

Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas da espécie *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae)

Nildo Tavares Oliveira¹, Sheylla Susan Moreida da Silva de Almeida^{2*}

1. Graduando em Farmácia. Departamento de Ciências da Saúde. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica. Universidade Federal do Amapá. Rod. Juscelino Kubitschek, KM-02, Jardim Marco Zero - CEP 68.902-280, Macapá-AP, Brasil.

2. Doutora em Química de Produtos Naturais. Professora de farmacognosia e Fitoquímica. Curso de Farmácia. Departamento de Ciências da Saúde. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica. Universidade Federal do Amapá. Rod. Juscelino Kubitschek, KM-02, Jardim Marco Zero - CEP 68.902-280, Macapá-AP, Brasil.

*Autor para correspondência: sheyllasusan@yahoo.com.br

RESUMO. A utilização popular das plantas medicinais para promover a cura de várias enfermidades ocorre há vários séculos. A família Apocynaceae tem sido estudada extensivamente devido à citotoxicidade de seus componentes químicos. O gênero *Ambelania* abriga várias espécies, dentre elas *Ambelania acida* Aubl., nativa da Amazônia, conhecida popularmente como pepino-do-mato, papaia-do-veado-vermelho. É utilizada como expectorante a partir do látex e laxante a partir da fruta. A pesquisa teve como objetivo realizar análise fitoquímica, atividade citotóxica frente à *Artemia salina* e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas de *A. acida*. A prospecção fitoquímica foi realizada segundo metodologias proposta por Barbosa, onde indicou a presença de alcaloides, esteroides, triterpenoides, fenóis, taninos, açúcares redutores e resinas o que demonstra bom potencial para estudos. A avaliação citotóxica foi realizada segundo o método de Meyer adaptado por Nunes, em várias concentrações, onde o extrato bruto etanólico apresentou $CL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ possivelmente pela presença de alcaloides. A ação antimicrobiana foi realizada através do método de Kirby-Bauer frente às cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, em que não houve inibição nas concentrações testadas.

Palavras-chave: Plantas medicinais, metabólitos secundários, atividade biológica, extrato bruto.

Phytochemical analysis, Cytotoxic and Antimicrobial from Crude Ethanol Extract from Species of Leaves *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae)

ABSTRACT. The popular use of medicinal plants to promote healing of various ailments occurs for several centuries. The Apocynaceae family has been studied extensively due cytotoxicity to its chemical components. The *Ambelania* gender houses several species, among them *Ambelania acida* Aubl., native to the Amazon, popularly known as cucumber of the woods, papaya-the-red deer. It is used as an expectorant from the latex and laxative from the fruit. The research aimed to perform phytochemical analysis, cytotoxic activity on *Artemia salina* and antimicrobial crude ethanol extract of the leaves of *A. acida*. The phytochemical screening was performed according to methods proposed by Barbosa, which indicated the presence of alkaloids, steroids, triterpenoids, phenols, tannins, reducing sugars and resins which shows great potential for study. The cytotoxic evaluation was performed according to the method of Meyer adapted by Nunes, at various concentrations, where the crude ethanol extract was $CL_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ possibly by the presence of alkaloids. The antimicrobial action was taken using the Kirby-Bauer method front of the strains of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, in which there was no inhibition at the concentrations tested.

Keywords: Medicinal plants; secondary metabolites; biological activity; crude extract.

1. Introdução

A utilização popular das plantas medicinais para promover a cura de várias enfermidades ocorre há vários séculos no mundo, sendo que mais recentemente seu uso tem se intensificado em razão do acesso, menor custo e menor toxicidade desde que sejam seguidas às precauções exigidas.

A utilização de plantas medicinais no tratamento de doenças ou na alimentação denotam antes da história registrada, e nas últimas décadas expandiu-se consideravelmente (CASTRO et al., 2009). Os antepassados tratavam-se com recursos da natureza, basicamente plantas, animais e minerais (CALIXTO et al., 2008).

