



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA-UNILAB**

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO - PROGRAD

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA E MATEMÁTICA- ICEN

**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS DA NATUREZA E MATEMÁTICA-
CNeM**

ALICE JOANA DA COSTA

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

ACARAPE - CE

2018

Alice Joana da Costa

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciado do curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática com habilitação em Química da Universidade da Integração da Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), sob orientação da Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo.

ACARAPE-CE

2018

Alice Joana da Costa

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciado do curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática com habilitação em Química da Universidade da Integração da Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), sob orientação da Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo.

Aprovado em: 22/05/2038

Banca Examinadora

Mônica Regina Silva de Araújo

Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo (Orientadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB / ICEN

Renata Paiva dos Santos

Profa. Dra. Renata Paiva dos Santos (Examinadora)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Daniele Alves Ferreira

Profa. Dra. Daniele Alves Ferreira (Examinadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB / ICEN

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Costa, Alice Joana da. C87e

Estudo químico e farmacológico de *Artocarpus altilis* Parkinson
Fosberg / Alice Joana da Costa. - Redenção, 2018.

70 f: il.

Monografia - Curso de Ciências da Natureza e Matemática, Instituto
de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade da Integração
Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção,
2018.

Orientadora: Profa.Dra. Mônica Regina Silva de Araújo.

1. Química vegetal. 2. *Artocarpus altilis*. 3. Moraceae. 4.
Fitoquímica. I. Título

CE/UF/BSP

CDD 581.19

Dedico este trabalho

À Deus

Ao meu avô Alexandre Vieira

Aos meus pais Marta Soares Sousa e Luis da Costa pelo apoio, cuidam, amor, carinhos incondicionais e por todos os sacrifícios que fizeram por mim.

Os meus irmãos: Alcina da Costa, Aleixo da Costa, Adino Vieira, Andy (in memoriam), e Azinha (in memoriam) pelo apoio moral, espiritual e incentivo compreensão e pela ajudam em todos os momentos para alcançar meus sonhos durante minha jornada.

AGRADECIMENTO

Agradeço em primeiro lugar a Deus pela a força e coragem durante toda esta longa caminhada.

Agradeço as minhas casas sagradas (casa das almas) "Caibuti Culubere / Sirebuu" (Parte do pai) e " Buulafi /serlau " (parte da mãe), que indicou o caminho certo, e sempre me acompanham por onde eu fui. Agradeço todas as minhas famílias parte da minha mãe e o parte do meu pai pelos apoios, moral, incentivos, compreensão e pelas ajudam em todos os momentos durante minha jornada

Ao IV, V, e VII Governo Constitucional de Timor-Leste, através do Ministério da Educação de ensino superior, que financiou o meu estudo até o momento na Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB). A Universidade Nacional Timor-Lorosa é (UNTL) pela cooperação com a UNILAB.

Aos meus amigos de estudo diferentes nacionalidades (Angola, Moçambique, São Tomé e principie , Guine Bissau, Cabo verde, e Brasil) e aos meus amigos timorenses, pelo apoio direita e indiretamente da minha pesquisa, pela ajuda, pelo encorajamento, pela compreensão durante vivenciarmos junta esta jornada. Agradeço especialmente aos meus amigos de químicos Timorenses (Flavia, Filomeno, Januário, Justino, Lizatória, Margareta, Ramalho e Octavio), Africanos (Raimundo, Domingos, Júnior, Mônica e Rudilson) e As Brasileiras (Beatriz e Rita).

Agradecer à minha orientadora Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo pela sua disponibilidade, mesmo em período de férias, e incentivo que foram fundamentais para realizar e prosseguir este estudo. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada, pertinente como acompanhou a realização deste trabalho. As suas críticas construtivas, as discussões e reflexões forma fundamentais ao longo de todo o percurso. Não posso esquecer a sua grande contribuição para o meu crescimento de conhecimento como investigadora, durante meu curso de licenciatura. Eternamente grata por todo o apoio.

Aos todos os professores do CNeM pelos conhecimentos a nós transmitidos, especialmente os professores e os técnicos do laboratório de Química (professores: Aluísio, Regylani, Cleide, Ze Berto, Eveline, Célia. E os técnicos: Davino, Etanilda, Camila, e Cátia). A Profa. Dra Maria Iracema Bezerra Loiola que me ajudou a identificar a espécie vegetal que deu origem a minha pesquisa, ao Prof. Dr Francisco Washington Araújo Barros Nepomuceno, a Profa. Dra Chistiane Mendes Feitosa e a Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago pelos testes realizados e que me ajudaram a realizar minha pesquisa.

OBRIGADA POR TUDO

"Não importa o que eu esteja enfrentando agora. Acredito que todo isso não vai ultrapassar o limite da minha capacidade" (Autor).

RESUMO

A espécie vegetal *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg pertencente à família Moraceae, originária da Malásia e Indonésia encontra-se distribuída nas regiões de clima tropicais e subtropicais do mundo, inclusive no Brasil, parte da região Nordeste. Popularmente conhecida como fruta pão, rima, e fruteira de pão. Foram relatados estudos com relação as suas folhas possuindo atividades antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antialérgica, anti-inflamatória, antidiabética e antimalárico em levantamento bibliográfico realizado em maio a novembro de 2017 no Scinfinder. O objetivo do trabalho foi realizar testes fitoquímicos com os extratos hexânico (EHFAA) e etanólico (EEFAA) das folhas para identificar as classes metabólitos secundários presentes, analisar os extratos obtidos através de cromatografia em camada delgada (CCD), investigação do potencial antioxidante, toxicológico, larvicida, citotóxico, inibição enzimática de acetilcolinestrassa, e fator de proteção solar (FPS) contra os raios UV. As análises fitoquímicas revelaram a presença de taninos hidrolisáveis (ausência no EEFAA), fenóis, triterpenos, esteroides, e alcaloides. O ensaio da atividade antioxidante foi realizado através do método DPPH e mostrou o extrato hexânico com IC_{50} 0,23 mg/mL melhor do que o extrato etanólico IC_{50} 0,08 mg/mL. O teste da toxicidade frente as larvas de *Artemia salina* apresentou DL_{50} 146,01 ppm para o extrato hexânico e DL_{50} 65,397 ppm para o extrato etanólico, sendo o extrato hexânico considerado moderadamente tóxico e extrato etanólico altamente tóxico. Tanto no teste de toxicidade frente às larvas de *Aedes aegypti* e de toxicidade pelo método MTT ambos os extratos não apresentaram resultados satisfatórios. No teste qualitativo de inibição a enzima acetilcolinesterassa apenas o extrato hexânico apresentou manchas brancas quando comparado ao padrão cafeína. O extrato hexânico exibiu FPS de 2,17 e o etanólico de 6,6 sendo considerados baixos. No entanto, este estudo contribuiu para o conhecimento quimiotaxonômico da espécie.

Palavra-chave: *Artocarpus altilis*, Moraceae, Fitoquímica.

ABSTRACT

The plant of species *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg belonging to the family Moraceae, originating in Malaysia and Indonesia, is distributed in the tropical and subtropical regions of the world, including Brazil, part of the Northeastern region. Popularly known as fruit bread, rhyme, and breadfruit. It has been reported studies with respect to its leaves having antioxidant, antimicrobial, antifungal, anti-allergic, anti-inflammatory, anti-diabetic and antimalarial activities in a bibliographic survey carried out in May and November 2017 in Scinfinder. The objective of this work was to perform phytochemical tests with hexane (HELAA) and ethanolic (EELAA) extracts of the leaves to identify the secondary metabolite classes present, to analyze the extracts obtained through thin layer chromatography (TLC), investigation of the antioxidant potential, toxicological, larvicidal, cytotoxic, enzymatic inhibition of acetylcholinesterase, and sun protection factor (SPF) against UV rays. Phytochemical analyzes revealed the presence of hydrolyzable tannins (absence in EEFAA), phenols, triterpenes, steroids, and alkaloids. The antioxidant activity assay was performed using the DPPH method and showed the IC₅₀ hexane extract 0, 23 mg/mL better than the ethanolic extract 0,08 mg/mL. The toxicity test against *Artemia saline* larvae presented LD₅₀ 146, 01 ppm for the hexane extract and LD₅₀ 65,397 ppm for the ethanolic extract, the hexane extract being considered moderately toxic and ethanolic extract highly toxic. Both in the toxicity test against *Aedes aegypti* larvae and toxicity by MTT methods both extracts did not present satisfactory results. In the qualitative test of inhibition the enzyme acetylcholinesterase only the hexane extract showed white, patches when compared to the caffeine standard. The hexane extract exhibited FPS of 2, 17 and the ethanolic of 6,6 being considered low. However, this study contributed to the chemotaxonomic knowledge of the species.

Key words: *Artocarpus altilis*, Moraceae, Phytochemical

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas químicas de alguns princípios ativos isolados de plantas.....	19
Figura 2 – (a) <i>Cinchona officinalis</i> e (b) <i>Papaver somniferum</i>	24
Figura 3 - Estruturas químicas de algumas classes de metabólitos secundários.....	26
Figura 4 - Moraceae frutíferas. A - <i>Morus nigra</i> L. B - <i>Artocarpus altilis</i> ; c - <i>Artocarpus heterophyllus</i> ; d - <i>Ficus carica</i>	27
Figura 5 - Folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	29
Figura 6 - Estrutura Química de Flavonoides, Chalcona, e Flavonona.....	29
Figura 7 - Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos.....	30
Figura 8 - Estabilização do radical DPPH.....	32
Figura 9- Microcrustáceo de água salgada <i>Artemia salina</i>	33
Figura 10 – a) <i>Taxus brevifolia nutt</i> e b) <i>Symphytum offinale</i>	34
Figura 11 - Estrutura do mtt e do produto colorido formazan.....	35
Figura 12 - Larvas <i>Aedes aegypti</i>	36
Figura 13 - Doença alzheimer para o adulto.....	37
Figura 14 - Fármacos utilizados no tratamento do mal de alzheimer.....	38
Figura 15 - Reação de complexação de um galotanino (tanino hidrolisável) com FeCl ₃	48
Figura 16 - Reação complexação de fenólicos simples pelo cloreto de férrico.....	49
Figura 17 - Análise fitoquímica do extrato hexânico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	51
Figura 18 - Análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	51
Figura 19 - Cromatoplasmas dos extratos hexânico e etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg em Hexano: Acetato de etila (8:2).....	52
Figura 20 - Cromatoplasmas dos extratos hexânico e etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg em Clorofórmio: Metanol (9:1).....	52
Figura 21 - Resultado atividade antioxidante do extrato hexânico das folhas <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	55

Figura 22 - Resultado atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas <i>Artocarpus atilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	56
Figura 23 – Teste qualitativo AChE.....	60

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Valores percentuais de inibição do radical DPPH em funções de concentração do extrato hexânico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	54
Gráfico 2 - Valores percentuais de inibição do radical DPPH em funções de concentração do extrato etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) fosberg.....	56
Gráfico 3 - Porcentagem de mortalidade das larvas <i>Artemia salina</i> nas concentrações da amostra do extrato hexânico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	58
Gráfico 4: Porcentagem de mortalidade das larvas <i>Artemia salina</i> nas concentrações da amostra do extrato etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	59
Gráfico 5 – Perfil de absorção espectrofotométrica do extrato hexânico de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	61
Gráfico 6 – Perfil de absorção espectrofotométrica do extrato etanólico de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	62
Gráfico 7 - Fator de Proteção Solar (FPS) <i>in vitro</i> do extrato hexânico de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	63
Gráfico 8 - Fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i> do extrato etanólico de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores empregados na determinação do FPS por espectrofotometria.....	47
Tabela 2 - Massa total e rendimento dos extratos hexânico e etanólico de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	47
Tabela 3 - Resultados de identificação de metabólitos secundários dos extratos hexânico e etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	49
Tabela 4 - Resultado do teste da atividade antioxidante com hexânico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	54
Tabela 5 - resultado do teste da atividade antioxidante de extrato etanólico das folhas de <i>artocarpus altilis</i> (parkinson) Fosberg.....	55
Tabela 6- o resultado do teste de toxicidade frente a <i>artemia salina</i> dos extratos hexânico das folhas de <i>artocarpus altilis</i> (parkinson) Fosberg.....	57
Tabela 7 - O resultado do teste de toxicidade frente a <i>Artemia salina</i> dos extratos etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	58
Tabela 8 - Citotoxicidade das amostras em linhagens celulares de câncer humano testadas em concentração única.....	60

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

[Ce (SO₄)₂] Sulfato cérico

Abs	Absorbância
CCD	Cromatografia em camada delgada
CI ₅₀	Concentração inibitória média
CO ₂	Dióxido de carbono
DL ₅₀	Dose letal média
DMSO	Dimetilsulfóxido
FPS	Fator de proteção solar
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazila
EHFAA	Extrato hexânico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i>
EEFAA	Extrato etanólico das folhas de <i>Artocarpus altilis</i>
ICEN	Instituto de Ciências Exatas e da Natureza
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
LABioCN	Laboratório de Biotecnológica e Ciências Naturais
OMS	Organização Mundial de Saúde
P. A	Puro e Analítico
QPN	Química Produtos naturais
RVC	Redução da viabilidade celular
MTT	Brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
AChE	Acetilcolinestrase
ATCI	Iodeto de acetiltiocolina
DNTB	Ácido 5, 5'- ditiobis- [2- nitrobenzoíco)
ACh	Acetilcolina
SNC	Sistema nervoso central

SNP	Sistema nervoso periférico
UV	Radiação ultravioleta
BHA	Hidroxianisol de t-butila
BHT	Hidroxitolueno de t-butila
PG	Propilgalato
TBHQ	Terc- butilhidroquinona
LDH	Lactato de desidrogenase
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNILAB	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Justificativa.....	20
1.2 Objetivos	22

1.2.1_Objetivo geral.....	22
1.2.2 Objetivo específico.....	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1 Produtos naturais.....	23
2.2 Metabolismo vegetal.....	25
2.3 Família Moraceae.....	26
2.4 <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	28
2.5 Atividades farmacológicas.....	30
2.5.1 Atividade antioxidante através do método DPPH.....	30
2.5.2 Toxicidade frente as larvas de <i>Artemia salina</i>	32
2.5.3 Produtos com potencial anticâncer (Citotoxicidade in vitro).....	33
2.5.4 Atividade Larvicida contra as larvas <i>Aedes aegypti</i>	35
2.5.5 Inibição de enzima Acetilcolinesterase.....	36
2.5.6 Fator proteção solar contra os raios UV.....	38
3. METODOLOGIA.....	40
3.1 Material vegetal.....	40
3.2 Preparação dos extratos.....	40
3.3. Testes fitoquímicos.....	40
3.3.1 Teste para fenóis e taninos.....	40
3.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides.....	40
3.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas.....	40
3.3.4 Teste para flavonóis, flavononas, flavononóis e xantonas.....	41
3.3.5 Testes para esteroides e triterpenos (Lieberman- Burchard).....	41
3.3.6 Teste de heterosídeos sapônicos.....	41
3.3.7 Testes alcaloides.....	41
3.4 Cromatografia em camadas delgada (CCD).....	41
3.5 Atividade antioxidante através do método DPPH.....	42

3.6	Toxicidade frente a <i>Artemia salina</i> (<i>Branchipus stagnalis</i>).....	43
3.7	Citotóxicidade pelo método direto (MTT).....	44
3.8	Larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>	45
3.9	Atividade inibição de enzima acetilcolinestraxe.....	45
3.10	Fator de proteção solar contra raios UV.....	46
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1	Rendimentos dos extratos de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg.....	47
4.2	Identificação das classes de metabólitos secundários.....	47
4.3	Cromatografia em camada delegada (CCD).....	51
4.4	Atividade antioxidante através pelo método DPPH.....	53
4.5	Toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	56
4.6	Citotoxicidade pelo método direto (MTT).....	59
4.7	Teste quantitativo de inibição de enzima acetilconestraxe.....	60
4.8	Larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>	61
4.9	Fator Proteção solar contra os raios UV	61
5.	CONCLUSÃO.....	64
6.	REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas em terapias é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (JUNIOR, PINTO e MACIEL, 2005), sendo que estas sempre tiveram um papel preponderante na manutenção da saúde das comunidades ao longo do tempo (MICHELIN, 2008).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80 % (estimada em 6 bilhões de pessoas) da população mundial, como Europa Ocidental e América Central, dependem das plantas medicinais para suas necessidades primárias de saúde (FIRMO *et al.*, 2011). Desta forma as plantas medicinais constituem matéria prima de fácil acesso e de baixo custo, contribuindo muito para à saúde da população.

