

ESTUDO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DA *MORINDA CITRIFOLIA* E DA *CALOTROPIS PROCERA* FRENTE AS LINHAGENS TUMORAIS HCT-116, PC-3 E SNB-19

Daniel Kleber Bronzo¹, Cláudio Costa dos Santos²

Resumo: Desde as mais remotas civilizações a evolução das drogas medicinais, esteve intimamente associada à utilização de plantas e recursos minerais, como fonte de cura e tratamento das mais variadas doenças. A eficácia das chamadas “plantas medicinais” têm despertado bastante interesse dos biólogos, botânicos, farmacêuticos, químicos e outros estudiosos do assunto, tendo em vista a infinidade de possibilidades e aplicabilidades. Considerando o grande campo de estudo a ser explorado, o presente artigo tem por objetivo verificar o potencial citotóxico *in vitro* dos efeitos de 18 frações das espécies *Morinda citrifolia* e da *Calotropis procera*, aplicados em diferentes linhagens de células tumorais. Quanto aos procedimentos metodológicos foi utilizada a técnica de análise fitoquímica, tendo por finalidade a obtenção de extratos do algodão de seda (*C. procera*) e do noni (*M. citrifolia*). Após o processo da extração ambos os extratos foram submetidos ao teste MTT para avaliar a atividade antitumoral *in vitro*. Neste processo as diferentes células tumorais utilizadas foram: PC-3 (próstata), HCT-116 (cólon) e SNB-19 (astrocitoma). As células tumorais estudadas foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA) e amostras testadas nas concentrações únicas de 50 µg/mL para os extratos e 25 µg/mL para as frações. Os resultados obtidos foram satisfatórios e as substâncias analisadas apresentaram potencial citotóxico favorável ao combate de todas as linhagens tumorais testadas.

Palavras-chave: *Calotropis procera*; *Morinda citrifolia*; Potencial Citotóxico.

1. INTRODUÇÃO

A grande diversidade de plantas, de um modo geral, possui uma infinidade de compostos químicos com potencial para diversas aplicabilidades, tais como: alimentação, medicamentos, cosméticos, vestuários, materiais de construção e até mesmo biocombustíveis. As plantas medicinais, em especial, possuem uma representatividade muito maior em relação às demais utilizações, tendo em vista, principalmente, a sua importância para o desenvolvimento de tratamentos e medicamentos indispensáveis à manutenção da saúde das pessoas.

A utilização de plantas com propósitos medicinais não é uma prática recente, pelo contrário, esta ação representa uma parte importante da cultura de um povo. Saber este que é utilizado e difundido por populações ao longo de várias gerações [1]. Com o desenvolvimento da tecnologia aliada à medicina popular, as plantas têm tido seu potencial terapêutico pesquisado mais intensamente pela ciência.

Segundo o relatório State of the world's plants 2016 publicado pelo Reais Jardins Botânicos de Kew investigadores, calculam em 390.900 o número de espécies de plantas conhecidas na Terra. Destas, um total de 369.400 têm flor. Em 2015 foram descobertas 2.034 variedades e em todos os anos se descobrem novas espécies [2]. No Brasil estima-se um quantitativo de 46.097 espécies, deste total aproximadamente 43% delas é endêmica, com uma média de 250 novas espécies por ano [3].

Diante da grande variedade de espécies surge um grande campo de estudo a ser explorado, com inúmeras possibilidades. O que despertou grande interesse para biólogos, botânicos, farmacêuticos e químicos. Sobretudo na temática de fitoquímica, ciência que estuda todos os constituintes químicos e as propriedades biológicas dos vegetais, cujo principal objetivo é a análise fitoquímica para indicação de metabólitos secundários que se encontram na espécie vegetal [4]. Além disso, também tem como objetivo o esclarecimento e registro dos constituintes resultantes dos vegetais, através do isolamento e elucidação de suas estruturas moleculares [5].