O conhecimento popular continua a ser a base dos estudos acerca das plantas, contudo o mau uso de certas espécies como medicinais pode ser perigoso, causando desde leves efeitos colaterais, e mesmo a morte (BOSCOLO et al., 2008).

Os subsídios da utilização e os benefícios terapêuticos das plantas medicinais vêm sendo guardados há séculos e seu uso representa uma alternativa para o tratamento e cura das doenças no presente. Embora seu uso ter sua propagação ligada ao conhecimento popular, sem caráter

científico, lentamente vem ganhando destaque e inserido ao conhecimento científico (DANTAS et al., 2007).

Diante do grande hábito cultural e conhecimento popular sobre produtos naturais, é de importância fornecer a população informações que indicam o uso adequado e efeitos com comprovação científica destes produtos. Promovendo assim, saúde e bem estar. As análises preliminares ou avançadas suma são importantes para caracterizar as substâncias presentes e no controle de qualidade de um fitofármaco.

Com certeza, a principal contribuição para o desenvolvimento da terapêutica moderna foi à utilização das plantas medicinais, inicialmente pelos Egípcios, e que depois foi alastrando para outras regiões do mundo (CALIXTO et al., 2008).

Contudo, foi somente no século XIX que se iniciou a procura pelos princípios ativos presentes nas plantas medicinais, criando assim, os primeiros medicamentos com as características que nós os conhecemos atualmente (CALIXTO et al., 2008).

Simões (2004) comenta que plantas têm sido tradicionalmente utilizadas por populações em todos os continentes no controle de diversas doenças e pragas, sendo

reconhecidas mais de 13.000 espécies que são mundialmente consumidas como fármacos ou fonte de fármacos (COSTA et al., 2007).

Segundo Suffredini e Daly (2001) a possibilidade de substâncias com potencial farmacológico serem descobertas no Brasil é muito grande (ASSIS et al., 2009).

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. A toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer insignificante se comparada com o uso de medicamentos alopáticos, quando não se conhece suas propriedades. Entretanto, esse conceito é enganoso. Sua toxicidade é fonte de sérios problemas e envolve grande número de pessoas. Os efeitos adversos dos fitos-medicamentos, possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) ocorrem comumente. As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (VEIGA JR et al., 2005).

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, compreendendo mais de 50.000 espécies de plantas superiores (20-22% do total existente no planeta). Em função disso e, sobretudo pela grande tradição do uso das plantas medicinais pela medicina popular no Brasil, o interesse pelos estudos das propriedades medicinais das plantas, vem sendo explorado extensivamente pelos pesquisadores brasileiros e, mais recentemente, pela indústria farmacêutica, interessada em desenvolver novos medicamentos (CALIXTO et al., 2008).

Segundo Suffredini (2002), a Floresta Amazônica é um grande celeiro que abriga 20% da biodiversidade existente no planeta. Assim, a possibilidade de substâncias com potencial farmacológico serem descobertas no Brasil é muito grande (ASSIS et al., 2009).

Na floresta Amazônica estão inseridas muitas famílias e várias espécies com ação farmacológica, que são usadas pela população para o tratamento de muitas doenças.

Segundo Rapini (1994) a família Apocynaceae está inserida filogeneticamente na ordem Gentiales e subclasse Asteridae, e são caracterizadas normalmente pela presença de látex (PEREIRA et al., 2007). Rocha (1982) e Nicholas (1994) afirmam que essa família contém entre 3700 a 5100 espécies em 250 a 550 gêneros (PEREIRA et al., 2007). No Brasil ocorrem cerca de 95 gêneros e 850 espécies (LORENZI et al., 2008) sendo 32 destes encontrados apenas na Amazônia (PEREIRA et al., 2007).

Esta família é fonte de constituintes químicos de origem vegetal bastante usados na medicina contemporânea. Suas substâncias isoladas representam modelos de classes farmacológicas diferentes de drogas e fazem parte da história da Farmacologia e da Terapêutica (CORNELIUS et al., 2006).