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL *et al.*, 2002), como ainda hoje nas regiões mais pobres no Brasil, até mesmo nas cidades grandes brasileiras, as plantas medicinais são comercializadas livremente em mercados, e são consumidas sem nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas. Entretanto, o uso indiscriminado e a comercialização de tais produtos com fins medicinais são muitos perigosos, pois segundo Noronha (2014), a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos compreende um sério risco a saúde pública, devido à falta de fiscalização por parte de órgãos fiscalizadores.

Conseqüentemente, o número de drogas encaminhadas para órgãos fiscalizadores, originárias de plantas com finalidade medicamentosa, descritos em farmacopeias aumentou consideravelmente, bem como o comércio das plantas medicinais. Exigências internacionais têm sido estabelecidas a fim de assegurar a qualidade, eficácia e uso seguro dos produtos, para evitar o risco de contaminação ou mistura de produtos.

O Brasil é um dos países que possui grande potencial vegetal no mundo, com cerca de 55.000 espécies catalogadas. E apenas 8 % das espécies foram estudados em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (HEINZMANN e BARROS, 2007).

A importância e a potencialidade química das plantas medicinais podem ser identificadas com dados obtidos em pesquisa científicas, onde constatou-se que aproximadamente 25 % dos medicamentos prescritos no Brasil, originam-se de plantas, sendo

121 compostos ativos que são utilizados na produção de medicamentos. Dos 250 medicamentos considerados como básicos e essenciais pela Organização Mundial da Saúde, 11 % são exclusivamente obtidos de plantas medicinais e um número significativo são fármacos sintéticos obtidos de fontes naturais (SILVA, 2014).

A busca por substâncias ativas se torna realmente interessante quando se tem o isolamento do princípio ativo e não somente a estrutura de um composto inédito sem explicações. Tal fato vem ao encontro da necessidade de estudos fitoquímicos bioguiados e, portanto, na multidisciplinaridade que envolve botânicos, químicos, farmacêuticos e toxicologistas (MICHELIN, 2008).

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes tem sido objetivo de estudos, onde já foram comprovadas as ações farmacológicas através de testes clínicos. Muitas destas substâncias têm grandes possibilidades futuras de virem a serem agentes medicinais, como no caso dos antimaláricos quinina isolada de *Cinchona spp* e morfina de *Paver sommiferum*, eficazes no alívio da dor e febre em adultos e crianças (MONTANARI e BOLZANI, 2001).

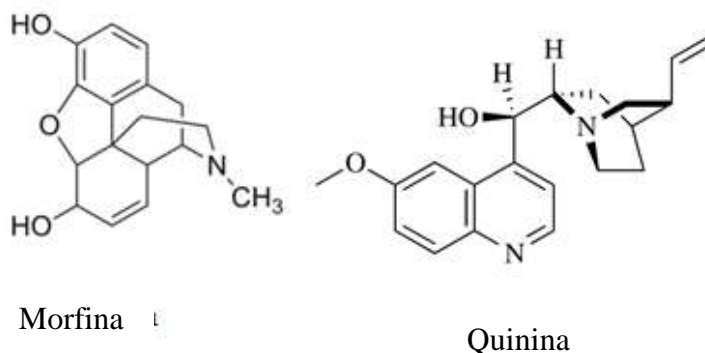


Figura 1 – Estruturas químicas de alguns princípios ativos isolados de plantas. (Silva, 2014)

A segurança e a eficácia na utilização dos fitoterápicos devem sustentar-se na existência de literatura científica relevante sobre a demonstração de sua atividade farmacológica e sua eficácia clínica, assim como da sua toxicidade. Quanto à segurança o conhecimento que garante o uso de muitos fitoterápicos provém da medicina tradicional e do conhecimento etnobotânico acumulado durante séculos (MICHELIN, 2008).

Assim, a área da química de produtos naturais, especialmente de vegetais, dedica-se ao isolamento, bem como à caracterização estrutural, a avaliação de propriedades farmacológicas e a investigação biosintética de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos, representando uma área em expansão com desenvolvimento de novas técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Desta forma, as atividades biológicas contribuem significativamente para investigação dos compostos ativos de plantas, para divulgação e geração de novos conhecimentos e referência para público alvo no futuro.

1.1 Justificativa

Inúmeras plantas medicinais são utilizadas na medicina popular, fazendo com que as plantas medicinais sejam base de estudos como fonte de substâncias bioativas de interesse das indústrias farmacêuticas. Entretanto, escolheu-se estudar a espécie *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, pertencente à família Moraceae, sendo muito conhecida no nordestino, principalmente por sua importância na alimentação e na medicina popular.

No Brasil pode ser encontrada em muitos pomares de quintais no região Nordeste, onde é popularmente conhecida como fruta pão, rima e fruteira-de pão. *Artocarpus altilis* é uma planta nativa da Indonésia e Malásia, e foi introduzida no Brasil no início do século XIX (CALVAZARA, 1987). É considerada uma das espécies mais amplamente difundidas na medicina popular nordestina, onde as raízes são utilizadas no tratamento da diarreia; seu cozimento torna-se útil contra reumatismo; as flores no tratamento de inflamação, a polpa do fruto reduzida a pasta quente é utilizada em tumores e furúnculos; e o látex usado como cicatrizante de feridas (FREITAS, 2012).

De acordo com Porto (2011) espécies pertencentes à família Moraceae apresentam várias atividades biológicas, sendo de grande importância do ponto de vista farmacológico, como por exemplo, antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, antimalárica, citotóxica; anticancerígena; antiandrogênica, anti-HIV, antileucêmica, anticoagulante, anti-hemorragica e antialérgica. A família Moraceae é caracterizada pela presença de saponinas, antocianidinas, flavonoides, triterpenos, cumarinas, alcaloides, esteroides, estilbenos, benzofuranos, xantonas, entre outros metabólitos secundários. Dando destaque aos flavonoides, triterpenos, e esteróides, devido ao grande

número de ocorrência na família Moraceae, sendo caracterizados como marcadores químicos da família.

Os estudos relacionados com substâncias fenólicas, encontrados na espécie revelam diversas atividades biológicas e farmacológicas, atribuídos a sua presença e a de seus derivados. As atividades biológicas mais estudadas com relação às folhas da espécie foram atividade antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antialérgica, antiinflamatória, antidiabético e antimalárico em levantamento bibliográfico realizado de maio a novembro de 2017 no Scifinder. Considerando o grande número de trabalhos publicados sobre utilização da espécie na China, Malásia e Índia com componentes ativos em preparações farmacêuticas, torna-se relevante um melhor conhecimento do uso tanto químico enquanto farmacológico da espécie, tendo sua importância na contribuição do ensino, pesquisa e extensão para o desenvolvimento de novos fármacos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Realizar estudo fitoquímico de plantas da Caatinga cearense, de forma a contribuir para caracterização da biodiversidade vegetal desse bioma e para prospecção de metabólitos com potencial farmacológico.

1.2.2 Objetivo específico

- Realizar levantamento bibliográfico e criar um banco de dados com informações obtidas sobre a espécie estudada;
- Realizar prospecção fitoquímica e farmacológica de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg bem como armazenamento de extratos para ensaios futuros;
- Preparar o extrato hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg;
- Analisar os extratos através de cromatografia de camada delgada (CCD) em diferentes eluentes;
- Realizar testes fitoquímicos para levantamento das classes de metabólitos secundários presentes nas folhas da espécie;
- Investigar o fator de proteção solar (FPS) dos extratos hexânico e etanólico das folhas contra os raios UV;
- Investigar as atividades antioxidante (DPPH), citotóxica *in vitro*, toxicidade em frente as larvas *Artemia salina*, larvicida contra as larvas *Aedes aegypti* e inibição da enzima acetilcolinesterase das folhas dos extratos hexânico e etanólico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produtos Naturais

Produtos naturais são substâncias químicas ou compostas químicas produzidas por micro-organismos, plantas, organismos marinhos, anfíbios e animais encontrados na natureza e que geralmente tem atividade biológica ou farmacológica, que pode ser usado na descoberta de produtos farmacêuticos. Esses produtos são conhecidos como uma importante fonte de medicamentos eficazes. Os produtos naturais também podem ser preparados por síntese química (semi síntese ou síntese total) e desempenham um papel importante no desenvolvimento da química orgânica, fornecendo alvos sintéticos desafiadores (PINTO *et al.*, 2002).

O uso de produtos naturais como matéria prima para síntese de substâncias bioativas, tem sido amplamente relatado ao longo do tempo. Os primeiros registros do uso de plantas como medicamentos datam de 2600 a.C, na Mesopotâmia, onde determinadas espécies como *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz) e *Papaver somniferum* (papoula), usadas até hoje, eram empregados no tratamento da tosse, resfriados e infecções parasitárias. Antes do início do século XX, o uso dos produtos naturais se limitava principalmente ao uso de extratos e preparados a partir de plantas, baseado na observação empírica do efeito causado pela sua administração (BASTOS, 2016).

Historicamente, a química orgânica desenvolveu-se paralelamente ao estudo da química de plantas, principalmente a partir do século XIX, quando algumas substâncias ativas de plantas foram isoladas. Eventos como o isolamento do princípio ativo da quinina ($C_{20}H_{24}N_2O_2$) da casca do caule de *Cinchona officinalis* utilizada no tratamento da malária e problemas cardíacos, e o isolamento da morfina ($C_{17}H_{19}NO_3$) obtidas das flores de *Papaver somniferum* contribuíram para o desenvolvimento da fitoquímica (MONTANARI e BOLZANI, 2001).



Figura 2 – (a) *Cinchona officinalis* e (b) *Papaver somniferum*

Fonte: Rosa; Tinez e Pinto, 2017 e Rodrigues e Avelar, 2016.

Muitos produtos naturais têm apresentado interessantes atividades biológicas e farmacológicas. A maior parte das substâncias orgânicas conhecidas atualmente é de origem natural, principalmente do reino vegetal. Além de serem utilizadas no tratamento de uma ampla gama de enfermidades, as plantas também são reconhecidas por sua capacidade de produzir uma grande variedade de metabólitos secundários, contribuindo de forma significativa para o fornecimento de substâncias utilizadas como medicamentos (NORONHA, 2014).

Em 1976, na cidade do Vaticano, foi realizada a semana de estudos “Produtos Naturais e a proteção de plantas”, onde se discutiu o papel de determinado metabólitos secundários na defesa de plantas contra predadores. As plantas possuem seus próprios mecanismos defesas contra vírus, bactérias, fungos, insetos e herbívoras. Estas defesas normalmente envolvem metabólitos secundários como terpenos, alcaloides e compostos fenólicos (NORONHA, 2014).

Estes metabólitos produzidos pelas plantas para diferentes propósitos como regulação do crescimento, proteção contra radiação ultravioleta (UV) e defesa contra predadores e infecções. Atualmente, muitas dessas substâncias têm servido como modelo para o desenvolvimento de novos fármacos, fato que justifica a busca por novas substâncias bioativas, principalmente nas florestas tropicais do Brasil, onde se concentra uma grande variedade de espécies em qualquer estudo químico e farmacológico (PINTO *et al.*, 2002).

2.2 Metabolismo vegetal

Metabolismo vegetal é um conjunto de reações químicas que ocorre no interior das células. Os quais são divididos em dois grupos: metabolismo primário e metabolismo secundário. O metabólito primário é o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte do soluto. Os compostos envolvidos no metabolismo primário possuem uma distribuição universal nas plantas, como no caso dos aminoácidos, os lipídeos, clorofila, carboidratos e dos nucleotídeos. Em contrapartida os metabolismos secundários são compostos que não possuem uma distribuição universal, pois não são necessárias para todas as plantas. Como consequência prática, esses compostos podem ser utilizados em estudos taxonômicos (ANDRADE, 2015).

Os metabólitos secundários desempenham diferentes funções nas plantas. Alguns são responsáveis por conferir cor em flores, frutos, folhas, outros possuem um papel importante na reprodução ao atrair insetos polinizadores, ou atraindo animais que utilizam os frutos como fonte de alimentos e contribuem para a disseminação das sementes. Outros compostos possuem a função de proteger a planta contra ataques de predadores, conferindo a planta sabor amargo tornando-a indigesta ou venenosa ou atuam como pesticidas naturais (MARTINS, 2012).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenos são sintetizados a partir de acetil-CoA, via rota do ácido mevalônico. Os compostos fenólicos são biossintetizados a partir de duas rotas principais, do ácido chiquímico e do ácido mevalônico e os compostos nitrogenados são sintetizados a partir de aminoácidos. Exemplos de classes de metabólitos secundários podemos citar os esteroides, taninos, saponinas, cumarinas, e flavonoides. Os metabólitos secundários frequentemente possuem atividades biológicas que despertam interesse farmacêutico (ANDRADE, 2015).

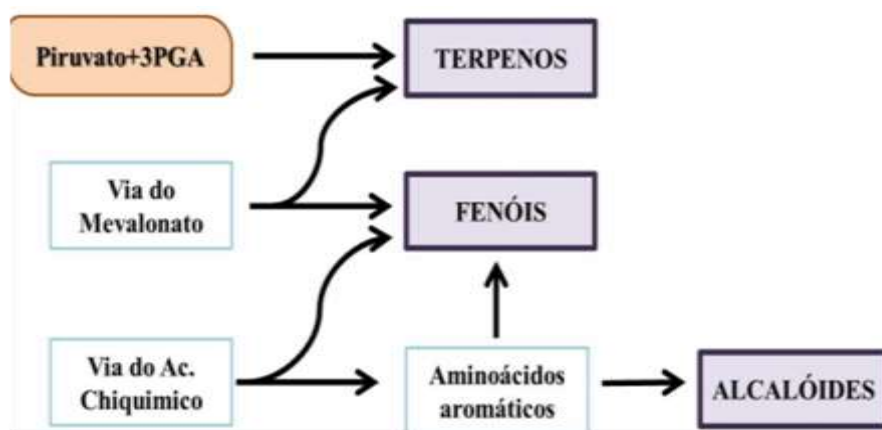


Figura 3 – Principais vias do metabolismo secundário da planta e suas interligações

Fonte: Andrade, 2015.

2.3 Família Moraceae

A palavra Moraceae foi descoberta por Link em 1841 para designar plantas relacionadas às amoreiras (moriformes), (CASTRO, 2006).

A família Moraceae é constituída por, aproximadamente 50 gêneros e cerca de 1.500 espécies. No Brasil ocorrem 27 gêneros e aproximadamente 250 espécies nativas, destacando-se *Ficus*, *Dorstenia*, *Brosimum*, *Sorocea*, e *Clarisia*. As características botânicas dos três gêneros da família Moraceae são o gênero fícus sendo o maior gênero da família Moraceae com aproximadamente 800 espécies e distribuição tropical, subtropical, raramente em regiões temperadas. Dessas, 100-120 espécies ocorrem na região Neotropical (JACOMASSI, MOSCHETA, e MACHADO, 2010). No Brasil, são reconhecidas 76 espécies nativas, distribuídas em dois subgêneros *Pharmacosycea* (Miq) e *Urostigma* (Gasp), o gênero *Dorstenia* no Brasil possui 38 espécies nativas, destas 33 são endêmicas e o gênero *Artocarpus* compreende aproximadamente 50 espécies amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (SAMPAIO, 2017). Uma fonte abundante de flavonoides e outros compostos fenólicos os quais possuem atividades biológicas, como antimicrobiana anti-inflamatório, antialérgico, antifúngico, antimicrobiano entre outros (PORTO, 2011). Espécies desse gênero são conhecidas por ocupar uma variedade de nichos ecológicos em diferentes habitats.

A família Moraceae também tem sido alvo de estudos fitoquímicos, nos quais já foram descritos saponinas, antocianidinas, flavonoides, triterpenos, cumarinas, alcaloides,

esteróides, benzofuranos, xantonas entre outros metabólitos secundários. As flavonas são predominantemente encontradas nas espécies pertencentes à família Moraceae, e se tornaram objeto de estudo por apresentarem atividades antivirais e anticancerígenas, os triterpenos que representam 13 % das substâncias predominantes encontradas nas espécies pertencentes à família Moraceae, também são exemplo de metabólitos com atividades antivirais e anticancerígenas. Entre as espécies, um possível marcador quimiotaxonômicos desta família são os flavonoides (53 %), e sua subclasse as flavonas que são muito abundantes nessa família (PORTO, 2011).

A família Moraceae possui representantes bastante conhecidos no Brasil, como a *Morus nigra*, *Artocarpus heterophyllus*, *Ficus carica*, e *Artocarpus altilis* (Figura 4). Sabe-se espécie que é prevalente nas regiões tropicais, entretanto, existem representantes nas áreas temperadas, embora seja em menor proporção. No Brasil, com a sua imensa biodiversidade, apresenta cerca de 30 % dos gêneros, que estão localizados, em sua maioria na floresta Amazônica (JACOMASSI, 2006 e SAMAPAIO, 2017).