O estudo da fitoquímica têm ganhado destaque no cenário científico, considerando sobretudo o seu potencial para análise e descoberta de compostos químicos e a sua utilização na criação de novos medicamentos e tratamentos fitoterápicos das mais diversas doenças, inclusive o câncer.

Segundo o INCA (Instituto Nacional de Câncer), o câncer é um conjunto de doenças caracterizada pelo crescimento desordenado de células. São mais de 100 tipos diferentes de câncer, os quais podem ser classificados quanto: ao grau de agressividade, o local do aparecimento e a velocidade de multiplicação, na qual a doença tem a capacidade de entrar em estágio de metástases ou não. Além disso, existem várias causas que

Ocasionam o câncer, sendo agentes externos ou internos ao organismo, os quais podem estar individualmente ou mutualmente relacionados [6].

O câncer atualmente é responsável por uma em cada seis mortes no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca 8,8 milhões de pessoas morrem de câncer anualmente [7].

Embora existam vários tipos de tratamento para o câncer, tais como: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, hormonioterapia, terapia alvo, imunoterapia, medicina personalizada e o transplante de medula óssea, muitos destes são pouco eficientes ou ainda com custos muito altos. Nesta perspectiva, a necessidade de buscar métodos alternativos eficazes e acessíveis para tal é eminente, principalmente, considerando-se o potencial medicinal encontrado nas plantas. A fitoterapia que se enquadra na terapia alvo consiste em estudar plantas medicinais e suas aplicações na cura de doenças, uma prática antiga que vem ganhando forças para o desenvolvimento de novas drogas [8].

Dessa forma, tendo em vista a ampliação do campo teórico acerca do potencial fitoquímico de plantas medicinais o presente artigo traz em sua proposta de pesquisa uma análise fitoquímica dos extratos da *Calotropis procera* e da *Morinda citrifolia* com o objetivo geral de verificar o potencial citotóxico *in vitro* de 20 extratos em três linhagens de células tumorais.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Calotropis procera*

A *Calotropis procera* foi introduzida no Brasil por volta de 1900, atualmente podendo ser encontrada em diversas regiões do país, principalmente no nordeste onde estão estabelecidas a maior parte da espécie [9]. Sendo ela um arbusto ou pequena árvore de mais ou menos 2,5 metros de altura, podendo atingir até 6 metros. A *Calotropis procera* também é conhecida popularmente como ciúmeira, algodão de seda, flor de seda, leiteira, queimadeira, paininha-de-seda e saco de velho. Considerada uma planta invasora de difícil erradicação, pertencente ao gênero *Calotropis* R. Br. Espécie *Calotropis procera* (Aiton) W. T. Aiton. Suas flores são reunidas em inflorescências, apresentam frutos verdes em forma de bola e quando maduros eles se abrem liberando as sementes. Essa espécie apresenta alta capacidade de produção de matéria seca e elevado valor nutritivo, podendo ser utilizada na forma de feno ou ensilagem pelos agricultores locais, sendo, portanto, uma fonte de alimento para o rebanho nos períodos de escassez. Possui ainda um sistema radicular bastante desenvolvido, com raiz principal pivotante que pode atingir 1,7 a 3,0 m em solos arenosos de desertos [10]. Quando seu caule e folhas são cortados se obtém um fluxo abundante de seiva branca (látex), devido ao rompimento dos tecidos. A abundância de látex nas partes verdes da planta reforça a ideia de que o látex seja produzido e acumulado como uma estratégia de defesa contra predadores como fungos e insetos [11]. A produção do látex é uma das principais características das plantas da família *Asclepiadaceae*.



Figura 1 – Fotografias da planta *Calotropis procera* (Ait.)R. Br A – Hábito; B – Inflorescência; C - Detalhe das flores abertas; D – Fruto; E – Fruto aberto evidenciando as sementes. (Fonte: Artigo - potencial terapêutico e tecnológico da planta *Calotropis procera*)

Alguns estudos fitoquímicos realizados com as folhas de *C. procera* foram detectados glicosídeos flavônicos, glicosídeos cardiotônicos, esteróides, triterpenos e polifenóis, concordando com os achados de Khan e Malik (1989); Aktar *et al.* (1992); Basu *et al.* (1992); Hussein *et al.* (1994) e Tanira *et al.* (1994) [10].

