



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA**

Prospecção fitoquímica e atividades biológicas de plantas utilizadas por populações tradicionais em uma área de floresta tropical sazonalmente seca do Nordeste do Brasil (Pernambuco, Brasil)

LUCICLAUDIO CASSIMIRO DE AMORIM

**RECIFE
2018**

LUCICLAUDIO CASSIMIRO DE AMORIM

Prospecção fitoquímica e atividades biológicas de plantas utilizadas por populações tradicionais em uma área de floresta tropical sazonalmente seca do Nordeste do Brasil (Pernambuco Brasil)

**RECIFE
2018**

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Amorim, Luciclaudio Cassimiro de

Prospecção fitoquímica e atividades biológicas de plantas utilizadas por populações tradicionais em uma área de floresta tropical sazonalmente seca do Nordeste do Brasil (Pernambuco, Brasil) / Luciclaudio Cassimiro de Amorim-2018.

95 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientadora: Márcia Vanusa da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2018.

Inclui referências

1. Plantas medicinais 2. Alzheimer 3. Antioxidantes I. Correia, Maria Tereza dos (orient.) II. Silva, Márcia Vanusa da (coorient.) III. Título

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-199

LUCICLAUDIO CASSIMIRO DE AMORIM

Prospecção fitoquímica e atividades biológicas de plantas utilizadas por populações tradicionais em uma área de floresta tropical sazonalmente seca do Nordeste do Brasil (Pernambuco Brasil)

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos finais para obtenção do título de mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Área de concentração: Bioquímica e fisiologia

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Co-orientadora: Márcia Vanusa da Silva

**RECIFE
2018**

LUCICLAUDIO CASSIMIRO DE AMORIM

Prospecção fitoquímica e atividades biológicas de plantas utilizadas por populações tradicionais em uma área de floresta tropical sazonalmente seca do Nordeste do Brasil (Pernambuco Brasil)

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos finais para obtenção do título de mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovada em: 27/06/18

Banca examinadora

Prof. Dr^a Maria Tereza dos Santos Correia– Orientadora
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr^a Márcia Vanusa da Silva – Co-Orientadora
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr^a Maria Betânia Melo de Oliveira – Membro interno
Universidade Federal de Pernambuco

Alexandre Gomes Silva – Membro externo
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho primeiramente Deus, por me proteger e me guiar nessa jornada. A minha esposa e família, por me apoiarem e serem minha fonte de inspiração e amor e a meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre me sustentou e guiou cada passo para que eu pudesse chegar até aqui. Por ser meu refúgio e minha fortaleza, por sempre renovar minhas forças e minha fé, pela minha vida e por todas as coisas. Deus é bom o tempo todo.

A minha esposa pela compreensão e apoio e a toda toda minha família em especial ao meu querido irmão que faleceu de uma forma trágica que sempre me apoio e incentivou.

À professora Maria Tereza dos Santos Correia pela confiança, orientações e incentivo durante esta caminhada e pela paciência e atenção durante o período de pesquisa, que se constituiu num verdadeiro aprendizado.

À professora Márcia Vanusa da Silva pelo vasto ensinamento, paciência, pelas orientações, apoio e amizade construída ao longo dos anos na UFPE a qual esteve presente/disponível em todos os momentos.

À Alexandre Gomes pela amizade, apoio e sugestões neste trabalho.

A todos do laboratório de biomoléculas e de produtos naturais em especial Maria Cecília, Camila Paiva, Graziela Claudia, Paloma e João Victor, pela amizade carinho e participação em algumas etapas importantes deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Biologia Molecular Barbara Ramos, Hortência Andrade, Vitória Araújo, Amanda Virgínia, Sivoneide Maria, Bruno, Priscila Moraes, Daniel Carvalhos e meus amigos de produtos naturais, Wêndeo Costa, Janderson, Ana Paula, Bruno. Pela oportunidade de ter trocados experiências, conhecimentos compartilhados, pelas ajudas e pelos momentos de descontração.

Aos órgãos FACEPE, CAPS e CNPq, por contribuir com o financiamento de meus estudos durante todo o período de graduação.