Figura 4- Moraceae frutíferas. A - *Morus nigra* L. B - *Artocarpus altilis*; C - *Artocarpus heterophyllus* ;
D - *Ficus carica*.

Fonte: Sampaio, 2017.

Os representantes desta família apresentam-se sob a formação de árvores, arbustos ou ervas, às vezes, epífitas e normalmente são lactescentes. Assim caracterizam-se pela presença de látex, estípulas amplas que, normalmente, deixam uma cicatriz amplexicaule em cada nó, flor pequenas, unissexuais, e agrupados em inflorescências densas, as quais comumente formam frutos múltiplos (CASTRO , 2006).

2.4 *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

As espécies no universo são conhecidas por possuir propriedades terapêuticas e tem sido usada desde tempos antigos para tratar várias doenças humanas com eficácia. Uma dessas espécies é *Artocarpus altilis* pertencente à família Moraceae. Tendo como nome popular fruta-pão, rima e fruta-do-pão, sendo uma fruta tropical e produzido frutos nos períodos de março a junho e de julho a setembro (BETERRO, 2014).

O gênero *Artocarpus* é composto por aproximadamente 50 espécies que são amplamente distribuídas no mundo nas regiões tropicais e subtropicais (PORTO, 2011). As classes de substâncias fenólicas são descritas para representantes de *Artocarpus*, tais como: xantonas, arilbenzofuranos e estilbenos. Os metabolitos secundários que são encontrados nos extratos das folhas, caule, fruta e casca contêm vários compostos ativos benéficos biologicamente ativos e esses compostos possuem várias atividades biológicas, como a antibacteriana, antituberculose, antiviral, antifúngica, antiplaquetária, antiartrítica, inibidor de tirosinase e citotoxicidade (SIKARWAR *et al.*, 2014).

O nome científico *Artocarpus altilis* vem da palavra grego "artos" que significa pão e "carpos" que significa fruto. *Artocarpus altilis* Parkinson, também é conhecida pelas sinonímias *Artocarpus comunista* e *Artocarpus incisa*. É um arbusto, ou erva monóico ou dióico, com laticíferos abundantemente distribuídos em todas as partes da planta. A espécie é originária da Indonésia e Malásia. Cerca de 3000 anos atrás, essa espécie foi cultivada pela primeira vez no Pacífico Ocidental e se espalhou por regiões tropicais pela migração dos Polinésios. No Pacífico cultivaram amplamente várias variedades de fruta pão Polinésio sem sementes e nozes de pão da Nova Guiné foram introduzidas no Caribe no final de século XVII, onde a espécie é considerada como um alimento para as pessoas pobres. Mais tarde, foi amplamente distribuída na América Central, América do Sul, África e especialmente no Senegal, Gana, Libéria, Índia, e principalmente nas regiões Costeiras de Karnataka e Kerala, Sudeste Asiático, Malásia, Madagaskar, Indonésia, e Austrália (MCCOY, GRAVES e MURAKAMI, 2010). Foi introduzida no Brasil no início do século XIX, pelos imigrantes portugueses e está amplamente adaptada no Brasil (CALZAVARA, 1987).



Figura 5 - Folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

Fonte: Mccoy; Graves; Murakami, 2010.

O gênero *Artocarpus* produz uma grande quantidade de metabolitos secundários que são geralmente ricos em fenilpropanoides, como flavonóides e flavonas. Mais de 130 compostos foram identificados nas partes de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg dos quais mais de 70 derivaram-se da via fenilpropanóide. As folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg contêm taninos, glicosídeos, saponinas, esteróides, terpenoides e antraquinonas. Os flavonóides estão presentes nos extratos de éter de petróleo e acetato de etila das folhas, enquanto os taninos são detectados apenas no extrato metanólico das folhas. Também contém compostos fenólicos como chalcona e flavonona. Os metabolitos secundários de *Artocarpus altilis*, especialmente das folhas, cascas, caule e frutos possuem compostos bioativos e dentre as mais diversas atividades biológicas incluindo antibacteriana, antituberculose, antiviral, antifúngica, antiplaquetária, antiartrítica, inibidor de tirosinase e citotoxicidade (SIKARWAR *et al.*, 2014).

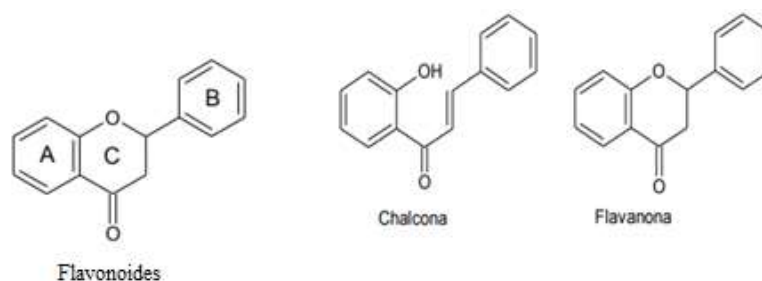


Figura 6 - Estruturas química de flavonoides, Chalcona, e Flavonona.

Fonte: Sampaio, 2017.

2.5 Atividades farmacológicas

2.5.1 Atividade antioxidante através do método DPPH

A atividade antioxidante é uma propriedade fundamental para a vida humana, uma vez que, muitas funções biológicas, incluindo antimutagenicidade, anticarcinogenicidade e antienvhecimento, entre outras, são originárias dessa propriedade (BOROKSI *et al.*, 2015).

Substâncias antioxidantes são capazes de atrasar ou inibir a oxidação de um substrato oxidável. Eles protegem as células saudáveis do organismo contra a ação oxidante dos radicais livres, sendo capaz de regular as quantidades de radicais livres que existe no nosso organismo.

Os compostos antioxidantes podem ser divididos em enzimáticos ou não enzimáticos. Entre os enzimáticos estão incluídos as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutationaperoxidase. Essas enzimas evitam que os radicais superóxido e peróxido de hidrogênio (que apesar de não ser um radical, é um metabólito que participa da reação de formação de hidroxilas) se acumulem e formem radicais hidroxilas (PRADO, 2009).

As classes dos antioxidantes não enzimáticos podem ser divididas em antioxidantes naturais ou sintéticos, para serem utilizados em alimentos, devendo ser seguro para a saúde. Alguns dos antioxidantes sintéticos mais importantes são hidroxianisol de t-butila (BHA) e o hidroxitolueno de t-butila (BHT), propilgalato (PG), e t-butilhidroquinona (TBHQ) (Figura 6). Os compostos fenólicos também são potentes antioxidantes, podendo agir como redutores de oxigênio singlete, atuando nas reações de oxidação lipídica. Entretanto, há evidências de que muitos antioxidantes sintéticos são tóxicos e causam diversos malefícios ao organismo, portanto, um nível de ingestão diária foi estabelecido como uma quantidade que não resulte em danos a saúde (RAMALHO e JORGE, 2016).

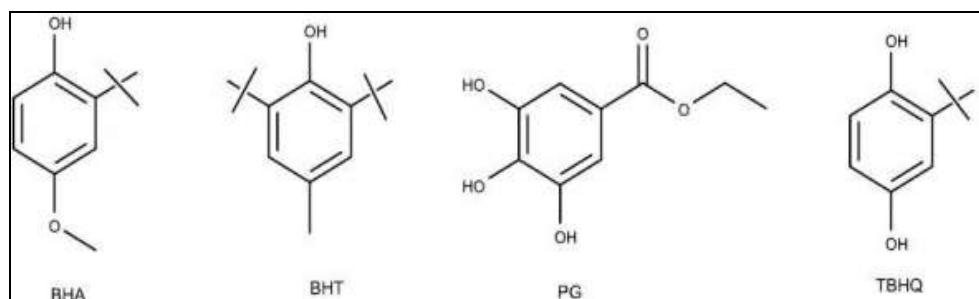


Figura 7 - Estrutura química de alguns antioxidantes sintéticos

Fonte: Ramalho e Jorge, 2016.

Os antioxidantes naturais estão presentes na composição de alimentos como folhas, frutos e no metabolismo do corpo humano. Devido à toxicidade de antioxidantes sintéticos, é de extrema importância a busca por espécies antioxidantes naturais, dentre estas, destacam-se vitamina E, vitamina C, vitamina A, polifenóis, selênio e carotenoides. São conhecidas diversas classes de compostos antioxidantes, porém, o destaque dos últimos anos são os compostos fenólicos, pois são capazes de inibir a peroxidação lipídica (RAMALHO e JORGE, 2016).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro* de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias ou misturas potencialmente interessantes, na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre estes métodos destacam-se o sistema de co-oxidação do β - caroteno /ácido linoleico, o método de sequestro de radicais livres, tais como: DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), poder de redução, Folin-Ciocalteu, Flavonoides, ABTS, habilidade quelante, TRAP e ORAC (BOROKSI *et al*, 2015 e LOPEZ, 2014).

▪ **Método 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)**

Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), é um dos métodos mais usados dentre as diversas metodologias que existem para avaliar a atividade antioxidante, afinal é um método simples e ao mesmo tempo eficiente para uma determinação *in vitro* do potencial antioxidante de diferentes matrizes alimentares. O ensaio empregando o DPPH tem sido amplamente utilizado em diferentes amostras, tais como frutas, vegetais, plantas medicinais, ervas aromáticas, temperos, cereais leguminosas, chás, folhas, cogumelos e algas, devido à sua sensibilidade e facilidade de aplicação (BOROKSI *et al*, 2015).

O DPPH é comercializado na forma de um sólido preto e a metodologia que o emprega destaca-se entre as análises de atividade antioxidante através da inibição de radical, por utilizar um radical livre que pode ser obtido diretamente sem preparação prévia, ou seja, é necessário somente dissolver o composto em metanol ou etanol para formar o radical DPPH. O radical livre DPPH apresenta em sua estrutura dois anéis aromáticos de seis membros, contendo átomos de C e H, e um anel picril-hidrazila, constituído por um anel aromático de seis membros ligados a três grupos nitro (NO₂) e uma hidrazina, em que o átomo de N ligado

diretamente ao anel está com um elétron desemparelhado, o que caracteriza a espécie como um radical livre. Na reação de oxidação e redução entre o DPPH e a espécie antioxidante, o elétron desemparelhado do nitrogênio se emparelha com o elétron cedido por um radical livre hidrogênio fornecido por um composto antioxidante (Figura 7). O DPPH possui uma coloração púrpura violeta com absorção máxima na região de 517 nm (515 a 528), tornando-se amarelo após receber o átomo de hidrogênio proveniente da espécie antioxidante, através de uma reação de oxirredução (figura 7) (BOROKSI *et al.*, 2015).

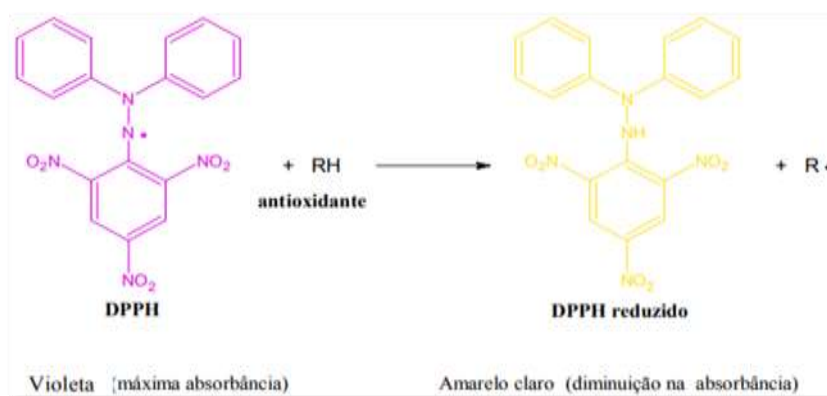


Figura 8 - Estabilização do radical DPPH.

Fonte: Michelin, 2008.

2.5.2 Toxicidade frente as larvas de *Artemia salina*

A toxicologia estuda o efeito de determinadas substâncias em organismos vivos, com a finalidade de prevenir, diagnosticar e tratar a intoxicação. A *Artemia salina* é um crustáceo da ordem Anostraca que vive em lagos de água salgada e salina de todo mundo, estando adaptada para sobrevivência em corpos de água que sofrem grandes variações sazonais, podendo tolerar salinidades que flutuam de 3,5 a 70 %. Por ser amplamente utilizada como alimento vivo para peixes e outros crustáceos, seus ovos podem ser encontrados com facilidade em lojas de aquaristas (RUIZ *et al* , 2005).

Além disso, os ovos não eclodidos são metabolicamente inativos e podem ser conservados por longos períodos se mantidos desidratados a baixa temperatura. Quando reidratado os ovos de *Artemia salina* eclodem cerca de 24 a 48 horas, se em condições ambientais adequadas, chegando a fase adulta com 20 ou 30 dias de vida. O ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* é um teste rápido, de baixo custo, eficiente e necessita-se de uma pequena quantidade de amostra (2- 20 mg) (MILANI, 2016).



Figura 9 - Microcrustáceo de água salgada *Artemia salina*.

Fonte: Dumitrascu, 2011.

Artemia salina tem sido utilizada como um organismo vivo para detectar os compostos bioativos em extratos de plantas, a toxicidade para este crustáceo tem demonstrado atividade citotóxica contra tumores humanos, e contra o protozoário causador da doença de Chagas (*Trypanosoma cruzi*) (AMARANTE *et al.*, 2011).

2.5.3 Produtos com potencial anticâncer (Citotoxicidade *in vitro*)

A palavra câncer vem do grego “karkinos” significa caranguejo e foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina geral que viveu entre 460 e 377 a. C. O câncer é uma doença ocasionada por sucessivas mutações no material genético das células, essas mutações podem levar a desordem nos processos normais de divisão celular provocando um crescimento celular desordenado e descontrolado. É uma doença que provoca muitas mortes pelo mundo (ARANHA, 2014).

O câncer, na maioria dos países desenvolvidos como América Central e Europa Ocidental, se constitui na segunda causa de morte da população, superado somente por doenças do sistema cardiovascular. O câncer é caracterizado pelo comportamento inadequado da célula que surge da quebra do equilíbrio celular, após uma sequência de alterações genéticas nas células, causadas por fatores tóxicos ambientais, ou mesmo fatores internos da própria célula, levando após sucessivas mutações a uma perda do controle de seus mecanismos, fazendo que de forma autônoma prolifere desordenadamente, resultando em invasão tecidual (MARTINS, 2014).

Os produtos naturais são utilizados no tratamento do câncer, como *Symphytum officinale*, popularmente conhecida como confrei, que apesar de ser empregado na medicina popular possui alcaloides com ação hepatotóxica. A descoberta do paclitaxel da casca de

Taxus brevifolia Nutt é uma evidência do sucesso na descoberta de drogas de produtos naturais, sendo ativo contra câncer de ovário e câncer de mama (JUNIOR; PINTO e MACIEL, 2005).



Figura 10 – a) *Taxus brevifolia* Nutt e b) *Symphytum officinale*

Fonte: Mesquita, 2009 e Ferrari, 2012.

O parâmetro mais investigado pelos testes de toxicidade é a viabilidade celular, sendo determinada por diversos processos celulares. Existem diversos testes que são utilizados para a avaliação da citotoxicidade, como o teste do corante vermelho neutro, o teste de redução do brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo) -2,5- difeniltetrazólio (MTT) ou o teste de liberação de enzimas citoplasmáticas como a lactato desidrogenase (LDH). Dentre os que apresentam informação sobre diferentes funções celulares o teste do MTT ou o teste do vermelho neutro são os mais usados (JUCOSKI, 2016).

A utilização de ensaio preliminar com células que permitam a avaliação inicial acerca da toxicidade de um produto é amplamente recomendada devido ao baixo custo, rápida obtenção de resultados, visando também evitar o uso desnecessário de animais. Através deste método é possível verificar, por espectrometria, o efeito de produtos sobre a viabilidade celular. Um teste colorimétrico quantitativo para a avaliação da sobrevivência das células de mamíferos e de proliferação celular. Esse ensaio é baseado na capacidade das enzimas desidrogenases mitocondriais das células vivas e metabolicamente ativas, converterem a solução aquosa de cor amarelo do substrato MTT, num sal formazan, formado por cristais, com uma coloração azul-escuro ou roxo, insolúveis em água (COSTA, 2013).

