



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

RENAM FELLIPE DA SILVEIRA MUNIZ

**ESTUDO FITOQUÍMICO E CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE UM
TRITERPENO DE *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. (APOCYNACEAE)**

**CAMPINA GRANDE
2018**

RENAM FELLIPE DA SILVEIRA MUNIZ

**ESTUDO FITOQUÍMICO E CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE UM
TRITERPENO DE *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. (APOCYNACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Ivana Maria Fachine.

**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.

M966e Muniz, Renam Fellipe da Silveira.
Estudo fitoquímico e caracterização termoanalítica de um triterpeno de *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. (Apocynaceae) [manuscrito] / Renam Fellipe da Silveira Muniz. - 2018.
31 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.
"Orientação : Profa. Dra. Ivana Maria Fachine, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."
1. Plantas medicinais. 2. Fitoterapia. 3. Flor de seda. 4. Triterpeno. I. Título

21. ed. CDD 615.321

RENAM FELLIPE DA SILVEIRA MUNIZ

ESTUDO FITOQUÍMICO E CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE UM
TRITERPENO DE *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. (APOCYNACEAE)

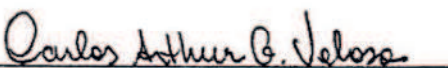
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito à obtenção do título de Bacharel em
Farmácia.

Aprovado em: 26/11/2018


BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Ivana Maria Fchine (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Ms. Carlos Arthur Gouveia Veloso
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. Dr. Harley da Silva Alves
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

Infinita gratidão a Deus por tudo em minha vida. Por toda providência, por estar sempre comigo. À Virgem Maria, minha mãe, meus agradecimentos por toda intercessão, proteção e bênçãos. A todos os meus amigos, Santos e intercessores do Céu, por sempre me auxiliarem durante esta caminhada, sempre presentes. Tudo só foi possível graças a Ti, Senhor, tudo é Teu.

À minha família, fundamental e essencial na minha vida, a quem espero um dia poder retribuir tudo o que fazem por mim. Aos meus pais Romildo e Naudilene, por não medirem esforços e fazerem de tudo para que eu chegasse até aqui, obrigado pelo amor de vocês, essa conquista é nossa. Aos meus irmãos Romildo Júnior e Rafael, e meus sobrinhos Bernardo e Sara, a quem muito amo, obrigado por tudo que cada um me oferece. À toda a minha família, avós, tios, padrinhos, primos, parentes, cada um sabe da importância para mim, muito obrigado.

A todos os meus amigos, os que estavam perto durante esse percurso, mas também àqueles que fisicamente estavam longe, mas sempre se lembravam de mim em suas orações e que foram essenciais nesta caminhada, muito obrigado! A todos que conheci e os amigos que fiz em Campina Grande.

À toda minha turma da universidade, vocês foram muito importantes durante esse curso. Facilitaram e estimularam para que tudo ocorresse bem, além do esperado. Fomos muito além de um ambiente apenas acadêmico, fiz muitos amigos para a vida toda, muito obrigado. Vocês agora são parte da minha história.

A todos os professores do curso de Farmácia, agradeço por todos os ensinamentos passados e compartilhados. Em especial à minha orientadora Ivana Maria por todos os ensinamentos, paciência e amizade, muito obrigado. A todos os técnicos e funcionários da UEPB em especial aos do CCBS, obrigado pelo trabalho de vocês.

Agradeço também aos colegas de laboratório e da pesquisa, que compõem o LABFIT (Laboratório de Fitoquímica), onde foi realizada essa pesquisa, obrigado por toda ajuda. Ao IPeFarM (Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos) da UFPB por todos os auxílios e as análises que realizaram. A Demis Ferreira de Melo por realizar as análises térmicas, como também ao laboratório do CertBio pela disponibilidade.

Enfim, a cada um que direta ou indiretamente me ajudou durante esses anos, também desde antes, para que eu pudesse chegar até aqui, muito obrigado!

Obrigado, Deus! A Ti toda honra, glória, poder e louvor.

“Aliás, sabemos que todas as coisas concorrem para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são os eleitos, segundo os seus desígnios.” (Rm 8, 28)

"Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima."

Louis Pasteur

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 6 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 8 |
| 2.1 <i>Calotropis procera</i> | 8 |
| 2.2 Terpenos..... | 9 |
| 2.3 Técnicas espectroscópicas para a identificação de compostos químicos..... | 11 |
| 2.4 Técnicas termoanalíticas (Termogravimetria e Calorimetria Exploratória Diferencial)..... | 12 |
| 3. METODOLOGIA | 13 |
| 3.1 Coleta e preparo do material vegetal..... | 13 |
| 3.2 Preparo do extrato etanólico bruto (EEB)..... | 13 |
| 3.3 Obtenção da fase hexânica a partir do extrato etanólico bruto..... | 13 |
| 3.4 Realização da cromatografia em coluna (CC) e da cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) da fase hexânica..... | 13 |
| 3.5 Técnicas espectroscópicas utilizadas para identificação estrutural..... | 14 |
| 3.6 Caracterização do composto por técnicas termoanalíticas..... | 14 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 15 |
| 4.1 Dados espectroscópicos..... | 15 |
| 4.2 Caracterização do composto por Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) | 23 |
| 5. CONCLUSÃO | 24 |
| REFERÊNCIAS | 26 |

ESTUDO FITOQUÍMICO E CARACTERIZAÇÃO TERMOANALÍTICA DE UM TRITERPENO DE *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. (APOCYNACEAE)

Renam Fellipe da Silveira Muniz*

RESUMO

O uso de plantas medicinais e a fitoterapia estão inseridos na prática da medicina popular, mostrando-se como uma alternativa eficaz no atendimento primário a saúde, principalmente para a população de menor renda. *Calotropis procera* é um vegetal arbustivo pertencente à família Apocynaceae, possui uma ampla distribuição geográfica destacando-se sua presença na região Nordeste do Brasil. Diversas atividades biológicas são atribuídas à espécie, dentre elas destaca-se, antibacteriana, anti-inflamatória e anticancerígena, sendo sua família caracterizada pela presença de alcaloides e triterpenos. Esta pesquisa teve como objetivo realizar análises cromatográficas da fase hexânica do caule de *C. procera* e caracterizar os compostos por técnicas espectroscópicas e termoanalíticas. A planta foi coletada, separado o caule a ser utilizado, sendo este levado para secagem em estufa. O material seco obtido foi triturado e do pó obtido realizou-se o preparo do extrato etanólico bruto (EEB) por maceração. Foi realizada uma partição do EEB obtendo-se a fase hexânica com a qual foi trabalhada. Desta fase foram realizadas as cromatografias em coluna (CC) e cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). Foram realizadas as seguintes análises espectroscópicas: infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , utilizando técnicas uni e bidimensionais. Na análise térmica utilizou-se a termogravimetria (TG) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC). Da CC da fase hexânica obtiveram-se 156 frações sendo que a 21 (69,4 mg) após análise dos dados espectroscópicos e com base em dados da literatura, foi possível identificar a substância como sendo calotropenil acetato, um triterpeno já isolado da espécie. Pelas curvas de TG foram observadas duas etapas de perda de massa e pela DSC foi possível observar dois eventos endotérmicos. Por apresentar uma boa quantidade o composto obtido será submetido a testes, como de atividade antimicrobiana, a fim de avaliar suas possíveis atividades biológicas.

Palavras-Chave: Flor de seda. Triterpeno (ursano). Calotropenil acetato.

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais e a fitoterapia estão inseridos na prática da medicina popular, sendo estes um conjunto de saberes diversificados sobre a indicação das plantas com finalidade terapêutica, sendo propagado principalmente pela tradição oral. Esse uso mostra-se como uma alternativa eficaz no atendimento primário a saúde, principalmente para a população de menor renda. Porém, estas práticas foram diminuindo com o surgimento do processo de industrialização que ocorreu no país nas décadas de 1940 e 1950 com o advento

* Aluno de Graduação em Farmácia na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I.
Email: renamsilveira@gmail.com

dos medicamentos industrializados (BRUNING, MOSEGUI, VIANNA, 2012; FIGUEIREDO, GURGEL, JUNIOR, 2014).

A Organização Mundial da Saúde ressalta a importância da realização de mais investigações sobre as plantas que são utilizadas para fins medicinais, como também de seus constituintes ativos, para que se tenha mais segurança em relação ao uso destas garantindo sua eficácia. Vale ressaltar a riqueza étnico-cultural do Brasil que fornece uma gama de saberes de variado e importante espectro, que servem muitas vezes como base para essas pesquisas (BATTISTI et al., 2013; SANTOS, LIMA, FERREIRA, 2008).

O Brasil é considerado um dos países de maior biodiversidade do mundo por deter cerca de 20% do número total de espécies do planeta, com um número estimado de espécies entre 350.000 e 550.000, sendo apenas 55.000 destas catalogadas e distribuídas pelo país entre suas diferentes regiões. Vale salientar que grande parte deste relevante número de espécies ainda não foi investigada levando em consideração o seu potencial terapêutico. Entretanto, é observado um aumento significativo das pesquisas nesta área, mostrando-se de extrema relevância a química de produtos naturais para desenvolvimento de bioprodutos (BOLZANI, 2016; CARNEIRO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014).

A química de produtos naturais (QPN), conhecida atualmente por Fitoquímica, destina-se principalmente à caracterização estrutural de substâncias naturais, bem como a avaliação de suas propriedades e investigações biossintéticas. Substâncias estas produzidas pelo metabolismo secundário das plantas, que são uma das fontes mais significantes de novos compostos que podem ser utilizados como agentes farmacológicos (FILHO, 2010).

