



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO - CAMPUS URUTAÍ  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA



Nicole Christian da Silva Leite

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIPARASITÁRIA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Hancornia  
speciosa***



Urutaí – GO

12/2022

**NICOLE CHRISTIAN DA SILVA LEITE**

Trabalho de Curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Licenciada em Química.

**Orientador:** Prof. Dr. Herbert Júnior Dias

Urutaí – GO

12/2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

LL533a Leite, Nicole Christian da Silva  
Análise fitoquímica e avaliação da atividade antiparasitária dos extratos das folhas de *Hancornia speciosa* / Nicole Christian da Silva Leite; orientador Herbert Júnior Dias. -- Urutaí, 2022.  
43 p.

TCC (Graduação em Licenciatura em Química) -- Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2022.

1. *H.speciosa*. 2. Atividade biológica. 3. Avaliação fitoquímica. 4. *T.cruzi*. 5. *S.mansonii*. I. Dias, Herbert Júnior, orient. II. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

### **TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

#### **Identificação da Produção Técnico-Científica**

- Tese
- Dissertação
- Monografia – Especialização
- Artigo - Especialização
- TCC - Graduação
- Artigo Científico
- Capítulo de Livro
- Livro
- Trabalho Apresentado em Evento
- Produção técnica.

Nome Completo do Autor: Nicole Christian da Silva Leite

Matrícula: 2018101221510050

Título do Trabalho: Análise fitoquímica e avaliação da atividade antiparasitária dos extratos das folhas de *Hancornia speciosa*

#### **Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim

Justificativa: Não aplicável.

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 01/03/2023

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? [ X ] Sim [ ] Não

### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

A referida autora declara que:

1. O documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
2. Obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autora, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
3. Cumprir quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Urutaí - GO, 23 de dezembro de 2022.

Nicole Christian da Silva Leite

*(assinado eletronicamente)*

Ciente e de acordo:

Prof. Dr. Herbert Júnior Dias

Orientador

*(assinado eletronicamente)*

Documento assinado eletronicamente por:

- Nicole Christian da Silva Leite, 2018101221510050 - Discente, em 23/12/2022 09:17:44.
- Herbert Junior Dias, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 23/12/2022 09:06:59.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 22/12/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 455605  
Código de Autenticação: e26b1df0bd



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Urutaí

Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, None, None, URUTAÍ / GO, CEP 75790-000

(64) 3465-1900



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Formulário 1320/2022 - DE-UR/CMPURT/IFGOIANO

**Análise fitoquímica e avaliação da atividade antiparasitária dos extratos das folhas de *Hancornia speciosa***

**Nicole Christian da Silva Leite**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Licenciada em Química.

Defendido e aprovado em 21/12/2022.

**Banca Examinadora:**

*(assinado eletronicamente)*

**Prof. Dr. Herbert Júnior Dias**

**Presidente da Banca (IF Goiano/Urutaí)**

*(assinado eletronicamente)*

**Prof. Dr. Luiz Fernando de Camargos**

**Examinador (IF Goiano/Urutaí)**

*(assinado eletronicamente)*

**Prof. Dr. Miquéias Ferreira Gomes**

**Examinador (IF Goiano/Urutaí)**

Documento assinado eletronicamente por:

- Miqueias Ferreira Gomes, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 21/12/2022 17:32:55.
- Luiz Fernando de Camargos, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 21/12/2022 17:19:34.
- Herbert Junior Dias, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 21/12/2022 16:31:18.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 13/12/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 452492  
Código de Autenticação: 8ff97862a4



## AGRADECIMENTOS

O fim deste trabalho simboliza o fim de uma fase da vida, um sonho que se tornou verdade, a esperança que se tornou realidade. Ficam guardadas então as lembranças dos bons momentos, das grandes dificuldades encontradas pelo caminho, e junto com isso, todos aqueles que direto ou indiretamente estiveram me ajudando e incentivando nesta jornada.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela oportunidade de entrar em uma Universidade. Em muitos momentos, minha fé me sustentou. A minha família e padrinhos João Dutra, Aparecida Monteiro e Angélica Dutra, pelo incentivo, por sempre me mostraram os caminhos certos, os quais nem sempre segui e lá estavam eles para me consolar e ajudar a retornar.

Com carinho, agradeço ao meu professor e orientador Herbert Júnior Dias pela paciência e incentivo durante a elaboração deste trabalho. Obrigada, por me exigir mais do que eu acreditava que seria capaz de realizar.

Agradeço a todos os professores, técnicos e servidores do curso de Licenciatura em Química, que, com empenho, se dedicam à arte de ensinar.

Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Aos meus colegas de turma, por compartilharem comigo tantos momentos de descobertas e aprendizado e por todo o companheirismo ao longo deste percurso.

Agradeço imensamente aos laboratórios parceiros, especialmente à prof. Lizandra Guidi Magalhães (Unifran) e seus alunos do (LAPPA – Laboratório de Pesquisas em Parasitologia) pela realização dos experimentos biológicos. Gostaria de agradecer também à PROPPi (Processo nº 23216.000929.2022-22) pelo apoio financeiro aos trabalhos do prof. Herbert, bem como ao IF Goiano, pois sem o mesmo este trabalho seria inviável.

## RESUMO

As plantas medicinais são alternativas viáveis que podem ser empregadas para o tratamento de diversas doenças, já que os metabólitos nelas presentes demonstram uma grande diversidade de atividades biológicas. Neste estudo, realizamos uma análise fitoquímica e avaliação da atividade antiparasitária dos extratos das folhas de *Hancornia speciosa*, conhecida popularmente como mangabeira, contra os parasitas *Trypanossoma cruzi* e *Schistosoma mansoni*. Folhas dessa espécie foram coletadas no município de Urutaí - GO. O extrato etanólico foi avaliado quanto à presença das principais classes de compostos: ácidos orgânicos, cumarinas, polissacarídeos, açúcares redutores, fenóis, taninos catéquicos, antraquinonas, esteróides e triterpenóides, saponina espumídica, alcaloides, flavonoides e purinas. A pesquisa preliminar dos extratos foliares da espécie permitiu uma avaliação prévia sobre suas características fitoquímicas. A avaliação antiparasitária das frações, foi ineficaz contra *S. mansoni*, mas obtivemos resultados promissores para a fração hexânica contra *T. cruzi*.

**Palavras-chave:** *H. speciosa*; atividade biológica; avaliação fitoquímica; *T. cruzi*; *S. mansoni*.



## ABSTRACT

Medicinal plants are viable alternatives, being used for the treatment of an important range of diseases, since the metabolites present in them demonstrate a great diversity of biological responses. In this study, we carried out a phytochemical analysis and evaluation of the antiparasitic activity of leaf extracts of *Hancornia speciosa*, popularly known as mangabeira, against the parasites *Trypanosoma cruzi* and *Schistosoma mansoni*. Leaves of the referred specie were collected in the city of Urutaí - GO. The ethanolic extract was evaluated for the presence of the main classes of compounds: organic acids, coumarins, polysaccharides, reducing sugars, phenols, catechin tannins, anthraquinones, steroids and triterpenoids, foaming saponins, alkaloids, flavonoids, and purines. Preliminary research on the leaf extracts of *H. speciosa* allows a prior assessment of its phytochemical characteristics. The preliminar antiparasitic evaluation of the fractions was ineffective against *S. mansoni*, but we obtained promising results for the hexane fraction against *T. cruzi*.

**Keywords:** *H. speciosa*; biological activity; phytochemical evaluation; *S. mansoni*; *T. cruzi*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas de ácidos orgânicos presentes em extratos de <i>H. speciosa</i> .....	24
Figura 2. Estrutura química dos taninos hamamelitanino e aceritanino (SBFGNOSIA, 2022) .....	25
Figura 3. Estruturas básicas dos taninos.....	26
Figura 4. Estruturas básicas da amilose (BROMATOLOGIA, 2017).....	27
Figura 5. Estrutura da amilopectina (UNESP, 2018) .....	27
Figura 6. Reação de caracterização de amidos (UNESP, 2018).....	28
Figura 7. Reação de caracterização de açúcares redutores (SOUZA et al, 2007) .....	29
Figura 8. Reação de caracterização de fenóis (OLIVEIRA, 2018) .....	29
Figura 9. Reação de caracterização de antraquinonas (OLIVEIRA, 2018).....	30
Figura 10. Reação de caracterização de esteróides e triterpenos (SBFGNOSIA, 2022).....	31
Figura 11. Reação de caracterização de alcaloides (SBFGNOSIA, 2022).....	32
Figura 12. Esqueleto básico dos flavonoides (SBFGNOSIA, 2022).....	33
Figura 13. Reação de caracterização de flavonoides (ULUBELEN, 2005) .....	33
Figura 14. Média e desvio padrão da escala de viabilidade dos vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> (LE) após 24 e 72 horas de incubação com as amostras, em concentração de triagem (50 µg/mL) de extratos de <i>H. speciosa</i> .....	35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Eficiência de extrações líquido-líquido das frações de <i>H. speciosa</i> .....	22
Tabela 2. Resultados para testes qualitativos do perfil fitoquímico das folhas de <i>H. speciosa</i> . .....	23
Tabela 3. Médias da porcentagem de mortalidade dos vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> (LE) após incubação com as amostras na concentração de 50 µg/mL (triagem). ....	34

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CIM - Concentração inibitória mínima

CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DMSO - Dimetilsulfóxido

DTN - Doenças Tropicais Neglicenciadas

F - Folhas

*H. speciosa* - *Hancornia speciosa* Gomes

IC (*Inhibitory concentration*) - Concentração inibitória

LE - Luiz Evangelista

OE - óleos essenciais

PZQ - Praziquantel

*S. mansoni* - *Schistosoma mansoni*

SBF - Soro Bovino Fetal

*T. cruzi* - *Trypanosoma cruzi*

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Revisão Bibliográfica .....	13
3. Metodologia.....	16
3.1 Coleta e Classificação Botânica.....	16
3.2 Extração de frações voláteis de <i>H. speciosa</i> .....	16
3.3 Obtenção dos extratos de <i>H. speciosa</i> .....	16
3.4 Avaliação Fitoquímica de <i>H. speciosa</i> .....	17
3.5 Atividade antiparasitária para <i>S. mansoni</i> .....	20
3.6 Atividade Antiparasitária para <i>T. cruzi</i> .....	21
3.7 Análise Estatística.....	21
4. Resultados e discussão .....	22
4.1 Extração de Folhas de <i>H. speciosa</i> . .....	22
4.2 Análise Fitoquímica .....	22
4.3 Atividades antiparasitárias contra <i>S. mansoni</i> .....	34
4.4 Atividades antiparasitárias contra <i>T. cruzi</i> .....	36
5. Conclusão .....	38
Referências Bibliográficas.....	39

## 1. Introdução

Parasitoses são doenças infecciosas causadas por protozoários, ácaros, vermes e insetos. Estão diretamente relacionadas à pobreza e condições de vida inadequadas. Estas enfermidades ocorrem especialmente em países em desenvolvimento, resultante das precárias condições de vida das camadas populacionais mais carentes (BRASIL, 2010). Dentre as doenças parasitárias existentes, podemos destacar a Doença de Chagas e a esquistossomose. A Doença de Chagas ou tripanossomíase, é responsável por afetar milhões de pessoas no mundo, sendo uma doença infecciosa causada por um parasita, o *Trypanosoma cruzi*, encontrado nas fezes do inseto “barbeiro” (TRAINA et al., 2017). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi* em todo o mundo, com cerca de 10.000 mortes a cada ano (WHO, 2022).

O *Trypanosoma cruzi* geralmente é transmitido de um hospedeiro a outro por insetos. No caso humano, o principal vetor é um percevejo popularmente conhecido como barbeiro ou chupão, que se tratam de insetos das espécies *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*. (FIOCRUZ, 2013). Este parasita é transmitido no ato de alimentação do vetor, e assim que o barbeiro termina de se alimentar, ele defeca, eliminando os protozoários em forma tripomastigotas, onde ocorre a penetração na pele e infectam a célula do hospedeiro, e transformam-se em amastigotas. Quando as células estão cheias de parasitas, eles se transformam novamente em tripomastigotas, e por estarem em maior quantidade, as células se rompem e os protozoários atingem a corrente sanguínea, atingindo outros órgãos saudáveis. Nessa fase, se o hospedeiro vertebrado for picado pelo barbeiro, os protozoários serão transmitidos ao inseto. No intestino do barbeiro, mudam sua forma para epimastigotas, onde multiplicam-se e tornam-se novamente tripomastigotas, as formas infectantes aos vertebrados (FIOCRUZ, 2013). A doença de Chagas também pode ser transmitida por transfusão de sangue ou durante a gestação.