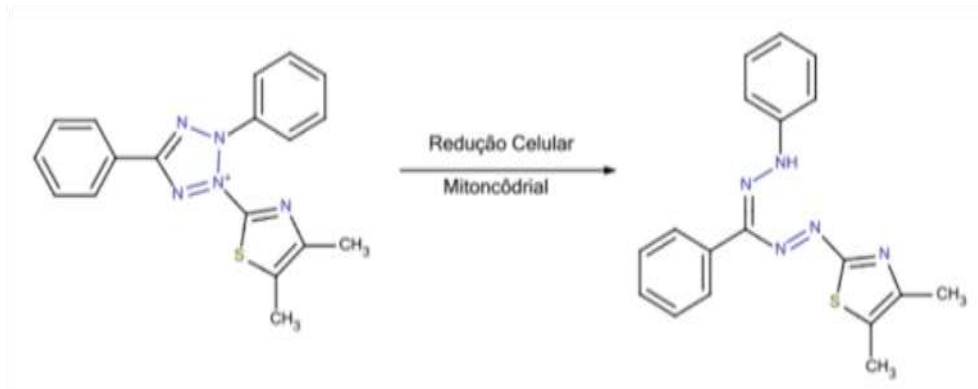


Figura 11 - Estrutura do MTT e do produto colorido Formazan

Fonte: Linares, 2013.

2.5.4 Atividade Larvicida contra as larvas *Aedes aegypti*

A dengue é uma doença infecciosa febril aguda considerada como a mais importante arbovirose que afeta o homem, constituindo um grande problema de saúde pública do mundo. Cerca de 3,6 bilhões de pessoas vivem em área de risco, principalmente a população urbana (ESMERALDO, 2016). Essas áreas estão concentradas, sobre tudo nos países do clima tropical e subtropical, onde as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do *Aedes aegypti*, seu principal transmissor.

O agente etiológico da dengue é um arbovirus, pertencente ao gênero Flavivirais e a família Flaviviridae. As primeiras notificações do vírus da dengue ocorreram no final do século XVIII com epidemias quase simultâneas no ano de 1779, em Egito, Cairo, Indonésia e em 1780 na Finlândia, e nos Estados Unidos.

A transmissão da dengue para o ser humano se faz através da picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* durante a captação de sangue, que é necessária para completar o processo de amadurecimento dos avos. Desde que o sangue do hospedeiro esteja infetado, o mosquito estará apto a transmitir o vírus após 8 a 12 dias sendo este intervalo considerado como o período de incubação ou transmissão extrínseco. Esta condição permanece até o final de sua vida. *Aedes aegypti* do grego aedes "odioso" é a nomenclatura taxonômica conhecido "mosquito da dengue". Essa espécie de mosquito mede menos de 1 cm e é facilmente identificada pela manchas brancas presentes no corpo, cabeça, e pernas. (COELHO, 2009).

O mosquito *Aedes aegypti*, originalmente identificado na África, invadiu outros continentes a partir do século XV. Para o controle biológico de *Aedes aegypti* são utilizados organismos vivos que competem, eliminam ou parasitam estes vetores (DIAS, 2014)



Figura 12 - larvas *Aedes aegypti*

Fonte: Batista, 2014.

2.5.5 Inibição de enzima Acetilcolinesterase

A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas. Nestas sinapses a AChE atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro. As sinapses colinérgicas estão amplamente distribuídos no sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP), sendo importante para a manutenção de inúmeras funções fisiológicas humanas. A doença de Alzheimer é uma patologia neurodegenerativa progressiva caracterizada pela perda de memória, disfunção cognitiva, distúrbios comportamentais, e dificuldade em realizar atividades diárias. A doença frequentemente começa com perda de memória de curto prazo, e continuam com disfunção emocional e cognitivas mais generalizada. (ARAUJO; SANTOS e GONSALVES, 2016).

O diagnóstico da doença de Alzheimer é baseado em características clínicas, embora deva ser confirmado pelo exame histopatológico de cérebro. Existem três estágios clínicos da doença que são leve, moderada e grave, com declínio cognitivo e funcional, que se estende por 5 a 8 anos. A fase inicial dura geralmente entre 2 a 3 anos e é caracterizada pela diminuição da memória de curto prazo, muitas vezes acompanhada por sintomas com manifestações neuropsiquiátricas, tais como alucinações visuais, falsa crenças e inversão de ordem padrão do sono podem surgir. A grave é a fase final caracterizada por sinais motores, tais como rigidez motora e declínio cognitivo (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

A doença Alzheimer é a causa mais comum de demência entre as pessoas idosas. Em 2006, estima-se que existiam 26,6 milhões de pessoas com Alzheimer no mundo. A incidência da doença é alta e afeta 0,9 % de pessoas com idade de 65 anos, 4,2 % com 75 anos, e 14,7 % dos que possuem 85 anos ou mais. A expectativa é que o número de pacientes com Alzheimer aumente com a expectativa de vida e o crescimento da população idosa (BURLA *et al.*, 2013)

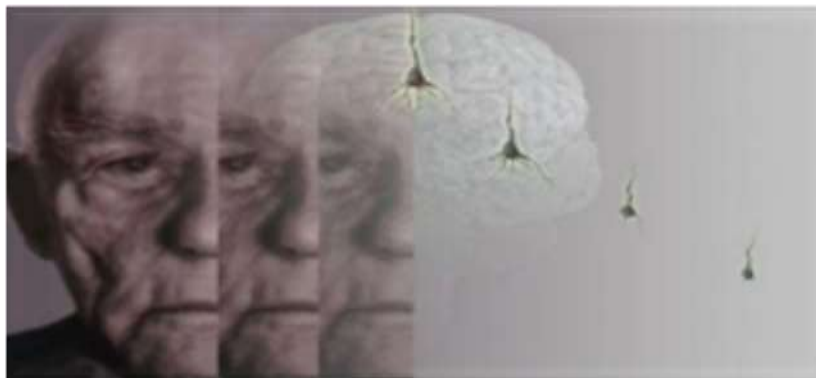


Figura 13 - Doença Alzheimer para o adulto.

Fonte: Oliveira *et al.*, 2005.

As alterações bioquímicas decorrentes da doença de Alzheimer afetam as regiões cerebrais associadas as funções mentais superiores, particularmente o córtex frontal e o hipocampo. As características neurodegenerativas mais evidentes da doença são as formações dos emaranhados neurofibrilares que, podem levar a perda das conexões celulares e os neurônios. Como a morte do neurônio acontece em todo o cérebro, as regiões afetadas começam a diminuir em um processo denominado atrofia cerebral. Na fase final da doença o dano é generalizado e o tecido cerebral se encontra significativamente diminuído. Todo este processo resulta em perda da função cerebral e dano sináptico, com subsequente comprometimento da memória, da coordenação motora e do raciocínio, além da perda da capacidade cognitiva e demência (FALCO *et al.*, 2015).

As opções terapêuticas para o tratamento da doença de Alzheimer estão focadas em modificar os sistemas de neurotransmissores, em especial o sistema colinérgico, para maximizar a atividade dos neurônios restantes. Entre os diferentes tipos de drogas que podem modificar a transmissão colinérgica, estão os fármacos inibidores da acetilcolinestrerase (AChE) que são aqueles que apresentam os melhores resultados clínicos no tratamento da doença de Alzheimer. A inibição da enzima AChE promove aumento da concentração da

acetilcolina na sinapse, diminuindo ou retardando a progressão dos sintomas associados a doença. Atualmente, os inibidores de AChE aprovados para o tratamento de pacientes com doença de Alzheimer estão donepezil, rivastigmina tacrina, e galantamina. Essa nova geração de inibidores de AChE é relativamente bem tolerada, não hepatotóxica e possui um regime de dosagem mais rigoroso. Entretanto, estudos clínicos relataram alguns efeitos adversos como diarreia, perda de peso, insônia, alteração do sono, e fadiga. O donepezil e a galantamina são inibidores seletivos de AChE. Os inibidores de AChE são indicados para pacientes com doença de Alzheimer leve e moderada, entretanto alguns estudos sugerem um pequeno benefício em paciente em estágios mais avançados da doença (ARAÚJO; SANTOS e GONÇALVES, 2016).

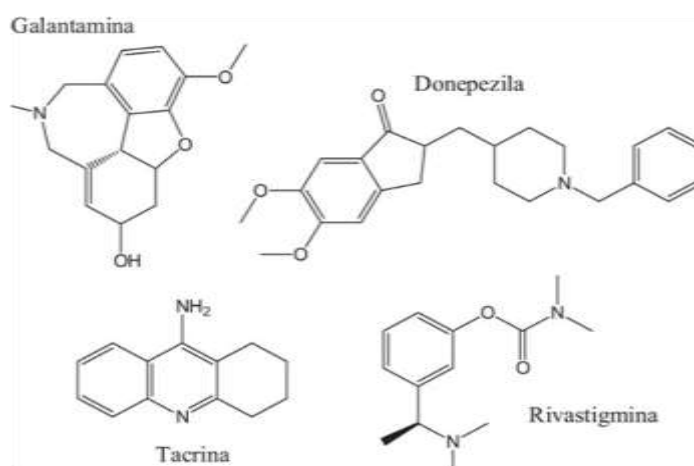


Figura 14 - Fármacos utilizados no tratamento do mal de Alzheimer.

Fonte: Falco *et al.*, 2016.

2.5.6 Fator proteção solar contra os raios UV

O fator de proteção solar (FPS) é um índice numérico grafado na rotulagem de protetores solares e representa a relação entre a quantidade mínima de radiação ultravioleta necessária para produzir um eritema na pele protegida pelo filtro solar e quantidade necessária para produzir o mesmo eritema na pele desprotegida (DIFFEY, 2001). O fator proteção solar (FPS) é predominantemente influenciado pela transmissão UVB através do produto. No entanto a radiação UVA desempenha um papel na fotocarcinogênese, fator envelhecimento e danos fotossensíveis. Logo, é de importância primordial para assegurar uma proteção eficaz, equilibrar a proteção nas duas faixas de UV utilizando na composição dos produtos filtros com proteção UVA e UVB. A determinação do fator proteção solar de um produto pode ser

realizada por meio de metodologia *in silico*, *in vivo*, e *in vitro*. As metodologias *in vitro* consistem na avaliação da transmitância espectral do filtro solar incorporado em uma formulação, aplicada sobre um substrato sintético que simula a pele humana ou em análise espectrofotométricas de soluções diluídas de produtos de proteção solar (DAHER, 2014 e FRIZZO, 2016).

O FPS é determinado por equação matemática depois de gerar os espectros UV da película de proteção solar absorvente ou uma solução dentro dos limites espectrais convencionalmente aceitos entre 290-400 nm. O método *in vitro* ganha força atualmente por razões de variabilidade de resultados e também pelos custos envolvendo estudo com seres humanos. Este método tem grande aplicação na previsão do fator de proteção antes de se realizarem os testes em seres humanos. Além disso, este método demonstrou ser um processo simples, eficaz, rápido, barato e sem riscos. Para a determinação do FPS antes de se realizarem testes em seres humanos diminui os riscos de queimaduras, aumentando suas eficiências e garantia do processo durante a fabricação de formulações foto protetoras. Pela análise espectrofotométrica, pode-se facilmente verificar a transmitância ou absorbância dos filtros solares. Basta diluir o produto em um solvente transparente ao ultravioleta como metanol e o isopropanol e fazer a leitura comparativa com um frasco contendo apenas o solvente (DAHER, 2014).

O FPS estimado por espectrofotometria é um número que avalia o filtro de acordo com a altura, largura e localização da sua curva de absorção dentro do espectro do ultravioleta. O filtro solar tem que ser avaliado dentro do amplo espectro do ultravioleta e necessário a construção da curva de transmitância ou da curva de absorbância em função do comprimento de onda. Portanto, para avaliarmos um bronzeador pela espectrofotometria, não basta vermos a curva de absorção, temos que calcular o fator proteção solar.

3 METODOLOGIA

3.1 Material vegetal

As folhas de *Artocarpus altilis* Parkinson (413,4 g), foram coletadas em novembro de 2016, no Jardim de um fazendeiro localizado 4018'59'' S 380 44'36'' O no distrito Antônio Diogo do município de Redenção-CE. Uma excicata da espécie foi preparada e depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal Ceará (UFC) com numeração 60602. A identificação do material vegetal foi realizada pela botânica Profa. Dra. Maria Iracema Loiola, do Departamento de Biologia da UFC.

3.2 Preparação dos extratos

As folhas foram secas à temperatura ambiente por quatorze (14) dias. Em seguida foram trituradas e submetidas à extração com hexano a temperatura ambiente por duas vezes consecutivas por 72 horas. O filtrado foi submetido a destilação sob pressão reduzida em evaporador rotativo para remoção do solvente e obtenção do extrato bruto. O procedimento de extração foi repetido com álcool etílico.

3.3. Testes fitoquímicos

Foi preparada uma solução mãe (SM) dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, da seguinte forma: Pesou-se cerca de 1,0 g de extrato bruto e dissolveu-se em solução hidroalcolica (80 %). Foram realizados os seguintes testes de acordo com metodologia adaptada de MATOS (2009) e COSTA (2014).

3.3.1 Teste para fenóis e taninos

Adicionou-se 3 mL da solução mãe em um tubo de ensaio e 3 gotas de FeCl₃. Em outro tubo de ensaio contendo apenas água destilada adicionou-se FeCl₃ (branco). Agitaram-se bem os tubos, e aguardou-se possível aparecimento de precipitado ou mudança de cor na amostra.

3.3.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Em três tubos de ensaio foram colocados 3 mL da solução mãe em um tubo de ensaio. No primeiro tubo adicionou-se HCl 1 M até pH 3, no segundo tubo adicionou-se NaOH 10 % até pH 8,5 e no terceiro tubo adicionou-se NaOH 10 % até pH 11. Agitaram-se bem os tubos e aguardou-se possível mudança de coloração.

3.3.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavononas

Em dois tubos de ensaio foram colocados 3 mL da solução mãe em cada tubo. O primeiro tubo foi acidulado com gotas de HCl 1 M até pH 1-3, e o segundo tubo foi

alcalinizado com gotas de NaOH 10 % até pH 11. Os tubos foram aquecidos em banho-maria por cerca de 3 minutos. Agitaram-se bem os tubos e aguardou-se possível alteração de coloração.

3.3.4 Teste para flavonóis, flavononas, flavavonois e xantonas

Foi colocado 3 mL da solução mãe em tubo de ensaio juntamente com pedaços de magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado. Após o término da reação observou-se se havia mudança na coloração da solução por comparação visual com o tubo e acidificado do teste anterior.

3.3.5 Testes para esteroides e triterpenos (*Lieberman- Burchard*)

Levou-se a secura 5 mL da solução mãe em banho-maria, em seguida dissolveu-se o resíduo em 5 mL de diclorometano, e filtrando a solução resultante. Pipetou-se 0,5 e 1,0 mL do filtrado e transferindo-se para dois tubos de ensaio e completando o volume para 2 mL de diclorometano. Adicionou-se 1,0 mL de anidrido acético e 2,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, agitou-se bem os tubos e aguardou-se possível mudança de coloração nos tubos.

3.3.6 Teste de heterosídeos sapônicos

Com o resíduo insolúvel em diclorometano do teste anterior (**Teste 3.3. 5**), adicionou-se 5 mL de água destilada para a solubilização do mesmo. Filtrou-se a solução e transferiu-se para um tubo de ensaio a solução resultante. Agitou-se o tubo fortemente, por cerca de 2 minutos e observou-se se havia formação de espuma persistente.

3.3.7 Testes alcaloides

Levou-se até secura 10 mL da solução mãe em banho-maria. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de álcool etílico e acrescido 10 mL de HCl 0,1 M. Transferiu-se 1 mL para dois vidrinhos de penicilina. Adicionou-se no primeiro o reagente de Mayer e no segundo o reagente de Dragendorf. Verificou-se se houve precipitado ou turvação nas amostras.

3.4 Cromatografia em camada delegada (CCD)

Primeiramente prepararam-se as cromatoplasmas de vidro que foram lavadas com detergente e passou-se acetona em sua superfície. A sílica, fase estacionária utilizada, foi preparada utilizando 50 g de sílica da Merck, suspensa em aproximadamente 50 mL de água, e aplicada nas cromatoplasmas de vidro deixando-as secar longe de qualquer umidade. Após secas foram levadas para ativação em estufa a 100 °C por alguns minutos, e mantidas em aquecimento a 50 °C. Os extratos hexânico e etanólico foram diluídos em Clorofórmio e aplicados nas cromatoplasmas com auxílio de um capilar. Para a fase móvel foram utilizadas as

misturas de solventes com Hexano - Acetato de etila (8:2), e Clorofórmio - Metanol (9:1). A revelação das substâncias foi feita por pulverização das placas com solução de sulfato cérico 0,1 M, seguido de aquecimento em chapa aquecedora por 5 minutos. Utilizou-se também como revelador vapor de iodo.