Agradeço, por fim, ao programa de Pós-graduação de Bioquímica e Fisiologia da UFPE e a todos os professores pelos ensinamentos e por toda ajuda. Aos funcionários do Departamento de Bioquímica, Djalma, Fernanda, Miron e ao técnico Sr. João Antônio por toda ajuda e prestada.

RESUMO

Recentemente, o interesse em descobrir antioxidantes naturais aumentou tremendamente p sua aplicação no controle do aparecimento de múltiplas doenças. Oito extratos metanólicos de sete plantas medicinais (*Amburana cearensis*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handroanthus impetuginosus*, *Hymenea courbaril*, *Simaba ferruginea* e *Vitex gardeneriana*) de uma floresta seca tropical sazonal no Nordeste do Brasil (Pernambuco, Brasil) foram estudados quanto à triagem fitoquímica, e potencial antioxidante. Além disso, os teores totais de fenólicos e flavonóides também foram determinados por métodos colorimétricos usando quercetina e ácido gálico como padrão. O potencial enzimático inibitório dos extratos foi investigado contra enzimas-chave envolvidas na acetilcolinesterase (AChE) neurodegenerativa. Todos os extratos analisados mostraram a presença de compostos fenólicos, cumarinas, mono-, sesqui- e diterpenos, naftoquinonas, triterpenos e esteróides. A presença de alcalóides foi determinada apenas nos extratos metanólicos das folhas e ramos de *Erythrina velutina* e no extrato metanólico dos ramos de *Vitex gardneriana*. Antocianinas e xantinas estavam ausentes nos extratos analisados. O teor de compostos fenólicos totais nas amostras investigadas variou de 19,10 (extrato metanólico de *Simaba ferruginea*) a 129,70 (extrato metanólico de folhas de *E. velutina*) EmgAG/gPS. A atividade antioxidante foi medida por três ensaios espectrofotométricos: atividade de eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), inibição da peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total pelo método do fosfomolibdênio. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante sendo. No ensaio de eliminação do radical DPPH, os valores de IC₅₀ variaram de 198,3 (para *H. courbaril*) a 309,9 (*S. ferruginea*) µg/mL. No ensaio de inibição da peroxidação lipídica os valores de inibição variaram de 45,45% (para *A. cearenses*) a 62,12% (para *C. conduplicatus*). No ensaio de capacidade antioxidante total os valores variaram de 27,74% (para o extrato metanólico de ramos de *E. velutina*) a 73,49% (para *S. ferruginea*). *H. impetuginosus*, *H. courbaril*, *E. velutina* (galhos) e *V. gardeneriana* inibiram 100% AChE. *E. velutina* (folhas), *C. conduplicatus* e *A. cearenses* inibiram 94%, 83% e 57% de AChE, respectivamente. Apenas *S. ferruginea* apresentou inibição menor que 50% de AChE.

Palavras chave: Prospecção. Antioxidantes. Alzheimer. Acetilcolinesterase.