Diferentes partes do algodão de seda têm sido usadas como fitoterápicos em muitas enfermidades na tradicional medicina da Índia, como analgésicos, anti-inflamatórios, agentes purgativos, anti-helmínticos, anti- microbianos, larvicidas, nematocidas, anticancerígenos, no tratamento das úlceras gástricas, nas doenças hepáticas e como

antídoto de envenenamento por serpentes [10].

Além da aplicação para o tratamento de diversas enfermidades, a espécie vegetal tem sido estudada também para o aproveitamento do látex na produção de papel, na produção do algodão e na ração animal. No presente artigo é feita uma análise fitoquímica dos extratos da *C. procera* para verificar o potencial citotóxico *in vitro* de 10 extratos em três linhagens de células tumorais.

2.2 *Morinda citrifolia*

Algumas plantas ganham a classificação de planta medicinal por conter um ou mais de seus órgãos substâncias que podem ser utilizadas para fins terapêuticos, muitas dessas plantas são utilizadas para a alimentação humana, uma dessas plantas é a *Morinda citrifolia* que é conhecida, popularmente, como noni. Segundo Xangai (2007) a planta é bastante precoce e após ter iniciado a fase de produção de frutos ela se torna constante, produzindo o ano todo [12]. A *M. citrifolia* é uma planta que apresenta, de 3 a 10 m de altura, utilizada durante séculos pelos povos Polinésios na medicina tradicional (CHAMBLANCO *et al.*, 2006 *apud* CORREIA, 2010). Apesar de ser aplicada nas práticas fitoterápicas na polinésia o noni ainda é praticamente desconhecido no Brasil, fazendo com que nas últimas décadas, muitos trabalhos tenham sido objeto de estudos sobre os constituintes químicos das diversas partes de *Morinda citrifolia* L. (noni). Aproximadamente 200 compostos já foram identificados na planta e a maioria desses são os compostos fenólicos, ácidos orgânicos, iridóides, lignanas, entre outros (WANG e SU, 2001) [12].

Vários estudos fitoquímicos foram conduzidos para esclarecer a constituição química da *M. citrifolia*, no entanto o painel fitoquímico completo desta planta ainda não é de conhecimento público. A investigação se deu nas raízes, cascas, tronco, galhos, folhas, flores e frutos, sendo que cada segmento da planta possui uma gama variada de substâncias (Chan-Blanco *et al.*, 2006; Palioto *et al.*, 2015) [13].

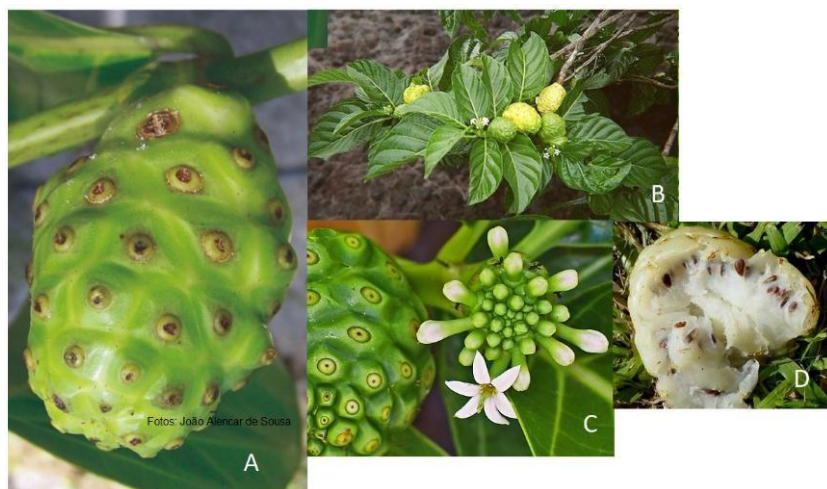


Figura 2 – Fotografias da planta *Morinda citrifolia* Linn A – Fruto; B – Parte da planta que contém a folha e o fruto; C – Detalhe das flores; D – Detalhe da polpa e do fruto; E – Fruto aberto evidenciando as sementes.

