 2016).

2.5 Principais fatores que influenciam no conteúdo de metabólitos secundários

Um dos fatores mais importantes a serem considerados na composição química de espécies vegetais é a época do ano. São relatadas, por exemplo, variações sazonais no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários, como óleos essenciais, ácidos graxos, lactonas sesquiterpênicas, ácidos fenólicos, flavonóides, cumarinas, saponinas, alcalóides, taninos, graxas epicuticulares, glucosinolatos e glicosídeos cianogênicos. (GOBBO-NETO, 2007).

Além disso existem, também, cada vez mais estudos mostrando que a composição de metabólitos secundários de uma planta pode variar apreciavelmente durante o ciclo dia/noite, apontando variações circadianas nas concentrações de óleos voláteis, iridóides, alcalóides, glucosinolatos, glicosídeos cianogênicos e tiocianatos. (GOBBO-NETO, 2007).

Existem estudos que mostram que as concentrações de derivados de antraquinona, que são a hipericina e pseudo-hipericina, na erva de São João, *Hypericum perforatum*, com propriedades antivirais (FRITZ, 2006) e antidepressivas (ALVES, 2014), aumentam de cerca de 30 vezes no verão em relação ao inverno (GOBBO-NETO, 2007).

Outros fatores a serem considerados é a disponibilidade de água, luz, ataques de micro-organismos, clima, idade e desenvolvimento da planta (SIMÕES, 2007).

2.6 Técnicas analíticas hifenadas na identificação de produtos naturais

Nos extratos vegetais podem existir centenas e até milhares de compostos com características físico-química e espectroscópicas diferentes. Muitas vezes as técnicas de isolamento só conseguem identificar um número limitado de compostos químicos, sob o risco de não ter quantidade suficiente para a completa elucidação estrutural por técnicas de espectroscopia e sua utilização em testes farmacológicos. Por isso, a utilização de uma eficiente detecção e caracterização têm papel fundamental na pesquisa de produtos naturais antes mesmo de seu isolamento. Para isso, a utilização de técnicas hifenadas é de grande valia, pois fornece numerosas informações estruturais, além de poder quantificar uma grande variedade de metabólitos secundários (OLIVEIRA JÚNIOR, 2017; BERLINCK, 2017; SCHNEIDER, 2013).

A hifenação é a combinação de um método eficiente cromatográfico com detector espectrométrico, onde a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ocupam posições de destaque entre os métodos de separação. Estas técnicas cromatográficas combinadas com diferentes detectores, como GC-MS, HPLC-MS, HPLC-DAD, HPLC-UV-MS e HPLC-RMN, que utilizam como detectores espectrometria de massas (MS), detector de arranjos de diodo (DAD), detectores ultravioleta (UV) e ressonância magnética nuclear (RMN) estão sendo cada vez mais utilizadas por inúmeros grupos de pesquisa, em decorrência de uma necessidade da atualização das abordagens para investigação do metabolismo secundário de fontes naturais (BERLINCK, 2017).

2.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

Na química analítica, apurações qualitativas ou quantitativas, nas quais analisam-se matrizes alimentícias, amostras de origem natural, síntese orgânica e derivados petroquímicos, têm sido relatadas constantemente. Estas matrizes são particularmente interessantes e desafiadoras sob o ponto de vista cromatográfico por causa de seu elevado número de constituintes, que, por sua vez, exibem uma ampla diversidade de propriedades físico-químicas (HANTAO, 2016).

Dentre as inúmeras técnicas de análise instrumental, a cromatografia gasosa (GC) destaca-se com excelência para separação, detecção e identificação de compostos voláteis e semivoláteis em misturas complexas (BOGUSZ JUNIOR, 2015).

Uma das técnicas analíticas hífenadas com maior robustez e utilidade ultimamente é cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Com esse procedimento, existe a separação cromatográfica seguida de detecção pelo espectro de massas usando método comparativo com o banco de dados (quimioteca), que oferece resultados precisos sem a necessidade que a amostra se apresente em um grau de pureza elevado como acontece em uma análise por RMN (SCHNEIDER, 2013).

Entre as características principais de um GC-MS, é a razão entre o fluxo de gás inerte e de alta pureza e da amostra liberada no injetor, em um sistema à vácuo, na qual a separação ocorre pelas diferentes interações químicas das moléculas com a fase estacionária sob temperatura programada. A amostra precisa se manter estável e volatilizar à temperaturas até 300°C para percorrer a coluna cromatográfica e serem identificadas no detector (GODINHO, 2009).

O método empregado e cuidado no preparo das amostras vão influenciar no sucesso da análise. Dessa forma, o tempo tomado para um material eluir na coluna (tempo de retenção) será reprodutível sob as idênticas condições de operação do cromatógrafo. O tempo de retenção de um composto pode ser um bom guia para sua identificação quando comparado com padrões conhecidos em amostras diferentes que apresentem compostos químicos em comum (SILVA et al, 2018).

3. METODOLOGIA

3.1 Material vegetal

A planta foi identificada com o número de excicata 61.260 e depositada no herbário JPB – Lauro Pires Xavier (CCEN/JPB/UFPB). As folhas de *Cnidocolus quercifolius* Pohl foram coletadas (2 kg) no *campus* I da Universidade Estadual da Paraíba (7° 12'36,3" S / 35° 54'51,9" W), no município de Campina Grande, Paraíba, no dia 01 de novembro de 2017 às 07:00.

3.2 Extração e obtenção das frações oleosas

O material vegetal coletado foi seco em estufa de circulação de ar por cinco dias e pulverizado em moinho de facas, obtendo-se 374,9 gramas do pó. O pó foi submetido à maceração exaustiva em acetato de etila e o líquido extrativo obtido foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida em temperatura constante de 45 °C, obtendo-se 31,5 gramas do extrato acetato de etila bruto (AcOet), apresentando um rendimento de 8,4%.

Figura 1. Secagem (I); rotoevaporação do líquido macerado (II); e coluna cromatográfica (III).



Fonte: o autor

Uma parte do extrato AcOet (16,1 g) foi submetida à cromatografia em coluna clássica (C-A) de sílica gel (0,063 – 0,2 mm/ 70-230 mesh ASTM) como fase

estacionária, tendo como sistema eluente os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, usados de forma única e como misturas binárias sempre em ordem crescente de polaridade.

As sete primeiras frações se tratavam de substâncias oleosas. Os sistemas de solventes empregados e a quantidade de cada amostra oleosa após evaporação total do solvente se encontra na **Tabela 01**.

