



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

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO – PROGRAD

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA - ICEN

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

Maria da Costa Belina

**ABORDAGEM FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DAS FOLHAS *Terminalia
catappa* Linn (Combretaceae) do Maciço Baturité**

ACARAPE - CE

2017

Maria da Costa Belina

ABORDAGEM FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DAS FOLHAS *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae) do Maciço Baturité

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática com Habilitação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciada em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo

ACARAPE - CE

2017

Maria da Costa Belina

ABORDAGEM FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DAS FOLHAS *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae) do Maciço Baturité

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza e Matemática com Habilitação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciada em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo

Aprovado em: 13/12/2017

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

Justa Vitorino Maia

Profa. Dra Ana Isabel Vitorino Maia (Examinadora)

Universidade Estadual do Ceará – UECE / CCT

Aluísio Marques da Fonseca

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca (Examinador)

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

Ficha catalográfica

Dedico este trabalho

*Aos meus pais Alfredo da Costa Hornay e Filomena Amaral (**in memorian**)*

*As minhas irmãs: Anita Morreira, Veronica dos Santos, Juliana Hornay, Suzana Hornay, Celina Hornay, Aliança Hornay, Francisco Hornay, Kotemena, Araka, e Benedita da Costa Hornay (**in memorian**): sempre me incentivando a alcançar meus objetivos.*

AGRADECIMENTO

Diante das muitas pessoas que fizeram parte desta longa trajetória,

De modo especial, agradeço a Deus, por me dar forças, alegria, paz e pela presença constante em minha vida, pela família e bons amigos que tenho.

Aos meus pais, Alfredo da Costa Hornay e Filomena Amaral (*in memoriam*). Agradeço a Deus a oportunidade de ter convivido com dois anjos que passaram pela terra.

A minha mãe Filomena Amaral “*in memoriam*” pela sua bondade, apoio cuidado e amor incondicional que se fez capaz de prover o sustento da nossa família sei que tive muita sorte de ter tido você como mãe, de ter crescido e aprendido a viver pela mão de uma mulher tão fantástica quanto você, e por isso sinto gratidão e agradeço muito minha guerreira saudades eternas. As minhas irmãs: Anita Moreira, Veronica dos santos, Juliana Hornay, Suzana Hornay, Celina Hornay, Aliança Hornay, Francisco Hornay, Kotemena, Araka Hornay, e Benedita da costa Hornay (*in memoriam*). Agradeço especialmente as minhas famílias LAYOMAR (Tata Roma) e SHALTAU MALUHIRA: António Savio, Gaspar Savio, Veronica Hornay, Daeryanto J. Savio, Tilumano, Pedro D.C. Hornay, Bernadino da Costa, Bernadete Hornay, Aliança Dos Santos, Sabino Hornay, pelos apoios.

Ao governo Timor- Leste, através do Ministério da Educação de Ensino Superior, que financiou parcialmente os meus estudos até o momento aqui na UNILAB. A universidade Nacional Timor Leste (UNTL) pela cooperação com a Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro- Brasileira (UNILAB).

Agradeço aos meus professores do ICEN: Aluísio Marques da Fonseca, José Berto Neto, Eveline de Abreu Menezes, Regilany Paulo Colares, Cleide Maria da Silva Leite, Livia Paulia Dias Ribeiro, e aos técnicos de laboratório, por todas as disponibilidades em ajudar e por todo o conhecimento.

Agradeço especialmente a minha orientadora, Profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo, pelo profissionalismo, apoio, palavras de incentivo e acompanhamento durante todo o percurso da minha pesquisa, pela ajuda e pelo conhecimento transmitido, sempre de forma calma e educada, agradeço sobre tudo a paciência por estar disponível para discutir qualquer assunto referente sobre o meu trabalho e indicar o caminho mais pertinente, por fim agradeço a oportunidade e confiança.

Agradeço especialmente aos meus amigos Timorenses, sou grata por conviver com todos vocês, cada um a sua maneira tornou-se uma pessoa indispensável, sempre presentes nos bons e maus momentos, dispostos a apoiar, contribuir e ajudar de uma forma direta e indireta. Pessoas que tornaram o meu dia mais gentil e alegre. Agradeço especialmente aos meus amigos químicos companheiros de lutas: Alice Joana, Blasco Quefi, Lizatória Joanico, Flavia dos Reis, Filomeno de Jesus, Januário Fernandes, Justino Ximenes, Margareta do Carmo, Octavio Lisboa, Ramalho Martins, pelas brincadeiras que sempre tivemos juntos pelo acompanhamento e pela ajuda direta e indireta da minha pesquisa. Anita Juviana, Virginia Cafasso, Marcos Da Cruz, Anastacia J. Salsinha, Anastacio Araújo, Jucelina, agradeço pelas palavras incentivadas, sugestões, por contribuíram e ajudaram de forma direta e indireta.

OBRIGADA POR TODO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01	<i>Terminalia catappa</i> Linn.....	22
Figura 02	<i>Artemia salina</i>	25
Figura 03	<i>Aedes aegypti</i>	27
Figura 04	Estabilização do radical livre DPPH.....	28
Figura 05	Estrutura do MTT e do produto colorido formazan.....	33
Figura 06	Criação de larvas <i>Artemia salina</i>	34
Figura 07	Contagem de larvas mortas e vivas.....	34
Figura 08	Análise fitoquímica do extrato hexânico das folhas <i>T. catappa</i> Linn do extrato hexânico.....	40
Figura 09	Análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas <i>T. catappa</i> Linn do extrato etanólico.....	40
Figura 10	Cromatografia em camada delgada (CCD) do extrato hexânico.....	41
Figura 11	Cromatografia em camada delgada (CCD) do extrato etanólico.....	41
Figura 12	Atividade antioxidante do extrato hexânico avaliado pelo método de DPPH.....	44
Figura 13	Atividade antioxidante do extrato etanólico avaliado pelo método de DPPH.....	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01	Porcentagem de inibição do radical DPPH em relação as concentrações das amostras do extrato hexânico das folhas <i>T. catappa</i> Linn.....	43
Gráfico 02	Porcentagem de inibição do radical DPPH em relação das concentrações das amostras do extrato etanólico das folhas <i>T. catappa</i> Linn.....	45
Gráfico 03	Porcentagem de mortalidade das larvas <i>Artemia salina</i> em relação das concentrações das amostras do extrato hexânico das folhas <i>T. catappa</i> Linn analisado pelo programa de probit.....	47
Gráfico 04	Porcentagem de mortalidade de larvas <i>Artemia salina</i> em relação das concentrações das amostras do extrato etanólico das folhas <i>T. catappa</i> Linn analisado pelo programa de probit.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Resultado das extrações dos extratos hexânico e etanólico das folhas <i>T. catappa</i> Linn.....	37
Tabela 02	Resultados da abordagem fitoquímica dos extratos hexânico e etanólico das folhas <i>T. catappa</i> Linn.....	39
Tabela 03	Atividade antioxidante do extrato hexânico das folhas.....	43
Tabela 04	Atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas.....	44
Tabela 05	Resultado do teste de toxicidade do extrato hexânico das folhas.....	46
Tabela 06	Resultado do teste de toxicidade do extrato etanólico das folhas.....	47
Tabela 07	Resultado do teste de citotoxicidade dos extratos hexânico e etanólico das folhas.....	49

LISTA DE SIGLAS /ABREVIATURAS

[Ce(SO ₄) 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
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazila
EEFTC	Extrato etanólico das folhas <i>Terminalia catappa</i>
EHFTC	Extrato hexânico das folhas <i>Terminalia catappa</i>
EUA	Estados Unidos da América
FHD	Febre Hemorrágica da Dengue
HCT-116	Carcinoma de cólon
ICEN	Instituto de Ciências Exatas da Natureza
ICS	Instituto de Ciências de Saúde
LABioCN	Laboratório de Biotecnológica e Ciências Naturais
MTT	3- (4,5 – dimetil -2- tiazol) – 2,5- difenil -2-H- brometo de tetrazolium
NCI	Nacional Cancer Institute
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.A	Puro e Analítico
PC-3	Adenocarcinoma de próstata
QPN	Química Produtos naturais
RVC	Redução da viabilidade celular
SF-295	Glioblastoma
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNILAB	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Justificativa.....	15
1.2 Objetivos.....	17
1.2.1 Objetivo geral.....	17
1.2.2 Objetivo específico.....	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Produtos naturais.....	18
2.2 Metabolismo vegetal.....	19
2.3 Família Combretaceae.....	20
2.4 <i>Terminalia catappa</i> Linn.....	21
2.5 Atividades farmacológicas.....	23
2.5.1 Produtos com potencial anticâncer (Citotoxicidade).....	23
2.5.2 Toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i>	24
2.5.3 Larvicida frente a larvas de <i>Aedes aegypti</i>	25
2.5.4 Atividade antioxidante pelo método DPPH.....	27
3. METODOLOGIA	30
3.1 Coleta e obtenção dos extratos vegetais.....	30
3.2 Testes fitoquímicos.....	30
3.3 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	32
3.4 Citotoxicidade <i>in vitro</i>	32
3.5 Toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i>	34
3.6 Larvicida frente a larvas de <i>Aedes aegypti</i>	35
3.7 Atividade antioxidante.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 Obtenção dos extratos.....	37
4.2 Identificação dos metabólitos secundários.....	37
4.3 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	41
4.4 Atividade antioxidante.....	42
4.5 Toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i>	46
4.6 Citotoxicidade <i>in vitro</i>	48
5. CONCLUSÃO	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

RESUMO

A espécie vegetal *Terminalia catappa* Linn pertencente à família Combretaceae desenvolve-se em regiões tropicais e subtropicais, sendo conhecida popularmente no Brasil como castanhola, amêndoa da praia, dentre outras denominações. Estudos revelam que extratos de *Terminalia catappa* Linn possuem atividades biológicas importantes tais como antioxidante, anticancerígena, antifúngica, antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral, antidiabética. O presente trabalho teve como objetivo realizar testes fitoquímicos preliminares para levantamento das classes de metabólitos secundários presentes, analisar os extratos obtidos através de cromatografia em camada delgada (CCD), investigação do potencial antioxidante, toxicológico, larvicida e citotóxico dos extratos hexânico e etanólico das folhas. Os testes fitoquímicos consistiram na identificação dos metabólitos secundários baseado na coloração dos extratos diluídos em solução hidro alcóolica e reagentes específicos para cada teste. A atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH e o de citotoxicidade pelo método do MTT. Os metabólitos secundários encontrados em ambos os extratos foram taninos, triterpenóides, esteróides e alcaloides. A análise em CCD utilizando como eluentes hexano-acetato de etila (8:2) e clorofórmio-metanol (9:1) pulverizadas com solução de sulfato cérico $[Ce(SO_4)_2]$ e vapores de iodo revelaram a possível presença de triterpenos, esteroides e alcaloides. O extrato hexânico mostrou IC_{50} (0,512 mg/mL) maior que o extrato etanólico IC_{50} (0,006 mg/mL) no teste antioxidante. Os extratos hexânico (DL_{50} 87,671 ppm) e etanólico (DL_{50} 79,830 ppm) mostraram-se altamente tóxicos no teste de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina*. Ambos os extratos não mostraram potencial larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti*. No teste de citotoxicidade frente a três linhagens celulares de câncer humano HCT-116 (carcinoma de cólon), PC-3 (adenocarcinoma de próstata) e SF-295 (glioblastoma) o extrato hexânico apresentou percentuais de redução da viabilidade celular (RVC) relevantes nas três linhagens celulares diferentemente do extrato etanólico. Desta forma, este estudo contribuiu para o conhecimento quimiotaxonômico da espécie *Terminalia catappa* e da família Combretaceae.

Palavra – Chave: *Terminalia catappa*, Combretaceae, Fitoquímica

ABSTRACT

Terminalia catappa Linn belonging to the family Combretaceae develops in tropical and subtropical regions being popularly known in Brasil as castanet, almond beach, among other denominations. The study have shown that extracts *Terminalia catappa* Linn process important biological activities such as antioxidant, anticancer, antifungal, antimicrobial, anti-inflammatory, antitumor, antidiabetic. The objective of this study was to perform preliminary phytochemicals tests survey of secondary metabolites presents in classes, analyzing the extracts obtained by thin layer chromatography (TLC), investigation of the potential antioxidant, toxicological, larvicidal and cytotoxic of the hexane extracts and ethanolic leaves *Terminalia catappa* Linn. Phytochemicals tests consisted in the identification of secondary metabolites based on the staining of extracts diluted hydroalcoholic solution and specific reagents for each test. The antioxidant activity was performed by DPPH and cytotoxicity by MTT method. Secondary metabolites found in both extracts were tannins, triterpenoids, steroids, and alkaloids. The analysis using TLC as eluants hexane – ethy acetate (8:2) and chloroform-methanol (9:1) solution was sprayed as ceric sulfate [Ce(SO₄)₂] and iodine vapors showed the possible presence of triterpenoids, steroids and alkaloids. The hexane extract showed (IC₅₀ 0,512 mg/mL) greater than the IC₅₀ ethanol extract (0,006 mg/mL) on the test antioxidante. The hexane extracts (LD₅₀ 87,671 ppm) and ethanol (LD₅₀ 79,830 ppm) were highly toxic in toxicity tests against *Artemia salina* larvae. Both extracts showed no potential larvicide against *Aedes aegypti*. In the cytotoxicity test three cell lines of human câncer HCT-116 (colon carcinoma), PC-3 (prostate adenocarcinoma) and SF-295 (glioblastoma), the hexane layer showed cell viability reduction percentage (RVC) relevant in the three cell lines unlike ethanol extract. Thus, this study contributed to the knowledge of the species *Terminalia catappa* and Combretaceae family.