Um dos primeiros sintomas que indica que uma pessoa se infectou com o protozoário *Trypanosoma cruzi*, é o aparecimento de febre após 1 semana da picada do “barbeiro”. A doença de Chagas é diagnosticada por exame de sangue, e não dispõe de tratamento eficaz para suas duas fases clínicas. O medicamento benzonidazol é parcialmente efetivo na fase aguda, parecendo inibir a síntese de RNA e proteína, porém, o mesmo evento não acontece com a fase crônica (MARTINEZ et al, 2018). O tratamento por este medicamento é prologando, que se estende até 60 dias, apresentando diversos efeitos colaterais como anorexia, cefaléia,

dermatopatia, gastralgia, insônias, náuseas e outros. Outro medicamento eficaz, na fase aguda desta doença, é o Lampit, que foi retirado do Brasil, sendo encontrado apenas nos EUA e Canadá. Este medicamento age por meio de radicais livres, prejudicando o ser humano com os mesmos efeitos colaterais do medicamento benznidazol, que foi citado anteriormente. Nenhum desses medicamentos age em formas crônicas da doença de Chagas (RASSI et al, 2002; FILHO et al, 2012; FIOCRUZ, 2013). Além disto, ainda não existe vacina contra essa doença e a melhor maneira de enfrentá-la é com prevenção e controle. A profilaxia é realizada com uso de repelentes, telas (principalmente em áreas rurais), educação sanitária, combate ao vetor, etc (FIOCRUZ, 2013).

Já a esquistossomose é uma doença parasitária típica das Américas, Ásia e África, que chegou ao Brasil com os africanos trazidos pela colônia Portuguesa, mas, de acordo com referências anteriores, ela já existia antes dessa época (KATZ; ALMEIDA, 2003). Ela é causada pelo parasita *Schistosoma mansoni*, e no Brasil é popularmente conhecida por “barriga d’água, xistosa ou doença do caramujo” (KATZ; ALMEIDA, 2003). Esta doença apresenta cerca de seis milhões de infectados no mundo, sendo que mais de 1,3 milhões de pessoas são infectadas a cada ano (MUTAPI et al., 2017), e no Brasil, ocorre geralmente nos estados do Nordeste e em Minas Gerais (KATZ; ALMEIDA, 2003). O hospedeiro definitivo do *Schistosoma mansoni* é o homem, que elimina os ovos do verme através de suas fezes. Quando as fezes são eliminadas na água, os ovos eclodem e liberam larvas ciliadas denominadas miracídios. Os miracídios penetram nos caramujos, sendo estes os hospedeiros intermediários, onde se multiplicam. Após 4 a 6 semanas, as larvas abandonam o caramujo na forma de cercárias e voltam para a água. Nesse ambiente podem viver por um tempo até penetrar novamente no homem, através da pele ou mucosa. Uma vez dentro do indivíduo, os vermes entram na circulação venosa e chegam ao coração e pulmões. Do coração, são lançados através das artérias a diversas partes do corpo, sendo o fígado o órgão de localização preferencial do parasito. No fígado, crescem alimentando-se de sangue e depois migram para as veias do intestino. De lá, alcançam a forma adulta, acasalam-se e começam a pôr ovos, dando início a um novo ciclo (BRASIL, 2010).

Para a esquistossomose, o tratamento se concentra no uso de medicamentos como o Praziquantel, que matam o parasita e promovem o controle dos sintomas por ela provocados, porém os medicamentos apresentam alta toxicidade, eficácia limitada especialmente nas fases crônicas e causam diversos efeitos colaterais (VITORINO et al, 2012). Por isto a esquistossomose e a tripanossomíase são consideradas doenças tropicais negligenciadas (DTN), e apresenta grande importância mundial, já que há anualmente uma taxa de infecções altas pelas

parasitoses (WHO, 2021). Dessa forma, há demasiada necessidade do estudo de novas substâncias ativas que possam auxiliar no combate de tais enfermidades.

No cerrado brasileiro é possível encontrar uma grande variedade de plantas que são empregadas na medicina popular como “remédios naturais”, que são utilizadas etnofarmacologicamente pelas comunidades que vivem nas regiões onde o bioma se manifesta (CASTRO, 2013). Dentre as plantas medicinais existentes no Cerrado, pode-se citar a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), uma espécie frutífera, presente no estado de Goiás, conhecida pelo uso dos frutos em produtos alimentícios. Esta planta se torna interessante devido ao seu alto potencial biológico, já que em estudos preliminares presentes na literatura científica, há escassos dados sobre a constituição química e algumas atividades biológicas dos extratos de suas folhas (RÊGO, 2015; MEDEIROS, 2010; JÁCOME, 2019). Em vários destes estudos, os extratos de *H. speciosa* apresentaram resultados biológicos promissores, especialmente atividades antioxidante e anti-inflamatória (ALVES et al., 2019; ABREU, 2019).

Nesse contexto, há uma enorme necessidade de investigar os constituintes químicos, bem como as atividades biológicas destas folhas frente a outras enfermidades, já que estes extratos apresentam uma diversidade estrutural e atividades biológicas promissoras conforme descrito na literatura (ALVES et al., 2019). Logo, o principal objetivo do presente trabalho foi reconhecer qualitativamente as classes de compostos químicos presentes nos extratos das folhas de *Hancornia speciosa* Gomes, empregando-se métodos qualitativos de análise fitoquímica, e investigar o potencial antiparasitário de extratos de folhas de *H. speciosa* Gomes contra *Schistosoma mansoni* e *Trypanosoma cruzi*.

## 2. Revisão Bibliográfica

A utilização de plantas medicinais para tratamentos de doenças, é uma das formas mais antigas que o ser humano encontrou para se tratar de enfermidades, representando durante séculos a única fonte de agentes terapêuticos para o homem (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012). Biomas como o Cerrado apresentam uma biodiversidade inestimável, assim como pode-se admitir uma incrível gama de compostos de origem natural que podem ser empregadas para fins medicinais (CASTRO, 2013). Neste sentido, a química de produtos naturais tende a estudar as atividades biológicas de tais compostos isolados ou em forma de extratos vegetais, bem como identificar novas aplicações para moléculas e frações de origem vegetal que possa ser utilizadas para outros fins, como por exemplo usos como fármacos (KHAN, 2018). Estudos recentes da literatura mostram que nos últimos 40 anos cerca 23,5%



das drogas aprovadas mundialmente para fins farmacológicos são produtos naturais ou derivados destes (NEWMAN, CRAGG, 2020). Estes fatos encorajam uma pesquisa mais aprofundada sobre as espécies presentes no Cerrado Brasileiro, suas substâncias e potencial biológico.

Dentre estas, a *Hancornia speciosa* apresenta-se como uma espécie de grande potencial biológico ainda superficialmente explorado. Nos estudos de Freitas (2018), é afirmado que as diversas partes, como casca, raiz, folhas e frutos dessa planta pode ser bastante promissor na busca de novas alternativas aos tratamentos associados à elevação da pressão arterial, e os estudos das suas folhas apresentam forte atividade anti-inflamatória, vasodilatadora e antidiabética. Os autores Lima e colaboradores (2015) e Barbosa e colaboradores (2019) também verificaram atividade hipertensiva nas folhas de mangaba. Em relação a uma possível atividade antimicrobiana, Carazza e colaboradores (2011) não detectaram eficácia frente a diversos microorganismos estudados, dentre eles: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Nos estudos de Arruda e Mapeli (2016) analisou-se a atividade alelopática do extrato das folhas de *Hancornia speciosa* em *Lactuca sativa* e *Ipomoea sp.*, entretanto independente da concentração, a fração testada não promoveu diferença significativa em relação às testemunhas, tanto para a germinação quanto para o crescimento das espécies vegetais.

O conhecimento popular sobre os efeitos biológicos de espécies vegetais é passado de geração em geração desde o início das civilizações (PEREIRA, CARDOSO, 2012), o que tem direcionado as pesquisas para descobertas e aplicação das propriedades ativas vegetais, que são resultantes da produção de metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Os metabólitos secundários, também chamados de metabólitos especiais, são compostos naturais produzidos em plantas como derivação do metabolismo primário. Apesar de não possuírem função vital para a planta, garantem a sobrevivência, reprodução e dispersão por possuírem a capacidade de proteção contra raios UV, atração de polinizadores e dispersores de sementes, ação contra herbívoros, interação entre plantas, entre outras (OOTANI et al., 2013; WINK, 2013).

De acordo com Simões e colaboradores (2017) a fitoquímica estuda cada grupo da planta, desde a estrutura química molecular até as propriedades biológicas dos vegetais, ou seja, ela tem como objetivo verificar a presença de grupos de metabólitos secundários e caracterizar os constituintes químicos presentes nas espécies vegetais (SIMÕES et al, 2017). A prospecção fitoquímica é um estudo preliminar que irá detectar a presença dos compostos de determinada planta e caracterizá-los. Por se tratar de um estudo básico para a investigação de plantas

medicinais, é importante para orientar as etapas seguintes a serem realizadas na produção de fitoterápicos ou medicamentos de origem vegetal. Embora haja milhares de estudos sobre as plantas e seus compostos ativos, há ainda a necessidade de pesquisas com o intuito de conhecer novas moléculas, visando produzir produtos técnicos, como fármacos de ação comprovada e utilização segura (CUNHA, 2014). Para isso, algumas etapas são importantes para conduzir a investigação fitoquímica.

A primeira etapa se constitui do preparo do material vegetal, que tem como principal objetivo estabilizar enzimas para interromper o metabolismo que ocorre após a coleta e impedir que as análises não sejam afetadas por conter substâncias provenientes do fenecimento do vegetal (SIMÕES et al. 2010). Para isso, a matéria vegetal é seca em estufa de circulação de ar, método mais utilizado e eficaz, ou no ambiente ao sol, sombra ou misto, método que pode perder alguns compostos ou facilitar a proliferação de microrganismos. A secagem retira a água e impede a hidrólise e contaminação. A estabilização pode ser feita pela ação do calor ou desidratantes, como o etanol. Ambos irão desnaturar as proteínas, no entanto, o etanol pode retirar alguns compostos importantes para as fases posteriores (SIMÕES et al. 2010; CUNHA, 2014). Após a secagem e estabilização é feita a moagem, que reduz o material vegetal a partículas, aumentando a superfície de contato com o extrator na fase posterior. O tamanho das partículas vai depender do órgão a ser trabalhado; quanto mais rígido, mais deve-se reduzir a pó. São utilizados neste processo métodos como moinhos de facas, tesouras ou corte manual (SIMÕES et al. 2010). A extração dos compostos químicos da matéria vegetal precisa ser adequada aos metabólitos secundários que a compõe ou que se deseja extrair, à polaridade do solvente, à temperatura, ao tempo de extração e ao custo disponível para o processo. Ainda que seja importante ter uma padronização dos extratos, ainda não se encontra disponível atualmente na Farmacopeia Brasileira padronização adequada para grupos vegetais (RODRIGUES et al., 2016). O solvente desempenha função principal na extração, pois quanto mais seletivo, mais é possível extrair as substâncias de forma direcionada (SIMÕES et al. 2010).

Por fim é possível fazer a prospecção fitoquímica, que embasada no conhecimento popular ou bibliográfico, pode ser utilizado para indicar uma atividade farmacológica da planta em estudo. As investigações fitoquímicas são apenas parte do processo, devendo ser feitas investigações posteriores com o intuito de isolar os compostos que atuam na função terapêutica específica na fração ativa da planta. O isolamento é feito na maior parte dos casos por fracionamento cromatográfico, que inclui numerosas técnicas complexas, como cromatografia a gás, líquida, ou supercrítica, eletroforese capilar, entre outros, passando por métodos mais

simples, como cromatografia em papel, em camada delgada, em coluna aberta, de exclusão, entre outras técnicas que separam em função do tamanho molecular (CUNHA, 2014).

Apesar de existirem medicamentos comerciais empregados no tratamento da esquistossomose e doença de Chagas, os fármacos provocam efeitos colaterais indesejáveis como consequência do dano oxidativo ou redutor nos tecidos do hospedeiro, tais como anorexia, vômito, polineuropatia periférica e dermatite alérgica estão presentes e podem levar à interrupção do tratamento (SEIBERT, 2019). Sendo assim, o estudo de frações obtidas de plantas do Cerrado, como a *H. speciosa* pode ser uma fonte interessante de compostos com atividade biológica, podendo ser empregados no desenvolvimento de antiparasitários mais potentes e seguros (DIAS et al., 2009).