Tabela 01. Frações oleosas obtidas do extrato AcOet folhas de *C. quercifolius*

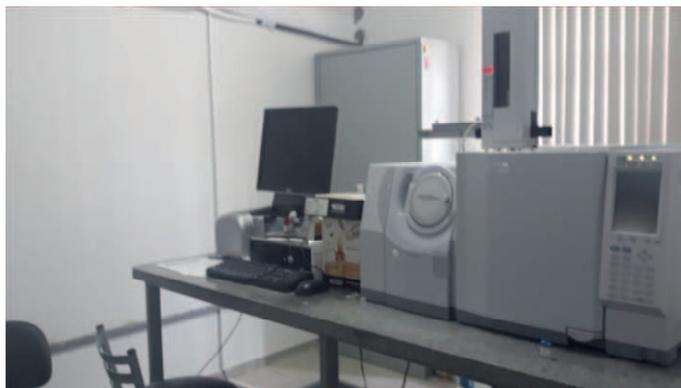
Cromatografia líquida clássica	Quantidade (g)	Sistema de eluição (%)
A-01	0,265	Hexano 100
A-02	2,4811	Hexano 95:5 Diclorometano
A-03	3,1314	Hexano 90:10 Diclorometano
A-04	0,6267	Hexano 87:13 Diclorometano
A-05	0,3396	Hexano 85:15 Diclorometano
A-06	0,2385	Hexano 83:17 Diclorometano
A-07	0,1538	Hexano 80:20 Diclorometano
Total:	<u>7,2365</u>	

Por se tratar de substâncias oleosas, este trabalho foi direcionado à análise da composição química em GC-MS. As amostras A-01, A-02, A-03, A-04 foram analisadas.

3.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

As análises foram diluídas em hexano e analisadas no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IpeFarM) na Universidade Federal da Paraíba.

Figura 2. Aparelho de GC-MS do IPeFarM- UFPB



Fonte: o autor

O modelo do cromatógrafo foi GCMS-QP2010 Ultra da marca Shimadzu, a coluna de marca RTX-5MS, com o capilar (5% Diphenyl / 95% dimethyl polysiloxane) de tamanho: 30 m de comprimento/ 0.25 mm de diâmetro interno / 0.25 μm de diâmetro do filme. Utilizando gás hélio transportado com um fluxo constante de 1,1 mL/min, volume de injeção de 1,0 μL , razão de fluxo do injetor 1:5, temperatura do injetor de 240 $^{\circ}\text{C}$; temperatura do detector de 260 $^{\circ}\text{C}$. A temperatura do forno foi programada de 100 $^{\circ}\text{C}$ (isotérmico durante 5 min), com um aumento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 250 $^{\circ}\text{C}$ (isotérmico durante 5 min) e 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até atingir 280 $^{\circ}\text{C}$ (isotérmica durante 15 min). Tempo total da análise: 43 minutos.

Os espectros de massa foram produzidos por impacto eletrônico (70 eV) e comparados a biblioteca do banco de dados instalado no aparelho. Bancos de Dados: NIST2008 | NIST2008+Shimadzu | FFNSC 1.3. Os compostos foram considerados identificados quando apresentaram índices de similaridade maiores ou iguais à 90%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Frações obtidas

Na Figura 03 podemos observar que as frações recém coletada (ainda continham um pouco de solvente nas frações no momento do registro fotográfico), mudanças em diferentes cores, como o amarelo, vermelho e laranja. Isto sugere que possuem composições químicas diferentes.

Figura 03. As frações A-01 à fração A-07 aparecem dispostas em ordem crescente



Fonte: o autor

A separação cromatográfica permitiu analisar os compostos das frações A-01, A-02, A-03 e A-04 por GC-MS.

4.2 Rendimentos dos compostos oleosos e possíveis causas

Um fato notado foi um possível efeito sazonal na alteração dos constituintes químicos das folhas da faveleira. Partindo do princípio que o óleo fixo é miscível em hexano (SIMÕES et al., 2007), podemos fazer uma comparação (**Tabela 2**) sobre o rendimento das folhas comparando com trabalhos de outros autores que fizeram coletas em condições ambientais da região da caatinga em épocas diferentes do ano.

Fatores ambientais podem ter influenciado no rendimento, porém o método de extração em acetato de etila demonstra ser determinante e a causa mais importante para a obtenção dos produtos naturais de natureza apolar.

Tabela 02. Rendimento de produção de compostos miscíveis em hexano das folhas de *C. quercifolius*

Referência:	(OLIVEIRA JÚNIOR, 2017)	(SILVESTRE, 2017)	O autor
Data da coleta:	Fevereiro de 2013	Julho de 2013	Novembro de 2017
Local:	Petrolina – PE	Campina Grande - PB	Campina Grande - PB
Extrato/frações:	Fase Hexânica*	Fase Hexânica*	Frações oleosas**
Rendimento:	1,13%	24, 69%	44,94%

*Fase hexânica obtida do extrato etanólico bruto

** Frações com óleo fixo do extrato AcOet

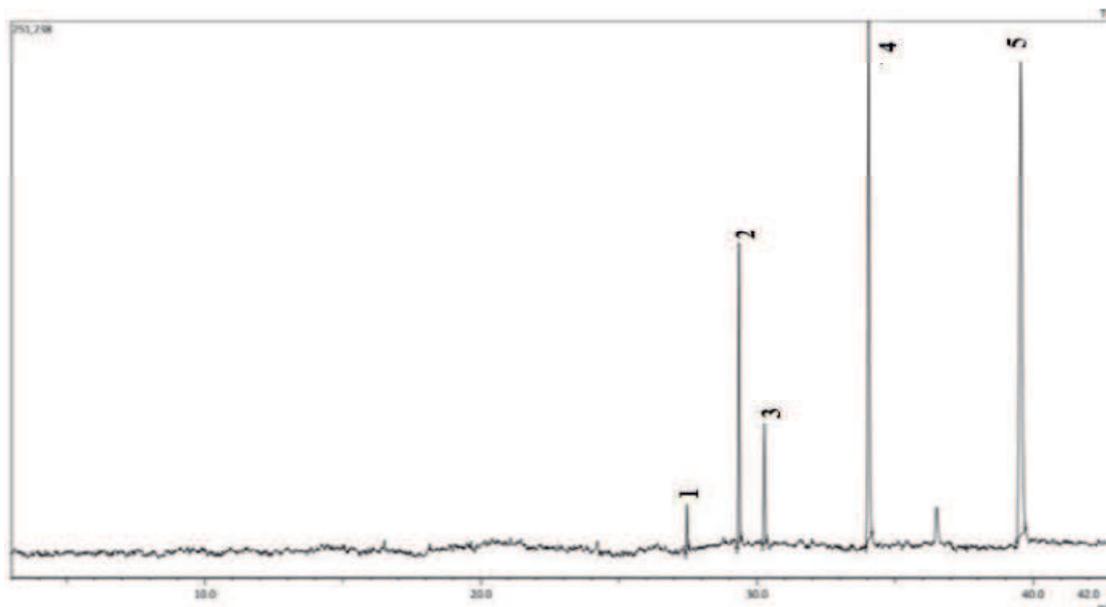
Estes dados sugerem grande alteração do perfil químico por efeitos método extrativo empregado, com possíveis alterações devidos as condições ambientais e épocas do ano.