(Fonte: <https://jornalagricola.wordpress.com/2012/03/26/o-cultivo-do-noni-morinda-citrifolia/>)

2.3 Coleta da amostra

Para realização da investigação fitoquímica é necessário seguir algumas etapas, a primeira delas é a coleta do material vegetal. A coleta resume-se ao processo de retirar uma ou mais plantas inteiras ou parte delas da natureza.

- O material vegetal foi coletado na cidade de Mossoró-RN.
- Depois de coletado o material vegetal foi enviado para a identificação botânica.
- O tratamento prévio do material vegetal foi a secagem em estufa com temperatura controlada em 45°C.

Após o processo de coleta, as amostras passam pelas seguintes etapas: separação e etiquetagem do material coletado; embalagem em sacos plásticos; transporte do material; pesagem do material úmido; secagem do material; pesagem do material seco; moagem; obtenção de extratos [14].

2.4 Moagem do material

A moagem tem por finalidade reduzir, mecanicamente, o material vegetal a fragmentos de pequenas dimensões, preparando-o, assim, para a próxima etapa, a extração. A redução definitiva somente ocorrerá no momento prévio às fases de extração ou de mistura [15].

2.5 Obtenção de extratos

A preparação dos extratos brutos das plantas é o ponto de partida na etapa de isolamento e purificação dos constituintes químicos fixos das plantas. Existem vários métodos extrativos a depender da sua eficiência, estabilidade dos compostos químicos, a disponibilidade do meio e o custo do processo. Normalmente ocorre extração concomitante de várias substâncias da planta e se faz necessário o uso de um método para separar esses compostos.

O termo extração significa retirar, da forma mais seletiva e completa possível, as substâncias ou fração ativa contida em um material vegetal, utilizando, para isso, um líquido ou mistura de líquidos tecnologicamente apropriados e toxicologicamente seguros.

Apesar da ampla variedade de solventes (líquidos extratores), são poucos os utilizados na extração dos compostos vegetais. Essa limitação de uso é devido a três aspectos principais: propriedades extrativas, adequação tecnológica, inocuidade fisiológica e fatores econômicos. Como a seletividade depende da polaridade, o conhecimento do grau de polaridade do grupo de substâncias que se deseja preferencialmente extrair determina o tipo de solvente ou mistura que mais se aproxima do ótimo de seletividade para aquela extração [14].

As operações extrativas geralmente mais utilizadas são: a maceração, percolação e soxhlet, obtendo-se assim os chamados extratos brutos vegetais [15].

3. METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos extratos

Os extratos vegetais utilizados nesta pesquisa foram provenientes de duas espécies vegetais distintas, o noni (*Morinda citrifolia*) e o algodão de seda (*Calotropis procera*). A escolha das espécies levou em conta a necessidade de estudo do potencial citotóxico das mesmas, ainda pouco explorados.

O processo de extração ocorreu com a retirada de várias partes das duas plantas, sendo estas, raízes, galhos, folhas, flores, sementes e frutos. Após a retirada, o material coletado foi lavado e encaminhado para a secagem em uma estufa a uma temperatura de 45°C. Depois de secas e desidratadas, todas as partes foram moídas para a preparação dos extratos vegetais.

O material seco e moído foi colocado no erlenmeyer juntamente com o solvente para obtenção dos extratos. Nesse processo utilizou-se dois solventes, partindo do mais lipofílico (hexano) seguido pelo mais hidrofílico (álcool etílico). O tratamento deu-se pelo método de percolação por um período de 72 horas a temperatura ambiente. O material foi filtrado e concentrado em evaporador rotativo, finalizando o processo de extração.