3.5 Atividade antioxidante através do método DPPH

A avaliação da capacidade antioxidante dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, foi realizada através do método de captura de radicais pelo DPPH (2,2 –difênil-1- picril-hidrazila), descrito pela primeira vez por Brand-William (1995), no laboratório Experimental da Química Orgânica e Inorgânica na Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro – Brasileira (UNILAB).

A preparação da solução DPPH e ensaio da avaliação da atividade sequestrante do radical livre DPPH, seguiu a metodologia adaptada de BOROKSI *et al.*, 2015, RUFINO *et al.*, 2007 e FERNANDES, 2017. Para preparar 60 µM da solução DPPH, pesou-se 2,4 mg de DPPH e adicionou-se 5 mL de álcool etílico (P.A) até dissolução e depois completou-se o volume até 100 mL em um balão volumétrico, mantido sobre refrigeração e protegida da luz. Pesou-se 17 mg de cada extrato solubilizando com 17 mL de álcool etílico gerando uma solução estoque de 1 mg/mL.

Foram preparadas diluições nas concentrações de 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,0312 mg/mL, e 0,0156 mg/mL em tubos de ensaio. Após diluição uma alíquota de 2,0 mL de cada concentração foi disposta em tubos de ensaio em ambiente escuro juntamente com 2,0 mL de uma solução de DPPH 60 µM e homogeneizando as soluções. Após 30 minutos foi feita a leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro modelo T80 UV/Vis no comprimento de onda de 520 nm. As medidas foram realizadas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm tendo o álcool etílico como o branco. As medidas das absorbâncias foram realizadas em triplicata em intervalo de 1 min cada leitura.

A porcentagem de inibição de radicais livres foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs DPPH}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

% inibição DPPH = Porcentagem de inibição do extrato;

Abs amostra = absorbância obtida nos extratos;

Abs DPPH = absorbância obtida com a amostra DPPH/etanol

Análise estatística

A capacidade do extrato de inibição 50 % de radical DPPH (IC₅₀ mg/mL) foi calculada através de equação linear e da equação da reta do gráfico. Os valores da média de três repetições (n=3) ± desvio padrão (r) da média foram calculados utilizando o programa de cálculo porcentagem de inibição (IC₅₀).

3.6 Toxicidade frente a *Artemia salina* (*Branchipus stagnalis*)

O teste de toxicidade frente à *Artemia salina* (*Branchipus stagnalis*) foi realizado segundo metodologia de AMARANTE *et al.*, 2011, no laboratório Experimental de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro – Brasileira (UNILAB).

Inicialmente preparou-se uma solução de NaCl na concentração de 60 g/L, com pH na faixa de 8,0 – 9,0. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e no preparo das diluições das amostras. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina por 48 horas com iluminação artificial a temperatura ambiente entre 27 °C a 30 °C. Foram utilizados 15 mg dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg e dissolvidos em 15 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) 1 % , resultando na solução mãe 1 mg/mL.

Colocou-se 2 mL da solução mãe em cada tubo de ensaio e preparou-se diluições com água salina em cinco concentrações diferentes 500, 250, 125, 62,5 e 31,2 ppm. Cerca de 10 larvas de *Artemia salina* com idade 48 horas foram transferidas para cada tubo de ensaio contendo a solução salina e amostras testadas. As larvas de *Artemia salina* foram incubadas sob iluminação artificial. Os ensaios foram realizados em triplicata, sendo a contagem das

larvas mortas e vivas realizada após 24 horas. A água salina foi o controle negativo do experimento.

Os dados de porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas, em relação ao aumento da concentração dos extratos, foram ajustados em uma equação linear simples, a qual foi utilizada para estimar a concentração dos extratos responsável por matar 50 % das larvas (DL₅₀). Utilizou-se o método gráfico de análise para obtenção da DL₅₀ (dose letal dos extratos para 50 % da população) a partir da equação 2:

$$M = \frac{X-Y}{100-Y} \times 100 \% \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

M = porcentagem de mortalidade;

X = números de organismos mortos e ;

Y = número de organismos vivos.

3.7 Citotóxicidade pelo método direto (MTT)

Os testes de citotoxicidade das amostras foram avaliados pelo método MTT, no laboratório de Oncologia Experimental da Faculdade de Medicina na Universidade Federal do Ceará (UFC), realizados pelo Prof. Dr. Washington Araújo Barros (UNILAB/ ICS). O programa de screening do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI) testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990).

É um método rápido sensível e barato. Foi descrito primeiramente por MOSMAN (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3- (4,5 – dimetil -2- tiazol) – 2,5- difenil -2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996). As linhagens celulares de câncer humano utilizadas, HCT-116 (carcinoma de cólon), PC-3 (adenocarcinoma de próstata) e SF- 295 (glioblastoma), foram cultivadas em

meio RPMI 1640 suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, e mantidas em estufa a 37 °C e 5 % de CO₂.

As células neoplásicas foram plaqueadas em placas de 96 poços (0,7 x 10⁵ células/mL) e as amostras foram adicionadas após 24 h. Em seguida, as placas foram incubadas por 72 h em estufa a 5 % de CO₂ e 37°C. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO e as absorbâncias foram obtidas com o auxílio de um espectrofotômetro de placa a 595 nm. Os extratos foram testados em uma concentração de 50 mg/mL. As absorbâncias obtidas foram utilizadas para calcular RVC % pelo programa GraphPad Prism versão 5.0. Cada amostra foi testada em triplicata a partir de dois experimentos independentes.

3.8 Larvicida contra *Aedes aegypti*

O ensaio foi realizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal Ceará, de acordo com metodologia desenvolvida por GADELHA; TODA, 1985 e OLIVEIRA *et al.*, 2002 sob a coordenação da Profa. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago.

Alíquotas de 1 mg, 2 mg, 5 mg e 10 mg, em triplicata, das amostras foram, inicialmente, dissolvidas em 0,3 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e transferidas para um béquer de 50 mL. Posteriormente, foram adicionadas 50 larvas de terceiro estágio juntamente com 19,7 mL de água. Paralelamente, foram feitos testes em branco, utilizando-se água e Dimetilsulfóxido (DMSO) a 1,5 %. Após 24 horas, foi realizada a contagem das larvas exterminadas e calculada a DL₅₀ (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

3.9 Atividade inibição de enzima acetilcolinesterase

Os testes foram realizados em colaboração com Profa. Dra. Christiane Mendes do Laboratório de Produtos Naturais (Núcleo de Tecnologia Farmacêutica) do Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Piauí.

O ensaio para detecção de inibição qualitativa da enzima AchE foi realizado com extratos brutos da espécie dissolvido em metanol para se obter uma concentração de 1 mg/mL. Foi tirado dessa solução 1,5 – 2,5 µL de cada amostra foi aplicada em placa de sílica gel e eluída em clorofórmio- metanol (9:1). A cromatoplaça com as amostras testas foram

pulverizadas com DTNB (ácido 5, 5'- ditiobis- [2- nitrobenzoíco) / ATCI (Iodeto de acetiltiocolina) (1 mM DTNB e 1 Mm ATCI em tampão tris pH 8) até que houvesse saturação com o reagente, mas não tanto para escorrer. Após a placa ter desenvolvido atividade inibitória um spot pode ser detectado utilizando revelador baseado no método de Ellman (ELLMAN *et at.*, 1961) modificado por Rhee (RHEE *et at.*, 2001). A placa pulverizada com DTNB e ATCI, depois de seca por 3-5 min foi pulverizada com 3 units/mL da enzima dissolvida em tampão tris a pH 8. O teste demonstrara resultado positivos caso apresente manchas brancas em um campo amarelo da placa cromatográfica. Foi utilizado cafeína como padrão de análise.

3.10 Fator de proteção solar contra raios UV

Para determinação do comprimento de onda máximo de absorção (λ max) e determinação do FPS dos extratos hexânico e etanólico foi utilizado o método *in vitro* desenvolvida por Mansur *et al.*, (1986).

Inicialmente, pesou-se 5 mg de cada amostra que foram diluídas em 50 mL de etanol absoluto e transferiu-se a solução para um balão volumétrico 50 mL, resultando em uma solução mãe de concentração 100 mg/L.

A partir da solução mãe com concentração 100 mg/L foram preparadas diluições resultando em concentrações de 5, 25 e 50 mg/L. As soluções foram preparadas em triplicata. Em seguida, foram realizadas medidas em espectrômetro Modelo T80 UV/Vis de comprimento de onda entre 190 - 400 nm, com intervalos de 5 nm. As leituras foram realizadas com células de quartzo de 1 cm e o etanol foi utilizado como o branco. O cálculo do FPS foi obtido de acordo com a equação desenvolvida por Mansur et al. (1986):

$$\text{FPS}_{\text{Spectrometria}} = \text{FC} \cdot \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \cdot \text{I. Abs}(\lambda) \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

EE (λ) - espectro do efeito eritematoso;

I (λ) - espectro de intensidade solar;

Abs (λ) - absorbância do filtro solar;

CF - fator de correção (= 10).

Os valores de EE x I são constantes. Eles foram determinados por Mansur *et al.*, (1986), e estão mostrados na Tabela :

Tabela 1. Valores empregados na determinação do FPS por espectrofotometria.

Comprimento de onda (nm)	EE x I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,839
320	0,018
Total	1,0000

Fonte : Mansur *et al.*, (1986).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimentos dos extratos de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

As folhas secas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg foram trituradas obtendo-se 413,4 g de material vegetal seco. A Tabela 2 mostra as massas e os rendimentos obtidos dos extratos hexânico e etanólico de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Tabela 2 - Massa total e rendimento dos extratos hexânico e etanólico de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Espécie	Massa (Planta seca) (g)	Extratos	Massa dos extratos (g)	Rendimento (%)
<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	413,4	EHFAA	5,17	1,25
		EEFAA	37,29	9,02

EHFAA: Extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg;

EEFAA: Extrato etanólico folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Fonte: Autor, 2018.

4.2 Identificação das classes de metabólitos secundários.

As análises fitoquímicas fornecem informações a cerca da presença de metabólitos secundários em plantas. As análises realizadas tanto no extrato hexânico e etanólico das folhas da espécie mostraram praticamente as mesmas classes de metabólitos secundários

(Tabela 3, pág 50) sinalizando potencial para atividade antioxidante, anticâncer, antifúngico, antialérgico dentre outras atividades.

Abaixo algumas considerações sobre os metabólitos secundários encontrados nos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis*:

❖ **Taninos hidrolisáveis**

Utilizando FeCl_3 10 % observou-se a formação de precipitado de tonalidade verde escuro, que ocasionou o escurimento das soluções. Os taninos hidrolisáveis são constituídos por diversas moléculas de ácidos fenólicos, como o ácido gálico e glicose, que estão unidos a um resíduo de glicose central, uma vez que suas ligações ésteres estão passíveis de sofrer hidrólise por ácidos ou enzimas (MATOS, 2009), conforme ilustrado na Figura 15, pág 49. Possuem ações farmacológicas como anti-sépticos, antioxidantes, antibacteriana, cicatrizantes, antidiarreicos (OLIVEIRA *et al.*, 2005; CASTEJON, 2011).

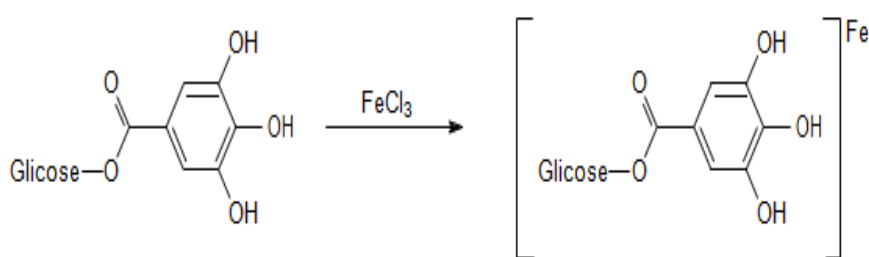


Figura 15 - Reação de complexação de um galotanino (tanino hidrolisável) com FeCl_3

Fonte: Wolf, 2008.

❖ **Fenóis**

Utilizando FeCl_3 10 %, observou-se o aparecimento de coloração azul a vermelho. Os fenóis são compostos que contêm um grupo fenol, e um grupo hidroxila em um anel aromático (MATOS, 2009), A reação de complexação dos fenóis sendo mostrando na Figura 15. Possuem ações farmacológicas como ajudam a prevenir doenças causadas pelas reações oxidativas em sistemas biológicos podendo ser retardadas pela ingestão de antioxidantes naturais encontrados na dieta (SILVA *et al.*, 2010).

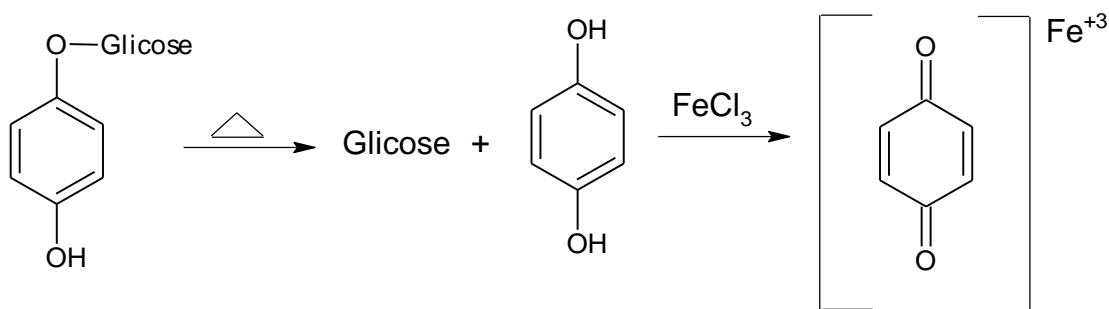


Figura 16 - Reação complexação de fenólicos simples pelo Cloreto de férrico

Fonte: Wolf, 2008.

❖ Esteroides e triterpenos

Utilizando anidro acético (C₄H₆O₃) e ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado observou-se mudança de coloração azul esverdeada a vermelho nos extratos. Os esteroides são formados a partir de triterpenos por meio de descarboxilações (MATOS, 2009). As principais ações farmacológicas dos esteroides estão no controle do sistema reprodutor humano, funcionando como anti-inflamatório, precursor de vitamina D e analgésico. Os triterpenos são reconhecidos pelos efeitos antitumorais, cardiovasculares e analgésicos (JAGTAP e BAPAT, 2010).

❖ Alcaloides

Utilizando o reagente de Mayer observou-se a turvação da solução hidro alcoólica dos extratos. Os alcaloides possuem carácter básico e pertencem ao grupo de compostos nitrogenados orgânicos. Atualmente os alcaloides são utilizados na terapêutica, puros ou em associação (MATOS, 2009). Esse metabólito pode ser utilizado no tratamento de diarreia, reumatismo, problema renais (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos nos testes fitoquímicos dos extratos estão descritos na tabela 3 e nas figuras 17 e 18 (pág 51).