Um outro ponto a ser observado é que na preparação da fase hexânica de extratos vegetais, muitos outros compostos apolares, que não são ácidos graxos e hidrocarbonetos estão contidos nesta fase particionada, implicando que a diferença na concentração obtida de compostos característicos de óleo fixo seja ainda maior do que foi apresentado.

Estas alterações não se limitam às questões de perfil químico. Podem também ter influência nas atividades biológicas desempenhas da espécie. Existem muitos relatos desta espécie como planta medicinal, porém, muitas atividades terapêuticas descritas na medicina popular ainda não foram provadas cientificamente, podendo ser o método extrativo empregado a principal causa desta dificuldade.

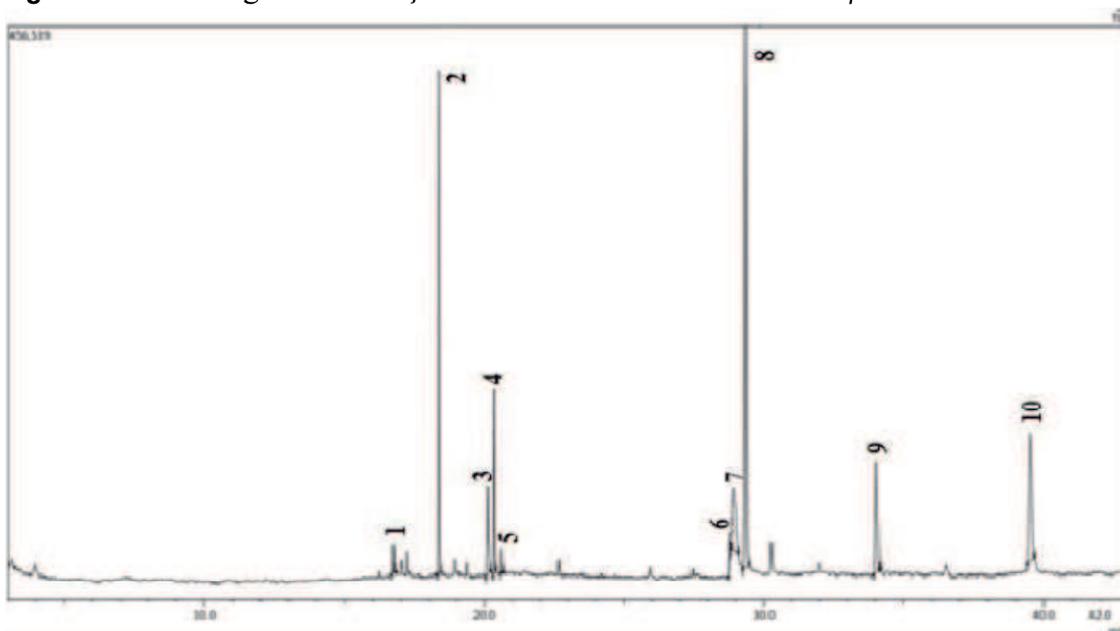
4.3 Cromatogramas obtidos por GC-MS

Figura 4. Cromatograma da fração A-01 do extrato AceOt de *C. quercifolius* Pohl.



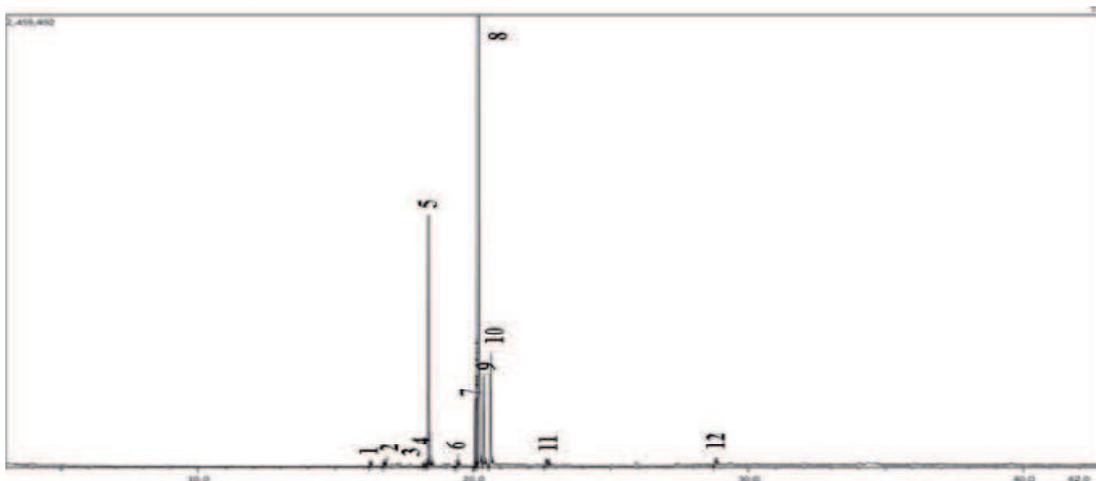
Picos: (1) Hexacosano (Área = 1.78%) (2) Esqualeno (Área = 12.47%); (3) Nonacosano (Área = 5.92%); (4) Hexatriacontano (Área = 33.20%); (5) Tetratetracontano (Área = 46.63%). Área total identificada = 100%.

Figura 5. Cromatograma da fração A-02 do extrato AceOt de *C. quercifolius* Pohl.