Após o processo extração os extratos obtidos (Tabelas 1,2,3 e 4) foram submetidos ao teste MTT para avaliar a atividade citotóxica *in vitro*.

Tabela 1- Os extratos obtidos a partir da *Calotropis procera* pelo método da percolação com hexano.

Parte da planta	SIGLA	Massa (g)	Rendimento
Galho	CPGH	0,0583	1,97 %
Folha	CPF _o H	0,1040	1,28 %
Flor	CPF _f H	0,0161	1,36 %
Fruto	CPF _r H	0,1134	5,41 %
Semente	CPSH	0,0013	0,24 %

Tabela 2- Os extratos obtidos a partir da *Calotropis procera* pelo método da percolação com etanol.

Parte da planta	SIGLA	Massa (g)	Rendimento
Galho	CPGE	0,0814 g	2,75 %
Folha	CPF _o E	0,1564 g	1,93 %
Flor	CPF _i E	0,096 g	8,13 %
Fruto	CPF _r E	0,0481 g	2,29 %
Semente	CPSE	0,0767 g	14,28 %

Tabela 3- Os extratos obtidos a partir da *Morinda citrifolia* pelo método da percolação com hexano.

Parte da planta	SIGLA	Massa (g)	Rendimento
Galho	MCGH	0,0187	0,24 %
Folha	MCF _o H	0,3222	1,23 %
Semente	MCSH	0,2028	0,84 %
Polpa	MCPH	0,0313	0,12 %
Raiz	MCRH	0,0706	1,14 %

Tabela 4- Os extratos obtidos a partir da *Morinda citrifolia* pelo método da percolação com etanol.

Parte da planta	SIGLA	Massa (g)	Rendimento
Galho	MCGE	0,1267	1,60 %
Folha	MCF _o E	0,6399	2,44 %
Semente	MCSE	1,4259	5,92 %
Polpa	MCPE	1,7095	6,54 %
Raiz	MCRE	0,1595	2,57 %

3.2 Material e a metodologia para o teste MTT

Análises nos ensaios de citotoxicidade são comumente realizadas pelo método do MTT. Grandes Centros de referência utilizam esse ensaio, como o programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 substâncias a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990) [17]. É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983) [18] e permite analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5- difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996) [19].

Células: As linhagens tumorais utilizadas, PC-3 (carcinoma de próstata), HCT-116 (cólon) e SNB-19 (astrocitoma) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 ° C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

Amostras: As amostras (Tabela 5) foram diluídas em DMSO puro estéril. As substâncias foram testadas nas concentrações únicas de 50 µg/mL para os extratos e 25 µg/mL para as frações.

As células foram plaqueadas na concentração de 0,1 x 10⁶ cel/mL para as linhagens PC3 e SNB-19; e 0,7 x 10⁵ cél/mL para a linhagem HCT-116. As placas foram incubadas com a substância por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37 ° C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. Após a incubação as placas foram novamente centrifugadas para retirada da solução de MTT. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado de formazan com 150 µ L de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