Assim, a Fitoquímica se faz importante principalmente quando ainda não existem todos os estudos químicos de determinadas espécies de interesse popular por apresentarem efeitos benéficos. Visando explorar e conhecer os constituintes químicos (metabólitos secundários), a classe e presença de cada um nas espécies, sendo úteis também como marcadores químicos das plantas. Importante evidenciar o crescimento notável que tem a Fitoquímica no século XXI, destacando-se a associação deste ramo de pesquisa com diversos outros como a Biologia, Química, Síntese Orgânica, Metabolômica, Quimiossistemática, etc (BERLINCK et al., 2017; BESSA et al., 2013).

A planta *Calotropis procera*, conhecida popularmente por flor de seda, é uma espécie pertencente a família Apocynaceae com vasta distribuição por diferentes continentes. De fácil adaptação à diferentes situações climáticas é facilmente encontrada no Nordeste brasileiro, sendo diferentes partes da planta utilizadas para fins medicinais, como: anti-inflamatório, anti-

cancerígeno, tratamento de úlceras gástricas, doenças hepáticas, entre outras (DIAS et al., 2018; MELO, et al., 2001).

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo a extração e a identificação de compostos a partir da fase hexânica do extrato etanólico bruto do caule de *Calotropis procera*, por técnicas cromatográficas e espectroscópicas, bem como a caracterização do composto por técnicas termoanalíticas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Calotropis procera*

A família Apocynaceae, a qual pertence a planta, possui cerca de 300 gêneros e 2000 espécies, distribuídos em regiões tropicais e subtropicais pelo mundo inteiro. Na América do Sul são citados 52 gêneros e 377 espécies. Caracteriza-se por apresentar grande uma grande variabilidade morfológica em seus órgãos florais e pela diversidade de metabólitos secundários (KOCH, 1994; LIMA, SCARELI-SANTOS, 2016).

Devido à grande quantidade de metabólitos secundários isolados de folhas e cascas dos representantes da família, esta apresenta-se como uma importante fonte de compostos bioativos. Seus constituintes incluem: alcaloides, glicosídeos cardioativos e cianogenéticos, saponinas, taninos, cumarinas, triterpenoides e ácidos fenólicos (OLIVEIRA, 2015). Entre as principais substâncias isoladas estão a leucocristina e vincristina, que são compostos com atividade anticancerígena (OLIVEIRA, ALMEIDA, 2016). No trabalho de revisão de literatura realizado por El-Kashef et al. (2015) foram relatados 97 triterpenos e 27 esteróis entre os anos de 1955-2013 presentes na família Apocynaceae.

A espécie *Calotropis procera* é uma pequena árvore (ou arbusto), ereta, altamente ramificada, com cerca de 2,5 m de altura, podendo atingir até 6 m. Conhecida popularmente por diversos nomes, variando de acordo com sua localização, por exemplo: Algodão de seda, leiteira, saco de velho, queimadeira, ciumeira, etc. Apresentando a seguinte descrição botânica: Reino: Plantae, Subreino: Tracheobionta, Superdivisão: Spermatophyta, Divisão: Magnoliophyta, Classe: Magnoliopsida, Subclasse: Asteridae, Ordem: Gentianales, Família: Apocynaceae, Gênero: *Calotropis* R. Br., Espécie: *Calotropis procera* (Ait) Ait.f. (COSTA et al, 2015; QUAZI, MATHUR, ARORA, 2013; SILVA, 2015; TAVARES, 2017; VELOSO, 2015).

Possui ampla distribuição geográfica, presente na Ásia, África e América. Foi introduzida no Brasil por volta de 1900, presente em diversas regiões do país como Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, entre outros. Cresce muitas vezes como planta

invasora, ocupando áreas abandonadas ou até degradadas. Destaca-se a presença de grandes populações na região Nordeste, considerando sua boa adaptação a regiões secas (áridas) e tolerância ao estresse salino (AL-SNAFI, 2015; COSTA, 2015; DIAS et al., 2018; FABRICANTE, OLIVEIRA, FILHO, 2013; KISMANN, GROTH, 1991; TAVARES, 2017; VELOSO, 2015).

A planta *Calotropis procera* apresenta diversas atividades biológicas, sendo diferentes partes utilizadas no tratamento e prevenção de doenças (MAGALHÃES et al., 2010). Apresenta atividades como: antibacteriana (ALMEIDA et al., 2018), anti-inflamatória (JUCÁ et al., 2013), analgésica (BARROS et al., 2004), anticancerígena (IBRAHIM et al., 2014), antioxidante (YAO et al., 2015), purgativa, anti-helmíntica, expectorante, sedativa, entre outras (RANJIT et al., 2012).

Muitos foram os compostos químicos já isolados da planta, como as das classes de: resinas, enzimas proteolíticas, flavonoides, taninos, esteróis, terpenos e cardenólídeos, podendo-se citar algumas substâncias como: lupeol, calotropina, procerosídeo, ácido ursólico e calotropenil acetato. (EL-KASHEF et al., 2015; PEREIRA et al., 2007; RANJIT et al., 2012; YAO et al., 2015).

2.2 Terpenos

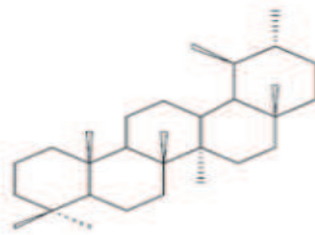
Uma das maiores classes de compostos naturais (com mais de 55.000 compostos conhecidos) são os terpenos, que são estruturalmente constituídos de unidades de isopreno (C_5H_8). O termo terpeno é empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidade de isopreno. Esta unidade isoprênica, origina-se a partir do ácido mevalônico, que se polimeriza para originar moléculas de cadeias crescentes de cinco em cinco átomos de carbono (C_5). Como citado, suas estruturas típicas contêm um esqueleto carbônico representado por $(C_5)_n$ e são classificados como hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (CHANG et al., 2010; NUNES, 2013; OLIVEIRA et al., 2014; SILVA, 2017).

Os terpenos apresentam propriedades relativas a aromas e fragrâncias, que são exploradas desde o século XIX por diversas indústrias (farmacêutica, cosmética). Porém, estes vêm sendo investigados por suas atividades *in vivo*, demonstrando inúmeras atividades biológicas como, antiparasitária, bactericida, anti-inflamatória, antiviral, anti-hiperglicêmico, etc. A característica lipofílica destes compostos facilita sua penetração na bicamada lipídica de membranas celulares, que por este mecanismo pode levar parasitas à morte, por exemplo.

Com isso, os terpenos mostram-se como promissoras candidatas a fármaco, por sua ampla quantidade de atividades já relatadas (PADUCH et al., 2007; PICOSSI, 2018; SILVA, 2017).

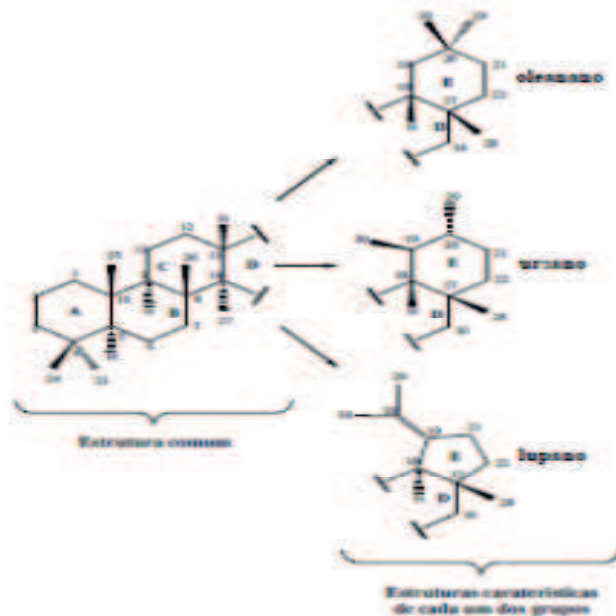
Os triterpenos, que possuem fórmula molecular $C_{30}H_{48}$, podem apresentar esqueleto de carbono acíclico ou conter estruturas mono-, bi-, tri-, tetra- e pentacíclica. Os triterpenos pentacíclicos (Figura 1), são estruturas com trinta átomos de carbono e cinco anéis, podem ser divididos em três grandes grupos: oleananos, ursanos e lupanos (Figura 2). Os dois primeiros grupos (oleananos e ursanos) apresentam cinco anéis hexagonais, com uma estereoquímica dos anéis D/E do tipo *cis*, diferenciando-se, entre si, apenas, na posição dos seus grupos metílicos: nos oleananos situam-se os dois em C-20, enquanto nos ursanos o grupo metílico encontra-se, também, em C-20, sendo que o outro está em C-19. (LUCETTI, 2010; NUNES, 2013; SILVA, DUARTE, FILHO, 2014).

Figura 1 – Estrutura química de um triterpeno pentacíclico do tipo ursano.



Fonte: Lucetti (2010).

Figura 2 – Estruturas básicas dos três grandes grupos (triterpenos pentacíclicos).



Fonte: Nunes (2013).

Os triterpenos pentacíclicos são de grande interesse devido às diversas atividades biológicas apresentadas, servindo assim, como candidatas à novos medicamentos. Pode-se

citar as atividades, anti-inflamatórios, hepatoprotetores e gastroprotetores (MOREIRA, 2013; NUNES, 2013).

2.3 Técnicas espectroscópicas para a identificação de compostos químicos

As técnicas espectroscópicas estudam a interação da radiação eletromagnética com a matéria, objetivando a determinação dos níveis de energia de átomos ou moléculas. Existem muitas técnicas com este princípio com a finalidade de fornecer informações sobre a estrutura de uma molécula, níveis de energia e ligações químicas, para um possível mapeamento estrutural da molécula, podendo citar a ressonância magnética nuclear (RMN) e a espectroscopia na região do infravermelho (IV) (MARIN, 2013).