A família Apocynaceae tem sido estudada extensivamente ao longo dos anos em relação à citotoxicidade de componentes químicos. Entre os mais conhecidos das plantas, produtos químicos e farmacêuticos, estão os metabólitos secundários, que no campo da medicina que tem propriedades comprovadas, são os alcaloides. Estes compostos foram isolados de várias partes de espécies da família Apocynaceae, principalmente sementes, cascas, folhas e caules (RODRÍGUEZ et al., 2008). Os alcaloides atuam como protetores químicos dos vegetais, e são responsáveis por diversos efeitos fisiológicos em animais e podem ter ação antimicrobiana. Alguns alcaloides são inseticidas e agem como repelentes em herbívoros (FUMAGALI et al., 2008).

Os produtos secundários têm um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes; essas moléculas contribuem para que as mesmas possam ter uma boa interação com os diferentes ecossistemas (FUMAGALI et al., 2008). Estes conferem resistência a uma espécie, atuando como antibióticos, antifúngicos e antivirais conferindo proteção às plantas sob ação de patógenos ou mesmo de outras plantas. Alguns metabólitos têm a função de absorver luz ultravioleta (UV) prevenindo danos à planta (FUMAGALI et al., 2008).

As Apocynaceae são ricas em glicosídeos e alcaloides, como dito anteriormente, especialmente nas sementes e látex. Entre as principais substâncias extraídas estão a leucocristina e a vincristina, utilizadas no tratamento do câncer (LORENZI et al., 2008).

O gênero *Ambelania* abriga várias espécies das quais são poucos os relatos disponíveis, na literatura especializada, que demonstrem o potencial biológico e farmacológico deste gênero, mesmo tendo em vista que a família Apocynaceae possui muitas espécies que já possuem comprovadas sua ação biológica e farmacológica.

Dentre as espécies deste gênero está *Ambelania acida* Aubl. conhecida popularmente como pepino-do-mato, papaia-do-veado vermelho (GRENAND et al., 2009). *Ambelania acida* ocorre em solos argila arenoso com uma espessa camada de húmus ou em semi-inundados, áreas como um arbusto ou árvore pequena, sub-bosque da floresta aberta alta ou vegetação secundária de altura conhecida como "capoeirão". São muito dispersas, geralmente apresentam-se como indivíduos isolados, mas podem ocorrer em densidades de até 3 - 4 plantas/ha (FAO, 1986).

Ambelania acida é nativa da Amazônia, mais frequentemente encontrada no estuário, mas com uma distribuição um pouco disjunta na parte norte da Amazônia, com algumas penetrações para as Guianas. Podem ser árvores arbustivas de 1-3 m e podem alcançar até 7-10 m (FAO, 1986).

Informações indicam que *A. acida* é usada popularmente como expectorante (FAO, 1986) e também como laxativa com a ingestão das frutas.

Apesar da *A.acida* Aubl. ser encontrada nos estados do Amapá, Pará, Roraima, Amazônia na região Norte, no estado do Maranhão no Nordeste ela é considerada não endêmica (FORZZA et al., 2010) a qual possui na literatura poucas informações acerca de sua eficácia farmacológica ou biológica e de seu grau de toxicidade no organismo.

Para se estabelecer a toxicidade de uma espécie vegetal em estudo, o ensaio de letalidade com o micro crustáceo *Artemia salina* é uma boa e barata alternativa, a qual ajuda a identificar compostos bioativos nestas plantas (NUNES, 2008).

Adicionalmente, alguns trabalhos mostram uma boa correlação entre o ensaio de letalidade com larvas de *A. salina* e a cito toxicidade em linhagens de células humanas para esses produtos (NUNES, 2008). São úteis em testes de toxicidade aguda por sua facilidade em formar cistos dormentes, seu manuseio e cultivo, e ser um bioindicador de avaliação toxicológica pré-clínica (OLIVEIRA et al., 2008).

Diante do exposto, esta pesquisa objetivou realizar a análise fitoquímica, antimicrobiana e citotóxica com *A. salina* Leach. (Artemiidae) do extrato bruto etanólico das folhas de *A. acida* Aubl.

2. Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada no laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica do curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá.