Key words: *Terminalia catappa*, Combretaceae, phytochemistry.

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento popular é o principal meio determinante na utilização de determinada espécie pela população, em geral na maioria das vezes, isso se mostra eficaz, o que desperta o interesse do meio científico, sendo que estudos nessa área exige um conjunto de profissionais como botânicos, farmacologistas, agrônomos, farmacêuticos e fitoquímicos. (MACIEL., *et al*, 2002). Assim, o estudo fitoquímico sobre as plantas tem sido de grande importância para vários setores de interesse, principalmente, no desenvolvimento da área farmacêutica, química, alimentícia e agrícola (SILVA, 2007).

De acordo com a organização mundial de saúde (OMS) no início da década de 1990, afirma-se que cerca de 65 a 80% da população do país dependia das plantas medicinais como a única forma de acesso a medicação, devido a situação econômica crítica da maioria da população e a tendência de optar pelos recursos naturais. As indústrias farmacêuticas utilizam as plantas medicinais como fonte de novos recursos terapêuticos e no desenvolvimento de medicamentos. Pesquisas para a descoberta de protótipos de fármacos propiciam além do avanço da pesquisa o desenvolvimento tecnológico do país. Deste modo, os produtos naturais como fonte de novas moléculas combinados com a metodologia sintética e manipulação de caminhos biossintéticos continuarão sendo melhores fontes para a descoberta e desenvolvimento de medicamentos. A Química de produtos naturais (QPN) sempre foi uma das áreas que lideraram o desenvolvimento da Química, porém a QPN enfrenta atualmente diversos desafios em nível global e econômico (FERREIRA e PINTO, 2010).

De acordo com Martins e Henriques, 2014 uma série de plantas da flora Timorese são utilizadas pela população com fins medicinais, sendo utilizadas de duas maneiras: através dos curadores “*matan dok*” e através das clínicas de saúde”. Muitas pessoas do Timor-Leste usam as plantas medicinais para tratamento de enfermidades e muitos locais têm curadores com conhecimentos e competências para o uso das plantas medicinais no tratamento específico de certas doenças que parecem não se resolver com os tratamentos convencionais. Esse conhecimento empírico vem sendo transmitido desde as antigas civilizações até os dias atuais, tornando a utilização de plantas medicinais uma prática generalizada na medicina popular (FREITAS *et al*, 2012).

As pesquisas de plantas medicinais envolvem investigações da medicina tradicional e popular, isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (Química Orgânica: fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (farmacologia); transformação química dos princípios ativos (química orgânica sintética); estudo da relação estrutura ou atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos (química medicinal e farmacológica) e finalmente a operação de formulações para produção de fitoterápicos (SANTOS *et al*, 2013).

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo com cerca de 8,5 milhões de Km² e vários biomas (mata Atlântica, Cerrado, Pantanal, Amazônia e Caatinga). Estudos apontam como o país com a flora mais rica e diversificada do mundo com mais de 5600 espécies de plantas que correspondem quase 19% da flora mundial (PIETRO., *et al*, 2013). Dentre as diversas espécies presentes no Brasil destaca-se no presente trabalho a espécie *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae).

1.1 Justificativa

O gênero *Terminalia* é amplamente distribuído nas áreas tropicais do mundo sendo conhecida como fonte rica de triterpenos pentacíclicos e seus derivados glicosilados, flavonóides, taninos dentre outros metabólitos secundários. Tais substâncias conferem importante atividade biológica, motivo pelo qual muitas espécies desta família são utilizadas na medicina popular (DIAS, 2014).

As espécies pertencentes à família Combretaceae apresentam diversas atividades farmacológicas como, por exemplo, antifúngica, antimicrobiana, anti-helmíntica, anticancerígena, anti-inflamatória, antimalárica, antibacteriana, antioxidante dentre outras. Dentre as espécies da família Combretaceae utilizadas na ornamentação podemos citar *Quisqualis indica* L. e *Terminalia catappa* L. sendo a maioria empregada na medicina popular, tendo o uso comprovado por testes farmacológicos (CABRAL, 2013).

T. catappa tem sido tradicionalmente muito importante nas comunidades costeiras do Oceano Pacífico, provendo uma extensa gama de produtos e serviços. Nessas regiões é largamente cultivada para gerar sombra, ornamentação e na cosmética. Sua madeira é utilizada na confecção de utensílios e objetos decorativos em geral, móveis e construções de interiores (THOMSON e EVANS, 2006). Tradicionalmente as folhas de *T. catappa* são submetidas à extração em água quente para o preparo de chás. As folhas têm sido utilizadas

no tratamento populares da diarreia, e como antitérmica na Índia, Filipina e Malásia. Em Taiwan têm sido aplicadas na prevenção de hematomas e no tratamento da hepatite (BATISTA, 2011).

Este trabalho terá sua importância na contribuição do ensino, pesquisa e extensão no desenvolvimento científico do país e especialmente do Timor-Leste, com base nos dados obtidos da espécie. Diante do exposto, a proposta deste trabalho é realizar um estudo mais detalhado sobre abordagem fitoquímica e farmacológica das folhas de *Terminalia catappa* L., ampliando informações acerca de suas atividades biológicas contribuindo para documentação química e farmacológica da espécie.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

- Realizar fitoquímica e farmacológica da espécie *Terminalia catappa* Linn bem como armazenamento de extratos para ensaios futuros.

1.2.2 Objetivo específico

- Fazer levantamento bibliográfico e criar um banco de dados com informações obtidas sobre a espécie estudada;
- Preparar o extrato hexânico e etanólico das folhas *T. catappa* Linn;
- Realizar testes fitoquímicos para levantamento das classes de metabólitos secundários presentes nas folhas da espécie;
- Analisar os extratos obtidos através de cromatografia de camada delgada comparativa (CCDD);
- Investigar os potenciais antioxidante (DPPH), toxicológico, citotóxico e larvicida.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produtos naturais

Produtos naturais são substâncias químicas encontradas em plantas, animais, fungos, e bactérias que possuem ou não uma determinada atividade biológica. Estes compostos são utilizados por esses seres vivos para sua defesa, metabolismo e desenvolvimento (CRAGG e NEWMAN, 2013).

A química de produtos naturais é uma área da química orgânica responsável pelo isolamento e caracterização e identificação de substâncias produzidas através do metabolismo secundário de plantas, micro-organismos e animais marinhos. Essas substâncias obtidas na natureza são comumente denominadas de metabólitos secundários. Estas substâncias são importantes porque podem possuir potencial biológico para uso como fitoterápico ou fármaco. As plantas medicinais têm suas propriedades relacionadas aos compostos chamados de princípios ativos (JUNIOR e BOLZANI, 2006).

O uso de produtos naturais como matéria prima para a síntese de substâncias bioativas particularmente fármacos, tem sido amplamente relatada ao longo do tempo (BARREIRO e FRAGA, 2001). A variedade e complexidade de metabólitos existentes, produzido principalmente pelas plantas, podem ser utilizadas como matéria prima em vários setores industriais como cosmética, farmacêutica, alimentícia dentre outros. O interesse por novas substâncias farmacologicamente ativas, advindas de fontes naturais ou sintéticas, aumentou com o passar dos anos e resultou no isolamento, extração e síntese de diversas moléculas bioativas (BERLINCK., *et al*, 2017). A síntese é conduzida pela Química Orgânica e Medicinal, que utiliza como modelo os produtos naturais para a síntese de novas moléculas que sejam capazes de atuarem em diversas áreas na terapêutica, tratando várias enfermidades que acometem a população. A pesquisa fitoquímica tem por objetivo conhecer os constituintes químicos das espécies vegetais através do isolamento e identificação dos metabólitos secundários relevantes úteis enquanto marcadores químicos no monitoramento das plantas medicinais em processo de domesticação na qualidade da matéria prima medicinal e na prospecção fitoquímica (BESSA., *et al*, 2013).

2.2 Metabolismo vegetal

O estudo sobre metabolismo foi iniciado pelos químicos orgânicos no século XIX e a partir do século XX suas diversas aplicações foram sendo utilizadas, o que despertou o interesse de pesquisadores de vários campos da ciência que visam neles uma importante fonte de moléculas potencialmente úteis ao homem (SILVA., *et al*, 2013). A natureza de forma geral tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Dentre os diversos reinos, o reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado devido as suas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos, e produtos agrícolas. Muitos metabólitos possuem valor comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentícia, agrônômica, cosmética dentre outras (SIMÕES., *et al*, 2010).

Todas as plantas produzem compostos químicos como parte de suas atividades metabólicas normais. Esses compostos são divididos em metabólitos primários, responsável pela síntese de celulose, proteínas, açúcar e lipídios encontrados em todas as plantas e em metabólitos secundários encontrados apenas em determinadas situações nas plantas. Estes geralmente apresentam estrutura complexa com atividade biológica marcante. Dentre as classes de metabólitos secundários de importância biológica destacam-se atualmente os alcalóides, terpenos, esteróides e os compostos fenólicos (NETO e LOPES, 2006) utilizados na defesa contra estresses bióticos e abióticos (SILVA., *et al*, 2013). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico e ácido mevalônico. Os terpenos são produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3- fosfoglicerato (no cloroplasto). Os alcalóides são provenientes de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). Flavonoides, taninos e ligninas fazem parte dos compostos fenólicos: óleos essenciais, saponinas, carotenóides e a maioria dos fitoreguladores são exemplos de terpenos. Os metabólitos nicotina, cafeína e vincristina são alguns exemplos de alcalóides (SILVA., *et al*, 2013).

A abrangente atuação dos metabólitos secundários dos vegetais mostra a necessidade e a importância do conhecimento sobre esses compostos. Entender a sua atuação pode levar a inúmeras possibilidades de estudos que direcionem a busca por informações de importantes problemas enfrentados atualmente como a resistência microbiana as drogas ou prejuízos causados pelo uso desordenado de pesticidas (SILVA., *et al*, 2013).

2.3 A família Combretaceae

A espécie pertencente à família Combretaceae é originária da Índia que ocorre predominantemente em áreas tropicais e subtropicais. As espécies podem atingir de 25 a 40 m de altura, o diâmetro do tronco alcança de 50 a 150 cm e suas folhas são oblanceoladas, coriáceas medindo cerca de 30 cm. Esta espécie é popularmente conhecida como castanhola, principalmente utilizada na ornamentação de ruas e avenidas. Porém, em países asiáticos esta espécie é usada popularmente no tratamento da hepatite e dermatite dentre outras aplicações (SILVA, 2012).

A família *Combretaceae* é constituída por aproximadamente 600 espécies. Os dois gêneros de maior ocorrência são *Combretum* e *Terminalia*, cada um com cerca de 250 espécies, sendo extensamente utilizadas na medicina tradicional africana, asiática e indiana (LIMA, 2012). As espécies do gênero *Terminalia* são nativas da África e são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais.

De acordo com Linsigen *et al*, 2009 a família Combretaceae subdivide-se em duas subfamílias: Strephonematoideae, sem representantes na flora Brasileira, com ovário semi-ínfero, e combretoideae, com ovário ínfero, dividida em duas tribos *Laguncularieae* e Combreteae as quais apresentam inúmeros representantes na flora neotropical (NETO; CORDEIRO; LOIOLA, 2014). Os três maiores gêneros desta família são: *Combretum*, *Terminalia* e *Quisqualis*. Os outros gêneros são *Anogeissus*, *Buchenavia*, *Bucida*, *Calopyxis*, *Conocarpus*, *Dansiea*, *Getonia*, *Guiera*, *Laguncularia*, *Lumnitzera*, *Macropteranthes*, *Meiostemon*, *Pteleopsis*, *Ramatuela*, *Strephonema*, *Terminaliopsis* e *Thiloa* (SOUTO, 2011).

Em países dos continentes Africanos e Asiático muitas espécies da família Combretaceae são usadas na medicina popular para combater infecções microbianas; hipertensão, malária, lepra, tuberculose e lesões na pele. Por esta razão, há vários estudos sobre as mesmas a fim de confirmar suas propriedades medicinais GLORIA, 2014; MASOKO e ELOFF, 2006.