ABSTRACT

Recently, the interest in discovering natural antioxidants has increased tremendously for their application to control onset of multiple diseases. Eight methanolic extracts of seven medicinal plants (*Amburana cearensis*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handroanthus impetuginosus*, *Hymenaea courbaril*, *Simaba ferruginea* and *Vitex gardeneriana*) of a seasonal tropical dry forest in Northeastern Brazil (Pernambuco, Brazil) were studied for their screening phytochemical, antioxidant potential. In addition, total phenolic and flavonoid content were also determined by colorimetric methods using quercetin and gallic acid as standard. The enzyme inhibitory potential of extracts was investigated against key enzymes involved in neurodegenerative [acetylcholinesterase (AChE)]. All extracts analyzed showed the presence of phenolic compounds, coumarins, mono-, sesqui- and diterpenes, naphthoquinones, triterpenes and steroids. The presence of alkaloids was determined only in the methanolic extracts of the leaves and branches of *E. velutina* and in the methanolic extract of the branches of *V. gardeneriana*. Anthocyanins and xanthines were absent in the extracts analyzed. The content of total phenolic compounds in the investigated samples ranged from 19.10 (*S. ferruginea* methanolic extract) to 129.70 (*E. velutina* leaves methanolic extract) EmgAG / gPS. The antioxidant activity was measured by three spectrophotometric assays: elimination activity of the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical, inhibition of lipid peroxidation and total antioxidant capacity by the phosphomolybdenum method. All extracts presented antioxidant activity. In the DPPH radical elimination assay the IC₅₀ values ranged from 198.3 (for *H. courbaril*) to 309.9 (*S. ferruginea*) µg/mL. In the lipid peroxidation inhibition assay the inhibition values varied from 45.45% (for *A. cearenses*) to 62.12% (for *C. conduplicatus*). In the assay of total antioxidant capacity the values ranged from 27.74% (for the methanolic extract of *E. velutina* branches) to 73.49% (for *S. ferruginea*). *H. impetuginosus*, *H. courbaril*, *E. velutina* (twigs) and *V. gardeneriana* inhibited 100% AChE. *E. velutina* (leaves), *C. conduplicatus* and *A. cearenses* inhibited 94%, 83% and 57% of AChE, respectively. Only *S. ferruginea* presented inhibition less than 50% of AChE.

Key words: Prospecting. Antioxidants. Alzheimer. Acetylcholinesterase.

LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

FIGURA 1: Vegetação do bioma catinga.....	22
FIGURA 2: Áreas de ocorrência do Bioma Caatinga.....	23
FIGURA 3: Principais fatores que podem influenciar na produção de alguns metabólitos secundários.....	28
FIGURA 4: Principais vias do mecanismo de produção de metabólitos secundários.....	29
FIGURA 5: Síntese dos compostos fenólicos.....	31
FIGURA 6: Estrutura básica dos flavonoides.....	32
FIGURA 7: Estruturas genérica das principais classes dos flavonoides.....	33
FIGURA 8: Principais alvos dos radicais livres.....	37
FIGURA 9: Cérebro normal e com doença de Alzheimer.....	41
FIGURA 10: Formação da proteína B-amilóide.....	42
FIGURA 11: Estrutura tridimensional da AChE.....	44
FIGURA12: <i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos.....	52
FIGURA13. <i>Vitex Gardineriana</i>	53

LISTA DE FIGURA DOS ARTIGOS

Figura 1 – Atividade hemolítica dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.....	92
---	----

LISTA DE TABELA DO ARTIGO

Tabela 1 – Espécies selecionadas para ensaios biológicos coletadas em duas áreas de floresta sazonalmente secas do Nordeste do Brasil.....	87
Tabela 2 – Sistema de eluição e reagents usados para caracterizar as principais classes de metabólitos secundários nos oito extratos, das sete espécies de plantas coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu Bola, por cromatografia em camada delgada.....	88
Tabela 3 – Perfil fitoquímico dos oito extratos das sete espécies de plantas coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.....	89
Tabela 4 – Conteúdo de fenois totais e de flavonoides dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.....	90
Tabela 5 – Atividade antioxidante dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.....	91

LISTA DE TABELA DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 Utilização da Amburana como planta medicinal.....	48
---	----

LISTA DE ABREVIACÕES

AChE – Acetilcolinesterase

ASE - Extração acelerada com solvente

ChE – Colinesterases

DA - Doença de Alzheimer

EROS – Espécies reativas de oxigênio

GP- galato de propila

H – *Handroanthus*

H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio

HOO: Radical hidroperoxil

K⁺ - Potássio

NO - Óxido nítrico

ONOO – Peroxinitrito

O₂ - Ânion superóxido

PNPMF - Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PFE - Extração com fluido pressurizado