Coleta do Material vegetal

O material vegetal de *A. acida* Aubl. foi coletado na comunidade de Santa Luzia do Pacuí a 130 km de Macapá no estado do Amapá-Brasil. Onde o mesmo foi posto em uma prensa. Foram coletadas cerca 3 Kg das folhas da espécie.

Identificação do material

O material vegetal prensado foi levado ao Herbário do Laboratório de Botânica da Universidade Federal do Amapá-HUFAP para confecção de exsiccatas em triplicata e identificação, localizado no bloco de Ciências Biológicas. As exsiccatas foram identificadas no Herbário e encontram-se depositadas sob o número de registro 444 pela Curadora Profa. Dra. Wegliane Campelo da Silva Aparício (UNIFAP).

Preparação da amostra e obtenção do extrato

A estabilização, secagem, moagem foi realizada segundo a metodologia proposta por Falkenberg (2010).

As folhas de *Ambelania acida* Aubl., foram inicialmente fragmentadas mecanicamente. Os fragmentos (35 g) foram submetidos a um processo de extração etanólica (750mL) a quente sob refluxo por 45 min., por uma temperatura em torno de 45°C, sendo este processo realizado três vezes. Em seguida, o material foi filtrado e o extrato etanólico obtido concentrado em evaporador rotatório a aproximadamente 45°C sob pressão reduzida, em seguida o concentrado ficou ao ar livre para eliminação total do solvente, obtendo-se assim, o Extrato Bruto de Etanólico das folhas de *A. acida* Aubl. (EBEAA).

Análise Fitoquímica

Foram investigadas as seguintes classes metabólicas segundo a metodologia proposta de por Barbosa (2001): ácidos orgânicos, fenóis, taninos, polissacarídeos, açúcares redutores, flavonoides, alcaloides, esteroides, triterpenoides, saponinas espumídicas, depsídeos e depsídonas, purinas e teste para resina.

Ensaio Citotóxico

A avaliação citotóxica foi realizada segundo o método de Meyer (1982) adaptado por Nunes (2008) em *Artemia salina* Leach nas concentrações de 50µg/mL, 100µg/mL, 250µg/mL, 500µg/mL, 750µg/mL e 1000µg/mL, para se obter a Lc_{50} .

Ação Antibacteriana

A ação antibacteriana foi observada por meio dos métodos de difusão em disco de papel, por hole-plate e por template frente à *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) seguindo as metodologias descritas na literatura (SEQUEIRA, 2009; ASSIS, 2009; GONÇALVES, 2011).

3. Resultados e Discussão

Os resultados do estudo fitoquímico revelaram a presença fenóis, taninos, açúcares redutores, alcalóides, esteroides, triterpenoides e resinas (Tabela 1). Estas classes de metabólitos secundários apresentam um amplo espectro de atividades biológicas.

Tabela 1. Testes fitoquímicos e respectivos resultados da espécie *A. acida*. / **Table 1.** Phytochemical tests and the results of the species

Classes de metabólitos	Resultado	Classes de metabólitos	Resultado
Ácidos orgânicos	Negativo	Alcaloides	Positivo
Fenóis e Taninos	Positivo	Esteróides e Triterpenóides	Positivo
Polissacarídeos	Negativo	Resinas	Positivo
Açúcares redutores	Positivo	Depsídeo e depsídonas	Negativo
Flavonoides	Negativo	Saponinas espumídicas	Negativo

Os resultados do estudo fitoquímico revelaram a presença fenóis, como citado anteriormente, onde nos vegetais apresentam ação antibacteriano e antiviral (FUMAGALI, 2008), esses compostos são de extrema importância para a vida e adaptação de vegetais e aliados no combate a doenças em humanos e animais. Fenóis também podem apresentar ação antibacteriana, porém não foi observada inibição usando EBE de *A. acida* nas concentrações testadas. Segundo Shahidi, Janitha e Wanasundara (1992) os compostos fenólicos são incluídos na categoria de interruptores de radicais livres, sendo muito eficientes na prevenção da auto-oxidação (RODRIGUES, 2010), isso explica sua ação hepatoprotetora e antioxidante.