### **3. Metodologia**

#### **3.1 Coleta e Classificação Botânica**

Folhas de *H. speciosa* intactas ausentes de ataques de herbivoria foram coletadas próximo ao IF Goiano, na cidade de Urutaí – GO, no mês de setembro de 2021, nas coordenadas geográficas 17°22'42"S 48°14'44"W. Dos materiais coletados, foram obtidas exsicatas e classificadas pelo biólogo Prof. Dr. Marcos Vinícius Vietas Ramos. As exsicatas foram depositadas no herbário do IF Goiano Campus Urutaí.

#### **3.2 Extração de frações voláteis de *H. speciosa***

Uma massa de folhas (60 g) frescas coletadas foi adicionada a um balão de 1000 mL, juntamente com 400 mL de água destilada. Este balão foi acoplado a um aparato de hidrodestilação adaptado tipo Clevenger, conforme descrito na literatura (MARTINS et al., 2017). Este balão carregado com amostras foi induzido ao processo de hidrodestilação por 120 minutos.

#### **3.3 Obtenção dos extratos de *H. speciosa***

Uma massa de folhas (30 g) frescas coletadas foram secas em estufa, manualmente miniaturizadas, e acondicionadas em frasco de 500 mL. A este, foi adicionado 300 mL de etanol (P.A., 95%, Neon, São Paulo-SP, Brasil). Esta mistura foi agitada manualmente por 7 dias e em seguida filtrada em gaze. O extrato foi evaporado a 60°C sob pressão reduzida até a secura em evaporador (modelo Fisatom 801, Fisatom, São Paulo-SP, Brasil). Ao final, o extrato foi suspenso em água e particionado em polaridade crescente (3 x 15 mL) com hexano (P.A.,

Dinâmica, São Paulo-SP, Brasil), diclorometano (P.A., Neon, São Paulo-SP, Brasil) e acetato de etila (P.A, Burdick & Jackson, Muskegon-MI, USA) (SIMÕES, 2000). Todas as frações orgânicas obtidas a partir de solventes orgânicos foram secas com sulfato de magnésio seco (Vetec, Duque de Caxias-RJ, Brasil). Ao final, a fração aquosa remanescente foi seca à temperatura ambiente, e juntamente com as frações extraídas acondicionadas em frascos tipo eppendorf em geladeira até o seu envio para as atividades antiparasitárias.

### 3.4 Avaliação Fitoquímica de *H. speciosa*

A avaliação dos metabólitos secundários presentes foi feita no extrato das folhas, já que a sazonalidade da espécie não nos permite coletar flores e frutos demasiadas vezes durante o ano, dificultando repetição de experimentos. Com isto, as folhas secas (140 g) em estufa foram adicionadas a um frasco de 1000 mL, posteriormente, adicionou-se 800 mL de etanol (95%, Neon, São Paulo, Brasil). Esta mistura foi agitada por 7 dias, filtrada e evaporada em evaporador rotativo (modelo Fisatom 801, Fisatom, São Paulo-SP, Brasil). Neste extrato, foram feitos os experimentos para a determinação da constituição química através de testes qualitativos descritos por Matos (1988), conforme descrito abaixo. Todos os testes foram feitos em triplicatas, sendo (+) reagente e (-) não reagente, conforme descrito abaixo.

1. Purinas: Em tubo de ensaio adicionou-se 2 mL do extrato etanólico com 3 gotas de solução aquosa de ácido clorídrico 6 mol. L<sup>-1</sup> (Neon, Suzano-SP, Brasil) e duas gotas de solução aquosa de peróxido de hidrogênio 30%. Evaporou-se a solução em banho-maria a 90 ± 1,0 °C. Nesta etapa ocorrer a formação de um resíduo de coloração vermelha. Logo após, adicionou-se 3 gotas de uma solução aquosa de hidróxido de amônio 6 mol. L<sup>-1</sup> (Vetec, Duque de Caxias-RJ, Brasil) e homogeneizou-se por 30 segundos. A coloração violeta indica resultado positivo para compostos purínicos.

2. Ácidos Orgânicos: Dissolveu-se 3 mL do extrato em 5 mL de água destilada. Em seguida, filtrou-se a amostra com gaze e 2 mL do sobrenadante foi adicionado em um tubo de ensaio, acrescido de 500 µL do reativo de Pascová, solução A (dissolveu em 100 mL de etanol (Neon; Suzano-SP, Brasil) 0,075 g de verde de bromocresol (Neon, Suzano-SP, Brasil) e 0,25 g de azul de bromofenol (Isofar, Duque de Caxias-RJ, Brasil), e solução B (dissolveu em 100 mL de água, 0,26 g de permanganato de potássio (Merck, Rio de Janeiro-RJ, Brasil) e 0,25 g de carbonado de sódio decahidratado (Sigma-Aldrich, São Paulo-SP, Brasil). Misturou-se 9

partes de A para 1 parte de B somente no momento de usar. A descoloração do reativo é indicativa da presença positiva de ácidos orgânicos na amostra.

3. Cumarinas: Em tubo de ensaio, foi colocado 3 mL do extrato. Em seguida, tampou-se o tubo com papel filtro com gramatura 80 g. m<sup>-2</sup> e com 5 cm de diâmetro, e impregnou-se o mesmo com 3 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 10% (m/v) (Êxodo Científica; Sumaré-SP, Brasil). Logo após, aqueceu-se o tubo em banho-maria a 100 ± 1,0 °C por 10 minutos. Após esfriar a temperatura ambiente de 25 ± 1,0 °C, o papel foi examinado sob luz ultravioleta nos comprimentos de ondas (254 e 365 nm). O resultado positivo é observado pela fluorescência nas cores amarela ou verde.

4. Polissacarídeos: Dissolveu-se 25 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada. Após isso, filtrou-se a solução e adicionou-se 2 gotas de Lugol (Farmax, Divinópolis-MG, Brasil). O aparecimento da cor azul indica resultado positivo.

10 g de iodeto de potássio (Vetec, Duque de Caxias-RJ, Brasil) com 5 de iodo (Impex, Novo Hamburgo-RS, Brasil) foram triturados, e adicionou-se pequenas quantidades de água, em seguida, transferiu a solução para balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com água.

5. Açúcares redutores: Dissolveu-se 25 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada. A solução foi filtrada em um tubo de ensaio, e a este foi adicionado 2 mL do reativo de Fehling A e 2 mL do reativo Fehling B. Após isto, aqueceu-se a solução em banho-maria em ebulição durante 5 min. O aparecimento de um precipitado vermelho-tijolo, indica presença de açúcares redutores.

Para a preparação do Fehling A, 3,46 g de sulfato de cobre pentahidratado (Neon, Suzano-SP, Brasil) foi dissolvido em água. Em seguida, transferiu para um balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com água.

Para a preparação do Fehling B, 1,73 g de tartarato duplo de potássio e sódio (Dinâmica Química, Indaiatuba-SP, Brasil) foi dissolvido em hidróxido de sódio (Êxodo Científica; Sumaré-SP, Brasil). Após isso, completou o volume para 100 mL, deixando em repouso por 24 horas.

6. Fenóis e taninos pirogálicos ou catequitos: Dissolveu-se 25 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada. Após isso, a solução foi filtrada e a esta adicionou-se 2 gotas de solução alcoólica de FeCl<sub>3</sub> a 1%(m/v) (Dinâmica Química, Indaiatuba-SP, Brasil). Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água destilada + FeCl<sub>3</sub>). A coloração inicial entre azul e vermelho, é

indicativo da presença de fenóis. Precipitado azul escuro com tonalidade azulada indica presença de taninos pirogálicos (taninos hidrossolúveis) e de tonalidade esverdeada presença de taninos catéquitos.

7. Antraquinonas: Dissolveu-se 25mg do extrato seco em 5 mL de Tolueno. Filtrou a solução com gaze e adicionou 2 mL de solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  10% (m/v) (Vetec, Duque de Caxias-RJ, Brasil). Após isso, agitou-se a solução suavemente. O aparecimento da coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva a antraquinonas.

8. Esteroides: Dissolveu-se 25 mg do extrato seco em 10 mL de clorofórmio (Dinâmica Química, Indaiatuba-SP, Brasil). A solução foi filtrada em carvão ativado, e este filtrado foi transferido para tubo de ensaio, e adicionou-se 1 mL de anidrido acético glacial. Após isso, solução foi agitada suavemente. Em seguida, adicionou-se 3 gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  P.A (Neon, Suzano-SP, Brasil) seguido de nova agitação. O rápido aparecimento de cores que vão do azul evanescente ao verde persistente indica resultado positivo para esteroides.

9. Saponinas espumílicas: Dissolveu-se o extrato em metanol e água destilada com agitação contínua, formando-se duas frações (solúvel e não solúvel). Retirada toda a parte solúvel com uma pipeta de Pasteur, utilizou-se a não solúvel, que mais uma vez adicionou água para retirar toda substância aquosa, após esse procedimento, esta solução foi transferida para um tubo de ensaio e agitou-a para observar formação de espuma persistente, indicativo de saponinas.

10. Alcaloides: Em 5 mL de solução de  $\text{HCl}$  a 5% (v/v) (Neon, Suzano-SP, Brasil) dissolveu-se 25 mg de extrato seco. Filtrou-se a solução e esta foi separada em duas porções de 1 mL em tubos de ensaio. A estes tubos foi adicionado 5 gotas dos reativos:

a. Reativo de Dragendorff: precipitado vermelho-tijolo resultado positivo;

b. Reativo de Mayer: precipitado branco leva a um resultado positivo.

Para a preparação do reativo de Dragendorff, dissolveu-se 5 g de carbonato de bismuto (Vetec, Duque de Caxias-RJ, Brasil) em 50 mL de água, adicionando cuidadosamente 12 mL de ácido clorídrico P.A (Neon, Suzano-SP, Brasil). Posteriormente acrescentou-se gradativamente 25 g de iodeto de potássio (Vetec, Duque de Caxias-RJ, Brasil). e avolumou-se para 100 mL com água.

Para a preparação do reagente de Mayer, misturou-se 1,35 g de cloreto de mercúrio (LabSynth, Diadema-SP, Brasil) com 60 mL de água destilada. Em um segundo frasco, dissolveu-se 5 g de iodeto de potássio (Vetec; Duque de Caxias-RJ, Brasil) em 20 mL de água. Após misturar essas soluções, avoluma-se para 100 mL de água.

11. Flavonóides: umedeceu-se diferentes áreas de um papel de filtro com o extrato. Em seguida, colocou-se sobre uma das manchas 1 gota de solução etanólica de cloreto de alumínio 5% (m/v) (Vetec; Duque de Caxias-RJ, Brasil). Ao observar-se a mancha em luz ultravioleta (365 nm), qualquer mudança de coloração é indicativa de flavonoides.

### 3.5 Atividade antiparasitária *in vitro* para *S. mansoni*

A atividade antiparasitária *in vitro* contra *S. mansoni* foi realizada no LAPPA (Laboratório de Pesquisa em Parasitologia, Universidade de Franca, Franca – SP) sob a supervisão da prof. Lizandra G. M. Caldas. Os vermes adultos de *Schistosoma mansoni* linhagem Luíz Evangelista (LE) foram obtidos de veias mesentéricas e da aorta de ratos, e transferidos para uma placa de cultura de 24 poços (2 casais de vermes por poço) contendo 2 mL de meio RPMI 1640 (Inlab, Campinas-SP, Brasil) tamponado com HEPES 20 µM, pH 7,5 e suplementado com penicilina (100 U/mL), estreptomicina (100 µg/mL) (Gibco, Billings-MO, EUA) e 10% de soro bovino fetal (SBF) (Gibco, Billings-MO, EUA) e incubados em atmosfera umidificante a 37 °C na presença de 5% de CO<sub>2</sub> por 24 horas. Para cada amostra de folhas (F), que foram fracionadas segundo os solventes em polaridade crescente (hexano – 1, diclorometano – 2, acetato de etila – 3 e etanol-água – 4), usou-se N amostral de 8 vermes (4 casais). Após o período de incubação as amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) e aplicadas na concentração de 50 µg/mL, em caráter de triagem. Como controles usou-se Praziquantel (PZQ) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) previamente solubilizado em DMSO e adicionado na concentração 1,6 µM (controle positivo), meio RPMI 1640 suplementado mais 0,1% de DMSO (controle negativo).