Tabela 3 - Resultados de identificação de metabólitos secundários dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

Constituintes	Reagentes	EHFAA	EEFAA	Resultados
Taninos hidrolisáveis	FeCl ₃ 10 %	++	-	Precipitado de tonalidade verde escuro
Fenoís	FeCl ₃ %	++	+	Solução azul a vermelho
Antocianinas	HCl 1M pH= 3	-	-	-
	NaOH 10 %			
Antocianidinas	pH=8,5	-	-	-
	NaOH 10 % pH=			
Flavonoides	11	-	-	-
Leucoantocianidinas	HCl 1M pH= 2	-	-	-
	NaOH 10 % pH=			
Catequinas	11	-	-	-
	NaOH 10 % pH=			
Flavonas	11	-	-	-
Flavonois	HCl concentrado	-	-	-
Flavononas	HCl concentrado	-	-	-
Flavononois	HCl concentrado	-	-	-
Xantonas	HCl concentrado	-	-	-
	<i>Liebreman</i>			
Esteroides	<i>buchard</i>	+	+	Solução azul
	<i>Liebreman</i>			
Triterpenos	<i>buchard</i>	++	++	Solução vermelho
Heterosídeos saponicos	Diclorometano	-	-	-
Alcaloides	Mayer	+	-	Solução turvação
	Dragendorff	-	+	Solução amarela

PARÂMETROS: Fraco (+), Médio (++), Ausente (-)

Fonte: Autor, 2018;

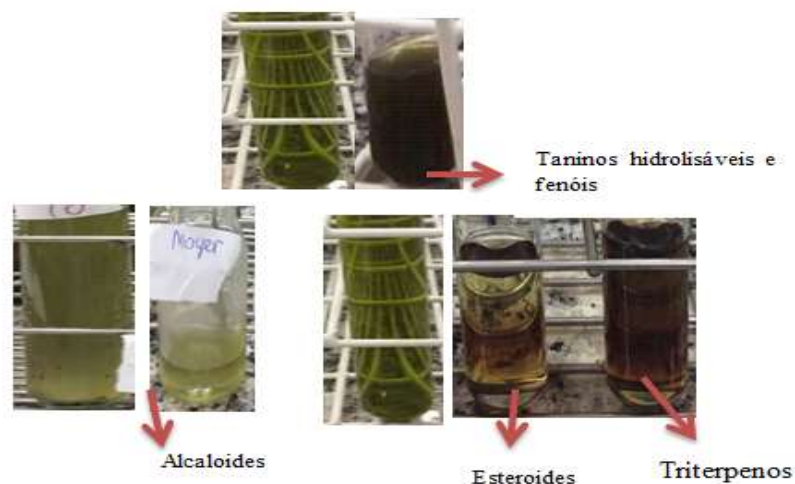


Figura 17 - Análise fitoquímica do extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

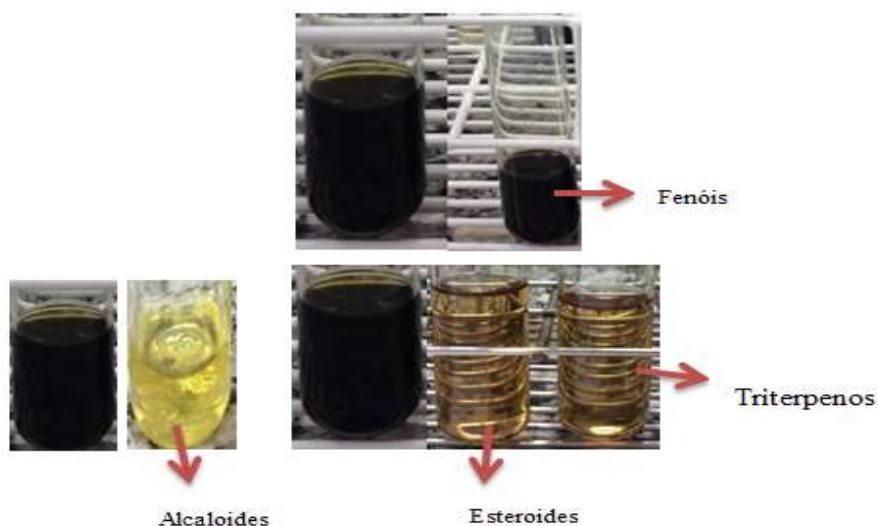


Figura 18 - Análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

4.3 Cromatografia em camada delegada (CCD)

As cromatoplacas dos extratos hexânico e etanólico de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg estão ilustradas nas Figuras 19 e 20 pág 52. Na análise em CCD utilizou-se os eluentes Hexano: Acetato de tila (8:2) e Clorofórmio: Metanol (9 :1) e como revelador o sulfato de cérico onde apresentou manchas nas colorações roxa indicando a possível presença de substâncias de natureza terpenóidica e verde indicando a possível a presença de clorofila (CHAVES, 1997). Nos vapores de iodo foi possível verificar manchas amareladas que se

assemelhavam e tinha o mesmo Rf nos dois extratos, porém não era possível saber que tipo de classe pertenciam, pois apresentam a mesma coloração.

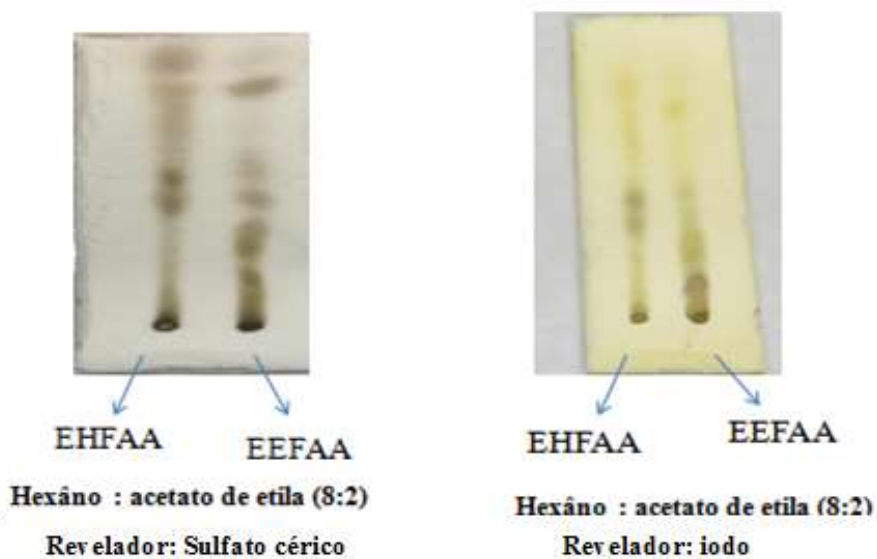


Figura 19 - Cromatoplasas do extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg em Hexano: Acetato de Etila (8:2).

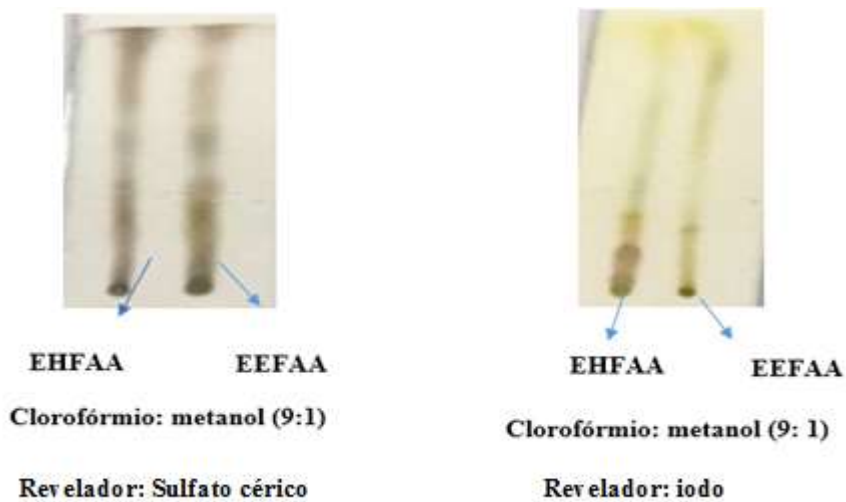


Figura 20 - Cromatoplasas do extrato etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg Clorofórmio: Metanol (9:1)

4.4 Atividade antioxidante através pelo método DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada através do método DPPH que é rápido simples e sensível. Esse método é baseado na captura dos radicais livres DPPH e esta reação produz um decréscimo na absorvância. O radical livre reage com doadores de hidrogênio, na presença de substâncias antioxidantes, e estes doadores recebem H⁺, sendo então reduzidos. O DPPH possui uma coloração púrpura violeta com absorvância máxima na região de 515 a 528 nm, tornando-se amarelo após receber o átomo de hidrogênio proveniente da espécie antioxidante, através de uma reação de oxirredução. A coloração da solução DPPH em contato com as amostras em testes possui coloração roxa intensa para amarela. E a intensidade da cor varia de acordo com concentração (BOROKSI *et al.*, 2015).

Existem um grande número de trabalhos na literatura empregando o método DPPH, entretanto não há uma padronização na apresentação dos resultados. Muitos trabalhos tem expressado seus resultados através do cálculo IC₅₀, que é a concentração de antioxidante necessária para inibir 50 % do radical DPPH.

Para determinar os valores de IC₅₀ dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, inicialmente calculou-se a % inibição de DPPH por meio da Equação 1 :

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs DPPH}} \times 100 \% \quad (\text{Equação 1})$$

Onde :

Abs_{DPPH} = absorvância da solução etanólica do radical de DPPH

Abs_{amostra} = absorvância da amostra após 30 minutos de reação com a solução de DPPH

Os resultados obtidos com o extrato hexânico das folhas estão ilustrados na Tabela 4, Gráfico 1 e Figura 21 pág 54 e 55, logo a seguir.

Tabela 4 - Resultado do teste da atividade antioxidante com hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

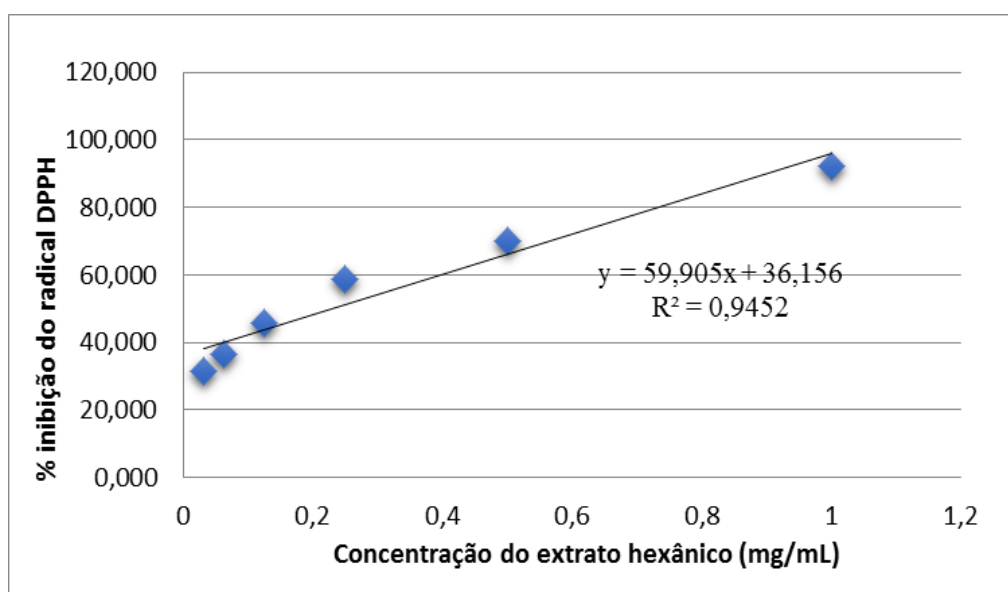
Concentração (mg/mL)	Abs ($\lambda = 250$)	% inibição	r (Desvio padrão)	IC ₅₀ (mg/mL)
1	0,087	92,325	± 0,003	0,23
0,5	0,043	70,175	± 0,117	
0,25	0,124	58,553	± 0,002	
0,125	0,162	45,724	± 0,003	
0,0625	0,185	36,513	± 0,001	
0,0312	0,221	31,579	± 0,001	
DPPH	0,304	0	0	

Fonte, Autor, 2008.

Uma curva com os valores da % de inibição do DPPH em função da concentração dos extratos hexânico foi construída, onde o valor de IC₅₀ foi encontrado por meio de regressão linear.

Considerando gráfico 1, os valores de IC₅₀ pode ser obtido através da equação da reta: $y = 59,905x + 36,156$, em que Y corresponde ao eixo referente a % de inibição de DPPH e o eixo X a concentração do extrato hexânico. Como IC₅₀ representa a concentração de extrato hexânico necessária para inibir 50 % do radical DPPH, substitui-se o eixo y por 50 na equação reta. Dessa forma $50 = 59,905x + 36,156$, portanto $X = 0,23$ mg/mL.

Gráfico 1- Valores Porcentuais de inibição do Radical DPPH em funções de concentração do extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.



Fonte: Autor, 2018.

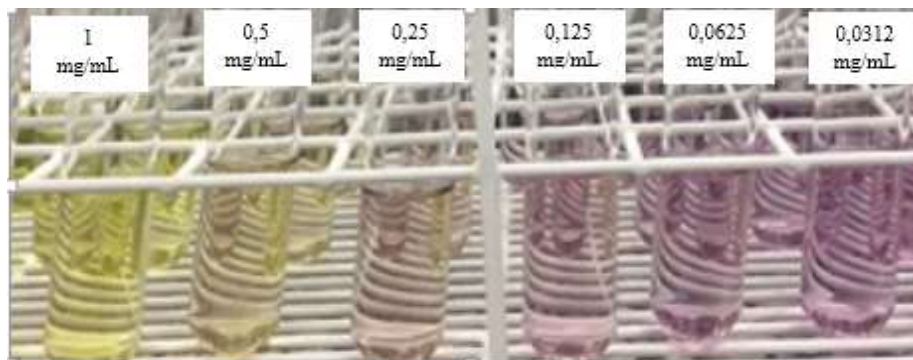


Figura 21 - Resultado atividade antioxidante do extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Os resultados obtidos com o extrato etanólico estas ilustrados na Tabela 5, Gráfico 2 e Figura 22 pág 56.

Tabela 5 - Resultado do teste da atividade antioxidante de extrato etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Concentração(mg/mL)	Abs ($\lambda = 250$)	% inibição	r (Desvio padrão)	IC ₅₀ (mg/mL)
1	0,045	90,083	$\pm 0,001$	0,08
0,5	0,023	86,777	$\pm 0,001$	
0,25	0,168	64,187	$\pm 0,0021$	
0,125	0,198	52,893	$\pm 0,031$	
0,065	0,212	44,077	$\pm 0,0035$	
0,0312	0,215	40,634	$\pm 0,0015$	
DPPH	0,242	0	0	

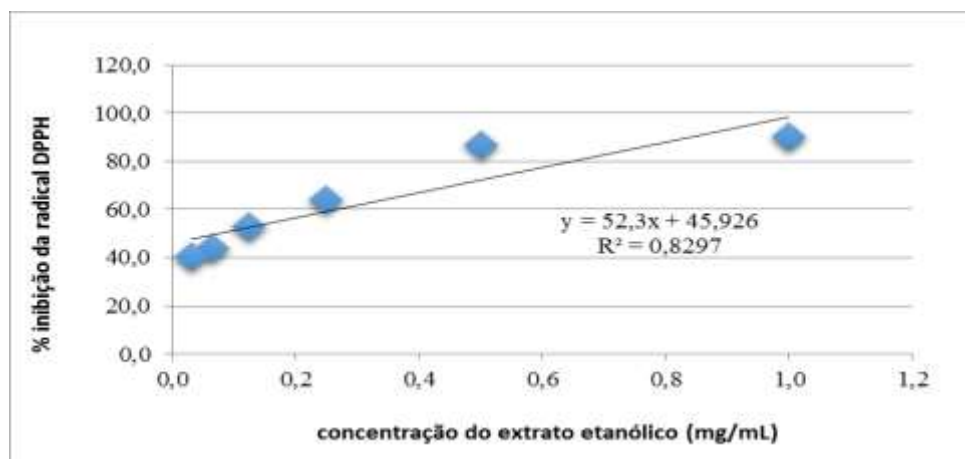
Fonte: autor, 2018.

Considerando o gráfico 2, os valores de IC₅₀ pode ser obtido através da equação da reta: $y = 52,269 x + 45,958$, em que Y corresponde ao eixo referente a % de inibição de DPPH e o eixo X a concentração do extrato etanólico. Como o IC₅₀ representa a concentração de extrato etanólico necessária para inibir 50 % do radical DPPH, substitui-se o eixo y por 50 na equação reta. Dessa forma $50 = 52,3 x + 45,926$. Portanto, $X = 0,08$ mg/mL.

A relação entre a concentração e absorvância dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg no consumo de DPPH, mostrou que o extrato

hexânico tem um potencial antioxidante levemente maior (93,956 %) do que o extrato etanólico (90,083 %), considerando a concentração de 1 mg/mL, no entanto o extrato hexânico apresentou IC₅₀ (0,23 mg/mL) maior do que o extrato etanólico IC₅₀ (0,08 mg/mL).

Gráfico 2- Valores Percentuais de inibição do Radical DPPH em funções de concentração do extrato etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.



Fonte: Autor, 2018.

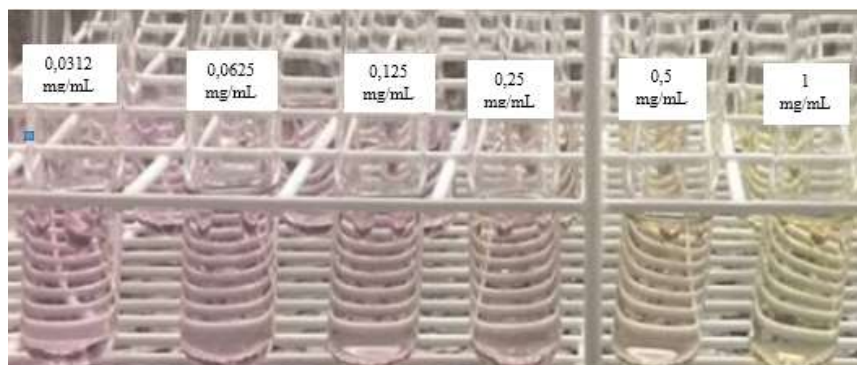


Figura 22 - Resultado atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

4.5 Toxicidade frente à *Artemia salina*

O teste de toxicidade frente à *Artemia salina* é um ensaio biológico amplamente utilizado por ser rápido, de baixo custo e por demonstrar uma boa correlação com várias atividades biológicas como atividade antitumoral, antibacteriana e antifúngica. Realizou-se a

contagem de exemplares de *Artemia salina* vivas e mortas após 24 horas de incubação sendo o percentual de sobrevivência calculado através da Equação 2:

$$M = \frac{x-y}{100-y} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

M = porcentagem de mortalidade;

X= números de organismos mortos;

Y = número de total de organismo no tubo.