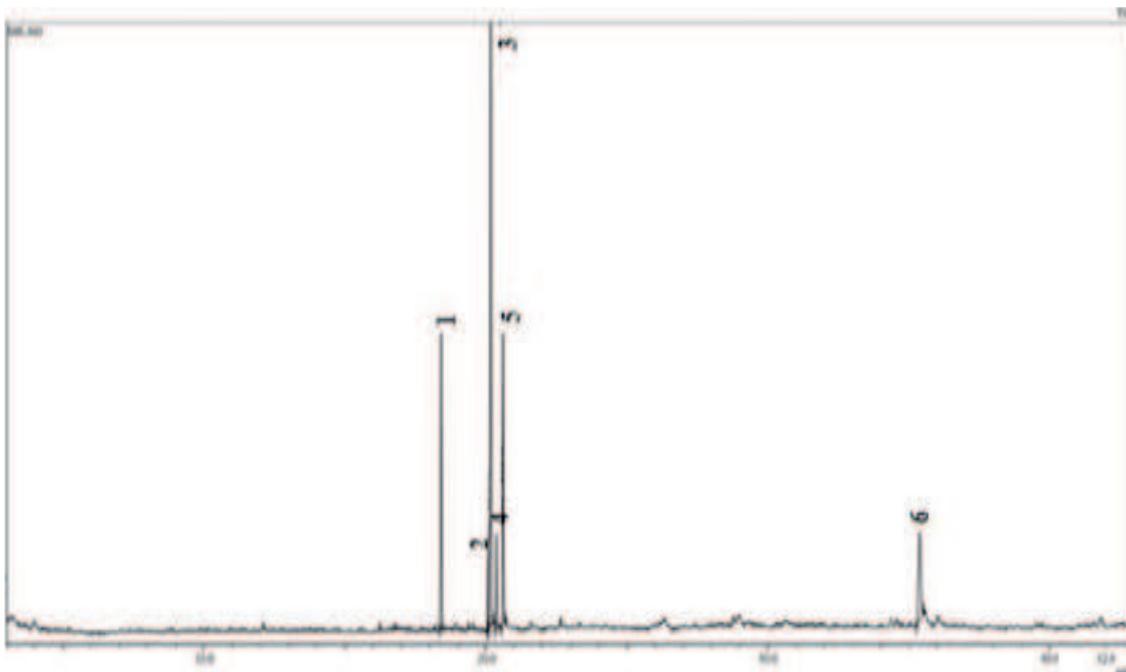
Picos: (1) Neofitadieno (Área = 1.33%); (2) Palmitato de etila (Área = 18.18%); (3) Oleato de etila (Área = 5.30%); (4) Estearato de etila (Área = 6.95%); (5) Não identificado (Área = 1.06%); (6) Não identificado (Área = 1,24%); (7) Octacosano (Área = 10.73%); (8) Esqualeno (Área = 30.18%); (9) Hexatriacontano (Área = 9.72%); (10) Tetratetracontano (Área = 15.31%). Área total identificada = 97,7%.

Figura 6. Cromatograma da fração A-03 do extrato AceOt de *C. quercifolius* Pohl.



Picos: (1) Miristato de etila (Área = 0.40%); (2) Neofitadieno (Área = 0.33%); (3) Palmitoleato de etila (Área = 0.31%); (4) Não identificado (Área = 0.29%); (5) Palmitato de etila (Área = 21.85%); (6) Não identificado (Área = 0.54%); (7) Não identificado (Área = 6.21%); (8) Linoleato de etila (Área = 48.25%); (9) Estearato de etila (Área = 8.49%); (10) Não identificado (Área = 11.53%); (11) Nonadecanoato de etila (Área = 0.84%); (12) Não identificado (Área = 0.96%). Área total identificada: 80,07%.

Figura 7. Cromatograma da fração A-04 do extrato AceOt de *C. quercifolius* Pohl.



Picos: (1) Palmitato de etila (Área = 16.49%); (2) Não identificado (4.14%); (3) Linoleato de etila (Área = 42.10%); (4) Estearato de etila (Área = 5.74%); (5) Não identificado (18,23%) e (6) Não identificado (13,30%). Área total identificada: 64,33%.

4.4 Tabelas de resultados

Foi notado a ausência de picos referentes à produtos de degradação ou contaminantes. Isto indica que a preparação e conservação das amostras manteve a fidelidade da composição química proveniente do metabolismo vegetal. Os resultados se basearam nos maiores índices de similaridade (IS) e todos os compostos químicos se mantiveram acima de 90% de compatibilidade. Os picos não identificados correspondem a compostos que não estão presentes no banco de dados.

Também é possível notar na **Tabela 03** que os tempos de retenção (TR) das mesmas moléculas praticamente se repetiram nas frações que as contém, além do TR ter aumentado com o aumento da cadeia.

Tabela 03. Compostos identificados e tempos de retenção.

Constituintes	Fórmula	Tempo de retenção (min)				IS (%)
		A-01	A-02	A-03	A-04	
<u>Alcanos lineares</u>						
Hexacosano	C ₂₆ H ₅₄	27.461	-	-	-	96
Octacosano	C ₂₈ H ₅₈	-	28.907	-	-	95
Nonacosano	C ₂₉ H ₆₀	30.265	-	-	-	97
Hexatriacontano	C ₃₆ H ₇₄	34.042	34.028	-	-	96
Tetratetracontano	C ₄₄ H ₉₀	39.550	39.526	-	-	97
<u>Hidrocarbonetos terpênicos</u>						
Neofitadieno	C ₂₀ H ₃₈	-	16.754	16.750	-	91
Esqualeno	C ₃₀ H ₅₀	29.345	29.335	-	-	95
<u>Ésteres graxos</u>						
Miristato de etila	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	-	-	16.232	-	93
Palmitoleato de etila	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	-	-	18.200	-	93
Palmitato de etila	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	-	18.391	18.395	18.393	96
Oleato de etila	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	-	20.132	-	-	94
Linoleato de etila	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	-	-	20.174	20.173	93
Estearato de etila	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	-	20.359	20.357	20.360	93
Nonadecanoato de etila	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	-	-	22.667	-	92

Ao todo foram 14 compostos identificados que foram divididos em três grupos: alcanos lineares, hidrocarbonetos terpênicos e ácidos graxos esterificados. Todos essas

moléculas são características da composição de óleo fixo, que serão discutidas daqui em diante.

A fração A-01 obteve-se 5 picos e todos foram identificados, enquanto que na fração A-02 foram 10 picos e 8 identificados, na fração A-03 foram 12 picos e 7 encontrados e, por último, a fração A-04 com a aparecimento de 6 picos e 3 deles elucidados.