Os casais de vermes adultos foram incubados nas mesmas condições descritas anteriormente e avaliados a cada 24 horas durante 72 horas por análise visual utilizando um microscópio invertido modelo Primo Vert, Carl Zeiss (Oberkochen, Alemanha) (4 – 10x). As alterações fenotípicas observadas foram classificadas em uma escala de viabilidade fenotípica (0-3) sendo: 3 para vermes normais, fixados na placa com bons movimentos; 2 para vermes com movimentos lentos; 1 para vermes movimento severamente reduzido, com ou sem alterações no tegumento e o valor 0 para vermes mortos ou com ausência de movimentos após dois minutos de análise. Para os resultados promissores, ensaios em concentrações menores (25, 12,5 e 7,25 µg/mL) serão feitos para determinar a concentração inibitória (IC<sub>50</sub>).

### 3.6 Atividade Antiparasitária *in vitro* para *T. cruzi*

A atividade antiparasitária *in vitro* contra *T. cruzi* foi também ensaiada no LAPPA (Laboratório de Pesquisa em Parasitologia, Universidade de Franca, Franca – SP) sob a supervisão da prof. Lizandra G. M. Caldas. A cepa Y de *T. cruzi* foi mantida *in vivo* em camundongos BALB/c machos. Para essa finalidade, no pico parasitêmico (7º dia da infecção) cerca de 100 µL do sangue foram coletados por punção cardíaca e as formas tripomastigotas circulantes foram utilizadas para manutenção do ciclo e ou adicionados à cultura de fibroblastos da linhagem C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> na proporção de 10 tripomastigotas sanguíneas para cada fibroblasto (10:1). Os parasitos, juntamente com as células foram mantidos em meio RPMI 1640 (Gibco, Billings-MO, EUA) suplementados com 5% de SBF (Cultlab, Campinas-SP, Brasil) e 10.000 µg/mL de penicilina (Cultlab, Campinas-SP, Brasil), 10.000 µg/mL de estreptomicina (Cultlab, Campinas-SP, Brasil, pH 7,4 a 37 °C em estufa de atmosfera modificante (Sanyo, São Paulo-SP, Brasil) a 5% de CO<sub>2</sub> e umidade de 95%. Os meios de cultura foram trocados a cada dois dias, e a partir do sétimo dia de cultivo, fase estacionária, as formas tripomastigotas foram coletadas no sobrenadante (MAIA et. al., 2017).

As formas tripomastigotas foram cultivadas como descrito anteriormente, e após 7 dias de cultivo, o sobrenadante das culturas foi retirado e submetido a uma primeira centrifugação de 8' a 760 G (12°C) para separar os parasitos das células. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo Falcon estéril e submetido a uma segunda centrifugação de 8,3' 4000 G (12°C). Em uma placa de microtitulação de 96 poços (TPP Techno Plastic Products, Trasadinger, Suíça), foram adicionados aproximadamente 1x10<sup>6</sup> formas tripomastigotas, e posteriormente adicionadas as amostras na concentração de 100 µg mL<sup>-1</sup>. Após 24 horas de incubação, foram avaliadas as atividades biológicas por meio da técnica de contagem na câmara de Neubauer. Como controle positivo foi utilizado 25% do volume final do poço contendo DMSO (50 µL), e como controle negativo foi utilizado 0,1% de DMSO. Os ensaios foram realizados em duplicata.

### 3.7 Análise Estatística

Os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* para avaliação da atividade esquistossomicida de *H. speciosa* foram comparados pela análise de variância, *one-way* Anova, seguida pelo teste de Tukey de comparação múltipla para determinação da significância entre o grupo controle negativo e grupos tratados. Os testes foram realizados utilizando o software



GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, USA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM.

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Extração de Folhas de *H. speciosa*.

Folhas foram hidrodestiladas para a obtenção dos óleos essenciais (OE), mas, infelizmente não foi possível obter fração suficiente de OE para análises por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) ou ensaios biológicos. Apesar de haver relatos na literatura da referida obtenção (DE PAULA et al., 2014) sucessivas tentativas foram feitas sem sucesso. Acreditamos que o aparato de Clevenger utilizado e seu respectivo resfriamento não foi suficientemente eficiente para obter as frações de óleos essenciais propostas.

Logo, visando obter dados de atividade antiparasitária frente a *S. mansoni* e *T. cruzi*, foram obtidas em substituição aos óleos essenciais frações orgânicas em polaridade crescente de *H. speciosa* a partir do extrato bruto da planta, por extração líquido-líquido com solventes reativos em polaridade crescente. A eficiência da extração é descrita na tabela abaixo.

**Tabela 1.** Eficiência de extrações líquido-líquido das frações de *H. speciosa*

Fração	Folhas	
	M inicial	%
Hexano	0,0434	0,14
Diclorometano	0,0011	$3,7 \times 10^{-3}$
Acetato de Etila	0,1366	0,46
Água	0,5431	1,81

Todas as frações obtidas foram enviadas para avaliação prévia da atividade antiparasitária, e os resultados destas avaliações estão dispostos no item 4.3 e 4.4 deste trabalho.

### 4.2 Análise Fitoquímica

A Tabela 2 sintetiza os resultados para a análise fitoquímica. Algumas discussões destes experimentos estão descritas abaixo para cada classe de compostos citada.

**Tabela 2.** Resultados para testes qualitativos do perfil fitoquímico das folhas de *H. speciosa*.

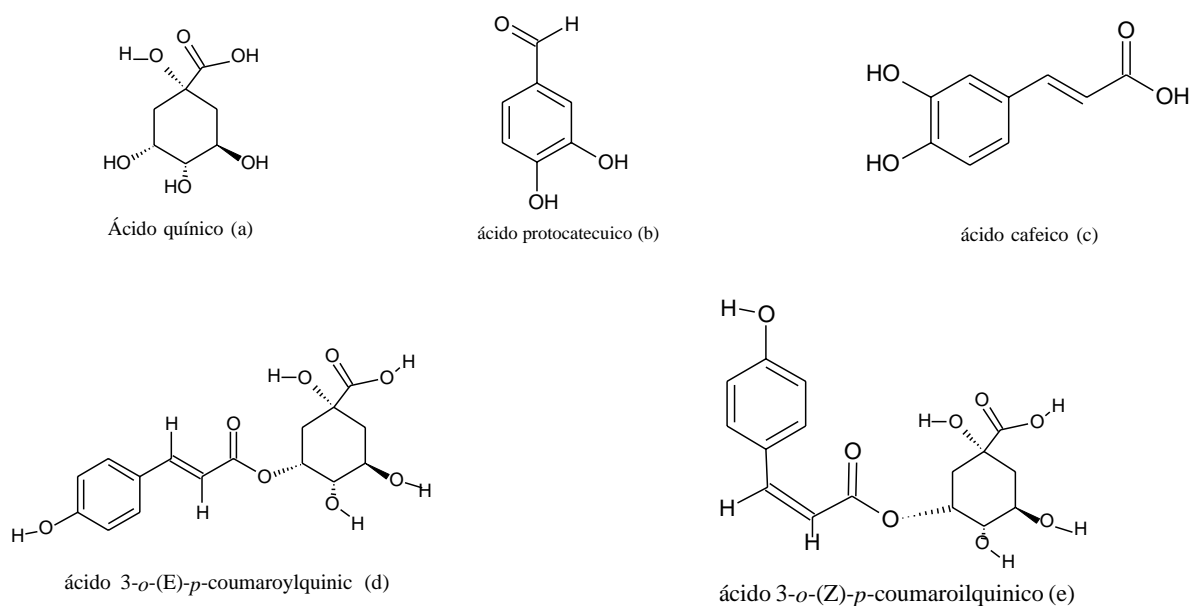
Classes de Compostos	Resultados		
	R1	R2	R3
<i>Ácidos Orgânicos</i>	+++	+++	+++
<i>Cumarinas</i>	+	+	+
<i>Polissacarídeos</i>	-	-	-
<i>Açúcares Redutores</i>	+++	+++	+++
<i>Fenóis</i>	-	-	-
<i>Taninos</i>	++ verde	+++ verde	+++ verde
<i>Antraquinonas</i>	-	-	-
<i>Esteroides e Triterpenos</i>	-	-	-
<i>Saponinas Espumílica</i>	+++	+++	+++
<i>Alcaloides</i>	-	-	-
<i>Flavonoides</i>	+	+	+
<i>Purinas</i>	-	-	-

(+) = Reagente; (-) = Não reagente. A intensidade da reação é representada por (+), (++) e (+++), sendo que (+++) representa visível e indubitável sensibilidade ao teste. R1, R2 e R3 referem-se às replicatas.

### 1. Ácidos orgânicos

Para ensaiar ácidos orgânicos, empregamos o reativo de Pascová (BASTOS et al, 2017; PARACATU, 2012). No teste de ácidos orgânicos, foi observada a rápida sensibilidade dos compostos presentes na mistura através do descoloramento da solução formada. Considera-se como ácido orgânico todo ácido encontrado naturalmente em frutas e vegetais e que são usados pelas plantas em seus processos biossintéticos, por exemplo na formação de ésteres e carboidratos. Ácidos orgânicos estão presentes em diversas espécies de *Hancornia* descritas na literatura, sendo então confirmados pelos experimentos conduzidos neste trabalho. Bastos e colaboradores (2017) descrevem a presença de ácidos orgânicos nos extratos alcoólicos de *H. speciosa*. Através de análises empregado Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLEA), Bastos e colaboradores descreve a presença de ácido quínico (**a**), ácido protocatecuico (**b**), ácido cafeico (**c**), ácido 3-*o*-(E)-*p*-coumaroilquinico (**d**), ácido 3-*o*-(Z)-*p*-coumaroilquinico (**e**), dentre outros (Figura 1). Destaca-se o ácido cafeico (**c**), que apresenta diversas atividades biológicas, tais como antioxidante, antitrombose, anti-hipertensiva, anti-fibrótica (PARACATU, 2012).

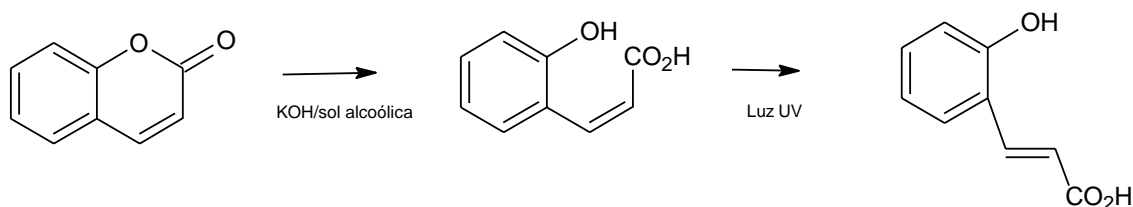
**Figura 1.** Estruturas de ácidos orgânicos presentes em extratos de *H. speciosa*



## 2. Cumarinas

As cumarinas são heterosídeos que apresentam diversas propriedades, onde podemos citar como exemplo o dicumarol, um potente anticoagulante, ou mesmo os furano-derivados, com reconhecida ação sobre o vitiligo, entre outras propriedades. As cumarinas puras são fluorescentes, mas em meio alcalino, forma-se o ácido *cis-o*-hidroxicinâmico, que sob a ação da radiação ultravioleta origina o isômero *trans*, que é fluorescente (sob a ação da radiação ultravioleta possuem em geral fluorescência azul e alguns derivados já à luz natural; em meio alcalino torna-se verde ou desaparece) (ALMEIDA et al, 2021). Abaixo, segue a reação que caracteriza cumarinas.