O potencial medicinal de sete espécies de combretaceae (*Combretum glutinosum*, *C. hispidum*, *C. Molle*, *C. Nigricans*, *Pteleopsis suberosa*, *Terminalia avennioides* e *T. mollis*) foi avaliado quanto a atividade antifúngica e todos os exemplares mostraram-se ativos frente as cepas testadas. Seis espécies dos gêneros Combretum e Terminalia (*C. Fragans*, *C. Molle*, *C. psidioides*, *C. Zeyheri*, *T. Kaiserana*, *T. sericea*) são usadas na Tanzânia e em outros países africanos no tratamento de doenças como gonorreia, sífilis, diarreia, hipertensão e câncer (BATISTA, 2011). Uma das atividades mais estudadas para as espécies do gênero Terminalia é a antimicrobiana (BABA MOUSSA., *et al.*, 1999). Estudos revelam, também que duas espécies do gênero Terminalia (*T. kaiserana*, *T. sericea*) são usadas na Tanzânia e em outros países africanos no tratamento da gonorreia, diarreia, hipertensão e câncer apresentando também atividade antibacteriana (MASOKO; PICARD; ELOFF, 2006).

A literatura apresenta vários registros da utilização de plantas da família Combretaceae em medicina popular especialmente na África e Índia. O gênero Combretum (Combretaceae) apresenta cerca de 370 espécies, sendo 10% de suas espécies citadas na literatura em uso etnofarmacológico principalmente no tratamento de doenças como câncer, lepra, febre, cólicas (PAULA, 2008), assim sendo uma família de grande importância farmacológica.

2.4 Terminalia catappa L.

Terminalia catappa Linn (Figura 01) pertencente à família *Combretaceae* desenvolve-se em regiões tropicais e subtropicais, sendo conhecida popularmente no Brasil como castanhola, amêndoa da praia, castanheira, chapéu do sol, sete copas, dentre outras denominações (IVANI., *et al.*, 2008).

Figura 01- *Terminalia catappa* Linn



Fonte: ¹[https://ast.wikipedia.org/wiki/Terminalia catappa](https://ast.wikipedia.org/wiki/Terminalia_catappa)

²<http://floraufersa.blogspot.com.br/2014/02/castanhola.html>. Acessado em 01/11/2017

T. catappa é comumente usada na medicina popular para o tratamento de doenças associados ao estômago. Tradicionalmente, somente as folhas de *T. catappa* são utilizadas para fins terapêuticos, as folhas caídas são usadas na preparação de infusões para bebida, pelo fato das folhas verdes apresentarem um sabor muito adstringente, devido à presença do alto teor de taninos (PAULA, 2008).

Esta espécie tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores asiáticos, em especial na China, Japão e Taiwan. Muitos trabalhos referem-se aos estudos fitoquímicos, através dos quais realizam extrações com diferentes solventes, a partir de várias partes da planta, para posterior avaliação das atividades biológicas dos extratos ou dos compostos isolados, para algum tipo de atividade específica (PAULA, 2008).

Várias pesquisas têm sido realizadas sobre as atividades biológicas de *T. catappa* Linn descritas para a planta, como antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, antiviral, antidiabética. Essas atividades foram atribuídas, principalmente, a presença de compostos fenólicos, sendo que alguns compostos já foram isolados e caracterizados (SANTOS; LORENZO e LANNES, 2015).

Os taninos hidrolisáveis são os principais compostos associados à atividade antioxidante (PAULA, 2008) sendo a punicalina e a punicalagina os compostos mais abundantes, encontrados nas folhas. Além destes, outros compostos fenólicos menos abundantes têm sido isolados e associados à atividade antioxidante de *T. catappa* como

também o ácido benzoico, cumárico e seus derivados. A punicalina e a punicalgina também têm sido associadas à atividade antitumoral e antiviral, o que pode ser uma consequência da atividade antioxidante destes compostos. A atividade anti-inflamatória tem sido associada a presença de ácidos triterpênicos, principalmente o ácido ursólico e seus derivados. A atividade antidiabética também já foi descrita para os taninos, mas existem estudos que associam a presença de β - caroteno (PAULA, 2008).

Neste contexto, estão destacados os principais aspectos estudados a respeito de *T. catappa*, na qual descrevem os compostos ativos já isolados de diferentes partes da planta e suas atividades biológicas. Levantamento bibliográfico realizado no Scifinder em maio /2017 mostrou poucos trabalhos de screening fitoquímico da espécie e observou-se que os extratos obtidos das folhas eram os mais citados apresentando diversas atividades como antimicrobiana, antioxidante, analgésica, antihelmintica basicamente em extratos polares (BABAYI., *et al*, 2004; POONGULALI; DIVYA ; ANAND, 2015; ANNEGOWDA., *et al*, 2010; ANURACPREEDA., *et al*, 2017). Neste estudo incluiu-se o extrato hexânico (apolar) das folhas de forma a contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico e farmacológico da espécie.

2.5 Atividades farmacológicas

2.5.1 Produtos com potencial anticâncer

O câncer é uma doença do material genético (o genoma) de nossas células, e decorre do acúmulo progressivo de mutações, ou seja, alterações no código genético. As mutações fazem com que células que antes executavam um programa bem definido, denominado ciclo celular, associado as suas funções em seu tecido de origem, cresçam de maneira descontrolada. Esse crescimento alterado é consequência não só da duplicação celular desordenada, mas também da progressiva morte celular. Além disso, as células cancerosas ultrapassam os limites dos tecidos de origem, adquirem a capacidade de modificar o ambiente que a cerca desrespeitando fronteiras e migrando pelos diversos tecidos do corpo, podendo estabelecer tumores secundários – as metástases – ao se fixarem em locais distantes do ponto de origem (PITA, 2010). A capacidade de invadir os tecidos vizinhos e de formar as metástases é responsável em última análise pela morte de dois a cada três pacientes diagnosticados com câncer.

Atualmente, a definição científica de câncer refere-se ao termo neoplasia maligna, como sendo doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células transformadas. O processo de carcinogênese, em geral se dá lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e dê origem a um tumor perceptível. O câncer é mais comum em pessoas de idade avançada, devido ao acúmulo de mutações e outros danos oxidativos nas células. Soma-se ainda o declínio da atividade antioxidante e do sistema imune, o que compromete o combate às células que sofrem mutação (LEITE e FILHO, 2014). O uso de produtos naturais no tratamento de enfermidades vem desde antiguidade, o que leva a busca pela cura na vasta flora que o Brasil apresenta. Assim tendo vista a grande perspectiva em relação à descoberta de produtos naturais no combate ao câncer é de grande interesse um melhor conhecimento sobre esta área a fim de se elucidar sua terapêutica, eficácia e segurança (LEITE e FILHO, 2014). Os produtos naturais são amplamente utilizados no tratamento do câncer. Dentre eles podemos citar os alcaloides vinca, vimblastina e vincristina obtidos de *Catharanthus roseus* G. Don (Apocynaceae), cujo isolamento introduziu uma nova era do uso de plantas medicinais como agentes anticâncer (PITA, 2010).

As pesquisas envolvendo produtos naturais geram expectativas para a comunidade científica, pois através da identificação de novas substâncias podem ser identificadas futuras terapias importantes para a terapêutica de doenças, inclusive para o câncer já que os medicamentos existentes atualmente para o tratamento desta doença foram obtidos de produtos naturais ou estes serviram para o seu desenvolvimento (ARANHA, 2014). Diante da diversidade do potencial químico e biológico de produtos naturais, incluindo as plantas, buscou-se avaliar a atividade anticâncer das folhas *T. catappa* Linn.

2.5.2 Toxicidade

O teste de toxicidade frente a *Artemia salina* é um ensaio biológico considerado como uma das ferramentas mais utilizadas para avaliação preliminar de toxicidade. Desta forma larvas de *Artemia salina* tem sido utilizada como organismo alvo para detectar compostos bioativos em extratos de plantas. A toxicidade para este crustáceo tem demonstrado uma boa correlação com atividade citotóxica contra tumores humano e atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da doença de chagas. Em geral, extratos de plantas e derivados com alta toxicidade contra a *Artemia salina* sugerem alto potencial para atividades biológicas, sendo, portanto muito útil à utilização deste bioensaio, no direcionamento de estudos fitoquímicos, na busca de substâncias bioativas (AMARANTE., *et al*, 2011).

Artemia salina (Figura 02) é uma espécie de microcrustáceo da ordem Anostraca, encontrado em água salgada (LIMA., *et at*, 2009). Utilizada como alimento vivo para peixes, sendo seus ovos encontrados em lojas de aquaristas. Essa espécie de microcrustáceo marinho tem sido utilizada em experimento laboratoriais como um bioindicador, sendo o seu grau de tolerância em relação a um fator ambiental reduzido e específico, de modo que apresenta uma resposta nítida frente a pequenas variações na qualidade do ambiente. A letalidade desse organismo tem sido utilizada para identificação de respostas biológicas, nos quais as variáveis como a morte ou vida são as únicas envolvidas (BUENO e PIOVEZAN, 2015).

Figura 02- *Artemia salina*



Fonte: <https://alchetron.com/Artemia-salina>. Acesso em: 08/11/ 2017.

A fim de estabelecer a toxicidade de novos produtos naturais, muitos ensaios podem ser utilizados como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais, mas que também pode ser utilizado para expressar a toxicidade de um extrato com atividade moluscicida contra organismos não alvos, como peixes e pequenos crustáceos (RUIZ., *et al*, 2005).

2.5.3 Aedes aegypti

A dengue é um dos principais problemas de saúde em países em desenvolvimento, sendo uma doença infecciosa provocada por arbovírus e transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* que foi introduzido na América do sul por barcos que vieram da África no período colonial juntos com escravos.

A dengue tem se destacado entre as enfermidades reemergentes e é considerada a mais importantes das doenças virais transmitidas por artrópodos, sendo também a mais comum e distribuída arbovirose do mundo. A dengue manifesta-se clinicamente, sob duas formas principais a dengue clássica também chamada febre de dengue e a forma hemorrágica (FHD). Desde o início dos anos 70, a organização mundial de saúde (OMS) está envolvida, de maneira bastante ativa no desenvolvimento e na promoção de estratégias de tratamento e controle da doença (BRAGA e VALLE, 2007). A prevenção da dengue consiste em três fatores básicos: controle vetorial, implementação de bons sistemas de vigilância e desenvolvimento de vacinas eficazes. Como ainda não existe nenhuma vacina validada, o controle vetorial é muito importante, consistindo, principalmente na eliminação de criadouros naturais e artificiais dos mosquitos, além da aplicação de inseticidas, tanto para as larvas quanto para os adultos (COELHO; PAULA; ESPINOLA, 2009).

O *Aedes aegypti* (Figura 03) é um mosquito diurno, de coloração preta, com listras e manchas, adaptado ao ambiente urbano. Existem quatro tipos de vírus da dengue DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4, que ocorrem nas áreas tropicais e subtropicais do mundo, todos os quatro tipos da doença causam os mesmos sintomas. Entretanto quando uma pessoa contrai um tipo de vírus ela fica imunizada somente contra ele. O *Aedes aegypti* apresenta grande capacidade de adaptação a criadouros artificiais o que possibilita o aumento de sua população e conseqüentemente, o aparecimento de epidemias de dengue. A transmissão ocorre pela picada da fêmea do mosquito vetor. As fêmeas colocam seus ovos nas paredes de recipientes que acumulam água. Após o desenvolvimento do embrião, que dura por volta de dois a três dias, os ovos tornam-se resistentes à dessecação e assim que recebem nova carga de água são estimulados a eclodir. A fêmea do mosquito transmite a doença no ciclo reprodutivo. Após a oviposição a fêmea fica faminta e vai atrás de um novo hospedeiro (BATISTA, 2014).

Figura 03- *Aedes Aegypti*: a- cabeça de uma fêmea com antenas pilosas; b- vista dorsal do tórax evidenciando o desenho de uma lira; c – vista lateral da lira no tórax; d- terceiro par de pernas; e – tarso com anéis de escamas claras.



Fonte: OLIVA, 2011.

Disponível em: http://repositorio.ufpe.br/bitstream/handle/123456789/993/arquivo2986_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 02/ 11/ 2017.

2.5.4 Atividade antioxidante

Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais (BEZERRA., *et al*, 2014). O termo antioxidante significa aquele que impede a oxidação de outras substâncias através de reações metabólicas ou por fatores exógenos, como as radiações ionizantes (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2009).

Compostos químicos que possuem atividade antioxidante geralmente são aromáticos e contem no mínimo uma hidroxila, podendo ser sintéticos, como o butil hidroxianisol (BHA) e o butil hidroxitolueno (BHT), largamente utilizados pela indústria de alimentos. Os naturais denominados de substâncias bioativas incluem os organosulfurados, os fenólicos (tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos), os terpenos, carotenoides e o ácido ascórbico, que fazem parte da constituição de diversos alimentos. Evidências científicas permitem afirmar que a propriedade antioxidante vegetal se deve, principalmente, aos compostos fenólicos (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2010).