Dentre as diversas técnicas espectroscópicas, a ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das mais importantes técnicas analíticas, possuindo diversas aplicações em várias áreas como a química, física, agricultura, alimentos, materiais e medicina. Apresenta-se como uma importante ferramenta analítica na caracterização de materiais heterogêneos de fontes naturais e elucidação estrutural de compostos (CARVALHO, 2016; IULIANELLI, TAVARES, 2011).

Dentre as técnicas utilizadas para caracterização de fármacos, a RMN tem destaque em estudos para a elucidação estrutural, determinação de quiralidade, correlações estruturatividade ou conformacionais (AGUIAR, GEMAL, GIL, 1999).

A espectroscopia de RMN, assim como as demais técnicas espectroscópicas, baseia-se na interação da radiação eletromagnética com a matéria. A forma como essa interação ocorre depende da estrutura da espécie atômica ou molecular a se estudar. A RMN resulta da ocorrência de transições entre níveis energéticos que são correspondentes às diferentes orientações permitidas do spin nuclear quando o núcleo se encontra sujeito à ação de um campo magnético (CARVALHO, 2016; GONSALVES, MELO, 2007).

Esta é uma técnica de grande utilidade porque nem todos os prótons de uma molécula têm ressonância exatamente na mesma frequência. Isso se deve ao fato de que os prótons da molécula são rodeados por elétrons e estão em ambientes químicos (magnéticos) levemente diferente em relação aos outros (PAVIA et al., 2010). Esta técnica fornece espectros de diversos elementos químicos, sendo mais utilizados os de ^{13}C e ^1H .

Outra técnica espectroscópica bastante utilizada é a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). É uma importante ferramenta utilizada em áreas como Tecnologia de Alimentos e na Fitoquímica, auxiliando na identificação de grupos funcionais de compostos puros, pois, com exceção de poucas moléculas homonucleares, todas as espécies moleculares absorvem a radiação na região no infravermelho (SANCHEZ, 2015; SILVA, 2016).

Devido aos modos característicos de vibração de cada grupo funcional, estes provocam o aparecimento de bandas no espectro de IV em frequências específicas, que também são influenciadas pela presença de grupos funcionais próximos, permitindo uma análise qualitativa de compostos orgânicos. Com isso, um espectro de FTIR apresenta mais informações do que apenas os valores de posição ou de absorção de alguns picos, servindo até mesmo como uma impressão digital de uma molécula (SOUZA, POPPI, 2012).

2.4 Técnicas termoanalíticas (Termogravimetria e Calorimetria Exploratória Diferencial)

De acordo com a Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria (ABRATEC), a análise térmica é o estudo entre a relação das propriedades físicas ou químicas de uma amostra frente a temperatura, sendo a amostra submetida tanto ao aquecimento quanto ao arrefecimento de maneira controlada. O conhecimento de propriedades físico-químicas de fármacos é um fator indispensável durante seu desenvolvimento, sendo seu planejamento racional iniciado com a caracterização do composto em questão, de modo a garantir a sua qualidade (DUARTE, 2016; RODRIGUES et al., 2005).

Entre as técnicas analíticas existentes, a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a Termogravimetria (TG) se destacam como as mais difundidas. Estas técnicas têm sido utilizadas para a caracterização de compostos presentes em plantas medicinais, de seus produtos ou extratos, bem como no desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos, analisando o grau de pureza de matérias-primas ou produtos acabados e na realização de ensaios de estabilidade e cinética de decomposição (CORREIA et al., 2013; RODRIGUES et al., 2005; SANTANA, 2014).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica utilizada para monitorar mudanças nas propriedades físicas ou químicas dos materiais em função da temperatura através da detecção das alterações do fluxo de calor associadas a esses eventos, comparando com um material de referência (TRONI, 2017).

Já a termogravimetria (TG), acompanha a perda e/ou ganho de massa de amostra em função da temperatura ou do tempo, estando em um ambiente de atmosfera e temperatura controladas. As curvas obtidas permitem tirar conclusões de propriedades da amostra como, sua estabilidade térmica, composição e estabilidade de compostos intermediários e composição de resíduo (CAVALCANTE, 2017).

3. METODOLOGIA

3.1 Coleta e preparo do material vegetal

A espécie *C. procera* foi coletada e identificada pelo botânico José Iranildo Miranda de Melo, na zona litorânea no município de Cabedelo - PB (S 7°02'29.9"/ W 34°50'23.6") no dia 30 de abril de 2014. O material vegetal foi processado na cidade de Campina Grande – PB no Laboratório de Fitoquímica na Universidade Estadual da Paraíba. Uma exsicata encontrada depositada no Herbário Lauro Pires Xavier da Universidade Federal da Paraíba sob a inscrição JPB 58031.

Foi separado o caule da planta que foi utilizado neste trabalho e submetido ao processo de secagem em estufa de circulação de ar a 50 °C por três dias. Após ser retirado, o caule foi submetido à trituração em um moinho de facas, obtendo-se 500 g do pó que foi utilizado na preparação do extrato etanólico bruto (EEB).

3.2 Preparo do extrato etanólico bruto (EEB)

O pó seco obtido (500 g), foi submetido ao processo de maceração em etanol a 70%. A cada três dias o macerado era filtrado, e a solução extrativa armazenada sob refrigeração. Este procedimento foi repetido durante 15 dias, totalizando seis extrações, o que resultou em 6 L de solução extrativa hidroalcoólica do caule de *Calotropis procera*. Posteriormente, realizou-se a filtração e evaporação do solvente em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se um peso seco de 146,17g do EEB.

3.3 Obtenção da fase hexânica a partir do extrato etanólico bruto

O EEB do caule foi submetido a um processo de partição líquido-líquido, com solventes em polaridade crescente. Neste procedimento os solventes utilizados foram: hexano, clorofórmio e acetato de etila.

Inicialmente pesou-se cerca de 120,0 g do EEB do caule de *C. procera*, o qual foi dissolvido em 840 mL de solução hidroalcoólica, metanol-água na proporção de 3:1. A mistura foi então transferida para um funil de separação, neste foi adicionado hexano, obtendo-se a fase hexânica do caule de *Calotropis procera*, que pesou aproximadamente 4,07 g.

3.4 Realização da cromatografia em coluna (CC) e da cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) da fase hexânica

Foram utilizados 2 g da fase hexânica para a realização da cromatografia em coluna. Foi utilizada a sílica-gel como fase estacionária e como fase móvel os solventes: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade. Sendo utilizados os solventes puros ou como mistura binária, seguindo os seguintes sistemas: hexano 100%,

hexano 8:2 diclorometano, hexano 5:5 diclorometano, hexano 2:8 diclorometano, diclorometano 100%, diclorometano 8:2 acetato de etila, diclorometano 5:5 acetato de etila, diclorometano 2:8 acetato de etila, acetato de etila 100%, acetato de etila 95:5 metanol, acetato de etila 90:10 metanol, acetato de etila 85:15 metanol.

Da CC foram obtidas 156 frações, que foram submetidas à análise em CCDA a fim de visualizar o perfil cromatográfico das mesmas na placa, sendo utilizado como revelador a luz ultravioleta em uma câmara escura com transluminador UV, com comprimento de onda de 264 e 365 nm. Dentre elas, a fração 21 (CP21) mostrou-se promissora, apresentando-se como um sólido branco (69,4 mg) solúvel em hexano-diclorometano (5:5).

3.5 Técnicas espectroscópicas utilizadas para identificação estrutural

Para análise por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR ou IV), foi utilizado um espectrômetro Bomem Michelson utilizando pastilhas de KBr, com varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

Para espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), os espectros de ^1H e ^{13}C foram registrados em um espectrômetro BRUKER ASCENDTM operando a 400 MHz para o ^1H e 100 MHz para ^{13}C , utilizando também técnicas bidimensionais (Coerência Quântica Única Heteronuclear (HSQC) e Coerência Heteronuclear Múltipla (HMBC)). Foi utilizado o solvente CDCl_3 (clorofórmio deuterado), sendo os deslocamentos químicos (δ) expressos em partes por milhão (ppm), utilizando o próprio solvente como referência interna e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As análises foram realizadas no IPeFarM (Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos) da UFPB.

3.6 Caracterização do composto por técnicas termoanalíticas

Para a análise termogravimétrica (TG), foi usado o analisador térmico simultâneo SDT Q600 (TA[®] - Instruments, New Castle, Delaware, EUA). Foram utilizados $3,00 \pm 0,05$ mg da amostra, com razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, na faixa de temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ a $900 \text{ }^\circ\text{C}$, sob uma atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 mL min^{-1} .