Na **Tabela 04** podemos ver a concentração das moléculas e as frações onde são encontradas.

Tabela 04. Componentes químicos de *C. quercifolius* e suas concentrações.

Constituinte	Tipo de Ácido graxo	Concentração (%)			
		A-01	A-02	A-03	A-04
<u>Alcanos lineares</u>					
Hexacosano		1.78	-	-	-
Octacosano		-	10.73	-	-
Nonacosano		5.92	-	-	-
Hexatriacontano		33.20	9.72	-	-
Tetratetracontano		46.63	15.31	-	-
<u>Hidrocarbonetos terpênicos</u>					
Neofitadieno		-	1.33	0.33	-
Esqualeno		12.47	30.18	-	-
<u>Ésteres graxos</u>					
Miristato de etila	C 14:0	-	0.40	-	-
Palmitoleato de etila	C 16:1	-	-	0.31	-
Palmitato de etila	C 16:0	-	18.18	21.85	16.49
Oleato de etila	C 18:1	-	5.30	-	-
Linoleato de etila	C 18:2	-	-	48.25	42.10
Estearato de etila	C 18:0	-	6.95	8.49	5.74
Nonadecanoato de etila	C 19:0	-	-	0.84	-
<u>Valor total identificado:</u>		100	97,7	80,07	64,33

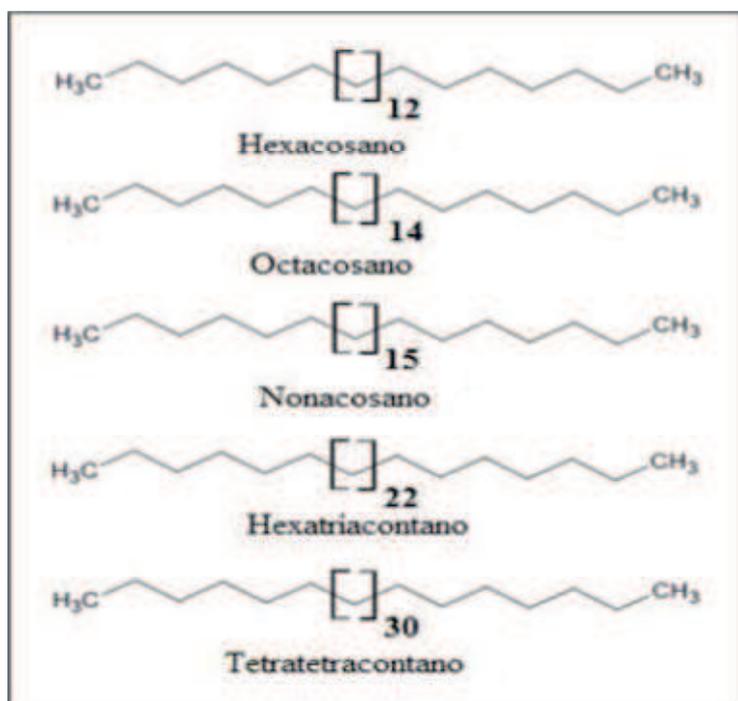
O fracionamento cromatográfico em coluna permitiu que a fração A-01 tivesse como composto majoritário o tetratetracontano com 46,63%, na fração A-02 foi o esqualeno com 30,18% e em A-03 e A-04, o linoleato de etila com 48,25 e 42,10%.

4.5 Alcanos lineares

Estas moléculas fazem parte da cera epicuticular. Na fração A-01, onde contém em sua composição 87,53% de cera, é apresentada em forma sólida e incolor, com um óleo de cor amarelo no fundo por conta da presença de esqualeno que é conhecido por ser um óleo amarelo (MOHANSRINIVASAN, 2015). Nesta pesquisa, o composto majoritário em A-01, com 46.63%, foi o tetratetracontano, seguido do hexatriacontano, com concentração de 33.20%. A fração A-02 também possui presença desses compostos, principalmente o tetratetracontano (15.31%).

Muitas plantas possuem uma camada cerosa, chamada cutícula, que recobre boa parte da superfície da planta que está em contato com o ar (HEREDIA et al., 1998). As características da cera conferem à essas estruturas a função de proteção contra as perdas excessivas de água, a ação de patógenos, as radiações solares e a entrada de produtos químicos e contaminantes (SCHÖNHERR, 2002).

Figura 07. Hidrocarbonetos lineares identificados nas folhas de *C. quercifolius*



As ceras vegetais são encontradas como secreção de folhas, caules e frutos. Entre espécies de valor comercial, temos a cera de carnaúba, extraída a partir das folhas de *Copernicia cerífera*, encontradas nas regiões secas e áridas do nordeste do Brasil, e a cera de candelila que é extraída das folhas de *Euphorbia cerífera* e *Euphorbia antisiphilitica*,

pertencentes à família Euphorbiaceae, como a faveleira, e são nativas de regiões do Texas e Novo México, nos Estados Unidos. (ROSSAN, 2011).

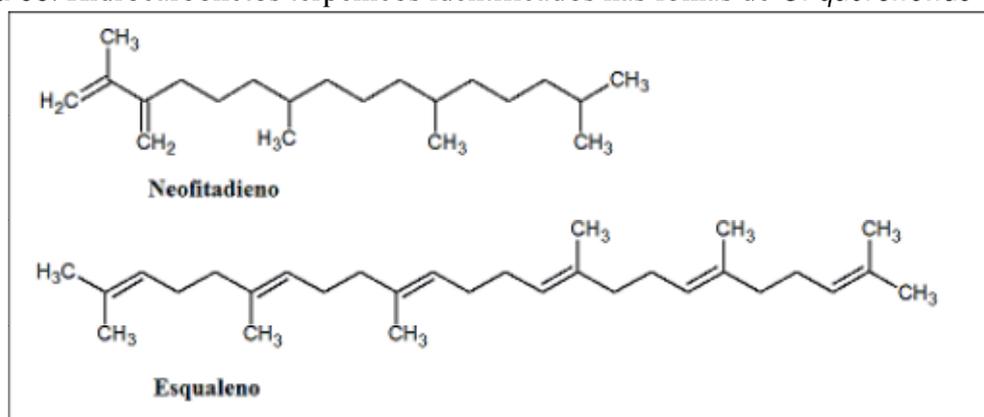
Compostos que foram identificados da cera de faveleira são comumente encontrados em espécies vegetais misturados com moléculas longas de ésteres, álcoois e cetonas, e podem ser utilizados para conferir rigidez e diminuir a viscosidade em formulações cosméticas. Em emulsões água em óleo, possuem propriedades estabilizantes e modificadores de viscosidade (INSTITUTO RACINE, 2005). São pouco pegajosas e mais duras que os ácidos graxos, o que permite maior consistência a cremes, hidratantes, batons e protetores labiais, base líquida, entre outros. Estes compostos podem agir formando um filme protetor que retêm a umidade e protege a pele. (ROSSAN, 2011).