Os antioxidantes podem ser divididos em primário e secundário. Primário quando apresenta a capacidade de desacelerar ou inibir a ação por meio da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio e secundário por meio da ligação de íons metálicos, remoção de oxigênio, desativação do oxigênio singlete e conversão de hidroperóxidos de espécies não radicais (SANTOS 2016).

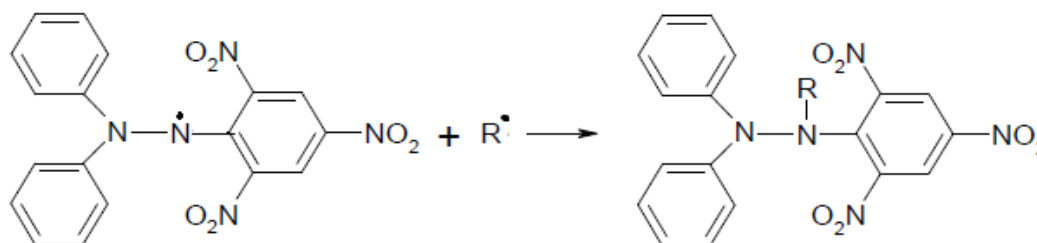
De acordo com Moura, 2010 os antioxidantes também são evidenciados na literatura pela capacidade de conservar os alimentos, retardando a deterioração, ou descoloração e principalmente devido aos efeitos em relação à prevenção de doenças e propriedades biológicas importantes saúde humana.

- **DPPH (2,2- difenil-1- picril- hidrazila)**

A DPPH é caracterizada como radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado. Esta deslocalização confere a molécula uma coloração violeta, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 520 nm no espectrômetro UV- vis (ALVES., *et al*, 2010).

O radical livre DPPH apresenta em sua estrutura dois anéis aromáticos e um anel picrilhidrazila, constituído por um anel aromático de seis membros ligados a três grupos nitro (NO_2) e uma hidrazila, em que o átomo de N ligado diretamente ao anel está com um elétron desemparelhado, o que caracteriza a espécie como 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 hidrogênio por um composto antioxidante (BOROSKI., *et al*, 2015).

Figura 04- Estabilização do radical livre DPPH



Cor: violeta escura

Cor: amarelo

Fonte: Rufino., *et al*, 2007

Atualmente este método tem sido muito aplicado em diversas amostras como, por exemplo, em frutas vegetais, plantas medicinais, ervas aromáticas, temperos, cereais, leguminosas, chás, folhas, cogumelos, e algas, por ser um método fácil de ser aplicado, além de apresentar alta sensibilidade e reprodutibilidade (BOROSKI., *et al*, 2015).

3. METODOLOGIA

3.1 Coleta e obtenção dos Extratos Vegetais

As folhas de *Terminalia catappa* Linn foram coletadas no mês de novembro de 2016, no Parque Ten Eilson localizado no município Redenção, na região do Maciço de Baturité, Ceara Brasil, nas coordenadas 4°13'31'' S e 38°43'18'' W e elevação 90 m.

A identificação do material vegetal foi realizada pela botânica Profa. Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola, em agosto de 2017, na Universidade Federal do Ceará - Campus do Pici, no Herbário Prisco Bezerra, Departamento de Biologia. A exsicata foi depositada no Herbário sob o N° de registro **EAC # 60568**.

As folhas foram secas a temperatura ambiente por 14 dias. Em seguida foram trituradas em liquidificador e submetidas a extração com hexano a temperatura ambiente. A solução resultante foi concentrada em evaporador rotativo, para obtenção do extrato hexânico bruto. O procedimento de extração foi repetido com o solvente álcool etílico.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia e Ciências Naturais (LABioCN)/ Química Orgânica e Química Inorgânica da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Campus das Auroras.

3.2 Testes Fitoquímicos

Os testes para identificação dos metabólitos secundários presentes foram realizados através de reações gerais. Pesou-se 1 g de cada extrato bruto e dissolveu-se em solução hidroalcoólica (80%), resultando em uma solução estoque de cada extrato. Os extratos hexânico e etanólico foram submetidos aos seguintes testes de acordo com a metodologia proposta por MATOS (2009) e COSTA, (2014).

3.2.1 Testes para fenóis e taninos

Adicionou-se 3 gotas de solução alcoólica de FeCl₃ em 3 mL de solução estoque contida em tubo de ensaio. Adicionou-se também 3 gotas de FeCl₃ em tubo de ensaio contendo apenas água (Branco). Agitaram-se os tubos e aguardou-se possível a variação de cor ou formação de precipitado nas amostras.

3.2.2 Testes para antocianinas, antocianidinas e flavonóides

Foram adicionados em três tubos de ensaio 3 mL de solução estoque. No primeiro foi adicionado por HCl (1M) até pH 3, no segundo tubo NaOH 10 % até pH 8,5 e no terceiro tubo NaOH 10 % até pH 11. Agitaram-se os tubos e aguardou-se possível mudança de coloração.

3.2.3 Testes para leucoantocianidinas, catequinas, e flavonas

Foram separados dois tubos de ensaio e adicionou-se 3 mL de solução estoque em cada tubo. No primeiro tubo adicionou-se HCl (1 M) até pH 1-3, no segundo tubo NaOH 10 % até pH 11. Aqueceram-se os tubos em banho Maria cerca de 3 minutos, e agitaram-se bem os tubos e aguardou-se possível surgimento de mudança de cor por comparação com os tubos correspondentes usados no teste anterior.

3.2.4 Teste para flavonóis, flavanona, flavanonois e xantonas.

Em um tubo de ensaio adicionou-se 3 mL de solução estoque juntamente com alguns centigramas de magnésio granulado e 0,5 mL de HCl concentrado. Após o termino da reação indicada pelo fim de efervescência observou-se por comparação visual ao tubo de teste anterior acidificado possível mudança de coloração na mistura de reação.

3.2.5 Teste para esteroides e triterpenos (Lieberman Burchard)

Adicionou-se 5 mL de solução estoque para um tubo de ensaio deixando evaporar o solvente em banho Maria até a secura. Adicionou-se 5 mL de diclorometano para a dissolução do extrato seco. Após esse processo, filtrou-se a solução. Adicionou-se 1 mL de anídrico acético, 2 mL de H₂SO₄ concentrado. Agitou-se bem o tubo e aguardou-se possível variação de cor na amostra.

3.2.6 Testes para heterosideos sapônicos

Adicionou-se no resíduo insolúvel em diclorometano, obtido no teste anterior, 5 mL de agua destilada para solubilização do mesmo. Em seguida filtrou-se a solução e transferiu-se para um tubo de ensaio filtrado. Agitou-se o tubo fortemente por 2 minutos e observou-se se havia formação de espuma persistente.

3.2.7 Teste para alcaloides

Levou-se a secura 10 mL da solução estoque em banho Maria. Adicionou-se o resíduo seco 1 mL de etanol e 2 mL de solução de HCl concentrado. Transferiu-se 1 mL da solução para cada 2 tubos ensaios. Adicionou-se em cada um dos tubos, respectivamente algumas gotas dos reagentes de precipitação de alcaloides: Mayer, e Dragendorff. Observou-se possível precipitação ou turvação das amostras.

3.3 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Os extratos hexânico (EHFTC) e etanólico (EEFTC) das folhas *Terminalia catappa* Linn foram analisados por cromatografia em camada delgada (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 pesada 25 g de sílica gel da Merck, que foi 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 30 minutos, e mantidas em aquecimento a 50°C.

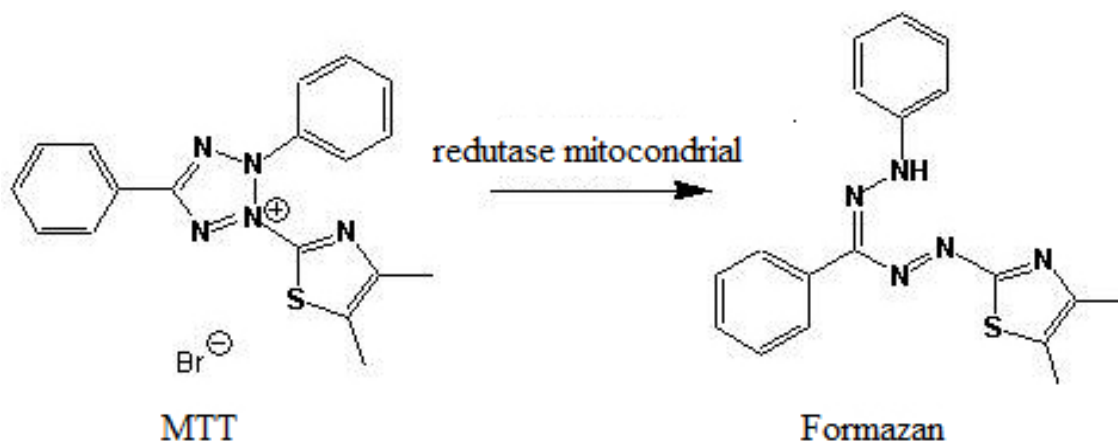
Os extratos hexânico e etanólico foram diluídos em clorofórmio e aplicados nas cromatoplasmas com auxílio de um capilar. Para a fase móvel foram utilizadas misturas de solventes hexano - acetato etila (8:2) e clorofórmio-metanol (9:1). A revelação das substâncias foi feita por pulverização das placas com solução de sulfato cérico [Ce(SO₄)₂], seguido de aquecimento (100°C) por 5 minutos em estufa. Utilizou-se também vapores de iodo para revelar as cromatoplasmas.

3.4 Citotoxicidade in vitro

As análises de citotoxicidade pelo método do MTT foram realizadas no Laboratório de Oncologia experimental da Faculdade de Medicina na Universidade Federal do Ceará (UFC), realizados pelo Prof. Dr. Francisco Washington Araújo Barros (ICEN/ 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).

Figura 05- Estruturas do MTT e do produto colorido Formazan.



Fonte: BRESCIA, Peter; BANKS, Peter, 2009.

Disponível

em: https://www.biotech.com/assets/tech_resources/Quantification%20of%20Cell%20Viability%20App%20Note.pdf. Acesso em: 13/11/2017

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 o RVC % pelo programa *Graphpad Prism* versão 5.0. Cada amostra foi testada em triplicata a partir de dois experimentos independentes.

3.5 Toxicidade frente a larvas de *Artemia salina*

O teste de toxicidade frente a *Artemia salina* foi realizado seguindo a metodologia de Amarante., *et al*, 2011. Primeiramente preparou-se uma solução com 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 soluções das amostras. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina por 24 horas por iluminação artificial em temperatura ambiente entre 26° C a 29° C.

Figura 06- Criação de larvas *Artemia salina* submetido durante um período 24 h, sobre iluminação artificial em temperatura ambiente para eclosão.

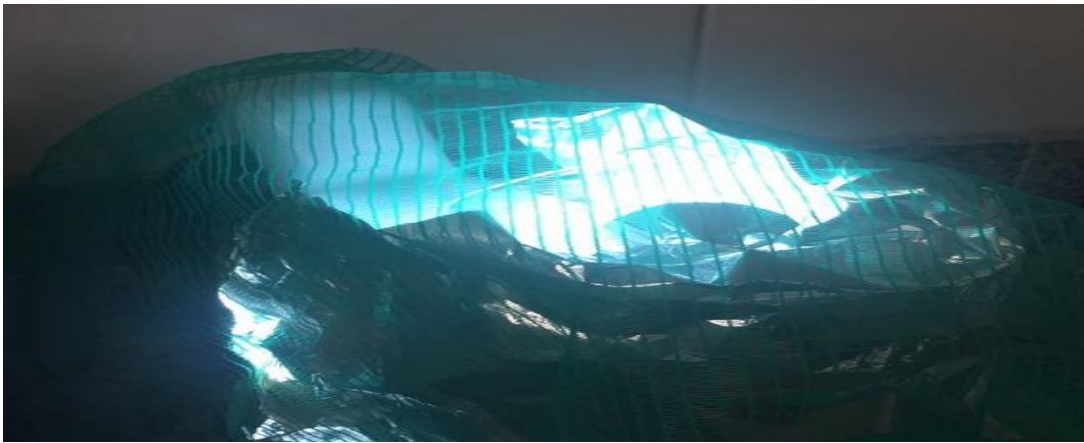
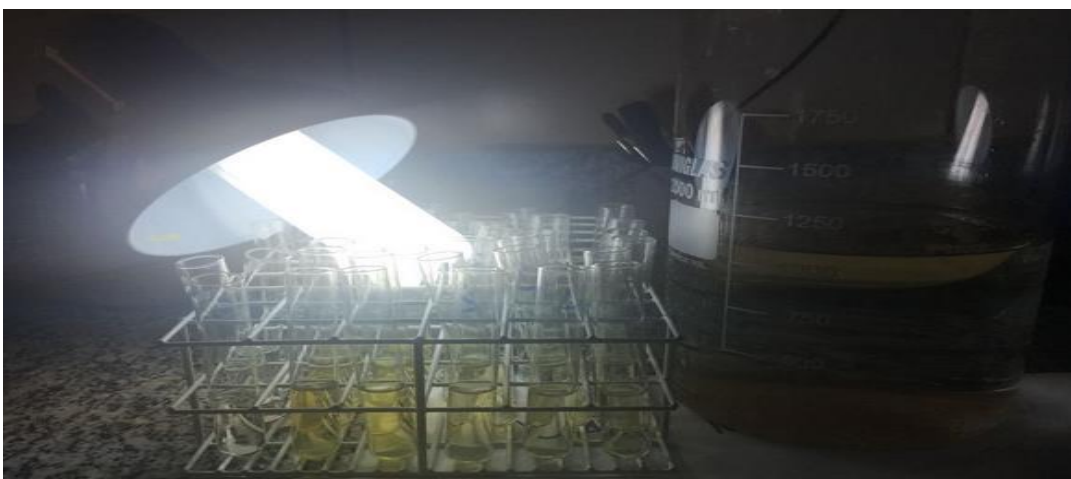


Figura 07- Contagem das larvas mortas e vivas realizada após 24 h.