**Figura 2.** Reação de caracterização de cumarinas (ALMEIDA et al, 2021).



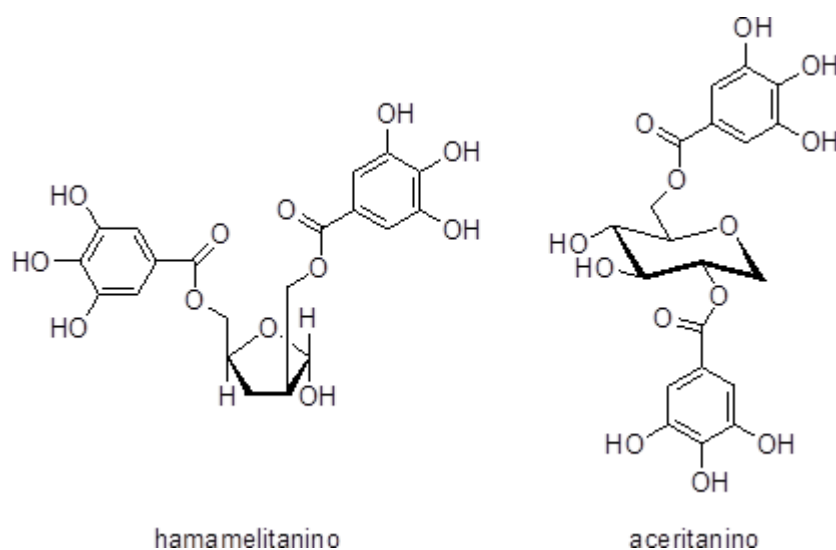
No teste realizado para identificação de cumarinas no extrato de *H. speciosa*, foi verificado resultado positivo para os compostos, resultados que contrastam como dados presentes na literatura. Nos estudos realizados por Neto e colaboradores (2015) e Almeida et al (2021) que, respectivamente, estudaram o perfil fitoquímico das folhas e entrecascas, e a

fitoprospecção do látex de *Hancornia speciosa*, a presença de cumarinas não foi detectada. O fraco amarelamento do papel de filtro em nossos experimentos quando este se encontra na luz UV indica a possível presença não detectada destes compostos nos outros estudos da literatura. Tais diferenças podem ocorrer devido à diferentes intemperes e condições de cultivo do espécime vegetal, levando à produção de outros metabólitos especiais (DANTAS et al, 2021).

### 3. Taninos

Os taninos podem ser classificados em hidrolisáveis e condensados. Os primeiros são constituídos por diversas moléculas de ácidos fenólicos, como o gálico e o elágico, que estão unidos a um resíduo de glucose central. São chamados de hidrolisáveis, uma vez que suas ligações ésteres são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas. Em solução desenvolvem coloração azul com cloreto férrico, assim como o ácido gálico (SBFGNOSIA, 2022).

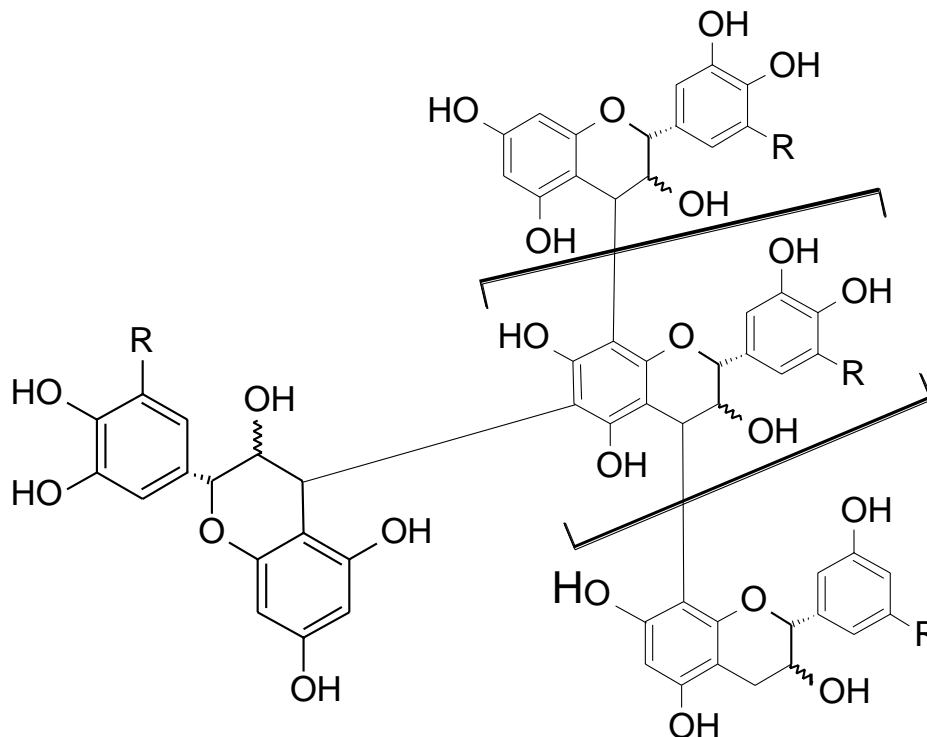
**Figura 2.** Estrutura química dos taninos hamamelitanino e aceritanino (SBFGNOSIA, 2022)



Os taninos condensados incluem todos os outros taninos verdadeiros. Suas moléculas são mais resistentes à reações de hidrólise e estão relacionadas com os pigmentos flavonoides, tendo uma estrutura “polimérica” do flavan-3-ol, como a catequina, ou do flavan-3,4-diol, da leucocianidina (SBFGNOSIA, 2022). Sob tratamento com ácidos ou enzimas esses compostos tendem a se polimerizar em substâncias vermelhas insolúveis, chamadas de flobafenos. Essas substâncias são responsáveis pela coloração vermelha de diversas cascas de plantas (p. ex. quina

vermelha). Em solução, desenvolvem coloração verde com cloreto férrico, assim como o catecol.

**Figura 3.** Estruturas básicas dos taninos



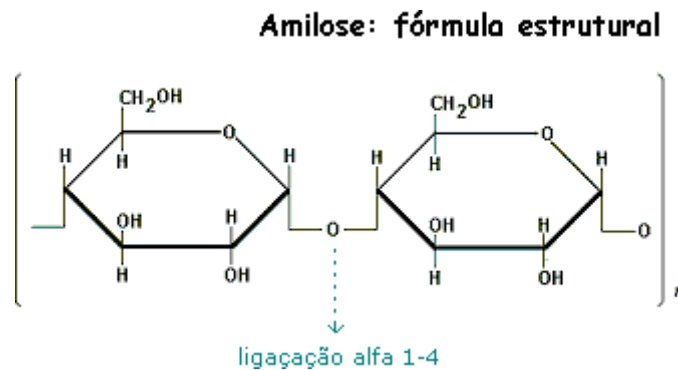
Ambas as classes de compostos são amplamente distribuídas na natureza e, em algumas espécies, os dois tipos estão presentes, embora um deles deva ser predominante. Castejon (2011) evidenciou importante atividade antibacteriana e fungicida, na reparação de tecidos, regulação enzimática e protéica, entre outros. Nos experimentos realizados para identificação de taninos em *H. speciosa*, encontramos resultado positivo para taninos condensados, já que coloração verde foi observada em nossos testes. Estes dados corroboram com a literatura, já que nos trabalhos de Honda e colaboradores (1990), Chaves e colaboradores (2018), e Moraes e colaboradores (2008), taninos também estão presentes nas folhas de *H. speciosa*.

#### 4. Polissacarídeos

O amido, polissacarídeo de extrema importância em alimentos, é produzido em grande quantidade nas raízes dos vegetais como forma de armazenamento dos produtos da fotossíntese,

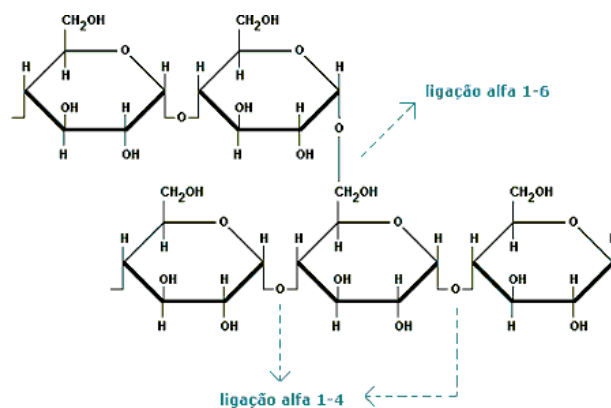
e é constituído por dois outros polissacarídeos estruturalmente diferentes: amilose e amilopectina (BROMATOLOGIA, 2017).

**Figura 4.** Estruturas básicas da amilose (BROMATOLOGIA, 2017).



Como podemos observar, a molécula da amilose não apresenta ramificações e, no espaço, assume conformação helicoidal (forma de hélice). A ligação entre os átomos de carbono das unidades de glicose é do tipo alfa 1-4 (DENARDIN, SILVA, 2009). A amilopectina apresenta estrutura ramificada, sendo que os “ramos” aparecem a cada 24-30 moléculas de glicose. A ligação entre as unidades de glicose também é do tipo alfa 1-4 na mesma cadeia. Porém, unindo duas cadeias aparecem ligações do tipo a 1-6. Observe a figura:

**Figura 5.** Estrutura da amilopectina (UNESP, 2018)



Moléculas de alto peso molecular (como a amilose e a amilopectina) podem sofrer reações de complexação, com formação de compostos coloridos. Um exemplo importante é a complexação da amilose e da amilopectina com o iodo, resultando em complexo azul e vermelho-violáceo, respectivamente. A figura abaixo esquematiza a interação do iodo com a estrutura do amido (UNESP, 2018).

**Figura 6.** Reação de caracterização de amidos (UNESP, 2018)



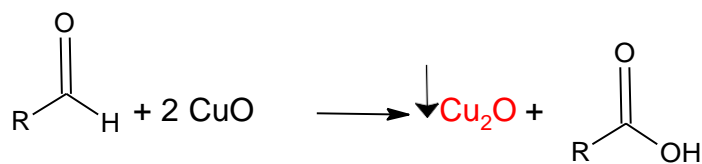
O complexo acima apresenta coloração azul intensa, desenvolvida pela oclusão (aprisionamento) do iodo nas cadeias lineares da amilose. O aprisionamento do iodo dá-se no interior da hélice formada pela amilose. Como a amilopectina não apresenta estrutura helicoidal, devido à presença das ramificações, a interação com o iodo será menor, e a coloração menos intensa (UNESP, 2018). No experimento realizado para caracterização de polissacarídeos no extrato das folhas de *H. speciosa*, obtivemos resultado negativo e consequente ausência de polissacarídeos na fração.

Não encontramos nenhum relato da presença de polissacarídeos nas folhas de *Hancornia speciosa*, e nem em outras partes da planta.

### 5. Açúcares redutores

Um açúcar redutor é qualquer açúcar que, em solução básica, apresenta um grupo carbonílico livre em forma de aldeído. Sua capacidade de redução se dá pela presença de um grupo aldeído ou cetona livre. Estes açúcares constituem monossacarídeos, alguns dissacarídeos e oligossacarídeos (TAVARES, 2010). No teste realizado para açúcares redutores no extrato das folhas de *H. speciosa*, encontramos resultados positivo pelo aparecimento de um precipitado vermelho-tijolo, que se refere a  $\text{Cu}_2\text{O}$  formado após a oxidação dos compostos carbonílicos presentes nestas espécies químicas. Isto corrobora com os resultados apresentados nos estudos de Souza e colaboradores (2007), onde através da caracterização física e química dos frutos de *Hancornia speciosa*, os autores conseguiram encontrar açúcares redutores. A seguir, a reação que caracteriza açúcares redutores.

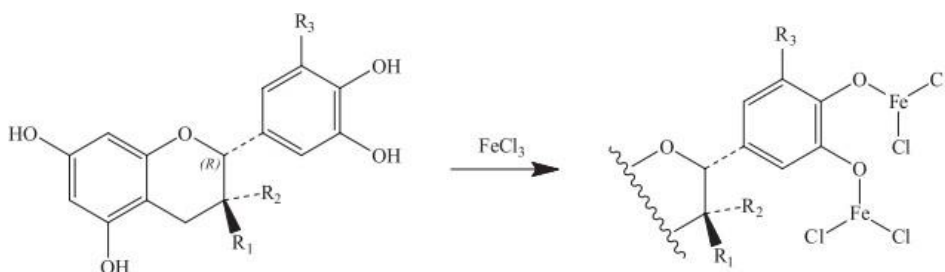
**Figura 7.** Reação de caracterização de açúcares redutores (SOUZA et al, 2007)



## 6. Fenóis

Fenol é uma função orgânica caracterizada por uma ou mais hidroxilas ligadas a um anel aromático conforme composto observado na figura abaixo. Os fenóis possuem grupos –OH ligados a anéis aromáticos, sendo mais ácidos que outros grupos funcionais hidroxilados como álcoois, pois possui uma estrutura de ressonância que estabiliza a sua base conjugada após a ionização da hidroxila (ROCHA et al., 2011). Para caracterizar fenóis, a base conjugada fenolato ataca o cloreto férrico que age como ácido de Lewis, promovendo a formação de um complexo colorido, geralmente de coloração verde ou azul (DE OLIVEIRA, 2018). A seguir, a reação que caracteriza fenóis.