Esses compostos pertencem a uma classe que compõe uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, onde possui pelo menos um anel aromático ao qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um

grupamento hidroxila. São formados pela rota biogenética da via do ácido chiquímico a partir de carboidratos, ou pela via do acetato-polimalato que inicia com acetil-coenzima A e malonil-coenzima A. Eles são solúveis em água e outros solventes polares. Por possuírem característica ácida pode ser isolado com soluções fracamente básica, como o carbonato de cálcio. Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais são encontradas estruturas tão variadas quanto à dos ácidos fenólicos, dos derivados de cumarina, dos pigmentos hidrossolúveis das flores, dos frutos e das folhas (CARVALHO, 2010).

Os taninos obtiveram resultados positivos nos testes, são amplamente empregados na medicina tradicional contra diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, problemas renais, processos inflamatórios, antifúngico, bactericida, antiviral e moluscicida (SANTOS, 2010). Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas, pelo menos em parte, a três características gerais que são comuns em maior ou menor grau aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisados, como complexação com íons metálicos, atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos (SANTOS, 2010).

A importância de plantas ricas em taninos está ligada às suas propriedades de transformar a pele animal em couro. Durante o curtimento são formadas ligações entre as fibras de colágeno na pele animal, a qual adquire resistência a calor, água e abrasivos. Isso ocorre devido sua capacidade de precipitar proteínas, celulose e pectinas. Esse fenômeno confere sua ação no controle de insetos, fungos e bactérias, bem com suas atividades farmacológicas (SANTOS, 2010).

Os testes indicaram a presença de alcaloides, que apresentam ação antitumoral, anestésica, antimalárica, antibacteriana e repelente (FUMAGALI, 2008). Os alcaloides são metabólitos comuns na família Apocynaceae (CASTRO, 2009), logo são marcadores quimiosistemáticos e pode estar relacionados com a toxicidade do vegetal sendo alvo de diversos estudos.

Os alcaloides são compostos nitrogenados ativos farmacologicamente e são encontrados principalmente em angiospermas, na sua grande maioria, possuem caráter alcalino, com exceções tais como colchicina, piperina, oximas e alguns sais quaternários como o cloridrato de laurifolina (SANTOS, 2010).

Tem sido observado que muitas plantas que produzem alcaloides são evitadas por animais e insetos em sua dieta, isso certamente devido à sua toxicidade ou ao fato de a maioria dos alcaloides ter gosto amargo (SANTOS, 2010). A presença de alcaloides pode ser assinalada em ampla gama de atividades biológicas investigadas. Assim, pode-se citar ametina (amebicida e emético), atropina, hiosciamina e escopolamina (anticolinérgico), reserpina e protoveratrina A (anti-hipertensivo), quinina

(antimalárico), camptotecina, vimblastina e vincristina (antitumorais), codeína e noscapina (antitussígeno), morfina (hipinoanalgésico), quinidina (depressor cardíaco), cafeína (estimulante do SNC), teobromina e teofilina (diuréticos), colchicina (tratamento da gota) entre outros (SANTOS, 2010).

Os alcaloides são constituintes muito comuns nessa família, sendo já demonstrado em isolamentos (LIMA, 2011). Biologicamente, alcaloides agem provavelmente nos sistemas neurotransmissores opiáceos. Estes são usados amplamente na hipotensão, vasoconstrição, ativador respiratório, anestesia, sedativo e relaxante muscular. Além disso, são responsáveis pelos efeitos alucinógenos do tabaco, de bebidas e rapés utilizados por nativos da Amazônia, bem como pelas propriedades sedativas. Outros alcaloides são parasiticidas e apresentam citotoxicidade em células cancerosas. Testes contra a doença de Chagas mostram que esses alcaloides são ativos contra epimastigotos de *Trypanosoma cruzi* (PEREIRA, 2007).

Esteroides e triterpenoides apresentaram teste positivo, estes apresentam ação anti-inflamatória, antibacteriana e analgésica, segundo Dewick (1997). Os esteróides formam uma classe de metabólitos secundários formados por descarboxilações de precursores que se originam a partir dos triterpenos (RODRIGUES, 2010), isso pode estar relacionado com diversas ações farmacológicas.