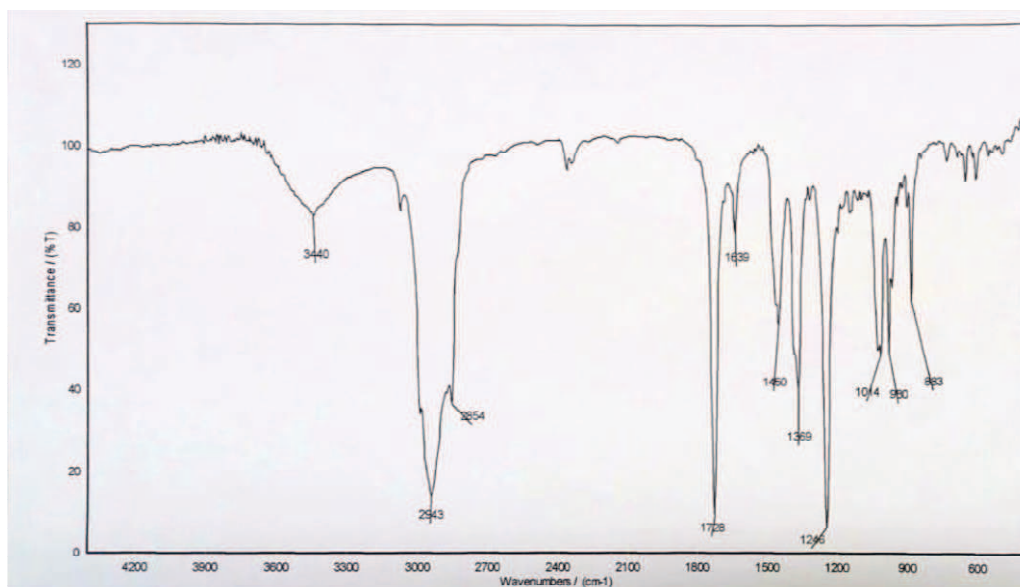
As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram obtidas em módulo calorimétrico DSC Q20 (TA[®] - Instruments, New Castle, Delaware, EUA). Foi utilizado $1,00 \pm 0,05$ mg da amostra, acondicionada em cadinho de alumínio, analisada na razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, com temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ a $300 \text{ }^\circ\text{C}$, sob uma atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL min^{-1} . Sendo ambas análises realizadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO – UEPB).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Dados espectroscópicos

Com a análise do espectro de absorção na região do infravermelho da CP21 (Figura 3), foram observadas bandas em 2943 cm^{-1} e 2854 cm^{-1} que são sugestivas de estiramento C-H de carbono com hibridação sp^3 . Foram visualizadas bandas em 1728 cm^{-1} (intensa) e 1246 cm^{-1} sugestivas de carbonila de grupamento éster. A banda observada em 1639 cm^{-1} é característica de um estiramento C=C de alceno (carbono metilênico). As bandas visualizadas em 1450 cm^{-1} e 1369 cm^{-1} são sugestivas de uma deformação C-H de carbono sp^3 . Já a banda em 883 cm^{-1} é característica de deformação C-H de olefinas (LOPES, FASCIO, 2004).

Figura 3 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (pastilhas de KBr) da CP21.

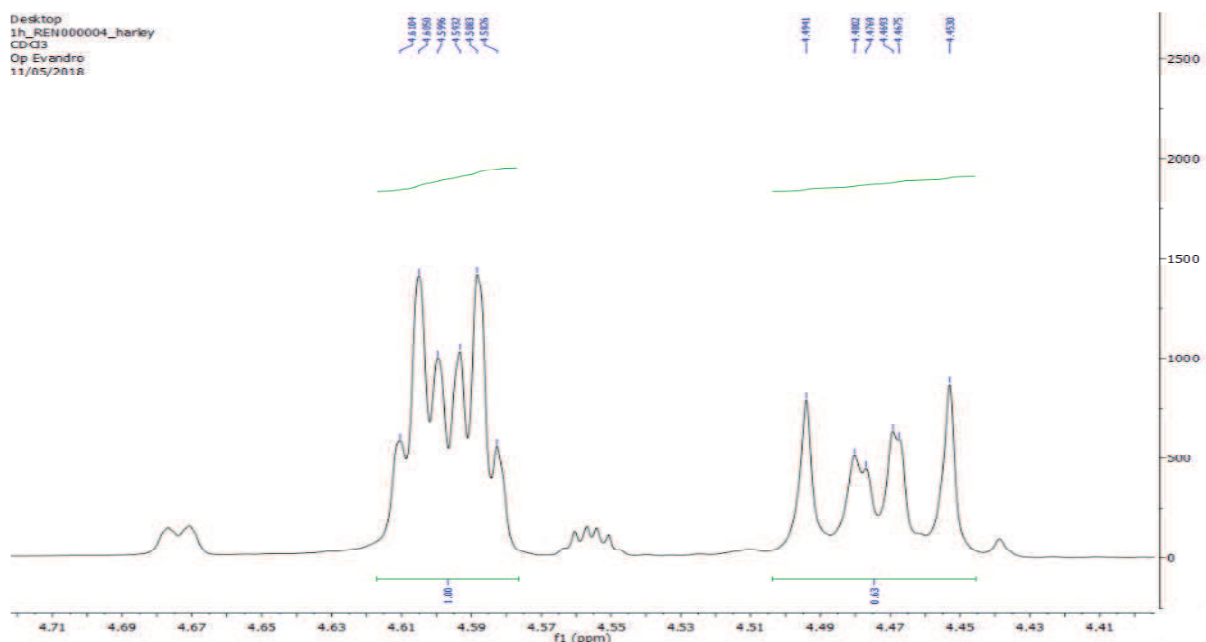


Fonte: dados da pesquisa.

A partir do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) foi observado um envelope de sinais na região de campo alto do espectro em torno de δ_{H} 2,5-0,7 (Figura 4), que são característicos de hidrogênios metilênicos e metílicos de núcleos triterpênicos ou esteroidais.

Um sinal em δ_{H} 4,50 (dd, $J_{\text{ax,ax}} = 9,7\text{ Hz}$ e $J_{\text{ax,eq}} = 6,7\text{ Hz}$, 1H) (Figura 5), é sugestivo da presença de hidrogênio na posição 3 de triterpenos, que está acoplado com os hidrogênios do carbono da posição 2. Normalmente o carbono da posição 3 de núcleos triterpênicos é oxigenado acarretando valores de deslocamentos químicos mais altos, estando nesta substituição o único grupo funcional da molécula (CHUNDATTU, AGRAWAL, GANESH, 2016; OLEA, ROQUE, 1990).

Figura 5 – Expansão na região de 4.71-4.41 ppm do espectro de RMN de ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) da CP21.



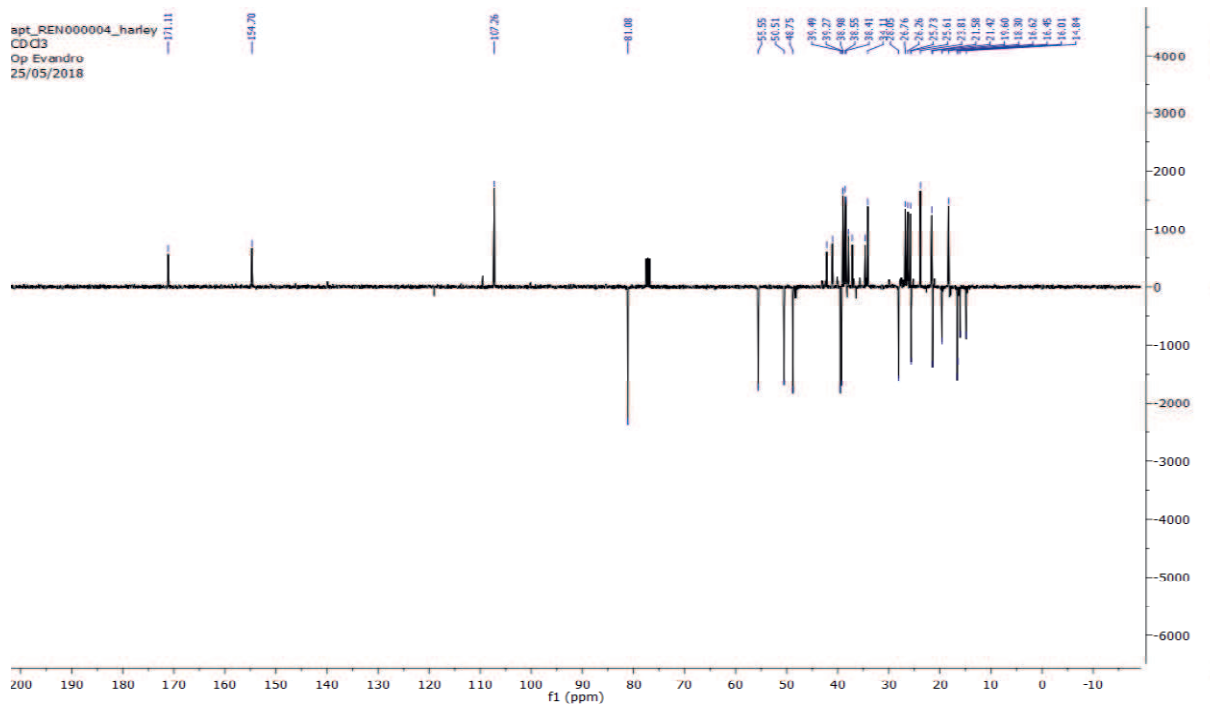
Fonte: dados da pesquisa.

No espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) utilizando a técnica APT (Attached proton test) foram observados 32 sinais (Figura 6). Sendo observado em campo alto sinais referentes a grupos metílicos e metilênicos, que corroboram com a presença de núcleo triterpênico. Dos 32 sinais identificados, 8 foram para metilas, 11 para grupos metilênicos, 6 para carbonos metínicos e 7 para carbonos não hidrogenados, em concordância com o relatado por Chundattu, Agrawal, Ganesh (2016).

Destaca-se a presença de um pico em δ_{C} 171,11, característico de carbonila de éster, corroborando com o que foi observado no espectro de IV. Foi visto também um sinal em δ_{C} 154,70 sugestivo de carbono não hidrogenado (C-19), que juntamente com o pico observado em δ_{C} 107,26 assinalado para o C-29, indicam a presença do carbono metilênico. De acordo com Olea e Roque (1990) os triterpenos pentacíclicos contém no máximo uma dupla ligação, que foi observada (C-29).

Um sinal em δ_{C} 81.08 assinalado para o C-3, confirma que este carbono está substituído com o grupamento éster, por estar em campo mais baixo do espectro, característico de carbonos oxigenados com um aumento no valor do seu deslocamento. De acordo com Souza (2013) o valor do δ_{C} para o C-5 é de 55,0 devido à presença da função oxigenada no C-3 que confere uma gama proteção, o que condiz com o valor encontrado para o C-5 (δ_{C} 55,55).