4.6 Hidrocarbonetos terpênicos

A classificação dos terpenoides é baseada na quantidade de moléculas de isoprenos que os compõem, e cada unidade de isopreno equivale à um hemiterpeno (C_5) (MARQUES, 2010). Os diterpenos são formados por quatro unidades de isoprenos (C_{20}), como o neofitadieno, e os triperpenos têm seis unidades de isoprenos (C_{30}), como ocorre no esqualeno.

No óleo da faveleira, o neofitadieno apresenta uma concentração modesta em comparação com o esqualeno (**Tabela 04**). Este diterpeno é um derivado do fitol (ALVES, 2015).

Figura 08. Hidrocarbonetos terpênicos identificados nas folhas de *C. quercifolius*



O esqualeno é um triterpeno intermediário da rota biossintética de outros triterpenos e o colesterol. É bem distribuído na natureza, como no óleo de fígado de tubarão, óleo de palma, azeite de oliva e óleo de gérmen de trigo. Este composto apresenta muitas vantagens para a pele, como ação antioxidante e hidratante. Também é utilizado como veículo em formulações tópicas em emulsões (WOLOSİK, 2013). O esqualeno não

é muito suscetível à peroxidação e funciona na pele como um supressor de oxigênio singlete, protegendo as superfícies da pele humana da peroxidação lipídica devido à exposição à luz ultravioleta (AUFFRAY, 2007).

O esqualeno é utilizado como agente emoliente e umectante em formulações farmacêuticas e como lubrificante em instrumentos de precisão. Também é proposto o seu uso em formulações nutracêuticas ou como alimento funcional. Apresenta propriedades anticarcinogênicas, antiolesterolêmica e antioxidante. (WOLOSİK, 2013; WOBETO, 2007).

4.7 Ésteres graxos

Ácidos graxos esterificados foram os principais constituintes das frações A-03 e A-04, e em menor quantidade em A-02. Ao todo, foram sete compostos identificados, sendo que linoleato de etila, palmitato de etila e estereato de etila se destacam com maiores concentrações no óleo das folhas da faveleira.

Existem dados de outros autores referentes à composição química das sementes na Tabela 05. É possível ver que existe uma relação entre o óleo das sementes e das folhas.

Tabela 05. Composição de ácidos graxos das sementes de *C. quercifolius* por outros autores.

Óleo das sementes (CAVALCANTI et al, 2012)		Óleo das sementes (SANTOS et al., 2017)	
	Concentração %		Concentração %
Ác. graxos saturados:	31,73	Ác. graxos saturados:	24,51
Ác. graxos monoinsaturados:	17,8	Ác. graxos monoinsaturados	20,13
Ác. graxos poliinsaturados:	50,47	Ác. graxos poliinsaturados	55,36
Outros	0	Outros	0

Tanto nas folhas quanto nas sementes, os ácidos graxos saturados apresentam uma concentração entre 22 e 32%. O ácido oleico é o monoinsaturado que está mais presente nas sementes com teores que podem ultrapassar os 20%, enquanto que no óleo das folhas apresenta apenas 5,3% em A-02 (**Tabela 06 e 07**).

Tabela 06. Composição de ácidos graxos de A-02 e A-03 de *C. quercifolius*.

Fração A-02		Fração A-03	
	Concentração %		Concentração %
Ác. graxos saturados:	25,53	Ác. graxos saturados:	31,18
Ác. graxos monoinsaturados:	5,3	Ác. graxos monoinsaturados:	0
Ác. graxos poliinsaturados:	0	Ác. graxos poliinsaturados:	48,25
Outros	69,17	Outros	20,57

Quanto aos ácidos graxos poliinsaturados, a presença de ácido linoleico possui teores que variam entre 40 e 55%, sendo o composto majoritário no óleo das sementes e nos resultados com os óleos das folhas.

Tabela 07. Composição de ácidos graxos das folhas de A-04 de *C. quercifolius*.

Fração A-04	
	Concentração %
Ác. graxos saturados:	22,23
Ác. graxos monoinsaturados:	0
Ác. graxos poliinsaturados:	42,1
Outros	35,67

A distribuição dos ácidos graxos nas folhas da faveleira revelam uma composição de ácido linoleico similar ao óleo das sementes de soja (53%), girassol (65%) e milho (60%) (SANTOS et al, 2017). As frações das folhas apresentam uma composição química mais variada em relação às sementes, tendo como diferencial a presença marcante em esqualeno e outros hidrocarbonetos, enquanto as sementes possuem predominantemente ácidos graxos.

Foi demonstrado que o óleo de girassol é importante para preservar a integridade do estrato córneo e melhorar a hidratação da pele e ainda estimula o reparo da barreira cutânea devido ao alto teor de ácido linoleico (DANBY, 2013).

Além disso, existem sugestões de utilização do óleo das sementes de faveleira na alimentação. Devido ao teor de proteínas, ausência de toxicidade e composição química do óleo, rica em ácidos graxos poliinsaturados (CAVALCANTI et al, 2012).

Esse perfil lipídico revela que o óleo das folhas de faveleira apresenta uma ótima fonte nutricional de ácido graxo essencial ácido linoleico, que tem funções vitais nas estruturas das células das membranas e processos metabólicos (MARTIN et al, 2006).

5. CONCLUSÃO

Foi visto através do método extrativo em acetato de etila que a faveleira apresenta grande parte de sua composição química representada por compostos apolares, sobretudo nos teores de ácidos graxos nas folhas.

Este trabalho identificou e quantificou uma parcela significativa do extrato da faveleira. Ao todo, as frações oleosas representaram 44,94% em relação ao extrato, e a maior parcela desse óleo está representado por 14 moléculas aqui elucidadas.

Os compostos apolares podem ser divididos grupos: alcanos lineares provenientes da cera epicuticular, como o octacosano, hexitriacontano e o tetratetracontano; hidrocarbonetos terpênicos, como o neofitadieno e esqualeno; e os ácidos graxos esterificados, como o linoleato de etila, estearato de etila e palmitato de etila.