Os triterpenos são um dos grupos de terpenos mais estruturalmente diversificados (DOMINGO, 2009). Os terpenos constituem uma ampla classe de produtos naturais, que possuem muitas funções no reino vegetal e na saúde humana (ROBERTS, 2007). Esta classe de substâncias defende muitas espécies de plantas, animais e microrganismos contra predadores, patógenos e competidores, e estão envolvidas na transmissão de mensagens sobre a presença de alimento e organismos nocivos. No entanto, o papel biológico de diversos terpenoides ainda não é conhecido (GERSHENZON, 2007). Nessa classe, existem mais de 40 mil estruturas diferentes, com vários compostos que servem como importantes agentes farmacêuticos (ROBERTS, 2007).

O pirofosfato de isopentenila (IPP) e o seu isômero pirofosfato de λ,λ -dimetilalila (DMAPP), também chamados de unidades de isopreno, são os precursores dos terpenoides. Os diversos tipos de terpenoides são formados pela condensação de moléculas de IPP por meio de enzimas conhecidas como preniltransferases (ROBERTS, 2007).

A maioria dos triterpenos são tetracíclicos do tipo 6-6-6-5 e, principalmente, pentacíclicos dos tipos 6-6-6-6-5 e 6-6-6-6-6, mas podendo ocorrer acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos e hexacíclicos, contendo acima de 100 esqueletos descritos como produtos naturais. O 2,3-epoxiesqualeno é provavelmente o precursor da maioria dos triterpenoides 3 β -hidroxilados (XU, 2004).

Os triterpenos pentacíclicos são de grande interesse devido às diversas atividades biológicas apresentadas,

servindo como candidatos ou protótipos de novos medicamentos (ALVARENGA, 2006). Estudos com a friedelina indicaram a atividade antiproliferativa, proapoptótica (MARTUCCIELLO, 2010), antiinflamatória, analgésica e antipirética (ANTONISAMY, 2011). Contudo, não foi observado a formação de halo nas amostras microbianas nesta pesquisa nas concentrações testadas.

O provável gatilho da “morte celular programada”, ou apoptose, parece ser a inibição de enzimas metabólicas do DNA, no entanto, isso não é claramente estabelecido. Independentemente disto, esta abordagem molecular pode ser utilizada como ferramenta na inibição do crescimento tumoral, seja como agente antitumoral ou como adjuvante da terapia antitumoral. Cisplatina, bleomicina (A₂ e B₂), neocarzinostatina e agentes monofuncionais alquilantes do DNA podem ser potencializados com o uso de inibidores de enzimas metabólicas do DNA (DENG, 1999) apud (VECHIA, 2009).

Eles são de grande interesse devido às diversas atividades biológicas apresentadas, servindo como candidatos ou protótipos de novos fármacos. Devido a todas essas características, em poucos anos, inúmeros estudos têm sido dedicados aos triterpenos (SILVA, 2014).

As resinas também apresentaram teste positivo, possuem ação fungicida, inseticida e bactericida descrita na literatura (FENNER, 2006).

De acordo com Fumagali (2008) as três famílias de moléculas principais são geralmente consideradas: os compostos fenólicos, terpênicos e esteróides, e os alcaloides. Estas classes de metabólitos são muito comuns na família, os quais foram confirmados nesta análise preliminar qualitativa.

Para a avaliação citotóxica o extrato foi usado nas concentrações de 50µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL e 1000µg/mL, que provocaram mortes de *A. salina*, sendo que o resultado mais viável para sobreviventes foi a LC₅₀ < 100µg/mL. Esta toxicidade que pode estar relacionada como presença de alcaloides, que quando presentes em plantas devem ser considerados potencialmente tóxicos.

Não foi observada ação inibitória frente às cepas de bactérias citadas, mesmo em presença de esteroides, triterpenoides e alcaloides que apresentam essa ação segundo Fumagali (2008), isso pode ser algo significativo para esta espécie já que outras representantes da família apresentam ação. No entanto, esta pode estar relacionada com a baixa concentração dos metabólitos, visto que foi utilizado o extrato bruto.