Dissolveu-se 17 mg dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Terminalia catappa* Linn em 17 mL de DMSO 1 % resultando em uma solução estoque de concentração 1 mg/mL ou 1000 ppm. Foram preparadas soluções salinas a partir da solução estoque nas concentrações 500, 250, 125, 62,5, 31,2 ppm. Cerca de 10 larvas de *Artemia salina* com idade de 24 horas foram transferidas para tubos de ensaio contendo 5 mL de solução salina 60 g/L. As larvas de *Artemia salina* foram incubadas sob iluminação artificial. O ensaio foi realizado em triplicata, sendo a contagem das larvas mortas e vivas realizada após 24 horas. A água salina foi o controle negativo do experimento.

3.6 Ensaio larvicida frente a larvas de *Aedes aegypti*

O ensaio foi realizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, de acordo com a metodologia desenvolvida por GADELHA; TODA, 1985 e OLIVEIRA., *et al*, 2002 sob a coordenação da Profa. Dra. 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 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 DMSO a 1,5 %. Após 24 horas foi realizada a contagem das larvas exterminadas e calculada a CL₅₀.

3.7 Avaliação da atividade antioxidante

3.7.1 Ensaio com o DPPH

A preparação da solução de DPPH e ensaio de avaliação da atividade sequestrante do radical DPPH (2,2 – difenil-1- picril-hidrazila), seguiu a metodologia adaptada de Fernandes, 2017 e Rufino., *et al*, 2007. Para preparar 60 µM da solução de DPPH, pesou-se 2,4 mg de DPPH e dissolveu-se em álcool etílico P.A e completou-se o volume para 100 mL em um balão volumétrico, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram preparadas soluções alcoólicas dos extratos nas concentrações de 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, e 0,0312 mg/mL. Nas soluções preparadas adicionou-se 2 mL da solução de DPPH 60 µM, em temperatura ambiente, no escuro. Aguardou-se cerca de 30 minutos. Após 30 minutos foi realizada a leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro modelo T80 UV/Vis utilizando comprimento de onda 520 nm. As medidas

foram realizadas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm tendo o álcool etílico como branco. As medidas das absorbâncias foram realizadas em triplicatas em intervalos 1 min entre cada leitura.

A percentagem de inibição ou atividade de eliminação de radicais livres foi calculada através da seguinte formula;

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{(\text{Abs DPPH} - \text{Abs amostra})}{\text{Abs DPPH}} \times 100 \dots\dots\dots \text{Equação 01}$$

Onde

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

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

A determinação da concentração inibitória (IC₅₀) também é uma das maneiras de expressar a atividade antioxidante pelo método do sequestro de radical livre DPPH (PRADO, 2009).

O valor de IC₅₀ (mg/mL) é a concentração necessária para inibir 50% do radical livre de DPPH inicial que foi calculada através de regressão linear e da equação da reta do gráfico.

Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os valores da média de três repetições (n=3) ± desvio padrão (r) da média foram calculados utilizando o programa de cálculo percentagem de inibição (IC₅₀).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção dos extratos

As folhas secas de *Terminalia catappa* Linn foram trituradas obtendo-se 353,8 g de material vegetal seco. A Tabela 01 mostra as massas e os rendimentos obtidos dos extratos hexânico e etanólico das folhas *T. catappa* Linn.

Tabela 01- Massa total e o rendimento dos extratos hexânico e etanólico das folhas *T. catappa* Linn.

Espécie	Material vegetal seco	Extrato	Massa (g)	Rendimento %
		EHFTC	4,21	1,19
<i>T.catappa</i> Linn	353,8 g	EEFTC	38,2	10,79

Fonte: Autor, 2017

EHFTC: Extrato hexânico das folhas de *Terminalia catappa* Linn

EEFTC: Extrato etanólico das folhas de *Terminalia catappa* Linn

4.2 Identificação dos metabólitos secundários

De acordo com os resultados obtidos, observou-se a presença de algumas classes de metabólitos secundários e ausência de outras nas folhas de *T. catappa* Linn. Verificou-se as mesmas classes de metabólitos em ambos os extratos. Os metabólitos secundários presentes foram Taninos, Triterpenóides, Esteróides e Alcaloides.

Os taninos podem ser caracterizados por reações de coloração (azul escuro) ou turvação ou precipitação escura quando reage com solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl_3). As plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas enfermidades. Os taninos ajudam no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora (complexo tanino proteína e polissacarídeo) sobre a pele ou mucosa danificada (SILVA, 2007).

O principal teste analítico para identificação de esteroides nos extratos hexânico e etanólico das folhas *T. catappa* Linn foi reação de Liebermann- Burchard. Os esteróides são caracterizados por reações de coloração (parda a vermelha) que sugere a presença de triterpenóides pentacíclicos livres (MATOS, 2009). Os esteroides são formados a partir dos triterpenos por meio de descarboxilações (ALMEIDA., *et al*, 2015). As principais propriedades biológicas e farmacológicas dos esteroides estão no desenvolvimento e controle do sistema reprodutor humano, cardiotônicos, precursores de vitamina D, anticoncepcionais orais e agente anti-inflamatórios RODRIQUES., *et al*, 2010; BESSA., *et al*, 2013. Já os triterpenos possuem efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (BESSA., *et al*, 2013).

Verificou-se precipitação no teste de verificação de alcalóides tanto o extrato hexânico quanto no etanólico com o reagente Dragendorff. Porém com o reagente Mayer apenas o extrato hexânico ocorreu leve turvação. Os alcalóides podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal, contudo em um ou mais órgãos haverá um acúmulo preferencial destas substâncias. Tem sido observado que muitas plantas produtoras de alcalóides são evitadas por animais ou insetos em sua dieta, isto certamente devido a sua toxicidade ou o fato de a maioria dos alcalóides terem gosto amargo (HENRIQUES; KERBER; MORENO, 2001).

Foram realizados ensaios fitoquímicos para analisar os extratos obtidos das folhas de *T. catappa* Linn. Os resultados obtidos estão descritos na **Tabela 02** e nas **Figuras 08 e 09**.

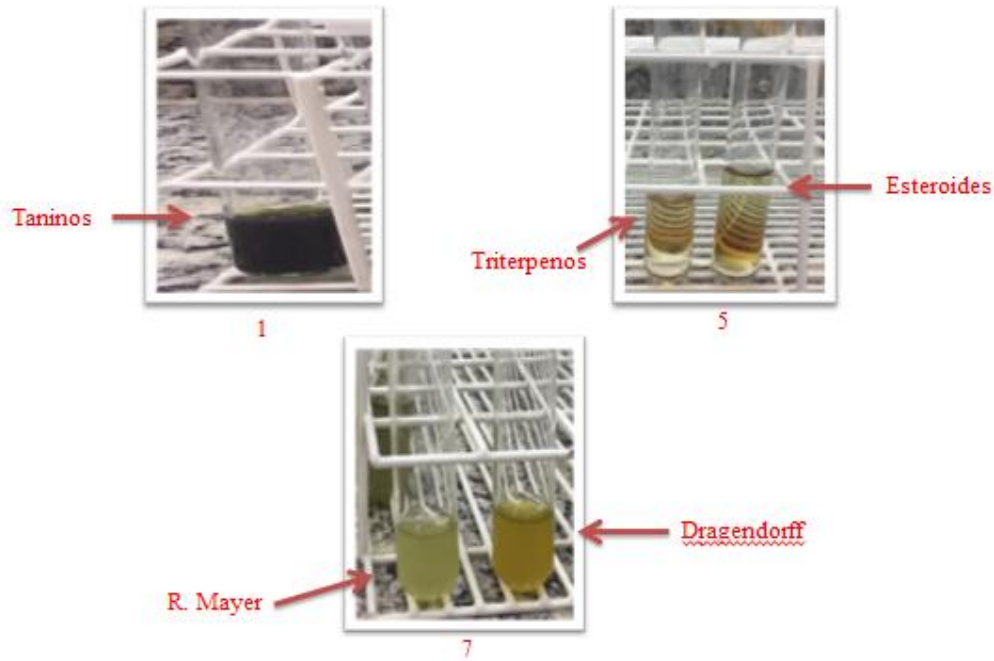
Tabela 02- Resultados da abordagem fitoquímica presente dos extratos hexânico e etanólico das folhas *T. catappa* Linn.

No	Teste	Reagentes	EHFTC	EEFTC
1	Taninos	Cloreto férrico 10%	+++	+++
	Fenóis	Cloreto férrico 10%	-	-
2	Antocianinas	Ácido clorídrico 1 M pH= 3	-	-
	Antocianidinas	Hidróxido de sódio 10% pH = 8,5	-	-
	Flavonoides	Hidróxido de sódio 10% pH = 11	-	-
3	Leucoantocianidinas	Ácido clorídrico 1 M pH= 1-3	-	-
	Catequinas	Hidróxido de sódio 10% pH = 11	-	-
	Flavonas		-	-
4	Flavonóis		-	-
	Flavononas	Ácido clorídrico concentrado	-	-
	Flavononois	Magnésio granulado	-	-
	Xantonas		-	-
5	Triterpenos	Liberman Bouchard	++	++
	Esteroides	Liberman Bouchard	+++	+++
6	Heterosideos saponicos	Diclorometano	-	-
7	Alcaloides	Reagente Mayer	+	-
		Reagente Dragendorff	++	+

Fonte: Autor, 2017

PARAMETROS: ausente (-), fraco (+), médio (++), forte (+++).

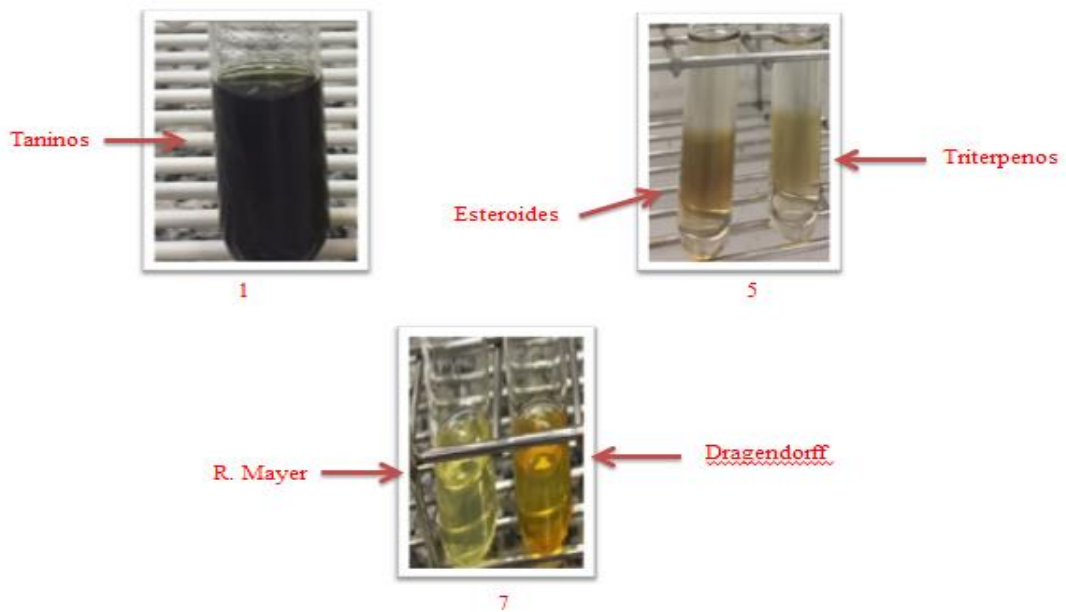
Figura 08- Análise fitoquímica do extrato hexânico das folhas *T. catappa* L