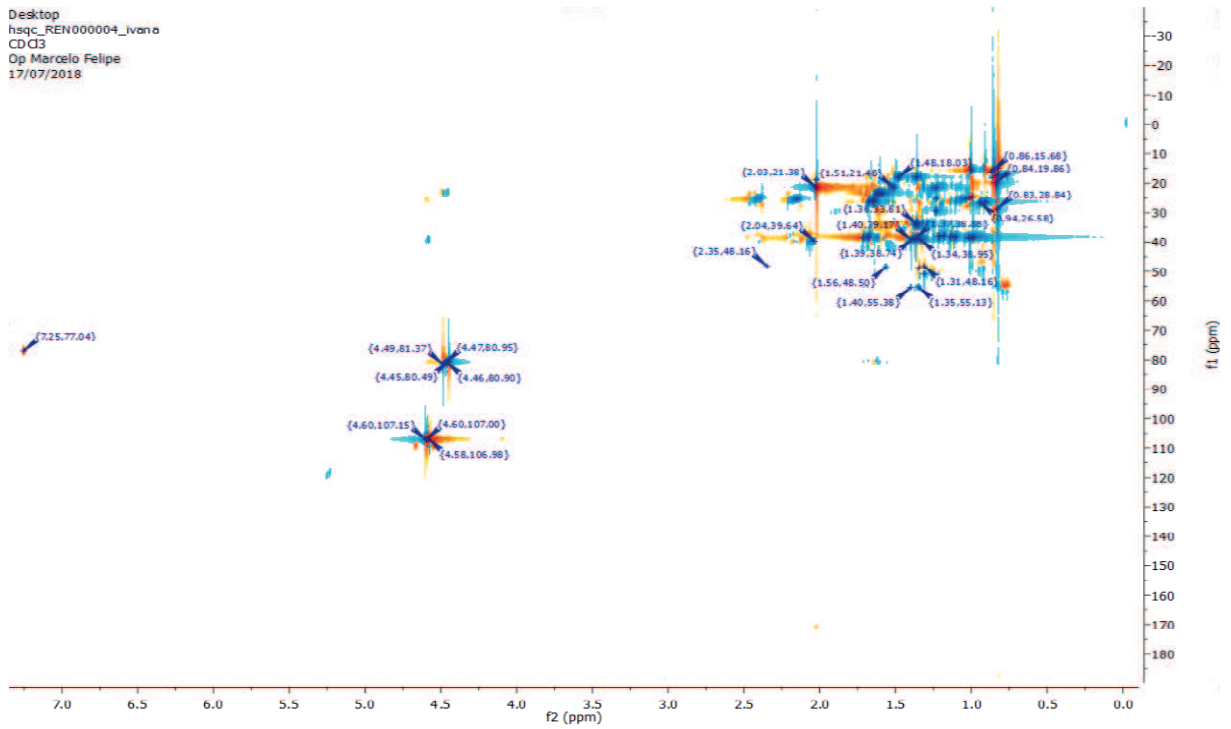
Figura 6 - Espectro de RMN de ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz).



Fonte: dados da pesquisa.

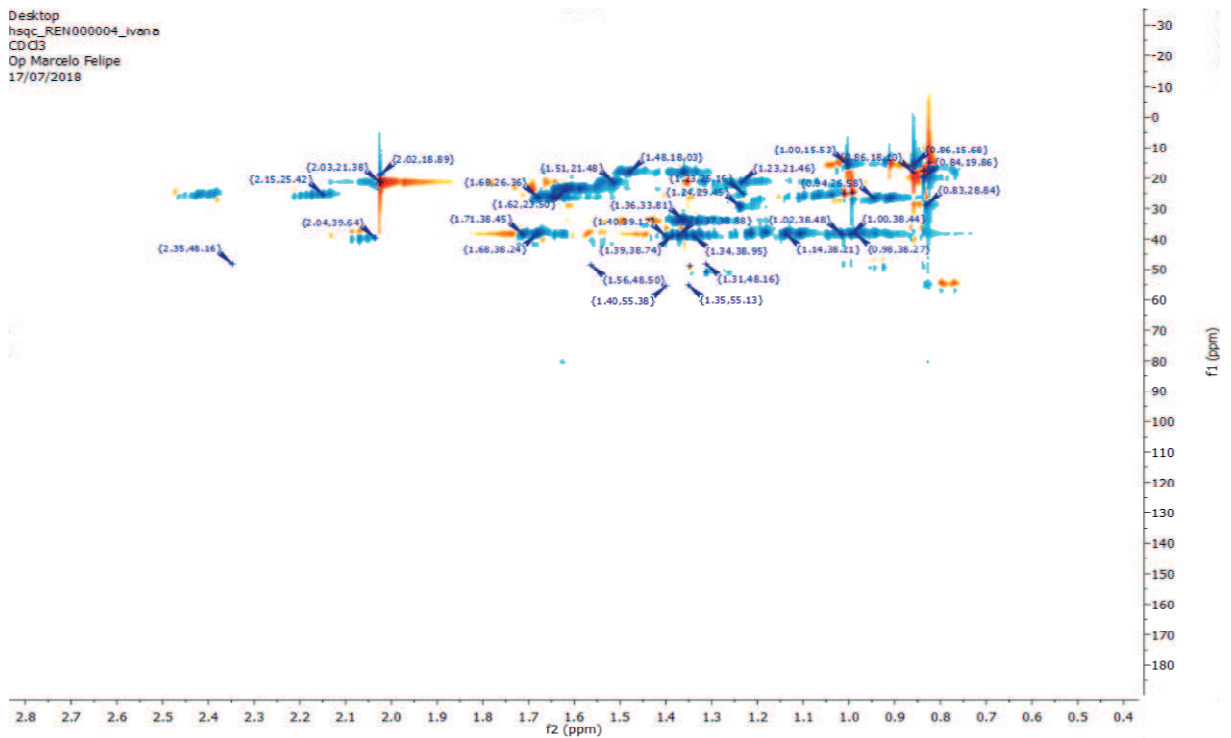
Com o auxílio de técnicas de RMN bi-dimensionais (Figuras 7, 8, 9 e 10) foi possível assinalar os valores apresentados na Tabela 1 para as correlações diretas (HSQC) e indiretas (HMBC).

Figura 7 – Mapa de contorno HSQC – ^1H e ^{13}C (CDCl_3) da CP21.



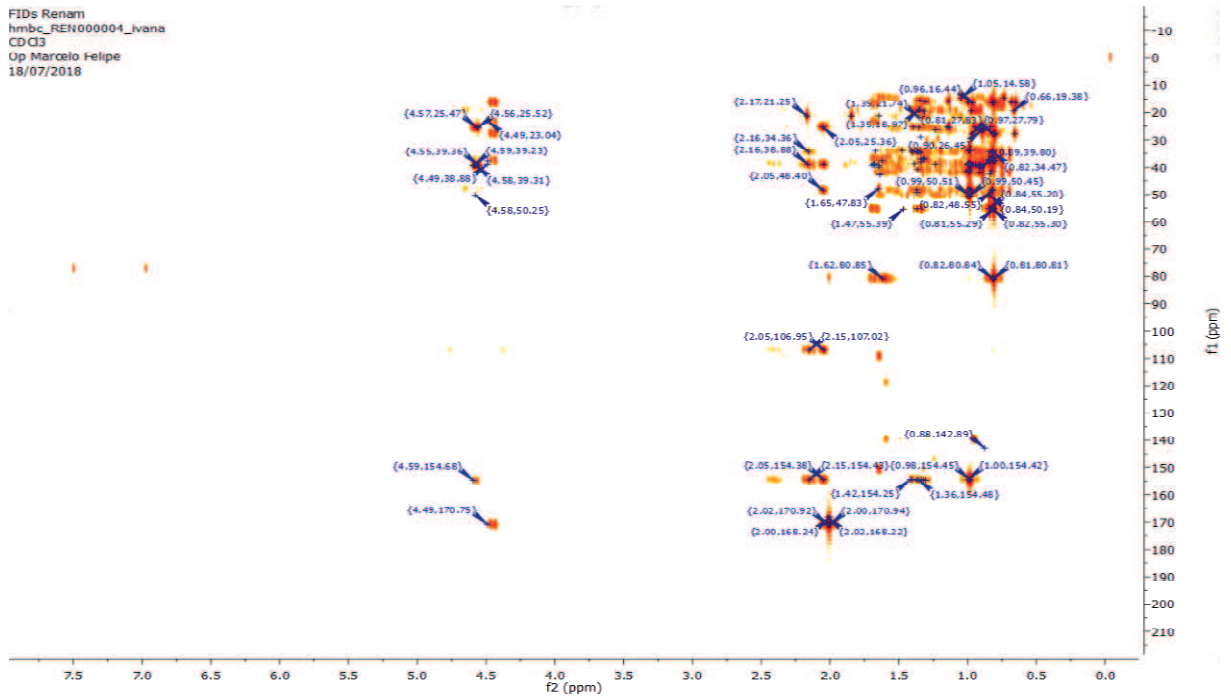
Fonte: dados da pesquisa.