Os resultados obtidos no teste de toxicidade dos extratos hexânico e etanólico das folhas estão ilustrados nas Tabelas 6 e 7, e nos Gráficos 3 e 4 pág 58 e 59.

A relação entre a dose letal e mortalidade, e o cálculo da (DL₅₀) foi realizada através do programa probit analysis. O extrato hexânico apresentou uma concentração letal (DL₅₀) de 146, 01 ppm e o etanólico uma concentração letal (DL₅₀) de 65, 397 ppm.

Tabela 6- O resultado do teste de toxicidade frente a *Artemia salina* dos extratos hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Concentração (ppm)	Total larvas	Larvas mortas	% mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	30	30	100	146,01
250	30	24	80	
125	30	9	30	
62,5	30	5	17	
31,2	30	2	7	
Controle negativo	30	0	0	

Fonte: autor, 2018.

Gráfico 3 - Porcentagem de mortalidade das larvas *Artemia salina* nas concentrações da amostra do extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

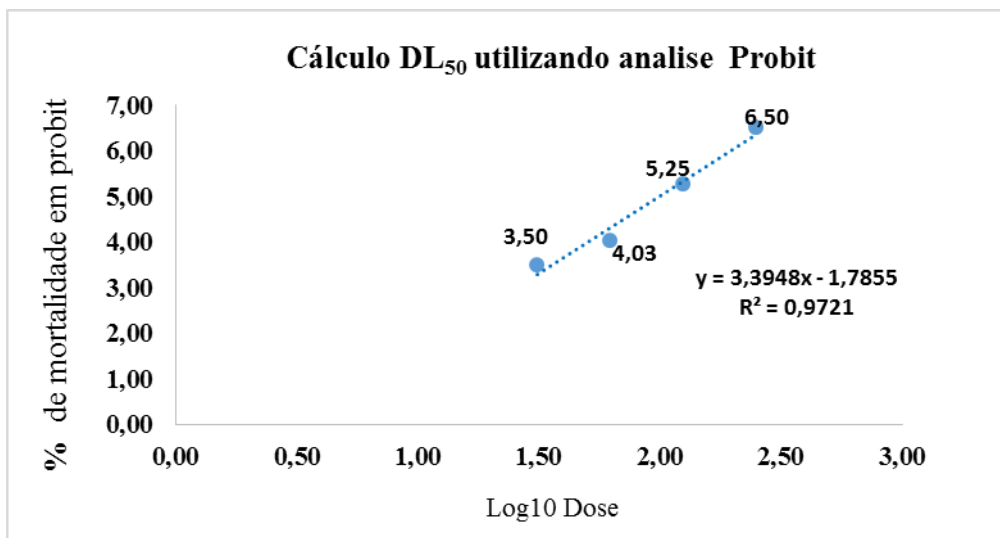
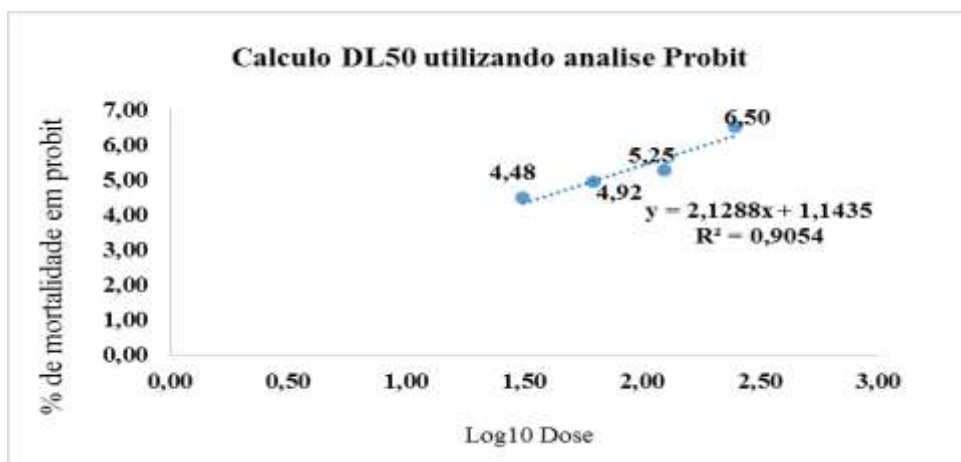


Tabela 7- O resultado do teste de toxicidade frente a *Artemia salina* dos extratos hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

Concentração (ppm)	Total larvas	Larvas mortas	% mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	30	30	100	65,397
250	30	28	93,33	
125	30	18	60	
62,5	30	14	47	
31,3	30	9	30	
Controle	30	0	0	

Fonte: autor, 2018

Gráfico 4: Porcentagem de mortalidade das larvas *Artemia salina* nas concentrações da amostra do extrato etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.



De acordo com AMARANTE *et al.*, 2011, são considerados altamente tóxicos as amostras que apresentam $DL_{50} < 100$ ppm, moderada quando DL_{50} for entre 100 e 500 ppm, e baixa toxicidade quando $DL_{50} > 500$ ppm. Assim o extrato hexânico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, foi considerado moderadamente tóxico frente às larvas de *Artemia salina*, e o extrato etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg, foi considerado altamente tóxico frente às larvas de *Artemia*.

4.6 Citotoxicidade pelo método direto (MTT)

Os resultados da atividade citotóxica para os extratos frente a três linhagens celulares de câncer humano (SF-295- glioblastoma, HCT-116 – carcinoma de cólon, PC-3 – adenocarcinoma de próstata) estão mostrados na Tabela 8. Percebe-se pela tabela 8 pág 60, que tanto o extrato hexânico quanto o extrato etanólico não exibiram resultados significativos frente às linhagens testadas.

Tabela 8 - Citotoxicidade das amostras em linhagens celulares de câncer humano testadas em concentração única.

Amostra	Linhagem Celular								
	SF-295			HCT-116			PC-3		
	% RVC ^a	EPM	A*	% RVC	EPM	A*	% RVC	EPM	A*
EHFAA	2,17	2,73	PA	0,00	0,00	SA	0,00	0,00	SA
EEFAA	12,44	1,86	PA	3,25	2,79	PA	22,60	3,05	PA

Classificação da atividade citotóxica (SA = sem atividade; PA = pouca atividade; Mo = moderada atividade; MA = muita atividade).

Fonte: Autor, 2018.

Os dados estão apresentados como percentuais de redução da viabilidade celular (RVC % \pm EPM) obtidos pelo Programa GraphPad Prism versão 5.0, a partir de 2 experimentos independentes realizados em triplicata após 72 h de incubação.

4.7 Teste quantitativo de inibição de enzima acetilcolinesterase

Na revelação da placa de CCD (Figura 22) com DNTB/ACTI foi verificado uma mancha branca apenas para o extrato hexânico quando comparando ao padrão cafeína. No entanto a mancha não se apresentou tão intensa quando comparada ao padrão devido ao fato de concentração do padrão ser maior.

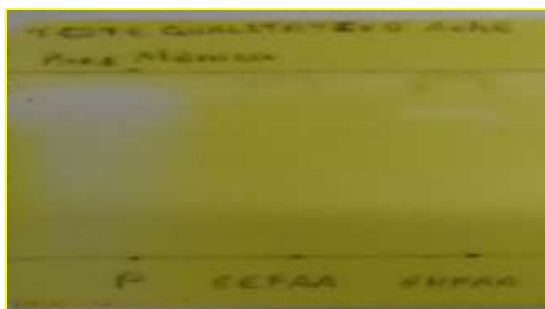


Figura 23 – Teste qualitativo AChE

P= padrão; EEFAA; EHFAA

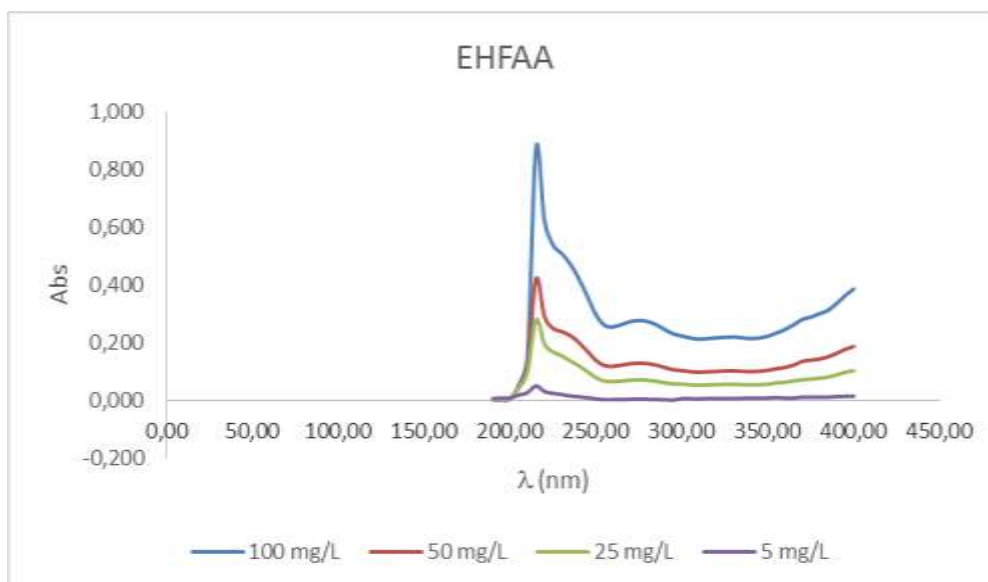
4.8 Larvicida contra *Aedes aegypti*

Não houve resultados significativos na mortalidade das larvas tanto no extrato hexânico quanto extrato no etanólico nas concentrações avaliadas (1 mg, 2 mg, 5 mg e 10 mg) após 24 horas. Assim não foi realizada a contagem das larvas exterminadas e também não foi possível calcular o valor DL₅₀.

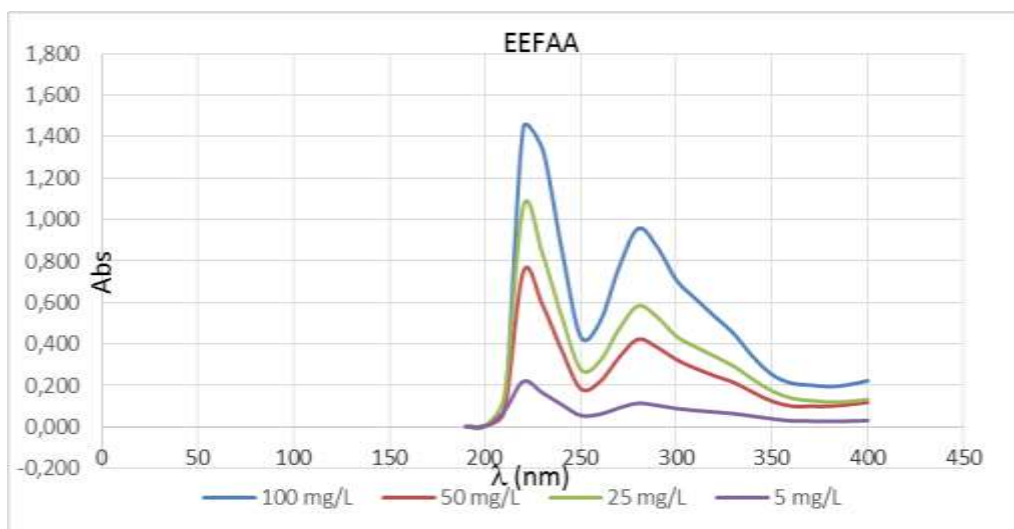
4.9 Fator Proteção solar contra os raios UV

Os resultados obtidos para FPS dos extratos hexânico e etanólico representam a absorbância em relação ao comprimento de onda máximo (λ) numa faixa de 240 a 400, que compreende a faixa de radiação nociva (UVA 320 e 400 nm e UVB 290 e 320) responsável pelos danos de queimaduras solares (COSTA, 2015). O extrato hexânico apresentou comprimento de onda máximo em aproximadamente 215 nm (Gráfico 5) e o extrato etanólico apresentou comprimentos de ondas máximos em 220 e 280 nm (Gráfico 6) pág 62, sendo ambos dentro da região Ultravioleta C (UVC 200- 290 nm). A radiação UVC é praticamente toda absorvida pela camada de ozônio, pouquíssima radiação chega a biosfera.

Gráfico 5 – Perfil de absorção espectrofotométrica do extrato hexânico de *Artocarpus. altilis* (Parkinson) Fosberg.



6 – Perfil de absorção espectrofotométrica do extrato etanólico de *Artocarpus. altilis* (Parkinson) Fosberg.



O fator de proteção calculado para o extrato hexânico e etanólico seguiu a metodologia de Mansur, 1986 que utilizava a região UVB, que é considerado como a região de maior incidência dos raios UV devido a sua alta energia. De acordo com a equação 3, foi possível determinar um FPS para o extrato hexânico de 2,17 (Gráfico 7) na concentração de 100 mg/mL, sendo considerando um FPS baixo, e o extrato etanólico um FPS de 6,65 (Gráfico 8) na concentração de 100 mg/mL, sendo considerando também um FPS baixo, de acordo com as categorias de fotoprotetores baseados no valor de FPS (COSTA, 2015).

Gráfico 7 - Fator de Proteção Solar (FPS) in vitro do extrato hexânico de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

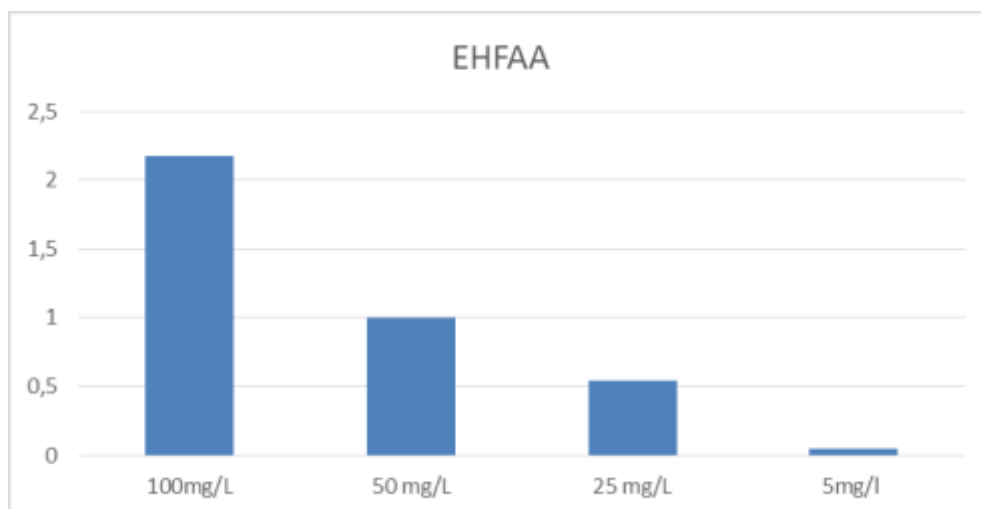
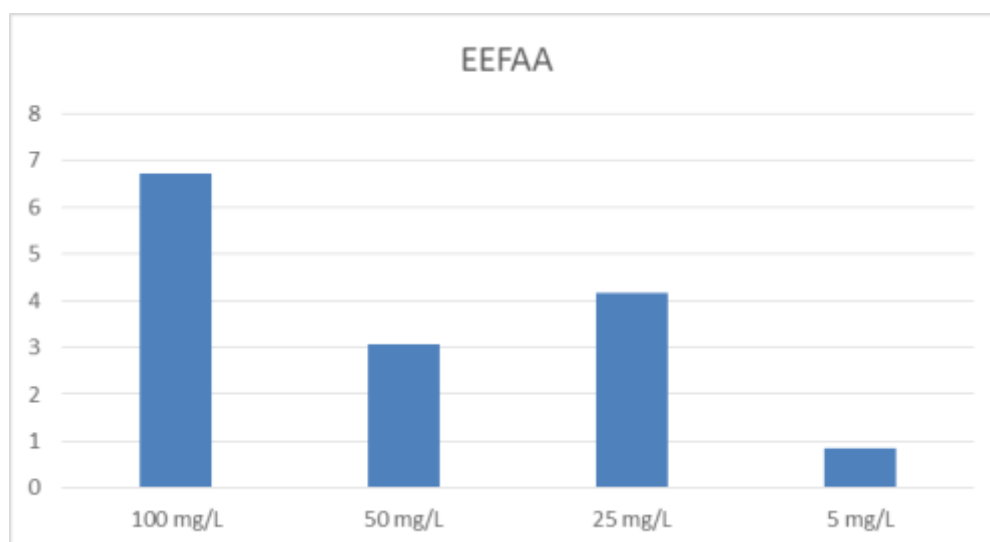


Gráfico 8 - Fator de Proteção Solar (FPS) in vitro do extrato etanólico de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.