Fonte: Autor, 2017

1. Taninos 5. Triterpenos e esteroides 7. Alcaloides (Mayer. Dragendorff).

Figura 09- Análise fitoquímica do extrato etanólico das folhas *T. catappa* Linn



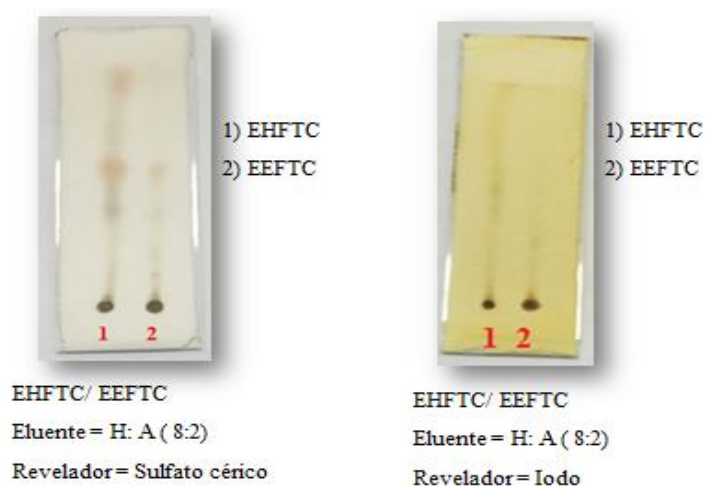
Fonte: Autor, 2017

1. Taninos 5. Triterpenos e esteroides 7. Alcaloides (Mayer. Dragendorff).

4.3 Cromatografia em camada delgada (CCD)

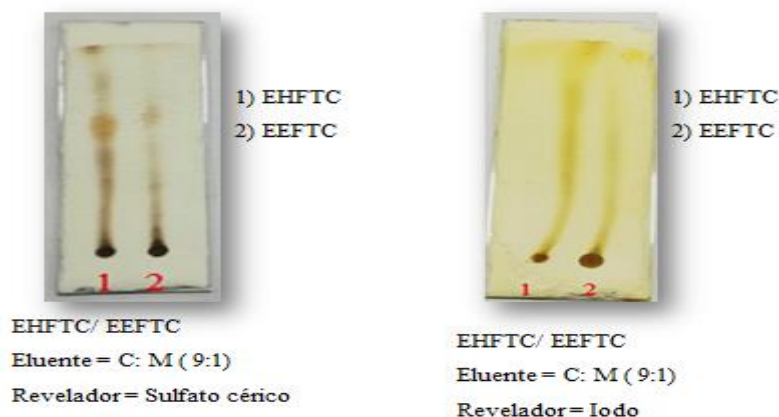
A análise da cromatografia em camada delgada dos extratos hexânico e etanólico eluidos com hexano- acetato de etila (8:2) e clorofórmio- metanol (9:1) utilizando sulfato cérico como revelador mostrou manchas nas colorações azul, rosa e laranja sugerindo a presença de triterpenos, esteroides e alcaloides, respectivamente (CHAVES, 1997). As cromatoplasmas estão ilustradas nas figuras 10 e 11.

Figura 10- Cromatoplasmas dos extratos hexânico e etanólico das folhas *Terminalia catappa* Linn.



Fonte: Autor, 2017

Figura 11- Cromatoplasmas com os extratos hexânico e etanólico das folhas *Terminalia catappa* Linn.



Fonte: Autor, 2017

De acordo com (SIQUEIRA; SILVA; AZEVEDO; BJERK, 2003) os vapores de iodo constituem um revelador de substâncias quimicamente diferentes como aminoácidos, lipídeos, açúcares, vitamina C, fenóis etc. os vapores de Iodo são absorvidos pela fase estacionária e pelas substâncias cromatografadas. Compostos altamente saturados são revelados como manchas claras sobre um fundo marrom, enquanto os saturados mostram um marrom mais escuro.

4.4 Análise da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi avaliada através do método DPPH nos extratos hexânico e etanólico das folhas *Terminalia catappa* Linn. O DPPH possui coloração púrpura ou violeta com absorção máxima na região de 515 nm a 528 nm, tornando-se amarelo após receber átomos de hidrogênio proveniente da espécie antioxidante, através de uma reação de oxirredução. Esse método é baseado na captura dos radicais livres de DPPH (2,2- difenil-1-picril- hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo na absorbância em 515 nm. O radical livre reage com doadores de hidrogênio, na presença de substâncias antioxidantes e este doadores recebem H^+ , sendo então reduzidos (SILVA., *et al*, 2013).

A relação entre a concentração e absorbância dos extratos hexânico e etanólico das folhas *T. catappa* Linn no consumo de DPPH, mostrou que o extrato etanólico (84,773%) tem um potencial antioxidante maior do que o extrato hexânico (81,650%), tomando como base a concentração de 1 mg/mL. Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua IC_{50} e maior a eficiência antioxidante e quanto maior a concentração da amostra menor será absorbância e maior o consumo de DPPH (NASCIMENTO., *et al*, 2011).

O valor IC_{50} do extrato hexânico das folhas foi calculado por meio da análise da regressão linear entre a concentração do extrato vs % de inibição. A equação da reta foi $y = 73,012 x + 12,557$ onde y representa % de inibição e x a concentração do extrato com (r) de 0,9635 na qual a IC_{50} do extrato hexânico foi de 0,512 mg/mL e do extrato etanólico de 0,00687 mg/mL. (SILVA., *et al*, 2011).

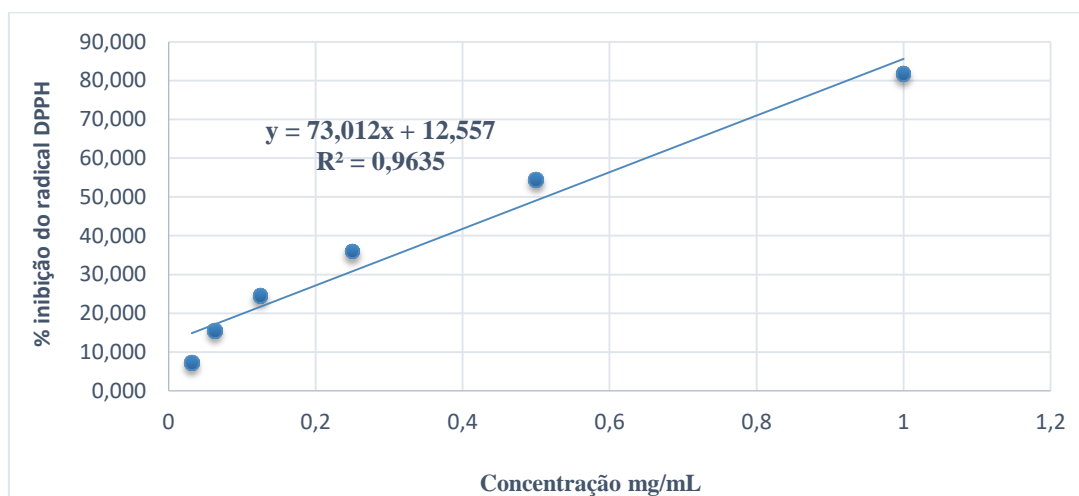
Os resultados das atividades antioxidante do extrato hexânico (**Tabela 03, Gráfico 01 e Figura 12**) e etanólico das folhas *T. catappa* (**Tabela 04, Gráfico 02, Figura 13**) estão mostrado abaixo.

Tabela 03: Atividade de antioxidante do extrato hexânico das folhas *T. catappa* Linn

Concentração (mg/mL)	Abs ($\lambda = 520$ nm)	% inibição	r	IC ₅₀ (mg/mL)
1	0,125	81,650	$\pm 0,0047$	0,512
0,5	0,312	54,319	$\pm 0,003$	
0,25	0,438	35,920	$\pm 0,0015$	
0,125	0,516	24,500	$\pm 0,0025$	
0,0625	0,577	15,569	$\pm 0,0025$	
0,0312	0,634	7,125	$\pm 0,0015$	
DPPH	0,683	0	$\pm 0,0000$	

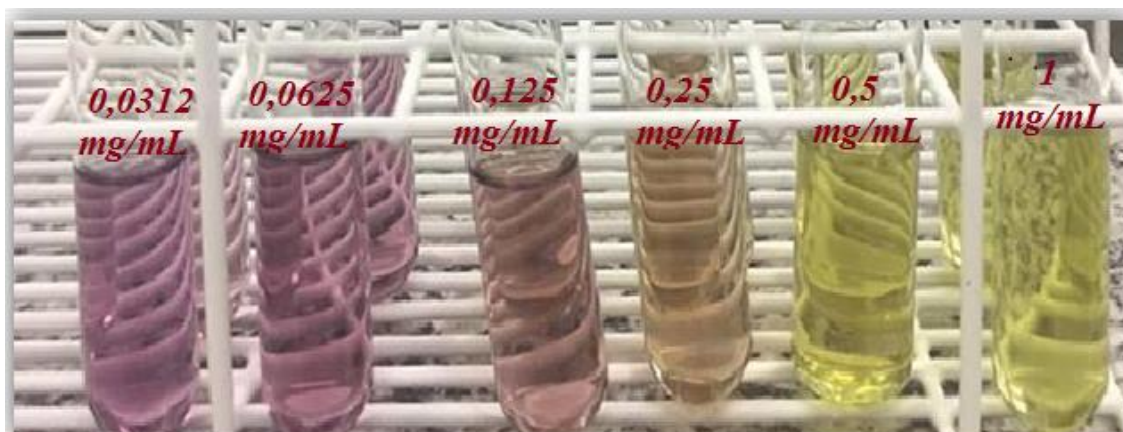
Fonte: Autor, 2017

Gráfico 01: Porcentagem de inibição do radical DPPH em relação das concentrações de amostra do extrato hexânico das folhas *T. catappa* Linn



Fonte : Autor, 2017

Figura 12: Atividade antioxidante do extrato hexânico avaliado pelo metodo de DPPH



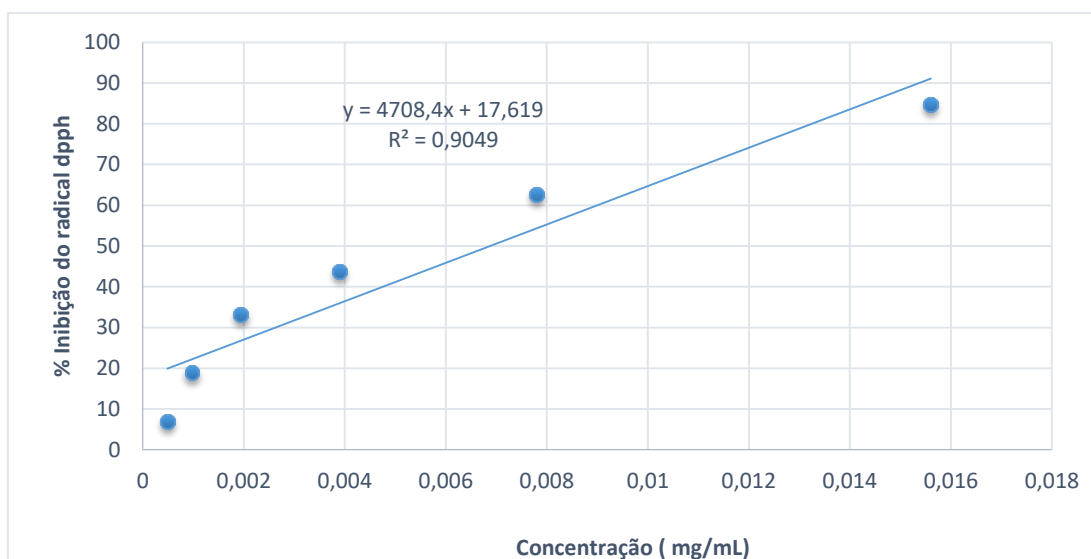
Fonte : Autor, 2017

Tabela 04; Atividade de antioxidante do extrato etanólico das folhas *T. catappa*.

Concentração (mg/mL)	Abs ($\lambda = 520 \text{ nm}$)	% inibição	r	IC ₅₀ (mg/mL)
0,0156	0,104	84,773	$\pm 0,0017$	0,00687
0,0078	0,255	62,616	$\pm 0,0025$	
0,0039	0,383	43,875	$\pm 0,0005$	
0,00195	0,456	33,187	$\pm 0,0037$	
0,000975	0,554	18,887	$\pm 0,002$	
0,000488	0,635	6,979	$\pm 0,0025$	
DPPH	0,683	0	$\pm 0,0000$	

Fonte: Autor, 2017

Gráfico 02: Porcentagem de inibição do radical DPPH em relação das concentrações de amostra do extrato etanólico das folhas *T. catappa* Linn



Fonte : Autor, 2017

Figura 13: Atividade antioxidante do extrato etanólico avaliado pelo metodo de DPPH



Fonte: Autor, 2017.