Os primeiros estudos com esta espécie foram satisfatórios, sobretudo pelos resultados positivos nos testes fitoquímicos preliminares e a mensuração inicial de sua toxicidade.

Desta forma, pode-se correlacionar algumas atividades biológicas com as atividades dos metabólitos presentes no extrato bruto etanólico, descritos na literatura, comprovando que esta espécie apresenta grande potencial fármaco - terapêutico.

4. Agradecimentos

Ao Programa de Educação Tutorial (PET) - Ministério da Educação. PET-Farmácia-UNIFAP. Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

5. Referências Bibliográficas

- ALVARENGA, E.; FERRO, E. A. Bioactive triterpenes and related compounds from Celastraceae. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 33, p. 239-307, 2006.
- ANTONISAM, Y. P.; DURAIKANDIAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azimatettracantha* Lam. in mouse and rat models. **Journal of Pharmacy and Pharmacological**, v. 63, p. 1070-1077, 2011.
- ASSIS, C. M.; MORENO, P. R. H.; YOUNG, M. C. M.; CAMPOS, I. P. A.; SUFFREDINI, I. B. Isolamento e avaliação da atividade biológica dos alcalóides majoritários de *Tabernaemontana angulata* Mart. Ex Müll. Arg., Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 626-631, 2009.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. *Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais*. Revista Científica da UFPA, v. 4, p. 1-19, 2001.
- BOSCOLO, O. H.; VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, **Série Botânica**, v. 63, p. 263-277, 2008.
- CALIXTO, J. B.; JARBAS, M. S. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, p. 98-106, 2008.
- CASTRO LS, PERAZZO FF, MAISTRO EL. Genotoxicity testing of *Ambelania occidentalis* (Apocynaceae) leaf extract *in vivo*. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 440-447, 2009.
- CORNELIUS, M. T. F. **Atividade Biológica e Identificação dos Constituintes Químicos das Isolados das Espécies Vegetais: *Plumeria lancifolia* MULL. ARG. (Apocynaceae) e *Solanum crinitum* LAM. (Solanaceae) e Identificação da Acetanilida Exsudada por *Xenohyla truncata* (Izecksohn, 1998)**. 2006, 117f. Tese de Doutorado, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006.
- COSTA, M. P.; MAGALHÃES, N. S. S.; GOMES, F. E. S.; MACIEL, M. A. M. Uma revisão das atividades biológicas da *trans*-desidrocrotolina, um produto natural obtido de *Croton cajucara*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 275-286, 2007.
- DANTAS, I. C.; GUIMARÃES, F. R. Plantas medicinais comercializadas no município de Campina Grande, PB. **Revista Biologia e Farmácia**, v. 1, p. 1-13, 2007.
- DOMINGO, V.; ARTEAGA, J. F.; MORAL, J. F. Q.; BARRERO, A.F. Unusually cyclized triterpenes: occurrence, biosynthesis and chemical synthesis. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 115-134, 2009.
- FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFSC, 2010, p. 229-231.
- FAO. **Food fruit bearing forest species 3 exemples from latin America**. 1986, FAO.
- FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p. 369-394, 2006.
- FORZZA, R. C.; JAKOBSSON, A. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Estúdio Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.
- FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos e plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 627-641, 2008.

- GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, v. 3, p. 408-414, 2007.
- GONÇALVES, D. M.; ARAÚJO, J. H. B.; FRANCISCO, M. S.; COELHO, M. A.; FRANCO, J. M. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 197-202, 2011.
- GRENAND F. Nommer son univers: Pourquoi? Comment? Exemples parmi des societies amazoniennes. In: Prat D, Raynal RA, Roguenant A (Org). *Peut-on classer le vivant? Linné et lasystématiqueaujourd'hui*. Paris: Belin, p. 119-130.
- KIANTIKOSKI, E. C. **Estudo fitoquímico dos frutos e sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel e *Pterodon polygalaeiflorus* Benth.** Curitiba, 2011, 94 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências-Bioquímica, Universidade Federal do Paraná.
- LIMA, L. A. R. S.; JOHANN, S.; CISALPINO, P. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Antifungal activity of 9-hydroxy-foliarin and sucrose octaacetate from the seeds of *Annona cornifolia* A. St. - Hil. Annonaceae). **Food Research International**, v. 44, p. 2283-2288, 2011.
- LORENZI, H.; SOUZA, V. C. **Botânica sistemática**. Nova Odessa: Inst. Plantarum, 2008.
- NUNES, P. X.; MESQUITA, R. F.; SILVA, D. A.; LIRA, D. P.; COSTA, V. C. O.; SILVA, M. V. B.; XAVIER, A. L.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. F. Constituintes químicos, avaliação das atividades citotóxica e antioxidante de *Mimosa paraibana* Barneby (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 718-723, 2008.
- MARTUCCIello, S.; BALESTRIERI, M. L.; FELICE, F.; ESTEVAM, C. S.; SANT'ANA, A. E.; PIZZA, C.; PIACENTE, S. Effects of triterpene derivatives from *Maytenus rigida* on VEGF-induced Kaposi's sarcoma cell proliferation. **Chemico-biological Interactions**, v. 183, p. 450-454, 2010.
- OLIVEIRA, D. A. F.; BARBOSA, R. S. S.; OKUYAMA, C. E. Avaliação toxicológica de compostos bioativos e insumos farmacêuticos. **Anais... I Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica UNIBAN**. São Paulo, Brasil, 2008.
- PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Indole alkaloids from species of the *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v. 30, p. 970-983, 2007.
- ROBERTS, S. C. Production and engineering of terpenoids in plant cell culture. **Nature Chemical Biology**, v. 3, p. 387-395, 2007.
- RODRIGUES, K. A. F.; DIAS, C. N.; FLORÊNCIO, J. C.; VILANOVA, C. M.; GONÇALVES, J. R. S.; COUTINHO-MORAES, D. F. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Caderno de Pesquisa**, v. 17, p. 69-77, 2010.
- RODRÍGUEZ, A. M.; CAMARGO, J. R.; GARCÍA, F. J. B. Actividad *in vitro* de lamezcla de alcaloides de *Ervatamia coronária* (Jacq) Staff. Apocynaceae sobre amastigotes de *Leishmania braziliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 350-355, 2008.
- Carvalho JCT, Gosmann G, Schenkel EP, 2010, Fenóis simples e heterosídicos. In: Simões CMO (Org). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 6 ed. Porto Alegre: UFSC, p. 519-535.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2010, 6 ed. Porto Alegre: UFSC, p. 615-656.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. Alcaloides. In: SIMÕES, C. M. O. (Org). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2010, 6 ed. Porto Alegre: UFSC, p. 765-791.
- SEQUEIRA, B. J.; VITAL, M. J. S.; POHLIT, A. M.; PARAROLS, I. C.; CAÚPER, G. S. B. Antibacterial and antifungal activity of extracts and exudates of the Amazonian medicinal tree *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (common name: sucuba). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 10, p. 659-661, 2009.
- SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, A. S. Cellastráceas: Fontes de Triterpenos Pentacíclicos com Potencial Atividade Biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, p. 000:000, 2014.
- SUFFREDINI, I. B.; BACCHI, E. M.; SAKUDA, T. M. K.; OHARA, M. T.; YOUNES, R. N.; VARELLA A. D. Antibacterial activity of Apocynaceae extracts and MIC of *Tabernaemontana angulatas* tem organic extract. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 89-94, 2002.
- VECHIA, L. D.; GNOATTO, S. C. B.; GOSMANN, G. Derivados oleananos e ursanos e sua importância na descoberta de novos fármacos com atividade antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. **Química Nova**, v. 32, p. 1245-1252, 2009.
- VEIGA JR, F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas Mediciniais: Cura Segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.
- XU, R.; FAZIO, G. C.; MATSUDA, S. P. T. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. **Phytochemistry**, v. 65, p. 261-291, 2004.