**Figura 8.** Reação de caracterização de fenóis (OLIVEIRA, 2018).



No trabalho realizado por OLIVEIRA e colaboradores (2018), os autores fracionaram o látex da mangabeira, sendo que os dados obtidos demonstraram que a fração aquosa desse látex possui em sua constituição o ácido clorogênico, um composto fenólico capaz de acelerar o processo de regeneração de tecidos. Os autores evidenciaram também uma relevante atividade antioxidante, a qual pode contribuir no processo de cicatrização de feridas. no teste realizado para fenóis em nossa alíquota de extrato, não evidenciamos por experimentos qualitativos o grupo funcional no extrato das folhas de *Hancornia speciosa*. Reforçamos aqui a ideia apresentada acima a respeito de diferenças ligeiras na constituição de metabólitos é também dependente de fatores relacionados ao cultivo do espécime vegetal, podendo apresentar pequenas diferenças entre metabólitos (DANTAS et al, 2021).



## 7. Antraquinonas

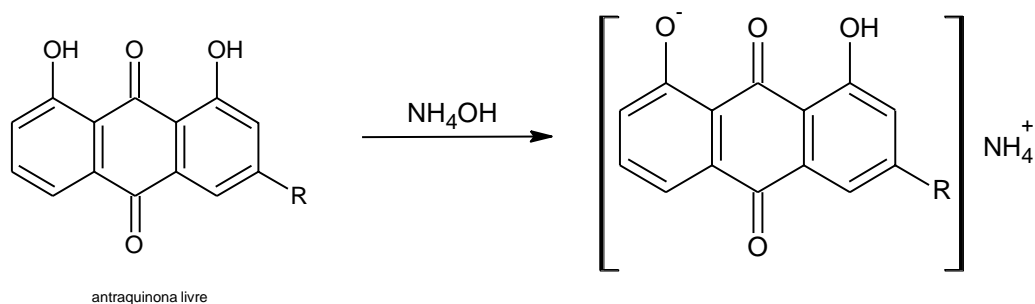
As antraquinonas estão amplamente presentes na natureza, encontradas em plantas, bactérias, fungos e insetos. Elas são amplamente utilizadas como drogas farmacológicas para constipação e dietas sem receita médica, e suplementos para perda de peso. Atualmente, estes compostos são usados para uma variedade de atividades, incluindo anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriano e antiviral (GESSLER; EGOVA; BELOZERSKAYA, 2013; PANKEWITZ et al., 2007 apud DEMARQUE, 2017).

Por exemplo, o medicamento Artrolyt (diacereína), obtido a partir da semissíntese (origem natural), é amplamente prescrito para tratar vários distúrbios articulares, como osteoartrite do quadril e joelho (DEMARQUE, 2017).

Devido à ação citotóxica de alguns componentes desta classe, vários medicamentos foram desenvolvidos para tratar o câncer, como doxorubicina (natural), daunorrubicina (natural) e valrubicina (semi-sintética) (DEMARQUE, 2017).

Segundo Demarque (2017) as antraquinonas são quimicamente definidas como substâncias fenólicas derivadas da dicetona do antraceno. Para caracterizar antraquinonas, promovemos a reação de formação de um complexo monodentado antraquinona e amônio, conforme representado na figura abaixo.

**Figura 9.** Reação de caracterização de antraquinonas (OLIVEIRA, 2018).

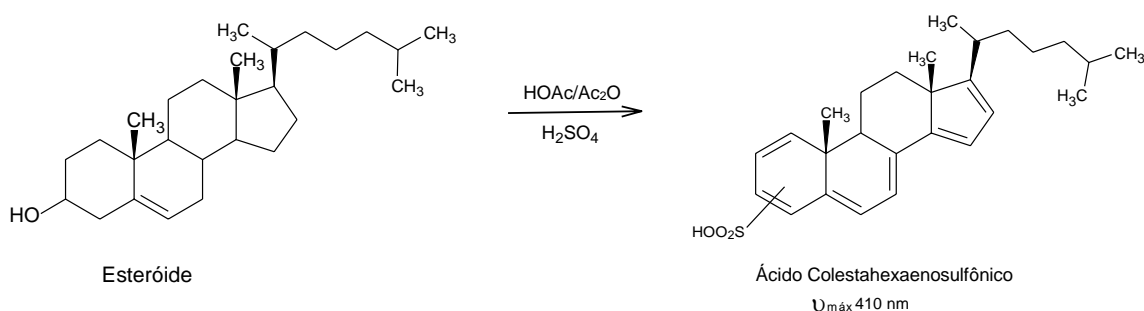


Nos estudos de OLIVEIRA (2018), onde os autores desenvolveram um trabalho de caracterização das frações do látex de *Hancornia speciosa*, não foram identificadas espécies químicas da classe das antraquinonas. Nos experimentos qualitativos desenvolvidos neste trabalho, também não encontramos a classe de compostos, corroborando com este trabalho.

## 8. Esteróides e triterpenos

Esteroides constituem um grande grupo de compostos solúveis em gordura, que têm uma estrutura básica de 17 átomos de carbono dispostos em quatro anéis ligados entre si. Os triterpenos são uma classe de compostos químicos compostos de três unidades terpeno com a fórmula molecular  $C_{30}H_{48}$ . Esta classe de compostos também pode ser considerado como consistida de seis unidades de isopreno. Animais, plantas e fungos produzem triterpenos, incluindo esqualeno, o precursor de todos os esteróides (QUEIROZ, 2009). Em pesquisa bibliográfica sobre estas estruturas, não encontramos na literatura relatos de esteroides e triterpenos em espécies de *H. speciosa*, o que corrobora com nossos resultados. Em testes qualitativos conduzidos com o extrato das folhas de *H. speciosa*, empregando ácido acético em presença de anidrido acético em meio ácido (reação abaixo) observa-se resultado negativo para estas classes de compostos.

**Figura 10.** Reação de caracterização de esteróides e triterpenos (SBFGNOSIA, 2022)



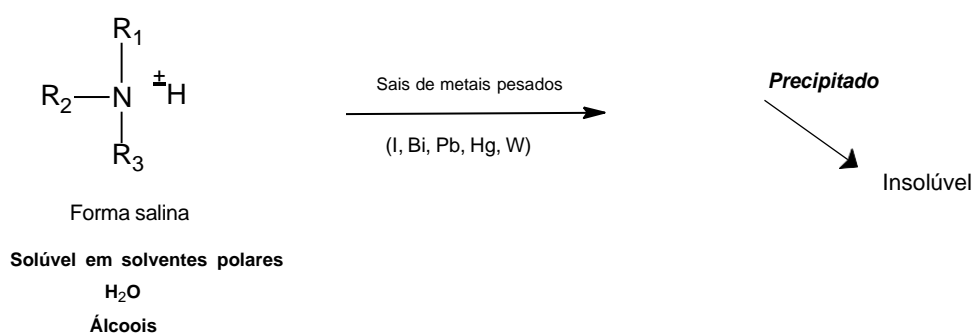
### 9. Saponina Espumídica

A classe das saponinas refere-se a compostos não nitrogenados, que se dissolvem em água originando soluções espumantes, por diminuição da tensão superficial do líquido. Geralmente plantas medicinais que apresentam saponinas são diuréticas, depurativas do sangue e expectorantes (GARLET, 2019). Autores como Chaves e colaboradores (2018) e OLIVEIRA (2018) descrevem a presença de saponinas nas folhas de *Hancornia speciosa*, corroborando com os resultados presentes em nossos experimentos realizados para caracterizar saponinas, onde obtivemos também resultado positivo. Nos estudos de Chaves e colaboradores (2018), há a finalidade de bioprospecção cosmética, e pelas saponinas apresentarem propriedades detergentes, ela pode ser utilizada na fabricação de xampus e sabonetes.

### 10. Alcaloides

Os alcaloides constituem um grupo heterogêneo de substâncias nitrogenadas, geralmente de origem vegetal, de caráter básico e que apresentam acentuada ação farmacológica em animais. De acordo com os estudos de Silva (2018), não foi identificada a presença de alcaloides nas folhas de *Hancornia speciosa*, entretanto foram identificados alcaloides nas cascas da mesma espécie. Nos estudos de Neto e colaboradores (2015) realizado com folhas de *Hancornia speciosa*, entretanto, foram identificados alcaloides. Tais diferenças podem ser explicadas devido à intemperes da região, questões relacionadas à sazonalidade da espécie e formas de manejo (DANTAS et al, 2021). Nossos experimentos, entretanto, corroboram com os resultados apresentados por Silva e colaboradores (2018), visto que em experimentos com os reativos de Dragendorff e Mayer não foram formados os precipitados vermelho ou branco, respectivamente. Alcaloides apresentam nitrogênio cíclico em forma de amina, e reagem formando sais complexos com metais, reagindo com outros compostos de mercúrio, ouro, platina e outros metais. Precipitam de soluções neutras a levemente ácidas, com os reativos que contêm estes metais, conforme demonstrado na reação abaixo.

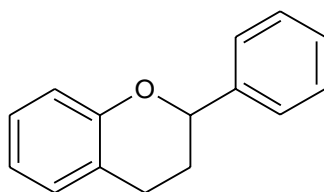
**Figura 11.** Reação de caracterização de alcaloides (SBFGNOSIA, 2022)



## 11. Flavonoides

Os flavonoides são compostos naturais, derivados da benzo- $\gamma$ -pirona, apresentando a estrutura química C6-C3-C6, conforme demonstrado na figura abaixo. Ocorrem no estado livre ou, mais comumente, como O-glicosídeos, embora exista um número considerável de C-glicosídeos (OLIVEIRA; ESPESCHIT; PELUZIO, 2006). Dentre as atividades biológicas presentes nos flavonoides, destacam-se: anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antialérgica e vasodilatadora.

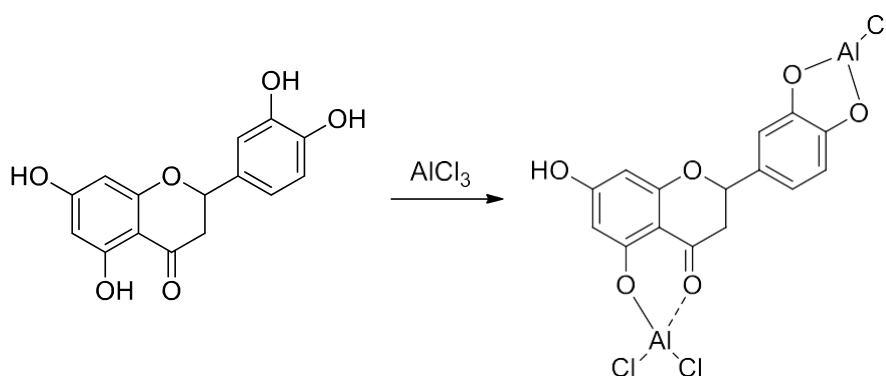
**Figura 12.** Esqueleto básico dos flavonoides (SBFGNOSIA, 2022)



Estrutura básica dos flavonóides

Em estudos realizados por Neto e colaboradores (2015), e Chaves e colaboradores (2018), foi identificada a presença de flavonoides no extrato etanólico das folhas de *Hancornia speciosa*, fato que corrobora com nossos experimentos, visto que nos testes realizados para identificação de flavonoides, obtivemos resultado positivo. No experimento conduzido em laboratório, a reação entre os flavonoides em presença de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ), promove a formação de um complexo entre o metal e a carbonila e hidroxila presentes na estrutura básica desta classe de compostos, formando um coordenado de coloração fluorescente em luz no comprimento de onda de 365 nm. Cloretos metálicos tendem a formar complexos (reação abaixo) que sensibilizam o espectro eletromagnético em comprimentos de onda específicos, tais como observado pelos flavonoides.

**Figura 13.** Reação de caracterização de flavonoides (ULUBELEN et al., 2003)



Fonte: ULUBELEN et al., 2003

## 12. Purinas

Presentes em alimentos como carne vermelha e feijão, as purinas são componentes fundamentais do DNA e do RNA. As purinas são bases nitrogenadas, compostos orgânicos heterocíclicos. São compostas por um anel pirimidínico fundido a um anel imidazólico. Duas das bases dos ácidos nucleicos, a adenina e a guanina, são purinas (BRASIL, 2021). Em nossa

pesquisa bibliográfica, não encontramos dados que possam apresentar a presença de purinas nas folhas de *Hancornia speciosa* Gomes, fato que é evidenciado pelos testes realizados para esta classe de compostos em laboratório, onde obtivemos resultado negativo.