4.5 Teste toxicidade frente a *Artemia salina*

Passado 24 horas de incubação das larvas de *Artemia salina*, realizou-se a contagem de exemplares de *Artemia salina* vivas e mortas sendo o percentual de sobrevivência calculado através da seguinte fórmula.

$$\% \text{ mortalidade} = \frac{x-y}{100-y} \times 100 \dots\dots\dots \text{Equação 02}$$

Onde

M= porcentagem de mortalidade

x = número de organismos mortas

y = numero de total de organismo no tubo

A relação entre dose e mortalidade, e o calculo da DL₅₀ foi através do Probit Analysis. De acordo com (AMARANTE, et al. 2011) o grau de toxicidade é dado da seguinte forma: baixa toxicidade quando a dose letal (DL₅₀) > 500 ppm; moderada para dose letal (DL₅₀) for entre 100 e 500 ppm e muito tóxico quando (DL₅₀) < 100 ppm.

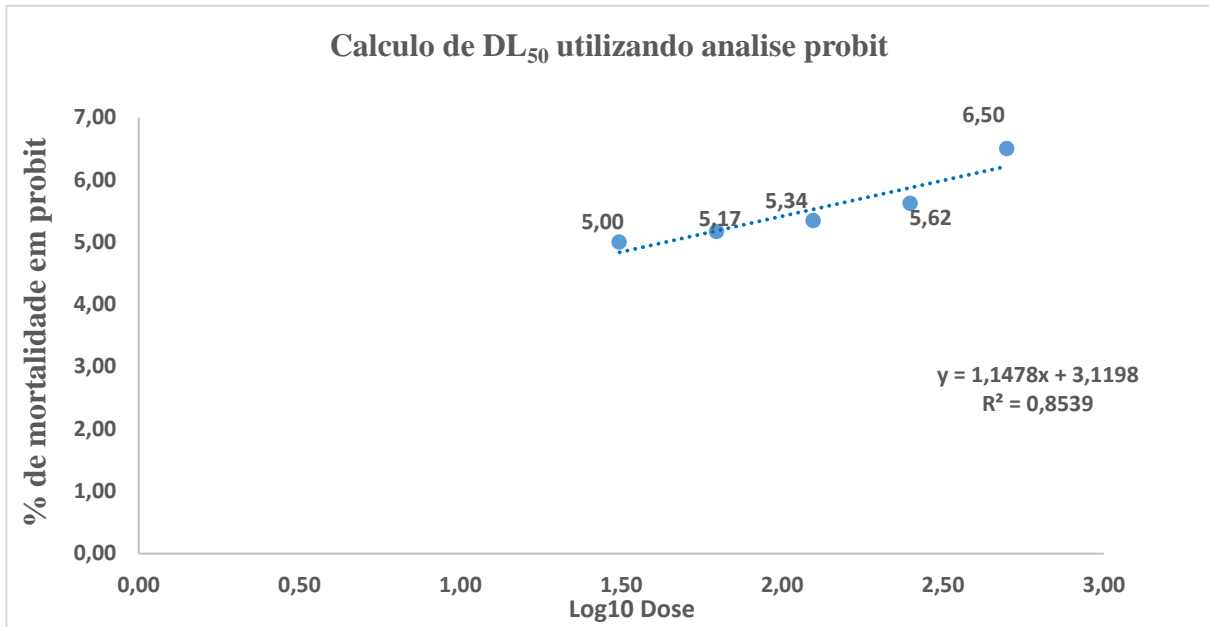
Os resultados dos testes de toxicidade frente *Artemia salina* dos extratos hexânico e etanólico das folhas estão mostrados na **Tabela 05, Gráfico 03 e Tabela 06, Gráfico 04.**

Tabela 05: Resultado do teste de toxidade do extrato hexânico das folhas *T. catappa* frente a *Artemia salina*.

Concentração (ppm)	Total larvas	Larvas mortas	% mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	30	30	100	87,671
250	30	24	80	
125	30	21	70	
62,5	30	19	63	
31,2	30	17	56	
Controle	30	0	0	

Fonte: Autor, 2017

Gráfico 03: Porcentagem de mortalidade de larvas *Artemia salina* em concentrações das amostras do extrato hexânico das folhas *Terminalia catappa* Linn analisado pelo programa probit analysis.



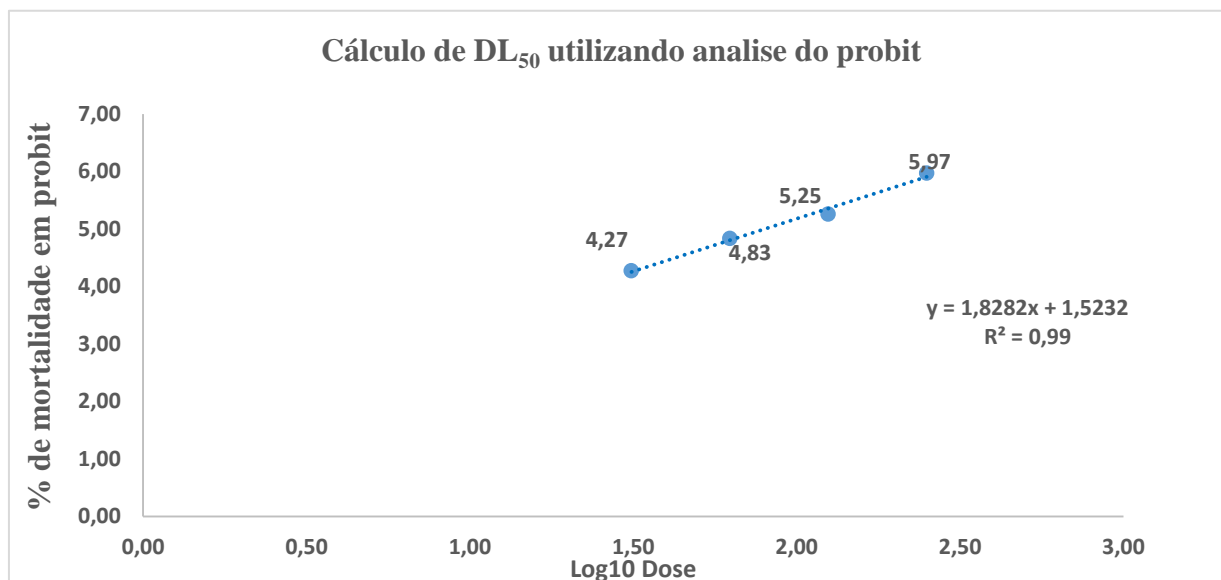
Fonte: Autor, 2017

Tabela 06: Resultado do teste de toxicidade do extrato etanólico das folhas *T. catappa* frente a *Artemia salina*.

Concentração (ppm)	Total larvas	Larvas mortas	% mortalidade	DL ₅₀ (ppm)
500	30	30	100	79,830
250	30	25	83	
125	30	18	60	
62,5	30	13	43	
31,2	30	7	23	
Controle	30	0	0	

Fonte: Autor, 2017

Gráfico 04: Porcentagem de mortalidade das larvas *Artemia salina* nas concentrações das amostras do extrato etanólico das folhas *Terminalia catappa* Linn analisado pelo programa de probit.



Fonte: Autor, 2017

Os resultados obtidos com os extratos hexânico e etanólico das folhas *Terminalia catappa* Linn, foram bastante significativos, pois a dose letal (DL₅₀) foi de 79,830 ppm para o extrato etanólico e 87,671 ppm para o extrato hexânico. De acordo com AMARANTE., *et al*, 2011 considerou-se tanto o extrato hexânico quanto o etanólico altamente tóxicos. Estudos relatam que a toxicidade sobre *Artemia salina* está relacionado com atividades anticancerígena, antifúngica e antimicrobiana.

4.6 Citotoxicidade in vitro

Os resultados da atividade citotóxica para os extratos frente a três linhagens de células de câncer humano estão mostrados na **Tabela 07**. Somente EHFTC destacou-se por apresentar forte atividade citotóxica (% RVC > 80,00%) nas três linhagens celulares de câncer humano (SF-295, HCT-116, PC-3).

Tabela 07: Citotoxicidade das amostras em linhagens celulares de câncer humano testadas em concentração única (50 mg/mL).

Linhagem Celular									
Amostra	SF-295 (glioblastoma)			HCT-116 (carcinoma de cólon)			PC-3 (adenocarcinoma de próstata)		
	% RVC ^a	EPM	A*	% RVC	EPM	A	% RVC	EPM	A
EEFTC	11,60	2,34	PA	0,00	0,00	SA	9,18	2,59	PA
EHFTC	83,78	3,50	MA	98,88	1,69	MA	88,50	2,24	MA

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

5. CONCLUSÃO

A abordagem fitoquímica dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Terminalia catappa* L. revelaram a possível presença dos seguintes constituintes taninos, triterpenoides, esteroides e alcaloides, que foram corroborados pela análise em CCD dos extratos obtidos. Ressalta-se a presença de metabólitos importantes que possuem diversas propriedades farmacológicas já comprovadas e relatadas na literatura.

Os extratos hexânico e etanólico das folhas foram submetidos ao teste larvicida frente as larvas de *Aedes aegypti* e não apresentaram resultados significativos. No entanto, os extratos hexânico e etanólico mostram-se altamente tóxicos no ensaio de toxicidade frente a larvas de *Artemia salina*.

No ensaio de atividade antioxidante com DPPH, o extrato etanólico (84,773 %) das folhas apresentou um potencial maior do que o extrato hexânico (81,650 %) na concentração de 1mg/mL.

O extrato hexânico das folhas de *Terminalia catappa* L. mostrou resultados bastante satisfatório no teste de citotoxicidade *in vitro* em três linhagens de células tumorais (carcinoma de cólon - 98,88%, adenocarcinoma de próstata – 85,50% e glioblastoma – 83,78%).

Os resultados obtidos poderão direcionar para o fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das folhas de *Terminalia catappa* L. na busca de princípios ativos que corroborem com os resultados já alcançados. Desta forma, destacamos a contribuição deste estudo para o conhecimento quimiotaxonômico do gênero *Terminalia* e da família Combretaceae.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, Helaine Mirelli de; OLIVEIRA, Francisco Fábio. M; FALCÃO, Dayseanne Araújo. **Análise fitoquímica dos extratos hidroalcoólico da entrecasca e da folha de *Pseudobombax marginatum* (St. Hill) Rob.** Blucher Chemistry Proceedings, vol.3, n.1. Rio Grande do Norte. 2015.
- ALVES, Clayton Q; DAVID, Jorge M; DAVID, Juceni P; BAHIA, Marcus V; AGUIAR, Rosane M. **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos.** Química Nova, Vol.33, no. 10, 2202-2210. 2010.
- AMARANTE, Cristine Bastos do; MULLER, Adolfo Henrique; POVOA, Marinete Martins; DOLABELA, Maria Fani. **Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente a *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*).** Acta Amazonica, vol.3, no 3, 431-434. 2011.
- ANAND, A. V; DIVYA, Natarajan; KOTTI, P.P. **An updated review of *Terminalia catappa*.** Pharmacogn. Rev, v. 9(18). 2015
- ANNEGOWDA, H. V.; NEE, C. Ween.; MORDI, M. N.; RAMANATHAN, S.; MANSOR, S. M. **Evaluation of phenolic content and antioxidant property of hydrolysed extracts of *Terminalia catappa* L. Leaf.** Asian journal of plant sciences. 9 (8): 479-485, 2010. ISSN 1682-3974. 2010
- ANURACPREEDA, Panat; CHAWENGKIRTTIKUL, Runglawan; NGAMNIYON, Arin, PANYARACHUN, Busaba. **The in vitro anthelmintic activity of the ethanol leaf extracts of *Terminalia catappa* L. on *fasciola gigantica*.** Cambridge University Press, v. 144, Issue 14, p. 1931-1942, 2017.
- ARANHA, Elenn suzany pereira. **Avaliação do potencial anticâncer in vitro de óleos essenciais de plantas do gênero *Eugenia*.** Manaus. 2014
- BABA-MOUSSA, F; AKPAGANA, F. K; BOUCHET, P. **Antifungal activities os seven West African Combretaceae used in traditional medine.** Journal of Ethnopharmacology. V.66(3), p. 335-338, 1999
- BABAYI, H; KOLO, I; OKOGUN, I. J; IJAH, J. J. U. **The antimicrobial activities os methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some**

pathogenic microorganisms. Nigerian society for experimental biology. *Biokemistri* 16(2): 106-111, 2004

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **O uso de matérias-primas vegetais para a síntese de fármacos.** Porto Alegre, 2001.

BATISTA, Ana Lucia. **Avaliação da atividade antimicrobiana e antiradicalar dos extratos e substâncias dos frutos de *Buchenavia tomentosa* Eicher (Combretaceae) e *Ouratea epectabilis* Aubl (Ochnaceae).** Campo grande. 2011

BATISTA, Tatiana Araújo. **Plano de ação para prevenção da dengue na área de abrangência de uma ESF na cidade de Araxá.** Uberaba MG. 2014

BERLINCK, Roberto G. S; BORGES, Warley de S; SCOTTI, Marcos. T; VIEIRA, Paulo. C. **A química de produtos naturais do Brasil do século XXI.** *Química Nova*, vol. 40, no. 6, p. 706- 710, 2017.