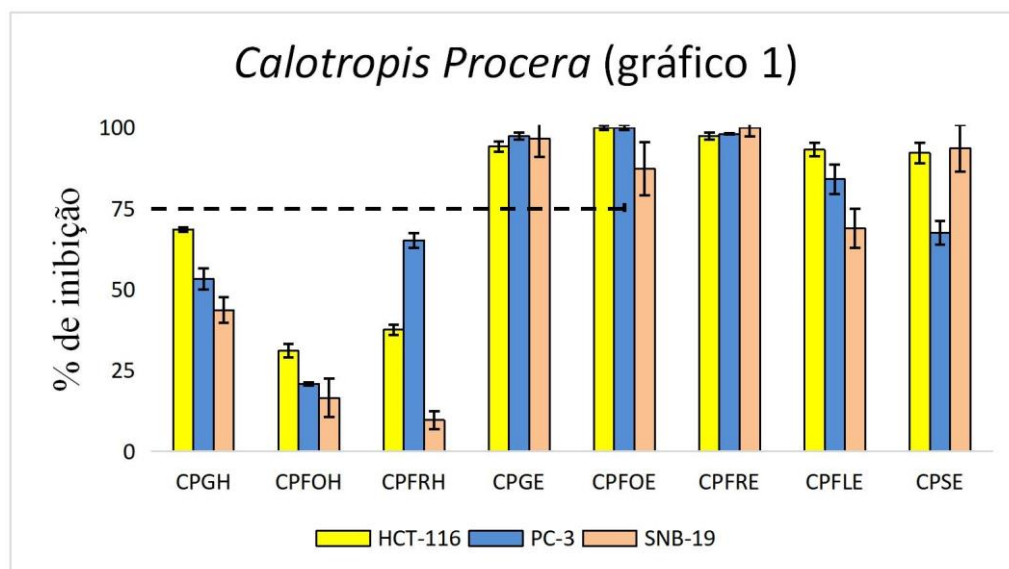
Os resultados obtidos após o teste de atividade citotóxica das amostras testadas estão apresentados no quadro 1, com seus respectivos percentuais de inibição.

Quadro 1 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras na concentração única de 50 µg/mL para os extratos. Valores são média ± DPM (Desvio Padrão da Média).

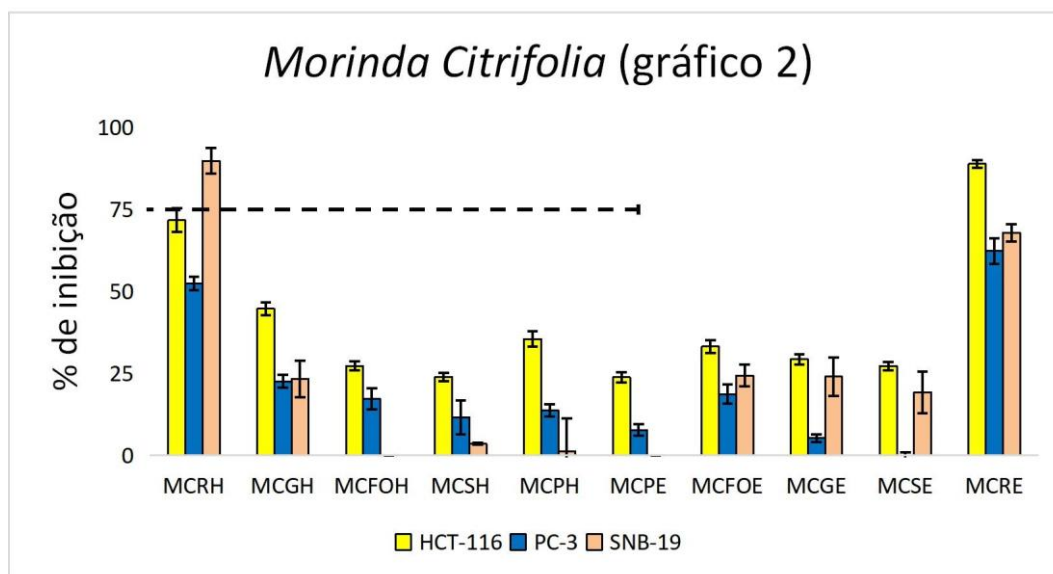
Amostra			HCT-116	DPM	PC-3	DPM	SNB-19	DPM
Nº	Sigla	Identificação	IC %		IC %		IC %	
4	E1	CPGE	94,2	1,56	97,4	1,08	96,6	5,7
5	E2	MCPE	23,8	1,50	7,7	1,77	-	-
6	E3	CPFRH	37,6	1,55	65,2	2,33	9,7	2,8
7	E4	MCSH	23,9	1,24	11,6	5,16	3,5	0,3
8	E5	CPFOH	31,1	2,10	20,9	0,44	16,6	5,9
9	E6	MCRH	71,7	3,62	52,4	2,05	89,8	3,9
10	E7	MCGH	44,7	2,00	22,6	1,97	23,3	5,5
11	E8	CPFRE	97,4	1,11	98,1	0,21	100,0	2,6
12	E9	MCFOE	33,2	1,97	18,7	2,88	24,3	3,3
13	E10	MCFOH	27,3	1,32	17,2	3,22	-	-
14	E11	CPFOE	100,0	0,71	100,0	0,79	87,4	8,2
15	E12	CPGH	68,6	0,71	53,3	3,23	43,7	4,0
16	E13	MCPH	35,5	2,42	13,7	1,80	1,2	10,1
17	E14	MCGE	29,3	1,53	5,3	1,18	24,0	5,9
18	E15	MCSET	27,2	1,24	-2,7	3,58	19,2	6,4
19	E16	CPFLE	93,2	2,05	84,1	4,55	68,9	6,1
20	E17	MCRE	88,9	1,22	62,3	3,89	67,9	2,6
21	E18	CPSE	92,2	3,23	67,6	3,66	93,7	7,2