### 4.3 Atividades antiparasitárias contra *S. mansoni*

Para a determinação da atividade antiparasitária dos extratos obtidos de folhas de *H. speciosa*, optou-se por testar sua ação contra *S. mansoni* em uma concentração inicial de 50 µg/mL, visando fazer uma triagem inicial das amostras enviadas. Os resultados dos experimentos conduzidos em triagem inicial estão listados na Tabela 3, bem como demonstrados na figura 14, onde descreve-se ainda a viabilidade do parasita. Nestes experimentos, as frações de *H. speciosa* não apresentaram resultados promissores na concentração de 50 µg/mL em termos de inibição e mortalidade de vermes adultos após 24 e 72 horas. Em todos os casos, as viabilidades dos parasitas foram descritas como (3), ou seja, vermes normais, fixados na placa com bons movimentos. Neste caso, infelizmente não seguiremos com os experimentos antiparasitários contra *S. mansoni* para as frações testadas, já que não há perspectiva para as frações em comparação com o controle positivo.

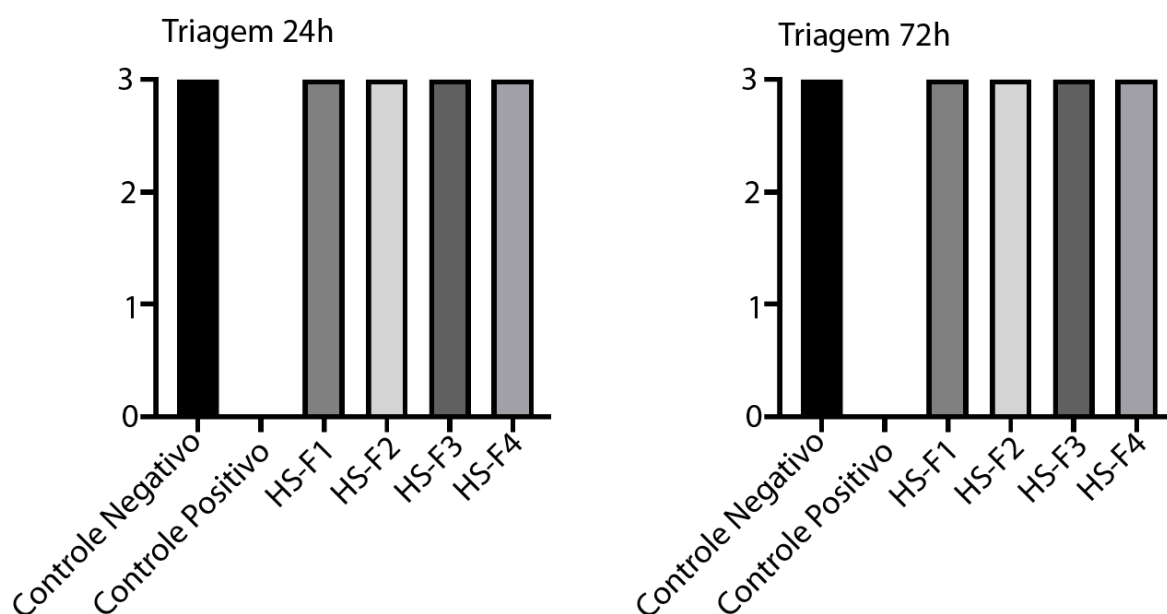
**Tabela 3.** Médias da porcentagem de mortalidade dos vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (LE) após incubação com as amostras na concentração de 50 µg/mL (triagem).

	% Inibição	
	24 horas	72 horas
Controle Negativo <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Controle Positivo <sup>b</sup>	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
HS-F1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
HS-F2	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
HS-F3	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
HS-F4	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

<sup>a</sup>Meio de cultura RPMI 1640 + 0,1% DMSO. <sup>b</sup>PZQ (Sigma-Aldrich) aplicado na concentração de 1,6 µM. Dados expressos em média ± desvio padrão.

F = folhas. Polaridade crescente dos extratos 1-4, respectivamente nos solventes hexano, diclorometano, acetato de etila, aquoso.

**Figura 14.** Média e desvio padrão da escala de viabilidade dos vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (LE) após 24 e 72 horas de incubação com as amostras, em concentração de triagem (50 µg/mL) de extratos de *H. speciosa*.



\*Controle negativo: meio de cultura RPMI 1640 + 0,1% DMSO. Controle positivo: Praziquantel (Sigma-Aldrich) aplicado na concentração de 1,6 µM.

É importante ainda descrever que diversas espécies da família Apocynaceae, presente em uma grande diversidade de plantas do cerrado brasileiro, apresentam potencial biológico contra parasitas como *S. mansoni* descritos na literatura. Melo e colaboradores (2021) descrevem em um importante e atual artigo de revisão diversos látex obtidos de Apocynaceae com efeitos promissores contra parasitas, como *Cryptostegia grandiflora*, planta conhecida como videira de borracha (MELO, 2021). Na mesma revisão, diversos trabalhos descrevem o látex de *H. speciosa* apresentando atividades antioxidante, antibacteriana, anti-inflamatório, osteogênico, angiogênico, anti-biofilme, cicatrizante e atóxico. O perfil anti-inflamatório desta espécie inclusive chama a atenção, já que as infecções por *S. mansoni* pode influenciar o desenvolvimento de respostas imunes em doenças causadas por infecções. Logo, substâncias que apresentem um certo potencial anti-inflamatório podem agir positivamente na resposta imune contra a doença (PEARCE & MacDONALD, 2002).

Nos estudos de Lederman e colaboradores (2000) e Sampaio e Nogueira (2006) o látex desta planta apresentou tratamento eficaz contra tuberculose, úlcera, herpes, dermatoses e verrugas. Além disso, Silva e colaboradores (2010) determinaram com êxito a capacidade antifúngica do látex de *Hancornia speciosa* contra *Candida albicans*. Propriedades

vasodilatadoras foram verificadas nas folhas da mangabeira, a partir de extrato etanólico, além de efetividade no combate e cicatrização de úlceras gástricas por sua capacidade de estimular a síntese de muco e produzir efeito antissecretório (FERREIRA et al. 2007; MORAES et al. 2008 apud LIMA, 2014).

#### **4.4 Atividades antiparasitárias contra *T. cruzi***

A determinação da atividade antiparasitária contra *T. cruzi* seguiu o mesmo procedimento de testagem de extratos em concentração de triagem (100 µg/mL). Todos os resultados dos experimentos de triagem inicial foram tabelados e dispostos na Tabela 4. Os dados obtidos dos experimentos biológicos sugerem que a fração mais apolar extraída por partição líquido-líquido com hexano (F1) apresenta o maior percentual de inibição da motilidade flagelar, apresentando  $62,52\% \pm 5,72$  de inibição, sendo esta considerada promissora na ação contra *T. cruzi* em comparação com o controle positivo (25% DMSO). De acordo com nossas análises de identificação de classes de compostos, classes pouco polares como saponinas espumídicas, que são triterpenos ou esteroides saponídicos que apresentam atividades emulsionantes (SBFGNOSIA, 2022). Sabe-se que, por exemplo, uma das classes apolares que podem estar presentes na fase hexânica são as saponinas espumídicas, que tem conhecida atividade hemolítica, podendo agir em lises inespecíficas de células, já que promovem complexação de colesterol com membranas celulares de protozoários (RAMOS-MORALES, et al, 2017).

Na literatura é proposto ainda que compostos pouco polares permeiam livremente dentro das membranas celulares e acabam matando parasitas por afetar as vias metabólicas citoplasmáticas, bem como as organelas ali presentes (BORGES, et al, 2012). Outro fator que deve ser levado em conta é o fato de frações orgânicas apolares causarem drásticas alterações na fisiologia da membrana do parasita, promovendo uma perda da permeabilidade de sua membrana e sua consequente morte (BORGES, et al, 2012). Esta hipótese apresentada na literatura é, a princípio, consistente com nossos resultados, visto que a fração hexânica (F1) de *H. speciosa* foi ativa contra *T. cruzi*, assim como as frações de polaridade crescente (F2-F4, diclorometano, acetato de etila e aquosa) não apresentaram percentual de inibição da motilidade maior que 50% e, conseqüentemente são consideradas não promissoras contra formas tripomastigotas do parasita.

**Tabela 4.** Triagem tripanocida contra formas tripomastigotas de *T. cruzi* após 24 horas de incubação.

Amostras	% de inibição da motilidade flagelar $\pm$ D.P.*
Controle Negativo <sup>a</sup>	0,00 $\pm$ 0,00
Controle Positivo <sup>b</sup>	100,00 $\pm$ 0,00
HS - F1	62,52 $\pm$ 5,72
HS - F2	11,20 $\pm$ 11,45
HS - F3	22,23 $\pm$ 5,41
HS - F4	22,01 $\pm$ 11,61

\*Realizados 2 experimentos independentes no período de 24 horas de incubação na concentração de 100  $\mu$ g/mL de cada substância em análise. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. <sup>a</sup> 0,1% de DMSO <sup>b</sup> 25% do volume final do poço contendo DMSO (50  $\mu$ L).

Na literatura, vários são os relatos onde formas do parasita *T. cruzi* são afetadas por frações pouco polares de extratos de plantas, como por exemplo o trabalho descrito por Silva e colaboradores (2017), que descrevem a ação antiparasitária promissora da fração hexânica do extrato etanólico de *Pfaffia glomerata* contra *T. cruzi*. Os autores descrevem que derivados de esteroides e saponinas encontrados na fração pouco polar são responsáveis pelos efeitos antiparasitários observados nos experimentos *in vitro* (SILVA et al, 2017). Recentes revisões demonstram outras frações apolares de plantas, como *Guarea polymera* (Meliaceae), *Marila laxiflora* (Clusiaceae), *Conobea scoparioides* (Scrophulariaceae), *Otoba novogranatensis* (Myristicaceae), e *Otoba parviflora* (Myristicaceae), que apresentam ação contra *T. cruzi*, reforçando a ideia de que interações entre as moléculas apolares de *H. speciosa* podem apresentar resultados altamente promissores em concentrações menores. Logo, o trabalho apresentado até este ponto está ainda em andamento, visto que a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) será um ponto importante para a aquisição de mais informações sobre esta fração. A determinação da CIM está ainda em andamento para a fração F1, visto que as frações F2-F4 foram consideradas pouco promissoras e não prosseguirão nos futuros estudos.



## 5. Conclusão

Sabe-se que parasitoses como a esquistossomose são considerados problemas de saúde pública de grande importância. Apesar disto, poucos recursos são empenhados pela indústria farmacêutica para o tratamento de tal enfermidade. Neste sentido, o uso de substâncias advindos de produtos naturais se torna uma viável possibilidade para o tratamento de parasitoses. Neste trabalho, desenvolveu-se a classificação botânica do espécime vegetal e análise do perfil fitoquímico do extrato da espécie *Hancornia speciosa* através de testes qualitativos. O extrato das folhas de *H. speciosa* apresentou uma gama de metabólitos secundários: ácidos orgânicos, cumarinas, açúcares redutores, taninos catéquitos, saponina espumídica e flavonoides. Devido a dificuldades quanto à sazonalidade da espécie, obtivemos o perfil fitoquímico apenas das folhas, sendo o perfil fitoquímico de flores e frutos bastante difícil durante o intercurso deste projeto, já que a floração e aquisição de frutos ocorre apenas uma vez no ano, no mês de setembro.

É importante salientar que durante o período do primeiro semestre de projeto, com a pandemia de COVID-19, diversas dificuldades foram encontradas para a realização do projeto, como a aquisição dos materiais vegetais, acesso aos laboratórios de parceiros e atividades laboratoriais em nossa própria instituição, já que muitos laboratórios foram desativados por certo tempo, e precisavam de demasiada manutenção. Consequentemente foi possível adquirir dados da triagem do extrato contra *T. cruzi* apenas no mês de outubro de 2022. Diversas tentativas anteriores foram feitas visando atingir o objetivo inicial do projeto, ou seja, adquirir o óleo essencial da espécie. Infelizmente por motivos relacionados ao aparato de extração disponível no campus, não conseguimos obter tais óleos essenciais, e seguiu-se para a obtenção de extratos.