Figura 8 – Expansão do mapa de contorno HSQC – ^1H e ^{13}C (CDCl_3) da CP21



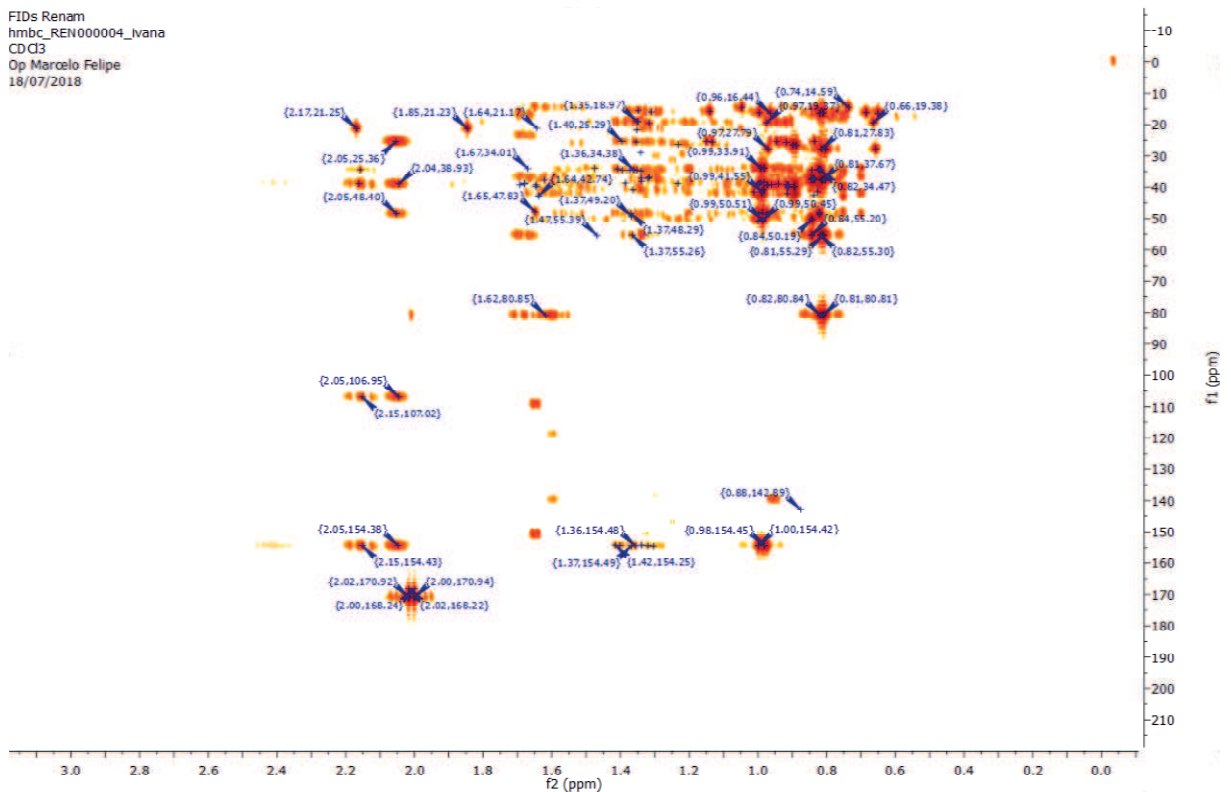
Fonte: dados da pesquisa.

Figura 9 - Mapa de contorno HMBC – ^1H e ^{13}C (CDCl_3) da CP21.



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 10 – Expansão do mapa de contorno HMBC – ^1H e ^{13}C (CDCl_3) da CP21.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 1 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) e correlações entre sinais de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (HSQC e HMBC) de calotropenil acetato.

| C | δC | HSQC | | HMBC | |
|-----------------------|------------------|--|------------|------------------|--|
| | | δH | 2J | 3J | |
| 4 | 37,90 | - | - | - | |
| 8 | 41,02 | - | - | - | |
| 10 | 37,15 | - | - | - | |
| 14 | 42,14 | - | - | - | |
| 17 | 34,63 | - | - | - | |
| 19 | 154,70 | - | - | - | |
| CH | | | | | |
| 3 | 81,08 | 4,50 (d, $J_{ax,ax}=9,7$ Hz d, $J_{ax,eq} = 6,7$ Hz) | C-2 | C-1, C-4, C=O | |
| 5 | 55,55 | 1,35 (m) | C-6, C-10 | C-7 | |
| 9 | 48,75 | 1,35 (m) | C-11 | C-12, C-25 | |
| 13 | 39,27 | 1,40 (m) | C-12 | C-17, C-19 | |
| 18 | 39,49 | 1,37 (m) | C-17, C-19 | C-20 | |
| 20 | 50,51 | 1,31 (m) | C-19, C-30 | - | |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 38,41 | 1,37 (m) | C-10 | C-9 | |
| 2 | 23,81 | 1,62 (m) | C-1, C-3 | - | |
| 6 | 18,30 | 1,48 (m) | C-5, C-7 | - | |
| 7 | 34,11 | 1,36 (m) | C-8 | C-5, C-9 | |
| 11 | 21,58 | 1,23 (m) | C-12 | C-13 | |
| 12 | 25,73 | 1,64 (m) | C-11, C-13 | C-14 | |
| 15 | 26,26 | 1,65 (m) | C-14 | C-13 | |
| 16 | 26,76 | 1,68 (m) | C-17 | C-18, C-22 | |
| 21 | 38,55 | 1,34 (m) | C-22 | C-17, C-19, C-30 | |
| 22 | 38,98 | 1,37 (m) | C-17 | C-22 | |
| 29 | 107,26 | 4,60 (d, $J=2,2$ Hz) e 4,59 (d, $J=2,0$ Hz) | C-19 | C-18, C-20 | |
| CH₃ | | | | | |
| 23 | 28,05 | 0,83 (s) | C-4 | C-3, C-5 | |
| 24 | 16,62 | 1,01 (s) | - | - | |
| 25 | 14,84 | 1,00 (s) | - | C-1, C-9 | |
| 26 | 16,45 | 0,83 (s) | C-8 | C-7, C-9 | |
| 27 | 25,61 | 0,91 (s) | C-14 | C-13 | |
| 28 | 16,01 | 0,84 (s) | C-17 | - | |
| 30 | 19,60 | 1,00 (d) ($J = 3,7$ Hz) | C-20 | C-19, C-21 | |
| OCOCH ₃ | 171,11 | - | - | - | |
| OCOCH ₃ | 21,42 | 2,03 (s) | C=O | - | |

Fonte: dados da pesquisa.

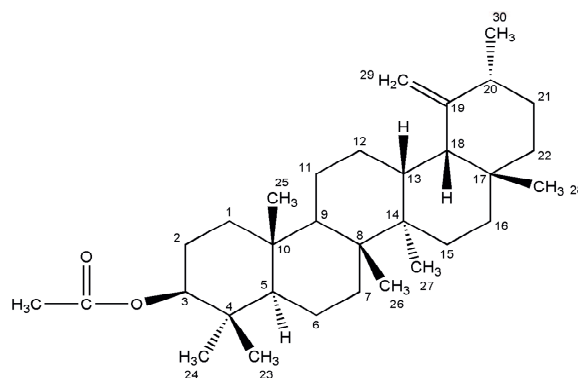
Os dados obtidos de RMN de ^1H e ^{13}C , também os apresentados pelo espectro de FTIR, em comparação com dados da literatura (Tabela 2) permitiram identificar o composto (CP21) como sendo o calotropenil acetate ($\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$) (Figura 11), sendo este um triterpeno do tipo ursano, já isolada da mesma espécie nos trabalhos de Cavalcante (2015), Chundattu, Agrawal, Ganesh (2016), Kakkar et al. (2012) e Khan et al. (1988). Também já isolado na espécie *Ficus carica* (JOSEPH, RAJ, 2011).

Tabela 2 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) de calotropenyl acetate em comparação com os dados obtidos por Chundattu, Agrawal, Ganesh, 2016 e Kakkar et al., 2012.

| Calotropenyl acetate | | | CHUNDATTU, AGRAWAL, GANESH, 2016 | | KAKKAR et al., 2012 | |
|-----------------------|------------------|--|-------------------------------------|---|---------------------|---|
| C | δC | δH | δC | δH | δC | δH |
| 4 | 37,90 | - | 37,86 | - | 37,85 | - |
| 8 | 41,02 | - | 41,00 | - | 41,01 | - |
| 10 | 37,15 | - | 37,55 | - | 37,57 | - |
| 14 | 42,14 | - | 42,10 | - | 42,11 | - |
| 17 | 34,63 | - | 37,57 | - | 37,57 | - |
| 19 | 154,70 | - | 154,56 | - | 154,57 | - |
| CH | | | | | | |
| 3 | 81,08 | 4,50 (d, $J_{\text{ax,ax}}=9,7$ Hz d, $J_{\text{ax,eq}}=6,7$ Hz) | 81,89 | 4,52 (dd, $J_{\text{ax,ax}}=9,8$, $J_{\text{ax,eq}}=4,5$ Hz) | 80,95 | 4,52 (dd, $J_{\text{ax,ax}}=9,8$, $J_{\text{ax,eq}}=4,7$) |
| 5 | 55,55 | 1,35 (m) | 55,50 | - | 55,54 | - |
| 9 | 48,75 | 1,35 (m) | 89,78 | - | 48,78 | - |
| 13 | 39,27 | 1,40 (m) | 39,29 | - | 39,26 | - |
| 18 | 39,49 | 1,37 (m) | 59,42 | - | 59,40 | - |
| 20 | 50,51 | 1,31 (m) | 39,43 | - | 39,44 | - |
| CH₂ | | | | | | |
| 1 | 38,41 | 1,37 (m) | 38,51 | - | 38,54 | - |
| 2 | 23,81 | 1,62 (m) | 23,73 | - | 23,76 | - |
| 6 | 18,30 | 1,48 (m) | 18,27 | - | 18,26 | - |
| 7 | 34,11 | 1,36 (m) | 34,09 | - | 34,10 | - |
| 11 | 21,58 | 1,23 (m) | 21,55 | - | 21,54 | - |
| 12 | 25,73 | 1,64 (m) | 25,67 | - | 25,68 | - |
| 15 | 26,26 | 1,65 (m) | 26,21 | - | 26,22 | - |
| 16 | 26,76 | 1,68 (m) | 28,69 | - | 28,70 | - |
| 21 | 38,55 | 1,34 (m) | 31,21 | - | 31,22 | - |
| 22 | 38,98 | 1,37 (m) | 38,98 | - | 38,97 | - |
| 29 | 107,26 | 4,60 ($J=2,2$ Hz) e 4,59 ($J=2,0$ Hz) | 107,25 | 4,67–4,62 (sl) | 107,24 | 4,60–4,68 (sl) |
| CH₃ | | | | | | |
| 23 | 28,05 | 0,83 (s) | 28,00 | 1,01 (s) | 28,00 | 1,01 (s) |
| 24 | 16,62 | 1,01 (s) | 16,55 | 0,82 (6H, s, H-24 e H-28) | 18,54 | 0,82 (6H, s, H-24 e H-28) |
| 25 | 14,84 | 1,00 (s) | 15,98 | 0,83 (s) | 15,96 | 0,83 (s) |
| 26 | 16,45 | 0,83 (s) | 16,35 | 1,02 (s) | 16,37 | 1,00 (s) |
| 27 | 25,61 | 0,91 (s) | 25,55 | 1,04 (s) | 25,54 | 1,03 (s) |
| 28 | 16,01 | 0,84 (s) | 28,11 | 0,82 (6H, s, H-24 e H-28) | 28,10 | 0,82 (6H, s, H-24 e H-28) |
| 30 | 19,60 | 1,00 (d) ($J=3,7$ Hz) | 19,55 | 0,91 (3H, d, $J=6,6$ Hz) | 19,53 | 0,91 (d, $J=6,5$) |
| OCOCH ₃ | 171,11 | - | 170,85 | - | 170,80 | - |
| OCOCH ₃ | 21,42 | 2,03 (s) | 21,23 | 2,12 (s) | 21,20 | 2,08 (s) |

Fonte: dados da pesquisa.