Com auxílio do software Excel e dos valores obtidos do quadro 1, foi possível expressar os resultados da porcentagem de inibição das células cancerígenas para diversos extratos das duas espécies testadas encontram-se descritos nos gráficos 1 e 2. Os valores com resultados acima de 75% de ação inibitória nas linhagens HCT-116, PC-3 e SNB-19 são considerados promissores.

Gráficos 1- Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras na concentração única de 50 µg/mL para os extratos da *Calotropis procera*. Valores são média ± DPM (Desvio Padrão da Média).



Gráficos 2 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras na concentração única de 50 µg/mL para os extratos da *Morinda citrifolia*. Valores são média ± DPM (Desvio Padrão da Média).



Os extratos hexânico e etanólico das espécies *C. procera* e *M. citrifolia* foram submetidas ao teste de MTT na concentração única de 50 µg/mL para avaliar o potencial citotóxico para as linhagens tumorais HCT-116, PC-3 e SNB-19. Apenas os extratos das raízes da *M. citrifolia* foram ativos. MCRH inibiu 89,8% de SNB-19 e MCRE 88,9% de HCT-116. Os extratos hexânicos da *C. procera* foram inativos. Todos os extratos etanólicos da *C. procera* são ativos com resultados promissores e ação inibitória acima de 75% para todas as linhagens tumorais, exceto CPFLE (SNB-19, 68,9%) e CPSE (HCT-116, 67,6%).

5. CONCLUSÕES

Após o presente estudo, foi possível concluir a capacidade de inibição das células cancerígenas para diversos extratos das duas espécies testadas. Apesar da pesquisa ser embrionária, os resultados obtidos demonstram o grande potencial das espécies em estudo, sobretudo a *Calotropis procera*, tendo em vista que a maior parte dos extratos foram ativos, e que, se devidamente explorados, podem certamente ser usados na fabricação de medicamentos ou tratamento de várias doenças, principalmente para os tipos de câncer abordados neste artigo.

Além dos resultados já discutidos, o presente trabalho também visa servir como referência para outras pesquisas da temática em questão. Neste aspecto, sugere-se para pesquisas futuras, realizar a conclusão das etapas do processo fitoquímico para as mesmas espécies deste estudo, ou ainda estudar o potencial citotóxico de outras espécies, utilizando-se da análise fitoquímica.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a possibilidade de realizar este trabalho ao CNPQ, CAPES e as instituição parceira UFC.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] TOMAZZONI, Marisa Ines; BONATO NEGRELLE, Raquel Rejane; CENTA, Maria de Lourdes. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, 2006.
- [2] GERALDES, Helena. **SAIBA QUANTAS ESPÉCIES DE PLANTAS (CONHECIDAS) HÁ NO MUNDO**: ciência. Disponível em: <<http://www.wilder.pt/historias/saiba-quantas-especies-de-plantas-conhecidas-ha-no-mundo/>>. Acesso em: 06 jun. 2018.
- [3] FIORAVANTI, Carlos. **A maior diversidade de plantas do mundo** : Botânicos registram 46 mil espécies e identificam em média 250 por ano no Brasil. 241. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2016/03/21/a-maior-diversidade-de-plantas-do-mundo/>>. Acesso em: 06 jun. 2018.
- [4] SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. Cap. 16.
- [5] LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2. ed. Nova Odessa:

Instituto Plantarum, 2012. 576p.

[6] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **O que é o câncer?** . Disponível em:

<http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 06 jun. 2018.

[7] **OMS: câncer mata 8,8 milhões de pessoas anualmente no mundo. 2017.** Disponível em:

<<https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/>> Acesso em: 05 dez.2017.

[8] EQUIPE ONCOGUIA. **Tratamentos do Câncer.** 2018. Disponível em:

<<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/tratamentos/77/50/>>. Acesso em: 06 jun. 2018.

[9] FABRICANTE, Juliano Ricardo; OLIVEIRA, Marina Nabuco Araújo de; SIQUEIRA FILHO, José Alves de. Aspectos da ecologia de *Calotropis procera* (Apocynaceae) em uma área de Caatinga alterada pelas obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco em Mauriti, CE. **Rodriguésia**, [s.l.], v. 64, n. 3, p.647-654, set. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-78602013000300015>.

[10] VIANA, Emilson Costa Moreira Filho Bruno Leal. **Flor de Seda.** Disponível em:

<<http://www.cca.ufpb.br/lavouraxerofila/pdf/fs.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2018.

[11] COSTA, N. D. J. et al. POTENCIAL TERAPÊUTICO E TECNOLÓGICO DA PLANTA *Calotropis procera*. **Revista Gestão Inovação e Tecnologias**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.2222-2236, 3 set. 2015. Associacao Academica de Propriedade Intelectual. <http://dx.doi.org/10.7198/s2237-0722201500030001>.

[12] **CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DA POLPA IN NATURA DA FRUTA NONI (MORINDACITROFOLIA L.).** A Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e da Terra Produção/construção e Tecnologia: Raquel Bonacina Salmazo, v. 4, n. 7, 2015. Semestral. Issn: 23170336. Disponível em: <https://www.unigran.br/ciencias_exatas/conteudo/ed7/artigos/01.pdf>. Acesso em: 15 set. 2018.

[13] MORORÓ, Ana Virgínia Timbó Paiva et al. *Morinda citrifolia* (noni): uma revisão dos seus efeitos biológicos. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.46-61, 12 jun. 2017. Revinter.

[14] KFFURI, Carolina Weber . **CADERNO DAS NOSSAS PLANTAS MEDICINAIS : INSTRUÇÕES PRÁTICAS E PREPARAÇÕES TRADICIONAIS DA FITOTERAPIA BRASILEIRA.** 1. ed. Viçosa-MG: [s.n.], [2011]. 60 p.

[15] PINTO, MARCO AURÉLIO SAMPAIO. **TÉCNICAS DE SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO APLICADAS A PRODUTOS NATURAIS** . 2005. 52 p. trabalho de conclusão (Graduação em química)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, [2005?].

[16] SIMÕES, C. et al Farmacognosia, da planta ao medicamento 5º ed UFSC pg 315, 221-224.

[17] SKEHAN, P., STORENG, R., SCUDIERO, D., MONKS, A., MCMAHON, J., VISTICA, D., WARREN, J.T., BODESCH, H., KENNEY, S., BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Cancer Inst.**, 82(13): 1107-1112, 1990.

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

[19] BERRIDGE, M. V., TAN, A. S., McCOY, K. D., WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, 4: 14-19, 1996.