Pela composição química, o óleo das folhas de *C. quercifolius* indica terutilidade no tratamento de problemas de pele, propriedades antioxidantes, cosméticas e alimentícias, implicando que os estudos com este óleo deve ser mais aprofundado envolvendo pesquisas em diferentes áreas das ciências farmacêuticas.

IDENTIFICATION BY GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY OF APOLAR COMPOUNDS FROM *Cnidoscolus quercifolius* POHL LEAVES (EUPHORBIACEAE)

ROCHA JÚNIOR, Antonio Carlos Santos

ABSTRACT

The *caatinga* is an exclusively Brazilian biome that presents a great variety of vegetal species used in the folk medicine for treatment of diseases, demonstrating to have great potential for discover new medicines. The species *Cnidoscolus quercifolius* is from the Euphorbiaceae family, endemic to the caatinga and popularly known as the "faveleira" or "favela". This plant presents reports of medicinal sources, still without scientific evidence. Among the traditional uses, it is known to have diuretic, antibiotic, antiinflammatory and cicatrizant action. In this work, the leaves of *Cnidoscolus quercifolius* were collected and, later, the plant material was dried in an air circulation oven and pulverized in a knife mill to obtain the vegetable drug. It was carried out the exhaustive maceration in ethyl acetate, followed by rotoevaporation of the extractive liquid and extraction of the crude ethyl acetate extract (AcOet). Part of the AcOet obtained was chromatographed in a classical liquid column (CLC) and a large number of apolar compounds with oily characteristics were observed in their fractions. The apolar fractions A-01, A-02, A-03 and A-04 were submitted to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), identifying 14 characteristic fixed oil molecules. Linear alkanes were found, such as hexacosane, hexatriacontane and tetratetracontane. Terpene hydrocarbons, such as diterpene neofitadiene and triterpene squalene, have also been identified. The highest concentrations of these fractions correspond to the esterified forms of fatty acids, with ethyl linoleate as the major component. Other fatty esters found were ethyl palmitate, ethyl stearate and ethyl oleate, among others. This work identified and quantified the chemical composition of apolar fractions characteristic of fixed oil and, according to the chemical profile, these compounds present pharmacological, cosmetic and alimentary utilities, demonstrating that the oil of the leaves from *Cnidoscolus quercifolius* needs to be further studied, involving research in different areas of the pharmaceutical sciences.

Palavras-chave: Euphorbiaceae. Natural products. Gas chromatography.

REFERÊNCIAS

- ALOUFA, M. A. I.; MEDEIROS, J. A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Geografia em debate**, v.10, n. 3, p. 453-476, 2016.
- AUFFRAY, B. et al., Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using *Commiphora myrrha* essential oil. **Int. J. Cosmet. Sci.** 29, 23- 29, 2007.
- ALVES, A. C. S. et al., Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L. **Rev. bras. plantas med.** vol.16 no.3. 2014.
- ALVES, A. P. O. **Caracterização de compostos voláteis em amostras de temperos.** 2015, 154p. Tese (Doutorado em química). Salvador-BA. Universidade Federal da Bahia.
- BERLINCK R. G. C. et al., A química dos produtos naturais do Brasil do século XXI. **Química Nova.** Vol. 40, No. 6, 706-710, 2017.
- BERNARDÉZ, R. M. Del curandero al Médico. **Historia de la medicina en la región de Murcia. (1a ed.). Alhama, Murcia, España.** 2016.
- BEZERRA, P. D. F. **Variabilidade da cultura de *Cnidocolus quercifolius* Pohl para a produção de biodiesel o semiárido nordestino.** 2011. 90p. Dissertação (Mestrado) - Programa regional de pós-graduação em desenvolvimento e meio ambiente. Natal, RN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- BOGUSZ JUNIOR, S. et al. Analysis of volatile compounds in *Capsicum spp.* by headspace solid-phase microextraction and GC × GC-TOFMS **Analytical Methods** , 7, 521. 2015.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos – **Brasília: Ministério da Saúde**, 2016. 190 p.
- CAVALCANTI, M. T.; BORA, P. S.; CARVAJAL, J. C. L.; FLORENTINO, E. R.; SILVA, F. L. H. Análise térmica e perfil de ácidos graxos do óleo das amêndoas de faveleira (*Cnidocolus phyllacanthus* Pax. & K. Hoffm) com e sem espinho. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.** v. 7, n. 4, p. 154-162. 2012.
- DANBY, S.G.; ALENEZI, T.; SULTAN, A.; LAVENDER, T.; CHITTOCK, J.; BROWN, K.; CORK, M.J. Effect of olive and sunflower seed oil on the adult skin barrier: Implications for neonatal skin care. **Pediatr. Dermatol.** 30, 42–50. 2013.
- ESFANDYARI, Z. et al. Antinociceptive activity of *Ricinus communis* seed's hydroethanolic extract on male Balb/C mice. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.48:06, e20170384, 2018.

FRITZ, D. **Análise química e avaliação da atividade antiviral de *Hypericum connatum* Lam.** 2006, 139p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Porto Alegre-RS. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GOBBO-NETO, L. et al., Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**. Vol. 30, No. 2, 374-381, 2007

GODINHO, R. B. **Avaliação de fragrância em detergente em pó por cromatografia gasosa e métodos quimiométricos.** 2009. 99p. Dissertação (Mestrado em química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

GOMES, L. M. A.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; ANDRADE, T. M. G.; SILVA, J. C.; DINIZ, T. C.; BARRETO, V. N. S.; MENDES, R. L.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; QUINTANS, J. S. S.; LIMA, J. T.; ALMEIDA, J. R. G. S. Antinociceptive activity of the ethanolic extract from barks and leaves of *Cnidocolus quercifolius* (Euphorbiaceae) in mice. **Journal of Young Pharmacists**, v - 6, n - 2, 2014a.

GOMES, L. M. A. et al. Phytochemical screening and anti-inflammatory activity of *Cnidocolus quercifolius* (Euphorbiaceae) in mice. **Pharmacognosy Research**, v. 6, p. 345-349, 2014b.

GORDILLO, M. M. et al. Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. **Annals of Institute of Biology**, v. 73, p. 155-281, 2002.

HANTAO, L. W. et al. Fases estacionárias em cromatografia gasosa: fundamentos, avanços recentes e perspectivas. **Química Nova**, Vol. 39, No. 1, 81-93, 2016.