Figura 11 – Composto calotropenyl acetate.

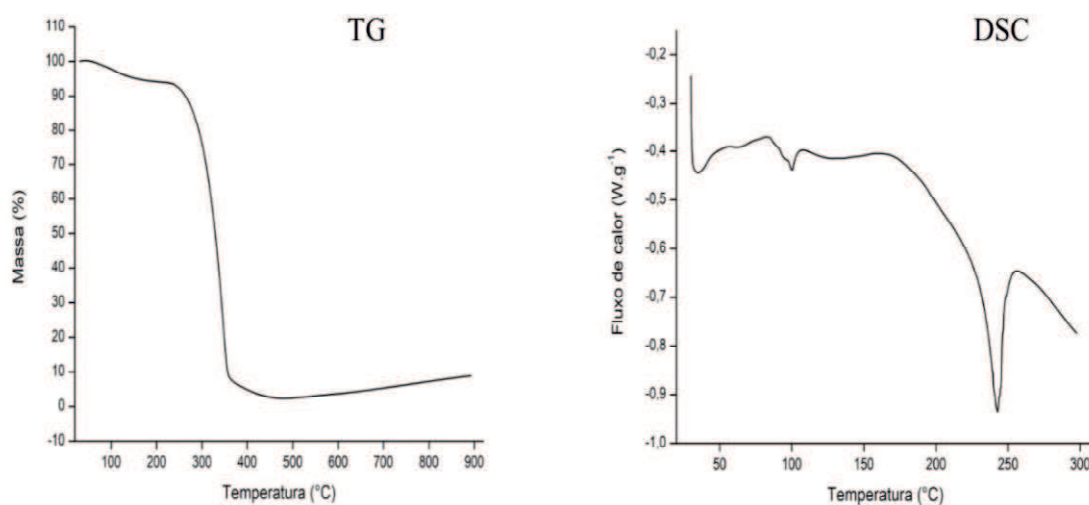


Fonte: próprio autor.

4.2 Caracterização do composto por Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Figura 12 abaixo apresenta as curvas termogravimétrica e calorimétrica obtidas da CP21.

Figura 12 – Curvas termoanalíticas da CP21.



Fonte: dados da pesquisa.

A curva termogravimétrica mostrou duas etapas de perda de massa. A primeira ocorreu entre 51,46 e 225,39 °C, com perda de massa de 6,339 %, e a segunda, na faixa de temperatura de 225,39 a 512,79 °C, com 91,19 % de perda de massa. O resíduo em 900 °C foi de 8,865 %, referente ao resíduo mineral da amostra.

Dois eventos endotérmicos foram detectados na curva calorimétrica da amostra. O primeiro teve temperatura de pico (T_{pico}) de 100,15 °C com variação de entalpia (ΔH) de

$2,757 \text{ J.g}^{-1}$, indicativo de impurezas na amostra. O segundo evento teve $T_{\text{pico}} = 242,47 \text{ }^\circ\text{C}$ e $\Delta H = 18,30 \text{ J.g}^{-1}$, sugestivo à fusão do composto, visto que a quantidade de energia envolvida nesse evento foi maior que a apresentada pelo evento anterior.

Nos trabalhos de Chundattu, Agrawal, Ganesh (2016) e Khan et al. (1988), o ponto de fusão do composto apresentado foi de $198 \text{ }^\circ\text{C}$, o que mostra uma discrepância em relação ao obtido neste trabalho, porém o DSC é uma técnica com maior sensibilidade na detecção desses eventos (TRONI, 2017). É importante destacar que a impureza presente na CP21 pode ter interferido na análise, ocasionando um aumento no valor de fusão da amostra.

5. CONCLUSÃO

A partir das técnicas cromatográficas (CC e CCDA), técnicas espectroscópicas (IV e RMN uni e bidimensionais), juntamente com dados da literatura, foi possível isolar e identificar um triterpeno do tipo ursano, denominado calotropenil acetato.

O composto foi isolado em boa quantidade (69,4 mg) o qual se mostra bastante promissor para a realização de testes biológicos, como atividade antibacteriana e atividade antitumoral, a fim de analisar possíveis atividades farmacológicas. A caracterização termoanalítica por TG e DSC realizada do composto permitiu obter seu perfil de mudança em suas propriedades físico-químicas em função da temperatura, resultado importante em relação a estabilidade do composto, considerável, por exemplo, para o desenvolvimento de uma possível formulação com a substância.

PHYTOCHEMICAL STUDY AND THERMOANALYTICAL CHARACTERIZATION
FROM A TRITERPENE OF *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F. (APOCYNACEAE)

ABSTRACT

The use of medicinal plants and herbal medicine are inserted in the practice of folk medicine, showing itself as an effective alternative in primary health care, especially for the lower income population. *Calotropis procera* is a shrub species belonging to the family Apocynaceae, with a wide geographic distribution, highlighting its presence in the Northeast region of Brazil. Several biological activities are attributed to the species, among them it stands out, antibacterial, anti-inflammatory and anticancer, being its family characterized by the presence of alkaloids and triterpenes. The objective of this research was to perform chromatographic analyzes of the hexane phase of the *C. procera* stem and to characterize the compounds by spectroscopic and thermoanalytical techniques. The plant was collected, separated the stem to be used, which was taken for drying in an oven. The dried material obtained was crushed and the crude ethanolic extract (ECE) was prepared by maceration. A partition of the ECE was obtained obtaining the hexane phase with which it was worked. From this phase, column chromatography (CC) and analytical thin layer chromatography (ATLC) were performed. The following spectroscopic analyzes were performed: infrared (IR) and ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR), using uni and bidimensional techniques. Thermal analysis was performed using thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC). From the CC of the hexane phase, 156 fractions were obtained, and 21 (69.4 mg) after analysis of the spectroscopic data and based on literature data, it was possible to identify the substance as being calotropenyl acetate, a triterpene already isolated from the species. Two steps of mass loss were observed through the TG curves and two endothermic events were observed by DSC. Due to a good quantity, the obtained compound will be tested, as well as antimicrobial activity, in order to evaluate its possible biological activities.

Keywords: Silk flower. Triterpene (ursane). Calotropenyl acetate.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. R. M. P.; GEMAL, A. L.; GIL R. A. S. S. Caracterização de polimorfismo em fármacos por ressonância magnética nuclear no estado sólido. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 553-564, 1999.
- ALMEIDA, E. F.; LIMA, N. T. R.; CASSIANO, T. T. M.; APOLINÁRIO, N. M.; MONTENEGRO, C. A.; LIMA, M. A.; FECHINE, I. M. Atividade antibacteriana do Extrato Etanólico Bruto do caule de *Calotropis procera* (Apocynaceae). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 1, 2018.
- AL-SNAFI, A. E. The constituents and pharmacological properties of *Calotropis procera*-An Overview. **International Journal of Pharmacy Review & Research**, v. 5, n. 3, p. 259-275, 2015.
- BARROS, F. E. V.; SOUSA, M. G. T.; COSTA, J. L.; OLEA, R. S. G.; FREIRE, S. M. F.; BORGES, A. C. R.; BORGES, M. O. R. Avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato metanólico de *Calotropis procera*, r. br. (cíume). **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 9/10, p. 60-64, 2004.
- BATTISTI, C.; GARLET, T. M. B.; ESSI, L.; HORBACH, R. K.; ANDRADE, A.; BADKE, M. R. Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 3, 2013.
- BERLINCK, R. G.; BORGES, W. D. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A Química de Produtos Naturais do Brasil do Século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.
- BESSA, N. D.; BORGES, J.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde-Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.
- BOLZANI, V. S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 68, n. 1, p. 04-05, 2016.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & saúde coletiva**, v. 17, p. 2675-2685, 2012.
- CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P. D.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Rev Sapiê: Soc Sab Prát Educ**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.
- CARVALHO, A. S. **Análises de parâmetros físicos e químicos por ressonância magnética nuclear em baixo campo**. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.
- CAVALCANTE, G. S. **Composição química e avaliação *in vitro* do extrato acetato de etila do látex de *Calotropis procera* (ait.) (Apocynaceae) sobre *Haemonchus contortus***. 2015. 84f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2015.

CAVALCANTE, L. S. S. R. **Caracterização físico-química e análise térmica do óleo da semente de Moringa Oleífera**. 2017. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Bacharelado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra, Instituto de Química, Natal, RN, 2017.