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.

BESSA, N.G.F. de., et al. **Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde-Tocantins.** *Revista Brasileira Plantas Medicinai*s. Campinas, v. 15, n. 4, supl.I p. 692 – 707, 2013.

BEZERRA, Anne Milane Formiga; BEZERRA, Kévia Katiúcia Santos; BEZERRA, Wilma Katia Trigueiro; MEDEIROS, Altevir Paula de. **Evaluation of the antioxidante activity os substances in vegetables.** *INTESA* (Pombal- PB- Brasil), v. 8, n.2., p. 139 – 142, 2014.

BOROSKI, Marcela; VISENTAINER, Jesuí Vergílio; COTTICA, Solange Maria; MORAIS, Damila Rodriques de. **Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticos.** ISBN 979-85- 8192 - 730-5. CDD 20. Ed. – 612.01575. Editora Apriss, Curitiba- PR. 2015.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. **Aedes aegypti: histórico do controle no Brasil.** *Epidemiologia e serviços de saúde* 2007; 16 (2): 113-118.

BRESCIA, Peter; BANKS, Peter. **Quantifying cytotoxicity of thioestrepton on mesothelioma cells using MTT assay and the epoch microplate spectrophotometer**. Biotek Inc., Winooski, 2009.

BUENO, Ariele Cardoso; PIOVEZAN, Marcel. **Bioensaio toxicológico utilizando Artemia salina: Fatores envolvidos em sua eficácia**. Santa Catarina, 2015.

CABRAL, Ana Lucia Guedes Silveira. **Constituintes químicos e atividade farmacológica de Combretum duarceanum cambes (Combretaceae)**. João Pessoa. 2013.

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

COELHO, Andre A. M; PAULA, José E. de; ESPINOLA, Laila 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, Luis Paulo de Sousa. **Documentação química e farmacológica de espécies vegetais do cerrado e caatinga Piauiense**. Piauí, 2014.

CRAGG, Gordon M; NEWMAN, David J. **Natural products: A continuing source of novel drug leads**. NIH Public Access Autor Manuscript: Biochim Biophys Acta. 2013.

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

DIVYA, N.; ANANDA, V. **In vitro antioxidante activity of ethanolic extract of Terminalia catappa leaves**. Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research. Innovare academic sciences knowledge to innovation. ISSN. 0974-2441, 2015.

FERNANDES, Otavio Lisboa Guterres. **Estudo fitoquímico, avaliação da atividade antioxidante e biologia da espécie Jasmin (Plumeria rubra L)**. Acarape 2017.

FERREIRA, Vitor F; PINTO, Angelo C. **A fitoterapia no mundo atual**. Química Nova. Vol. 33. No. 9, 2829.2010.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. N ° 6 – 2009.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. N° 11- 2010, p. 19.

FREITAS, Ana valéria lacerda de; COELHO, Maria de fatima babosa; AZEVEDO, Rodrigo Aleixo de; MAIA, sandra sely silveira. **Os raizeiros e a comercialização de plantas medicinais em são Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil**. Revista Brasileira de biociências. V. 10, n.2, p.147 – 156. Porto Alegre. 2012.

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

GLORIA, Elanne Costa. **Caracterização física químico de frutos de mirindiba (*Buchenavia tomentosa* Eichler) do cerrado tocantinense**. Gurupi, 2014.

HENRIQUES, A. T; KERBER, V.A; MORENO, P.R.H. **Alcaloides: generalidades e aspectos básicos in**. Porto Alegre, 2001.

IVANI, Silvia de Azevedo; SILVA, Breno Marques da; OLIVEIRA, Camila de; MORO, Fabíola Vitti. **Morfologia de frutos, sementes e plântulas de Castanheira (*Terminalia catappa* Linn- Combretaceae)**. Ver. Bras. Frutic., Jaboticabal – SP, v. 30, n. 2, p. 517 – 522, São Paulo, 2008.

JUNIOR, Claudio Viegas; BOLZANI, Vanderlan da Silva. **Os produtos naturais e a Química medicinal moderna**. Química Nova, vol. 29, no. 2, p. 326-337. Rio de janeiro. 2006.

JUNIOR, Valdir F. veiga; MACIEL, Maria Aparecida M. **PLANTAS MEDICINAIS : CURA E SEGURA**. Química Nova, Vol. 28, No. 3,519-528, 2005.

LEITE, Washington Luis Oliveira; FILHO, Abrahão Alves de Oliveira. **Avaliação farmacológica de produtos naturais no combate ao câncer**. Revista Interdisciplinar em Saúde, Cajazeiras, 1 (2): 192-211, 2014.

LIMA, J. M; SILVA, C. A; ROSA, M. B; SANTOS, J. B; OLIVEIRA, T. G. **Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o Microcrustáceo *Artemia salina***. Planta daninha, Viçosa- MG, v. 27, n. 1, p. 7 – 11, 2009.

LIMA, Rosalia Maria Torres. Fruto castanhola (*Terminalia catappa* Linn): **compostos bioativos, atividade antioxidante, e aplicação tecnologia**. Teresina, 2012.

LINSINGEN, Von Leonardo; CERVI, Armando Carlos; GUIMARÃES, Olavo. **Sinopse taxonômica da família Combretaceae R. Brown na Região sul do Brasil**. Acta bot, Bras. 23 (3): 738-750. 2009.

MACIEL, Maria Aparecida M; PINTO, Angelo C; JR, Valdir F Veiga. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares**. Química Nova, vol.25, no. 3, p. 429 – 438. Rio de Janeiro. 2002.

MARTINS, Xisto; HENRIQUES, Pedro damião de Sousa. **Contribuição para o estudo do valor socioeconômico e cultural das plantas medicinais de Timor- Leste**, 2014.

MARTINS, Xisto; HENRIQUES, Pedro Damião de Sousa. **Contribuição para estudo do valor socioeconômico e cultural das plantas de Timor- Leste**. Évora, 2014.

MASOKO P, ELOFF JN. **Bioautography indicates the multiplicity of antifungal compounds from twenty four southeen African Combretum species (Combretaceae)**. African J. Biotechnol. 2006; 5(18) 1625- 1647.

MASOKO, P; PICARD, J; ELOFF, J, N. **Antifungal activity of twenty- four South Africa Combretum species (Combretaceae)**. In press, African journal of Botany, 2006.

MATOS, Fransisco Jose de. Abreu. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3 ed. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2009

MININEL, Francisco José; **Estudo fitoquímico de extratos polares e impulsão das folhas de *Terminalia catappa* Linn (Combretaceae) e avaliação das suas atividades antiulcerogênica e mutagênica**. Tese (doutoramento em Química). Universidade estadual Paulista. p. 25-159, Araraquara-SP, 2015.

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

MOURA, Lílian Maria. **Compostos bioativos em frutas cítricas: quantificação, avaliação da atividade antioxidante, parâmetros de cor e efeito da pasteurização**. M929c. CAPES: 50700006. Araraquara- SP, 2010.

NASCIMENTO, Juliana couto,. et al. **Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L**. Revista Brasileira de farmácia. 92(4): 327-332. Belo horizonte, 2011.

NETO, Leonardo Gobbo; LOPES, Norberto P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabolitos secundários**. Química Nova. Vol.30, no. 2, p. 374-381, SP. 2006

NETO, Raimundo Luciano Soares; CORDEIRO, Luciana Silva, LOIOLA, Maria Iracema Bezerra. **Flora do Ceará: Combretaceae**. Rodriguésia, 65 (3): 685 – 700. 2014

OLIVA, Luciana Oliveira. **Distribuição dos ovos em Aedes aegypti (L) (Diptera: Culicidae): efeito da idade da fêmea, posturas prévias e tipo de criadouro**. Pernambuco, 2011.

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**. Na. Acad, Bras. Cienc., 74, 2, 211- 221, 2002.

PAULA, Andréia Alves de. **Caracterização físico- química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da Terminalia catappa Linn**. Itapetinga, 2008.

PEITRO, Cocaro et. al : **Avaliação fitoquímica pro cromatografia em camada delgada das folhas caídas de Terminalia catappa Linn (Combretaceae)**. Biociência p. 110 vol.2. UNISANTANA. 2013

PITA, João Carlos Lima Rodrigues. **Avaliação da atividade antitumoral e toxicidade do trachylobano-360 de xylopia langsdorffiana st. Hil & tul (Annonaceae)**. João pessoa. 2010

POONGULALI, Sundaram; SUNDARARAMAN, Muthuraman. **Antimycobacterial, anticandidal, and antioxidante properties of Terminalia catappa and analysis of their bioactive chemicals**. International jornal of pharmacy and biological sciences. ISSN: 2321-3272(print), ISSN: 2230-7605(online). IJPBS, v. 6(2). 69-83. 2016.

PRADO, Adna. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação (mestrado), Escola Superior de Agricultura. CDD. 664. 8046, P896c. Piracicaba, 2009.

RODRIQUES, K. A. F; DIAS, C. N; FLORÊNCIO, J. C; VILA NOVA, C. M; GONSALVES, J. R. S; MORAES, D. F.C. **Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de Momordica charantia L**. Cad. Pesq, São Luis, v.17, n.2, 2010.

RUFINO, Maria do socorro moura,. *et al*. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre**

RUIZ, A. L., et al: **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.

SANTOS, Humberto Artur Silva, et al., **Avaliação da atividade relaxante do extrato etanólico bruto obtido de Erythroxyllum caatinga, Erythroxyllum subrotundum e Erythroxyllum revolutum (Erythroxyllaceae) em traquéia isolada de cobaia**. Evolvere Science, v. 1, n.1, p. 119-133, 2013.

SANTOS, Maria Alice Varjal de Melo. **Aedes aegypti: Estudos populacionais e estratégias integradas para controle vetorial em municípios da região metropolitana do recife, no período de 2001 a 2007**. Tese (Doutorado em saúde publica). Recife 2008

SANTOS, Maria de Fátima. **Potenciais alelopáticos e antioxidantes de *Portulaca oleracea* L. E *Raphanus raphanistrum* L.** Lavras: UFLA, 2016.

SANTOS, Orquídea Vasconcelos dos; LORENZO, Natasha Dantas; LANNES, Suzana Caetano da Silva. **Chemical, morphological, and thermogravimetric of *Terminalia catappa* Linn.** Food Science and Technology. ISSN 0101-2061. USP, São Paulo, 2015.

SILVA, Carlos Henrique tabosa pereira da. **Validação de metodologia analítica para matéria prima e produto acabado contendo *stryphodendron adstringens* (Martins) Coville**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de pernabuco. 2007.

SILVA, Celia eliana de lara da,. et.al. **Avaliação da atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos em extratos metanólico obtido de folhas da *Commiphora Myrrha***. Semina: ciências Exatas e Tecnológica. V.34, n.1, p.117- 124. Londrina, 2013.

SILVA, Laísa Pinheiro da. **Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos nas atividades antiulcerogênica e cicatrizante do extrato etanólico obtido a partir das folhas de *Terminalia catappa* L. (Combretaceae)**. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu. Botucatu- SP. 2012.

SILVA, Roberta S; VENDRUSCOLO, João L; TORALLES, Ricardo P. **Avaliação da capacidade antioxidante em frutas produzidas na região sul do RS**. Revista. Bras. Agrocência, pelotas, 2011. v.17, n.34, p. 392-400.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, EP; GOSMANN, G., et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, p. 229 – 615, 2010.

SIQUEIRA, Antônio joãos á de; SILVA; AZEVEDO, José Fernando de; BJERK. **Introdução a cromatografia com ênfase em material biológico**. ISBN: 85-7430-362-3. CDD 544.925, p. 93. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003.

SKEHAN, P; STORENG, R; SCUDIERO, D; MONKS., et al. **New colorimetric cytotoxicity assay for anticâncer – drug sareening**. J. Natl. Câncer Inst., 82(13): 1107-1112, 1990.

SOARES, W. S; REGO, M. M; REGO, E. R; BARROSO, P. A; MEDEIROS, L. R. N. **Caracterização de frutos e sementes em acessos de maracujá Silvestre (*Passiflora foetida* L.)** Rev. Bras. Pl. Med. Botucato, v. 13, especial, p. 569-573, 2011.

SOUTO, Augusto Lopes. **Constituintes químicos de combretum fruticosum (loefl) Stuntz (Combretaceae)**. Dissertação (Mestrados em farmacoquímica). UFPB/CCS. João Pessoa, 2011.

THOMSON, Lex A. J; EVANS, Barry. ***Terminalia catappa* (tropical almond). Species profiles for pacific Island agroforestry: permanent agriculture resources (PAR)**. 2006.