A pesquisa desenvolvida teve um caráter investigativo da atividade antiparasitária contra a esquistossomose e tripanossomíase, que é causada, respectivamente, pelos protozoários *S. mansoni* e *T. cruzi* foram ainda sim realizados nos extratos obtidos. Relatos da literatura apresentam relação entre metabólitos especiais de espécies vegetais com atividades anti-inflamatórias, como *H. speciosa*. Apesar disto, na triagem inicial das frações obtidas das folhas, flores e frutos de *Hancornia speciosa* obtivemos resultados não promissores contra *S. mansoni*, entretanto obtivemos resultados promissores para a fração hexânica contra *T. cruzi* e, portanto, seguiremos com os experimentos de concentração inibitória mínima para esta fração.

## Referências Bibliográficas

- ABREU, F. DE. **Efeito anti-inflamatório do óleo fixo das sementes da *Hancornia speciosa* Gomes**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, 2019.
- ALMEIDA, L.M et al. **Produtos Naturais e suas Aplicações**. Cap.17, pág 268-279. 2021.
- ALVES, C. C. F. et al. Antiproliferative activity of essential oils from three plants of the Brazilian Cerrado: *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), *Protium ovatum* (Burseraceae) and *Cardiopetalum calophyllum* (Annonaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, p. 290-294, 2019.
- ALVES, V. et al. Determinação do potencial antioxidante da polpa in natura de Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 4, n. 1, p. 1, jun. 2015.
- ARRUDA, C.T.B.S; MAPELI, A.M. **Atividade alelopática de folhas de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)**. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Mestrado em Ciências Ambientais. 2016.
- ASSUMPÇÃO, C. F. et al. Characterization, antioxidant potential and cytotoxic study of mangaba fruits. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1297–1303, 2014.
- BARBOSA, A. M et al. Separation of antibacterial biocompounds from *Hancornia speciosa* leaves by a sequential process of pressurized liquid extraction. **Separation and Purification Technology**, v. 222, p.390-395, 2019.
- BASTOS, K.X. et al. Identification of phenolic compounds from *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) leaves by UHPLC orbitrap-HRMS. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 143, 2017.
- BORGES, A.R. et al. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v. 132, n. 2, p. 123-128, 2012.
- BRASIL. Manual MSD. **Distúrbios de metabolismodepirimidinas**. 2021. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/ptbr/profissional/pediatria/disfun%C3%A7%C3%B5esmetab%C3%B3licas/heredit%C3%A1rias/dist%C3%BAbiosdometabolismodepirimidina>. Acesso em: 20/06/2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8º ed. rev. Brasília-DF, 2010.
- BROMATOLOGIA. **Carboidratos – amido e açúcares**. 2017. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4131902/mod\\_resource/content/1/Carboidratosamido%20aula.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4131902/mod_resource/content/1/Carboidratosamido%20aula.pdf). Acesso em: 23 de novembro de 2021.
- BRUNING, M.C.R; MOSEGUI, G.B.G; VIANNA, C.M.M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**. v. 17, n.10, p. 2675-2685, 2012.

CARAZZA, T.G et al. Atividade antimicrobiana de extratos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **PUBVET, Londrina**, v.5, n.7, ed 154. 2011.

CASTEJON, F.V. Taninos e saponinas. **Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação–Universidade Federal de Goiás, Goiânia**, v. 30, p. 1292-1298, 2011.

CASTRO, H. W. Cerrado e Plantas Medicinais: Algumas reflexões sobre o uso e a conservação. **Ensino, Saude e Ambiente**, v. 5, n. 3, p. 102–120, 2013.

CHAGAS, M. B. DE O. et al. Antimicrobial activity of cultivable endophytic fungi associated with *Hancornia speciosa* Gomes bark. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, n. 1, p. 179–188, 2017.

CHAVES, S.M. et al. Screening fitoquímico da folha e caule da *Hancornia speciosa* Gomes (mangabeira) com finalidade de bioprospecção cosmética. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 1212-1222, 2018.

CUNHA, A. (org). **Farmacognosia e Fitoquímica**. 4ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 2014.

DANTAS, L. A et al. The impact of carbon source on cell growth and the production of bioactive compounds in cell suspensions of *Hancornia speciosa* Gomes. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2021.

DE PAULA, L. A. et al. Chemical composition of the essential oil from *Hancornia speciosa* var. pubescens (Nees & C. Mart.) Müll. Arg. (Apocynaceae) leaves and its soil characterization. **Journal of Health Science**, v. 2, p. 567-570, 2014.

DEMARQUE, D.P. **Chemical and biological studies of tannins and anthraquinones acting on the gastrointestinal tract**. Dissertação de Mestrado. FFCLRP: Ribeirão Preto, 2017.

DENARDIN, C.C.; SILVA, L. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, p. 945-954, 2009.

DIAS, L. C. et al. Chemotherapy of Chagas' disease: State of the art and perspectives for the development of new drugs. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444– 2457, 2009.

FILHO, M.S.S.C et al. Recentes avanços no tratamento da doença de Chagas. **Revista Brasília Médica**, 49(4):279-283, 2012.

FIOCRUZ. Doença de Chagas. **Saúde e ciência para todos**. 2013. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7a-de-chagas>. Acessado em: 02 de novembro de 2022.

FREITAS, D.O. **Potencial antioxidante do extrato de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) e seu efeito sobre a hidrólise de nucleotídeos em soro de ratos**. Patos de Minas-MG. 2018.

GARLET, T.M.B. **Plantas medicinais nativas de uso popular no Rio Grande do Sul**. UFSM, Santa Catarina, RS, 2019.

HONDA, N. K. et al. Estudo químico de plantas de Mato Grosso do Sul I: Triagem fitoquímica. **Revista Científica e Cultural**, Campo Grande, v. 5, p. 37- 46, 1990.

JÁCOME, M.C.M.B. et al. Mangaba residue (*Hancornia speciosa* Gomes) potentially used for producing antioxidants and lignocellulosic enzymes. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 16, n. 1, p. 41-53, 2019.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, Xistosa, Barriga d'água. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38–41, 2003.

KHAN, R. A. Natural products chemistry: The emerging trends and prospective goals. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 26, n. 5, p. 739–753, 2018.

LEDERMAN, I. E et al. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: Funep, 2000.

LIMA, G.V.M. **Metabolismo antioxidativo e atividade biológica de látex de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Recife, 2014. Disponível em:<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/bitstream/tede2/4952/2/Gileno%20Vitor%20Mota%20Lima.pdf>. Acessado em: 29 de novembro de 2022.

LIMA, J. P et al. Climacteric pattern of mangaba fruit (*Hancornia speciosa* Gomes) and its responses to temperature. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 399-403, 2015.

MAIA, PI da S. et al. Organometallic gold (III) complexes with hybrid SNS-donating thiosemicarbazone ligands: cytotoxicity and anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Dalton Transactions**, v. 46, n. 8, p. 2559-2571, 2017.

MARTINEZ, A.P et al. Anti-*Trypanosoma cruzi* action of a new benzofuran derivative based on amiodarone structure. **Experimental Parasitology**, v.189 ,p .8–15, 2018

MARTINS, M.H.G et al. Schistosomicidal effects of the essential oils of *Citrus limonia* and *Citrus reticulata* against *Schistosoma mansoni*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 1, p. e1600194, 2017.

MATOS, F.J.A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2ª ed. Edições UFC, Fortaleza. 1988.

MEDEIROS, C. M.; JÁCOME, B. **Uso do resíduo industrial de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) para obtenção de produtos biotecnológicos**. Natal - RN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, ago. 2019.

MEDEIROS, E. et al. A comparative study of the non-isothermal degradation of natural rubber from Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) and Seringueira (*Hevea brasiliensis*). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 100, n. 3, p. 1045-1050, 2010.

MELO, A.C.O; BONILLA, O.H; LUCENA, E.M.P. Latex of Apocynaceae family plants: A review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, e13910817192, 2021.

MORAES, T. de M. et al. *Hancornia speciosa*: indications of gastroprotective, healing and anti-helicobacter pylori actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 161-168, 2008.

MUTAPI, F. et al. Human schistosomiasis in the post mass drug administration era. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. e42–e48,. 2017.

NETO, G. A. L et al. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 1069-1077, 2015.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

OLIVEIRA, L.A.R. **Caracterização química e avaliação dos potenciais antioxidante e antibacteriano da fração aquosa do látex de mangabeira**. V Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG. 2018.

OLIVEIRA, V.P; ESPESCHIT, A.C.R; PELUZIO, M.C.G. **Flavonóides e doenças cardiovasculares: ação antioxidante**. Vº 16. Viçosa-MG. 2006.

OOTANI, M. A et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.4, n.2, p.162-174, 2013.

PARACATU, L.C. **Ácido cafeico e seus ésteres: inibição do burst oxidativo de neutrófilos e efeito anti-Helicobacter pylori**. Dissertação de Mestrado: Universidade Estadual Paulista – Campus de Araraquara, 2012.

PEARCE, E. J; MACDONALD, A.S.The immunobiology of schistosomiasis. **Nature Reviews Immunology**, v.2(7), 499–511. 2002.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

QUEIROZ, G.S. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. Trabalho de conclusão de curso. Departamento de Química. Florianópolis, 2009.

RAMOS-MORALES, E. et al. Antiprotozoal effect of saponins in the rumen can be enhanced by chemical modifications in their structure. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 399, 2017.

RASSI, A et al. Tratamento da fase crônica da doença de Chagas com nifurtimox associado a corticóide. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.35, n.6, p. 547-550, 2002.

RÊGO, M. T. **Avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato aquoso, frações e compostos identificados nos frutos de *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)**. Natal - RN: Univesidade Federal do Rio Grande do Norte, 2015.

ROCHA, W.S et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura Jaboticabal - SP**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

RODRIGUES, F et al. Obtenção de extratos de plantas do Cerrado. **Enciclopédia Biosfera**, v.13, n. 23, 2016.

SAMPAIO, T.S.; NOGUEIRA, P.C. L. Volatile components of mangaba fruit (*Hancornia speciosa* Gomes) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 606-610, 2006.

SBFGNOSIA – Sociedade Brasileira de Farmacognosia. 2022. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/>. Acesso em 12/05/2022.

SEIBERT, J. B. **Avaliação *in silico* e *in vitro* do efeito tripanocida de óleos essenciais e desenvolvimento de sistemas nanoestruturados como alternativa terapêutica da doença de Chagas**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2019.

SILVA, E.C. **Estudo de padronização de extratos de *Hancornia speciosa* Gomes como alternativa terapêutica para obesidade**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Maranhão, 2018.

SILVA, M.L.A. e et al. *In vitro* activities of *Pfaffia glomerata* root extract, its hydrolyzed fractions and pfaffic acid against *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 1, p. e1600175, 2017.

SILVA, T.F. et al. Bacterial community associated with the trunk latex of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) grown in the northeast of Brazil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 99, n. 3, p. 523-532, 2011.

SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRS/ UFS. 2010.

SIMÕES, C. M.O et al. **Farmacognosia, do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 486 p. 2017.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed Universidade/UFRGS/Ed. Universidade/UFSC, 2000.

SOUZA, F.G. et al. Qualidade pós-colheita de frutos de diferentes clones de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1449-1454, 2007.

TAVARES, J.T.Q et al. Interferência do ácido ascórbico na determinação de açúcares redutores pelo método de Lane e Enyon. **Química Nova**, São Paulo, v.33, nº 4, p. 805-810, 2010.

TRAINA, M. I. et al. Prevalence of Chagas disease in a U.S. population of Latin American immigrants with conduction abnormalities on electrocardiogram. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 1, p. e0005244, 5 jan. 2017.

ULUBELEN, A. Cardioactive and antibacterial terpenoids from some salvia species. **Phytochemistry**, v.64, n.2, p.395-9, 2003.

UNESP, FCFAR. **Pesquisa de Polissacarídeos: Reação com Iodo**. 2018. Disponível em: [http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas\\_ch/teste\\_amido.htm](http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_ch/teste_amido.htm). Acesso em 04/06/2022.

VITORINO, R.R et al. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, nº 1, 2012.

WHO. **World Health Organization – Control of Neglected Tropical Diseases**. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases>>. Acesso em 22/02/2022.

**WHO. World Health Organization – World Chagas Disease Day: finding and reporting every case.** 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/14-04-2022-world-chagas-disease-day-bringing-a-forgotten-disease-to-the-fore-of-global-attention>. Acesso em 05/11/2022.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). **South African Journal of Botany**, v. 89, p. 164, 175, 2013.