CHANG, T. H.; HSIEH, F. L.; KO, T. P.; TENG, K. H.; LIANG, P. H.; WANG, A. H. J. Structure of a heterotetrameric geranyl pyrophosphate synthase from mint (*Mentha piperita*) reveals intersubunit regulation. **The Plant Cell**, v. 22, n. 2, p. 454-467, 2010.

CHUNDATTU, S. J.; AGRAWAL, V. K.; GANESH N. Phytochemical investigation of *Calotropis procera*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. 230-234, 2016.

CORREIA, L. P.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, C. P.; SANTOS, A. F. O.; CAVALCANTE, H. M. M.; MACÊDO, R. O. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using pyrolysis, CG/MS, SEM, and thermal techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 1691-1698, 2013.

COSTA, A. J. **Avaliação fitoquímica e potencial toxicológico do caule de *Calotropis procera* (ait.) Ait.f. (Apocynaceae)**. 2015. 30f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

COSTA, N. D. J.; OLIVEIRA, S. F. C.; SILVA, J. N.; PACHECO, A. C. L.; ABREU, M. C.; FERREIRA, P. M. P. Potencial terapêutico e tecnológico da planta *Calotropis procera*. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 5, n. 3, p. 2222-2236, 2015.

DIAS, C. S.; SANTOS, L. H. T.; LIMA, J. C.; SOARES, A. B. L.; SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Comparação de protocolos para extração de DNA genômico de *Calotropis procera* Ait. R. Br.(Apocynaceae: Asclepiadoideae). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 13, p. 277-281, 2018.

DUARTE, F. Í. C. **Desenvolvimento e validação de métodos de quantificação: Estudo comparativo dos perfis de dissolução das cápsulas de ácido lipóico**. 2016. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campina Grande, 2016.

EL-KASHEF, D. F.; HAMED, A. N.; KHALIL, H. E.; KAMEL, M. S. Triterpenes and sterols of family Apocynaceae (2013-1955), A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 4, n. 2, 2015.

FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, M. N. A.; FILHO, J. A. S. Aspectos da ecologia de *Calotropis procera* (Apocynaceae) em uma área de Caatinga alterada pelas obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco em Mauriti, CE. **Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 64, n. 3, p. 647-654, 2013.

FIGUEREDO, C. A.; GURGEL, I. G. D.; JUNIOR, G. D. G. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, p. 381-400, 2014.

FILHO, R. B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

GONSALVES, A. M. R.; MELO, T. M. V. D. P. **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2007.

IBRAHIM, S. R.; MOHAMED, G. A.; SHAALA, L. A.; MORENO, L.; BANULS, Y.; KISS, R.; YOUSSEF, D. T. A. Proceraside A, a new cardiac glycoside from the root barks of *Calotropis procera* with in vitro anticancer effects. **Natural product research**, v. 28, n. 17, p. 1322-1327, 2014.

IULIANELLI, G. C. V.; TAVARES, M. I. B. Caracterização de diferentes amostras de mandioca por espectroscopia de ressonância magnética nuclear. **Polímeros**, v. 21, n. 2, p. 131-136, 2011.

JOSEPH, B.; RAJ, S. J. Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn—An overview. **International journal of pharmtech research**, v. 3, n. 1, p. 8-12, 2011.

JUCÁ, T. L.; RAMOS, M. V.; MORENO, F. B. M. B.; MATOS, M. P. V.; MARINHO-FILHO, J. D. B.; MOREIRA, R. A.; MOREIRA, A. C. D. O. M. Insights on the phytochemical profile (cyclopeptides) and biological activities of *Calotropis procera* latex organic fractions. **The scientific world journal**, v. 2013, 2013.

KAKKAR, A.; VERMA, D. R.; SURYAVANSHI, S.; DUBEY, P. Characterization of chemical constituents of *Calotropis procera*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 48, n. 1, p. 140-141, 2012.

KHAN, A. Q.; AHMED, Z.; KAZMI, S. N.; MALIK, A. A new pentacyclic triterpene from *Calotropis procera*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 5, p. 925-928, 1988.

KISMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. V. 2. São Paulo: BASF Brasileira, 1991.

KOCH, I. **Caracterização taxonômica dos representantes da família Apocynaceae na região de Bauru—SP**. 1994. 161 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1994.

LIMA, J. N. L. O.; SCARELI-SANTOS, C. Espécies vegetais tóxicas da família Apocynaceae: uma análise sobre a distribuição e os casos de intoxicação registrados em Araguaína, TO. **DESAFIOS**, v. 3, n. Especial, p. 03-11, 2016.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LUCETTI, D. L. **Avaliação das atividades antiinflamatória e antinociceptiva do acetato de lupeol isolado de *Himatanthus drasticus* (MART.) Plumel – Apocynaceae (Janaguba)**, 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2010.

MAGALHÃES, H. I.; FERREIRA, P. M.; MOURA, E. S.; TORRES, M. R.; ALVES, A. P.; PESSOA, O. D.; LOTUFO, L. V. C.; MORAES, M. O.; PESSOA, C. In vitro and in vivo antiproliferative activity of *Calotropis procera* stem extracts. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 2, p. 407-416, 2010.

- MARIN, E. P. **Espectroscopia de infravermelho e suas aplicações**. 2013. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Física). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Carlos, 2013.
- MELO, M. M.; VAZ, F. A.; GONÇALVES, L. C.; SATURNINO, H. M. Estudo fitoquímico da *Calotropis procera* Ait., sua utilização na alimentação de caprinos: efeitos clínicos e bioquímicos séricos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 1, 2001.
- MOREIRA, F. L. **Estudo de metabolismo in vitro do triterpeno pentacíclico amirina empregando microsomas hepático de ratos**. 2013. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP, Ribeirão Preto, 2013.
- NUNES, F. I. A. **Caraterização estrutural de novos triterpenóides pentacíclicos**, 2013. 159 f. Dissertação (Mestrado em Química Farmacêutica Industrial) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.
- OLEA R. S. G.; ROQUE N. F. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ^{13}C . **Química Nova**, v. 13, p. 278-281, 1990.
- OLIVEIRA, M. **Estudo fitoquímico e das atividades biológicas de *Temnadenia stellaris* (Lindl.) Miers (Apocynaceae)**. 2015. 114 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2015.
- OLIVEIRA, M.; BARRETO, A.; JÚNIOR, L. Q.; GUIMARÃES, A. Aplicação de terpenos como agentes analgésicos: Uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 4, n. 4, p. 1292-1298, 2014.
- OLIVEIRA, N. T.; ALMEIDA, S. S. M. S. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas da espécie *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae). **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 6, n. 1, p. 20-25, 2016.
- PADUCH, R.; KANDERFER-SZERSZEN, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315-327, 2007.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**: Tradução da 4ª edição norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.
- PEREIRA, M. D. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. D. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v. 30, p. 970-983, 2007.
- PICOSSI, C. R. C. **Estudos termodinâmicos da incorporação de terpenos em micelas aquosas por cromatografia eletrocínética micelar**. 2018. 187 f. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.
- QUAZI, S.; MATHUR, K.; ARORA, S. *Calotropis procera*: An overview of its phytochemistry and pharmacology. **Indian J. Drugs**, v. 1, n. 2, p. 63-69, 2013.
- RANJIT, P. M.; RAO, G. E.; KRISHNAPRIYA, M.; NAGALAKSHMI, V.; SILPA, P.; ANJALI, M. An overview of phytochemical and pharmacological activities of *Calotropis procera*. **FS J Pharm Res**, v. 1, n. 2, p. 18-25, 2012.

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

RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. F. M.; SILVA, M. A. S.; MATOS, J. R. Aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização, determinação da pureza e cinética de degradação da zidovudina (AZT). **Acta Farm Bonaer**, v. 24, n. 3, p. 383-7, 2005.

SANCHEZ, J. L. **Monitoramento da hidrogenação industrial do óleo de soja empregando cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho médio e análise multivariada**. 2015. 79 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Campo Mourão, 2015.

SANTANA, C. P. **Caracterização de extratos nebulizados de plantas medicinais por técnicas analíticas**. 2014. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campina Grande, 2014.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R.; FERREIRA, M. G. R. Uso de plantas medicinais pela população de Ariquemes, em Rondônia. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 244-250, 2008.

SILVA, A. F. **Discriminação e quantificação de cocaína e adulterantes em drogas por espectroscopia de infravermelho e resolução multivariada de curvas**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química e Biológica). Instituto de Química da Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; FILHO, S. A. V. Celastráceas: fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1205-1220, 2014.

SILVA, L. V. **Estudo *in vitro* da atividade anti-*leishmania* de compostos sintéticos derivados de terpenos e alcaloides contra diferentes espécies de *leishmania***. 2017. 88 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

SILVA, S. G. A. **Estudo de diversidade genética e efeito inibitório do látex de *Calotropis procera* em fungos fitopatogênicos**. 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química nova**, 2012.

SOUZA, F. H. T. **Fitoquímica de *Borreria verticillata* (L.) G. Mey., *Borreria ocymoides* (Burm. f.) DC. e *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae)**. 2013. 202 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

TAVARES, L. S. **Caracterização imunomodulatória de proteases cisteínicas obtidas do látex de *Calotropis procera* em culturas de macrófagos**. 2017. 63 f. Dissertação (Mestrado)

– Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação Biociência Animal, Recife, 2017.

TRONI, K. L. **Aprimoramento da técnica da calorimetria exploratória diferencial na determinação de dados de temperatura de ebulição de compostos puros e misturas binárias**. 2017. 156 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

VELOSO, C. A. G. **Triagem fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico e citotóxico das folhas de *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. (APOCYNACEAE)**. 2015. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campina Grande, 2015.

YAO, D. A. R. A.; SPRYCHA, Y.; POREMBSKI, S.; HORN, R. A. F. L. P. Assessment of the genetic diversity of *Calotropis procera* (Apocynaceae) in the West Africa region (Benin). **Genetic resources and crop evolution**, v. 62, n. 6, p. 863-878, 2015.