HEREDIA, A. et al. La cutícula vegetal: estructura y funciones. **Ecología**, v. 12, p. 293-305, 1998.

HIROTA, B. C. K. et. al. Fitoquímica e atividades biológicas do gênero *Jatropha*: Mini-revisão. **Visão Acadêmica**, v. 11, p. 103-112, 2010.

INTITUTO RACINE. Apostila de curso intensivo. Turma 27. Cosmetologia express: desenvolvimento de produtos cosméticos. Aula 05: Aspectos técnicos e práticos para o desenvolvimento de shampoos, condicionadores e sabonetes líquidos (teoria e prática). RCN Comercial e editora Ltda, São Paulo, Março, 2005.

LIN, T. K. 2018. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. **Internacional Journal of Molecular Sciences**. 19(1), 70; 2018.

MARQUES, D. D. **Contribuição ao conhecimento químico da flora acreana: *Protium hebetatum* Daly, *Protium heptaphyllum* (Aublet) Marchand subsp. *Ulei* (swat) Daly e *Protium heptaphyllum* (Aublet) Marchand subsp. *heptaphyllum*.** 56f. 2010. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

MARTIN, C.A., ALMEIDA, V.V., RUIZ, M.R., VISENTAINER, E.L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N.E., VISENTAINER, J.V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev. Nutr.** 19, 761–770. 2006.

MELO, A. L. et al., O gênero *Cnidoscolus* Pohl (Crotonoideae-Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. vol.22 no.3. 2008.

MOHANSRINIVASAN, V. et al. Exploring the Anticancer Activity of Grape Seed Extract on Skin Cancer Cell Lines A431. **Braz. arch. biol. technol.**, Curitiba , v. 58, n. 4, p. 540-546, Aug. 2015.

MORAIS, N.R.L.; OLIVEIRA NETO, F.B.; MELO, A.R.; BERTINI, L.M.; SILVA, F.F.M.; ALVES, L.A. Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidoscolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.1, p.180-185, 2016.

MOREAU R. A. et al., Analysis of wax esters in seven commercial waxes using C30 reverse phase HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. Volume 41, - Issue 10, 2018.

NOVELLO, D. et al., A Importância dos Ácidos Graxos ω -3 e ω -6 para a Prevenção de Doenças e na Saúde Humana. *Rev Salus*, v. 2, n. 1, 2008.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. G. O. **Estudo fitoquímico e avaliação do efeito citotóxico de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl (euphorbiaceae) em células do melanoma humano.** 2017, 232p. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido). Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina – PE

PAULA, AC. et al. Constituintes Químicos e Atividade Citotóxica de *Cnidoscolus phyllacanthus*. **Rev. Vir. Quim.**, v. 8, n. 1, p. 231-241, 2016.

PAREDES, P. F. M.; VASCONCELOS, F. R.; PAIM, R. T. T.; MARQUES, M. M. M.; MORAIS, S. M.; LIRA, S. M.; BRAQUEHAIS, I. D.; VIEIRA, I. G. P.; MENDES, F. N. P.; GUEDES, M. I. F. Screening of Bioactivities and Toxicity of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2016.

PARENTE I. P. et al, Cassava bagasse and annatto colorific (*Bixa orellana* L.) in diets for slow-growing broilers from 30 to 90 days of age. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.19, n.1, p.58-68 jan./mar., 2018.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; CASTRO, V.T.N.A.; SARAIVA, A.M.; ALMEIDA, D.M.; TAVARES, E.A.; PISCIOTTANO, M.N.C.; AMORIM, E.L.C. Phytochemical screening and antibacterial activity of four *Cnidoscolus* species (Euphorbiaceae) against standard strains and clinical isolates. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 6,n.21, p.3742-3748, 2012.

PIO I. D. S. L. et al. Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the São Francisco river, Brazil and preliminary analysis of *Rhaphiodon echinus* (Lamiaceae). **Brazilian Journal of Biology**, Epub April 19, 2018.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. *Farmacognosia e Farmacobiotechnologia*. São Paulo: Editorial Premier, 372p., 1997.

ROSSAN, M. R. **Preparação e Caracterização de Micro e Nanopartículas Lipídicas Sólidas para Aplicação em Cosméticos**. 215p. 2011. Dissertação (mestrado em engenharia química) Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP

SANTOS, K. A.; ARAGÃO-FILHO, O. P.; AGUIAR, C. M.; MILINSK, C. M.; SAMPAIO, S. C.; PALÚ, F.; SILVA, E. A. Chemical composition, antioxidant activity and thermal analysis of oil extracted from favela (*Cnidocolus quercifolius*) seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 368-373, 2017.

SÁTIRO, L. N.; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Revista Acta Botânica Brasileira**, v. 22, p. 99- 118, 2008.

SCHNEIDER, J. K. **Aplicação da cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas com analisador quadrupolar na caracterização do bio-óleo da palha de cana-de-açúcar**. 2013. 119p. Dissertação (Mestrado em química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS.

SCHÖNHERR, J. A. Mechanistic analysis of penetration of glyphosate salts across stomatous cuticular membranes. **Pest Manag. Sci.**, v. 58, n. 4, p. 343-351, 2002.

SILVA F. L. et al. Determination of Alkyl Esters Content by Gas Chromatography: Validation of Method Based on Short Column and Response Factor. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, vol.29 no.6 São Paulo June 2018.

SILVESTRE, G. F. G. **Análise do perfil químico de óleos fixos e compostos isolados de *Cnidocolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae)**. 2017. 64p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p, 2007.

SOUZA A. J. **Estudo fitoquímico e atividade biológica in vitro de *Cnidocolus urens* L. (Arthur) (EUPHORBIACEAE)**. 2014, 182p. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido). Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina – PE.

WOBETO, C. **Extração de esqualeno do destilado da desodorização do óleo de soja modificado utilizando dióxido de carbono supercrítico**. 85p 2007. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG

WOLOSIK K. The importance and perspective of plant-based squalene in cosmetology. **Journal of Cosmetic Science**, 64(1):59-66, 2013

WURDACK, K. J. et al. Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. **American Journal of Botany**, 96: 1551-1570, 2009.

ZAYED, MOHAMED et al. Phytochemical constituents of the leaves of *Leucaena leucocephala* from Malaysia. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 8. 174-179, 2016.

ZHONG, X. Tribological application and mechanism of epicuticular wax. **Friction**, CN 10-1237/TH, 2017.