4 CONCLUSÃO

O presente trabalho estudou os extratos hexânico e etanólico das folhas de *Artocarpus altilis* (Parkinson). A análise fitoquímica dos extratos revelou a presença de esteroides, alcaloides, triterpenos, taninos hidrolisáveis e fenóis que foram corroborados pela análise em CCD permitindo inferir que se trata de uma espécie rica em metabólitos secundários, que possuem diversas propriedades farmacológicas já relatadas na literatura, e podendo fornecer moléculas que contribuem para o arsenal terapêutico.

O teste de toxicidade frente as larvas *Artemia salina*, revelou o extrato hexânico com DL_{50} 65,379 mg/mL, sendo considerando moderadamente tóxico, enquanto o extrato etanólico com $DL_{50} \leq 100$ ppm considerado altamente tóxico.

A atividade antioxidante pelo método DPPH, mostrou que o extrato hexânico com um potencial antioxidante maior (92,325 %) do que o extrato etanólico (90,083 %) considerando a concentração de 1 mg/mL.

Os testes de citotoxicidade pelo método MTT e larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti* não mostraram resultados satisfatórios para ambos os extratos.

Apenas o extrato hexânico apresentou manchas brancas no teste de inibição da enzima acetilcolinesterase em CCD, análise qualitativa.

No teste de FPS o extrato hexânico apresentou comprimento de onda máximo em aproximadamente 215 nm e um de FPS é 2,17, e o extrato etanólico apresentou comprimento de onda máximos aproximadamente 220 e 280 nm e um FPS de 6,65 ambos na concentração de 100 mg/mL, considerando muito baixo de proteção.

Os resultados obtidos direcionarão para fracionamento cromatográfico do extrato hexânico devido aos resultados satisfatórios em relação ao teste de inibição da enzima acetilcolinesterase com o intuito de isolamento de metabólitos secundários função com inibitória da enzima, de forma a contribuir com estudos farmacêuticos para o desenvolvimento de novos fármacos.

5 REFERÊNCIAS

- AMARANTE, C. B; MULLER, A. H; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. **Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de *aninga* (*Montrichardia linifera*).** Acta Amazônica. Vol. 41(3): 431 – 434, 2011.
- ANDRADE, Á. F. **Rendimento de óleo essencial de *lippia sidoides* cham em função da idade de corte, horário de colheita e condições de secagem.** 2015. 51 f - Dissertação (Mestrado em Produto Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins. Gurupi-TO, 2015.
- ARANHA, E. S. P. **Avaliação do potencial anticâncer *in vitro* de óleos essenciais de plantas do gênero *eugenia*.** Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2014.
- ARAUJO, R. M; SANTOS, V. A; GONSALVES, A. A. **Acetilcolinesterase - AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico Cleônia.** Rev. Virtual Química, 8 (6), 1818-1834, 2016.
- BASTOS, R. G. **Caracterização fitoquímica e avaliação das atividades biológicas dos extratos obtidos das folhas de *Eugenia florida* DC (Myrtaceae).** 2016. 180 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, MG, 2016.
- BATISTA, T. A. **Plano de ação para prevenção da dengue na área de abrangência de uma ESF na cidade de Araxá.** Uberaba- MG. 2014.
- BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; MCCOY, K. D.; WANG, R. **The Biochemical and Cellular Basis of cell proliferation Assays that use Tetrazolium Salts.** Biochemica, Berlin, v. 4, p. 14-19, 1996.
- BETTERO, C. C de O. **Fruta-pão (*Artocarpus altilis*) uma fonte alternativa para concentrado alimentar em ovinos.** 2014. f 67-70. Tese (Doutorado em Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense. Darcy Ribeiro, 2014.
- BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. de. **Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticos.** Editora Apriss, Curitiba- PR. 2015.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C.; L.W. **Technol.** 1995, 28, 25.
- BURLA C; CAMARANO, A. A.; KANSO, S; FERNANDES, D.; NUNES, R. **Panorama prospectivo das demências no Brasil: um enfoque demográfico.** Ciência & Saúde Coletiva, 18 (10): 2949-2956 2013.
- CALZAVARA, B. B. G. **Fruticultura tropical: a fruta-pão *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.** ISSN 0101-2835, Belém, 1987.
- CASTEJON, F. V. **Taninos e Saponinas.** Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2011.

CASTRO, R. M. de. **Flora da Bahia - Moraceae**. 2006. 143.p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana - BA, 2006.

CHAVES, M. H. **Análise de extratos de plantas por CCD: uma metodologia aplicada à disciplina “Química Orgânica”**. Química Nova 20(5), 1997.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E. de.; ESPINOLA, L. S. **Atividade larvicida de extratos vegetais sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), em condições de laboratório**. Sociedade Entomológica do Brasil. Bioassay 4:3, 2009.

COSTA, A. D. A. da. **Avaliação da citotoxicidade de diferentes nanotransportadores sem substância ativa em função da sua densidade populacional**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Biomédica) - Instituto Superior de Tecnologia e Gestão Instituto Politécnico de Bragança. Goias, 2013.

COSTA, L. P. de S. **Documentação química e farmacológica de espécies vegetais do cerrado e caatinga Piauiense**. Piauí, 2014.

COSTA, S. C. C.; **Avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos etanólicos de três espécies de *Marctia* e suas formulações**. Tese- (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais). Feira de Santana – BA, 2015.

DAHER, C. C. **Desenvolvimento de emulsões o contendo extrato gicólico de acaí e avaliação da atividade fotoprotetora**. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal Rio Grande do Norte. Natal, 2014.

DIAS, J. A. B. **Avaliação das atividades gastroprotetora, anti-inflamatória e antinociceptiva de *Spondias tuberosa* Arr.Cam.(Anacardiaceae)**. Campo grande, 2014.

DIFFEY B. **Sunscreen isn't enough**. *Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology*. v. 64, 2001.

DUMITRASCU, M. ***Artemia salina***. Balneo-Research Journal. Vol.2, Nr.4, 2011.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; JUNIOR, V. A. ; FEATHERSTONE, R. M. **A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity**. *Biochemical Pharmacology*, v. 7, n. 2, p.88-95, jul. 1961.

ESMERALDO, M. A. **Bioprodutos derivados de biomassa vegetal no combate ao mosquito transmissor da dengue - *Aedes aegypti***. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

FALCO, A. de; CUKIERMAN D. S.; DAVIS, R. A. H.; REY, N. A. **Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento**. *Química nova*, vol. 39, no. 1, 63-80, 2016.

FERNANDES, Otavio Lisboa Guterres. **Estudo fitoquímico, avaliação da atividade antioxidante e biologia da espécie Jasmin (*Plumeria rubra* L)** Trabalho de Conclusão de Curso. (Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática) - Universidade da Integração Internacional Lusofonia Afro-Brasileira. Acarape 2017.

FERRARI, R; MARIA, B. A; ORNELAS, S ; SÓCRATES; LANO, D ; EUGÊNIA, M ; BARBOSA, L. CRISTINA, A. **Confre (*Symphytum offinale*): Aspectos botânico, fitoquímicos e terapêuticos**. Ensaio e ciência: Ensaio Biológicos, agrarias e da ciência. V. 16. no.6. P. 227- 237, 2012.

FIRMO, W. da C. A.; MENEZES, V. de J. M. de.; PASSOS, C. E. de C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; NETO, M. S.; OLEA, R. S. G. **Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais**. 95 Cad. Pesq, São Luís, v. 18, n. especial, 2011.

FREITAS, De J. B.T. **Pão de árvore: Um estudo do caso sobre a fruta pão *Artocarpus altilis* Sp no Brejo Paraíba**. 2012. 35 f. Monografia (Engenheiro em Agronomia) -, Universidade Federal da Paraíba. Areia, 2012.

FRIZZO, M. S. **Encapsulação de nanopartículas de óxido de zinco via polimerização em miniemulsão para aplicação em protetores solares**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina , Florianópolis 2016.

GADELHA, D. P; TODA, A. T. **Biologia e comportamento do *Aedes aegypti***. Ver. Bras. Malariol. D. Trop. 37, 29-36, 1985.

HEINZMANN, B. M.; BARROS, F. M. Correia. **Potencial das plantas nativas brasileiras o desenvolvimento de fitomedicamentos tendo como exemplo *Lippia alba* (Mill) e *N. e. Brown* (Verbenaceae)**. Saúde, Santa Maria, vol 33, n 1: p 43-48, 2007.

JACOMASSI, E. **Morfoanatomia e histoquímica de órgãos vegetativos e reprodutivos de *Brosimum gaudichaudii trécul* (Moraceae)**. Tese (Doutorado em ciências Biológicas (Botânica) - Universidade estadual paulista. Botacatu- SP, 2006.

JAGTAP, U. B; BAPAT, V. A. ***Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology**. *Journal of Ethnopharmacology*. No. 129. P. 142–166, 2010.

JUCOSKI, T. S. **Levantamento de casos e aconselhamento genético de famílias com histórico de câncer na comunidade menonita de witmarsum (Pr)**. 2016. 176 f. Dissertação (Mestrado em genética) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

JUNIOR, Valdir. F. Veiga; PINTO, C. Angelo; MACIEL, M. A. M. **Plantas medicinais: cura segura**. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 3, 519-528, 2005.

LINARES, I. A. P. **Estudos citotóxico de moléculas antitumorais e antiparasitárias em células de câncer de fígado (Hep G2) e de fibroblasto de hamster (V79-4)**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

LOPEZ, C de O. **Uso de especiarias viabiliza a redução do teor de sódio em maionese e requeijão cremoso**. 2014. 226 p; Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos).- Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, 2014.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JUNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. **Plantas medicinais: A necessidades de estudos multidisciplinares**. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. **Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria.** Anais Brasileiro de Dermatologia, v.61, p.121-124, 1986.

MARTINS, C. de Maura. **Estudo químico, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e análise de óleo essencial da espécie *Kielmeyera coriácea* Mart e Zucc (Pau-Santo do cerrado).** Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG, 2012.

MARTINS, L. A. V. **Avaliação do potencial anticâncer de espécies vegetais de mato grosso do sul.** Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento) - Universidade Federal de Mato do Sul. Campo Grande, 2014.

MATOS, F. J. de. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** 3 ed. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2009.

MCCOY, M. D.; GRAVES, M. W.; URAKAMI, G. **Introduction of Breadfruit (*Artocarpus altilis*) to the Hawaiian Islands.** NY 10458-5126. The New York Botanical U.S.A, 2010.

MESQUITA, M. L. de. **Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do cerrados Brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação atividade citotóxico.** Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Universidade de Brasília. Brasília-DF, 2009.

MICHELIN, D.C. **Estudo Químico-Farmacológico de *Operculina macrocarpa* (L) Urb (Convolvulaceae)** 2008.144f. Tese (Doutorado em ciências Farmacêuticas) - Universidade estadual de Paulista, Araraquara, 2008.

MILANI, M. G.; ZIOLLI, R. L. **Avaliação do potencial tóxico de novos compostos e de compostos de interesse ambiental através do ensaio de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina*.** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico, 2008.

MONTARI, C. A.; BOLZANI, V. da S. **Planejamento racionais de fármacos baseado em produtos naturais.** Química nova, vol.24. No 1, 105-111, 2001.

MOSMAN, T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.** J. Immunol. Methods. 65: 55-63, 1983.

NORONHA, N. M. **Pesquisa de bioativos e avaliação da atividade biológica de extratos hidroetanólico de *ficus pumila* L. (Moraceae).** 2014. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas. Alfena - MG, 2014.

NOZZELLA, E. F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes** (Mestrado em Energia Nuclear na Agricultura) - Universidade de São Paulo Piracicaba- SP, 2001.

OLIVEIRA, G. L. da S.; CASTRO, L. M. de R.; ROCHA, P. R. dos S.; SANTOS, M. Sc. F. J. B. dos; RESENDE, M. **Identificação de metabólitos secundários da casca da *Bauhinia forficata platypetala* e *Bauhinia unguiculata*,** Journal of. Ethnopharmacology. v. 98, p. 213-216, 2005.

OLIVEIRA, M. de F. **Doença de Alzheimer perfil neuropsicológico e tratamento**. Portal dos psicólogos - Universidade Lusíada do Porto, 2005.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS T. L. G.; MATTOS, M.C.; SEGUNDO, T.A.; SANTIAGO, G.M.P.; BRAZ-FILHO, R. **New enamines derivatives of lapachol and biological activity**. An. Acad. Bras. Cienc. v. 74, n. 2, p. 211-221, 2002.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S. S.; BOLZANI, V. da S.; LOPEZ, N. P.; EPIFANIO, R. de A. **Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas**. Quim. Nova, Vol. 25, Supl. 1, 45-61, 2002.

PINTO, A. C.; SILVA, S.; BOLZANI, V. da S.; EPIFÂNIO, R. de A. **Produtos Naturais: atualidade, desafios e perspectivas**. Química Nova, Rio de Janeiro, v. 25, Supl. 1, p.45-61, jul. 2002.

PORTO, F. K. **Constituintes químicos da Família Moraceae**. 2011. Monografia (Licenciatura em Química) - Faculdade de Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes – RJ, 2011.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação (mestrado em Ciências) – Universidade São Paulo (Escola Superior de Agricultura). CDD. 664. 8046, P896c. Piracicaba-SP, 2009.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. Quim. Nova, Vol. 29. No. 4, 755-760, 2006.

RHEE, I. K. MEENT, M.V.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. J. **Chromatograph**. A. v. 915, p 217-223, 2001.

RODRIGUES, E. T; AVELAR, M. J. P. **Releitura da matéria médica do Opium**. Trabalho Conclusão do Curso (Licenciatura em Homeopatia). Centro de especialização em Homeopatia de Londrina polo Uberlândia, 2016.

ROSA, A. M.; TINEZ, S. Martinez; PINTO. A. C. **Química de Produtos Naturais: Plantas que Testemunham Histórias**. Rev. Virtual Quim, 9 (3), 1117-1153. 2017.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de.; MORAIS, S. M. de.; SAMAPAI, C. de G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. Comunicado técnico. ISSN 1679-6535. Fortaleza 2007.

RUIZ, A. L.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, A. F.; FARIA A. D.; AMARAL, M. C. E.; SERRENO, D. R.; MAGALHÃES, E. M. Z.; MAGALHÃES, L. A. **Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae)**. Revista Brasileira de Farmacognosia, n.15, v. 2, p. 98 – 102. SP, 2005.

SAMPAIO, P. A. **Utilização de planejamento fatorial como estratégia para o desenvolvimento tecnológico de extratos padronizados de *Morus nigra* L.** (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco. Petrolina 2017.

SIKARWAR, M. S.; HUI, B. J.; SUBRAMANIAM, K.; VALEISAMY, B. D.; YEAN, L. K.; BALAJI, K. **A Review on *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (breadfruit)** Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 4, p. 091-097, 2014.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. dos S.; KOBLITZ, M. G. B. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682. 2010.

SILVA, R. H. **Efeitos tóxicos da exposição aguda e subaguda a fração de Acetato de etila da casca da *Scutia buxifolia* Reissk em camundongos.** Dissertação (Mestrado em Farmacêuticas) - Universidade Federal de Santa. Maria. Santa Maria, 2014.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D. ; MONKS, A.; VISTICA, D.; MCMAHON, J.;WARREN, J. T. ; BOKOSCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. **New colorimetric cytotoxicity assay for anticâncer – drug sareening.** J. Natl. Câncer Inst, 82 (13):1107-1112, 1990.

SOUSA, T. Brito. **Uso de taninos de espécie florestais no tratamento de água para abastecimento.** (Mestrado em Ciências e tecnologia da madura) - Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG, 2014.

WOLF, L. G. **Avaliação da qualidade físico-químico de drogas vegetais.** 2008. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmaceûticas) - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2008.