ROO - Radical peroxila

RL – Radicais livres

UV – Ultra violeta

Na₂CO₃- Solução de carbonato de sódio

MCTIC- Ministério de Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1 PLANTAS MEDICINAIS.....	19
3.2 CAATINGA.....	22
3.3 EFEITOS BIOLÓGICOS DAS PLANTAS MEDICINAIS.....	26
3.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	27
3.5 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	30
3.6 FLAVONOIDES.....	35
3.7 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE PLANTAS.....	35
3.8 RADICAIS LIVRES E ESTRESSE OXIDATIVO.....	37
3.9 ANTIOXIDANTE	40
3.10 ACETILCOLINESTERASE E DOENÇA DE ALZHEIMER.....	42
3.11 ATIVIDADE HEMOLITICA E PLANTA TÓXICA.....	49
3.12 <i>AMBURANA CEARENSIS</i>	51
3.13 <i>CRÓTON CONDUPLICATUS</i>	52
3.14 <i>HANDROANTHUS IMPETIGINOSUS</i>	54
3.15 <i>VITEX GARDNERIANA</i> SCHAUER.....	56
3.16 <i>SIMABA FERRUGINEA</i>	57
4 REFERÊNCIAS.....	59
5 ARTIGO.....	69
RESUMO.....	69
5.1 INTRODUÇÃO.....	70
5.2 MATERIAS E MÉTODOS.....	72
5.2.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL.....	72
5.2.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	72
5.2.3 TRIAGEM FITOQUÍMICA PRELIMINAR DOS EXTRATOS.....	73

5.2.4	DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS.....	73
5.2.5	DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS.....	74
5.2.6	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	75
5.2.6.1	ATIVIDADE DE ELIMINAÇÃO DO RADICAL DPPH.....	75
5.2.6.2	INIBIÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	76
5.2.6.3	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL.....	76
5.2.7	ATIVIDADE HEMOLÍTICA.....	76
5.2.8	ENSAIO DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE.....	77
5.2.8.1	EXTRAÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE.....	77
5.2.8.2	ATIVIDADE ENZIMÁTICA E DETERMINAÇÃO PROTEICA.....	77
5.2.8.3	ENSAIOS DE INIBIÇÃO.....	78
5.2.8.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	78
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
6	CONCLUSÃO.....	82
	REFERÊNCIAS.....	83
	ANEXO.....	95

1. Introdução

O uso de plantas com propriedades medicinais é tão antigo quanto a história da humanidade(HEISLER *et al.*, 2015). Desde dos tempos remotos, o homem vem utilizando as plantas medicinais, e seus conhecimentos tem se aprofundado no sentido de melhorar suas condições de alimentação e na terapêutica de doenças (Devienne *et al.*, 2004). Esses conhecimentos foram transferidos oralmente por várias gerações (FIRMO *et al.*, 2011).

Vários são os extratos oriundo de espécies de plantas que estão sendo usados na medicina tradicional(STEPP, 2004), fazendo assim importantes fontes de novos medicamentos (KINGSTON, 2005).

Os produtos derivados de plantas são resultantes de fenômenos intrínsecos à biodiversidade, onde acontece uma interação entre os organismos e fatores externos do meio ambiente em resposta a isso as plantas produz complexos químicos que favorecem sua sobrevivência, esses compostos em sua grande maioria são potencialmente ativos(MISHRA; TIWARI, 2011).

Estima-se que no planeta tenha sido estudada aproximadamente 10% de toda vegetação no que se refere ao potencial farmacológicos (BRAMBILLA *et al.*, 2009). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que aproximadamente 80% de toda população no mundo faz uso de alguma planta, para evitar ou curar algum tipo de doença. No Brasil, esses dados são bem marcantes, e as comunidades rurais são em maior parte os que fazem uso dessas plantas e são os principais participantes desta estimativa (JAQUES *et al.*, 2009).

Nos últimos tempos tem amentado significativamente terapias alternativas no tratamento de diversas doenças (VEIGA-JUNIOR *et al.*, 2008), além do que, novas descobertas de compostos com potencial biologicamente ativos de plantas e um grande faturamento das empresas farmacêuticas têm aumentado estudos com produtos de origem naturais(LIMA, G. S. *et al.*, 2015).

Neste contexto, o Brasil apresenta uma biodiversidade com habitats bem peculiar para plantas medicinais que não ocorrem em outras regiões do planeta(DA COSTA FILHO *et al.*, 2012). O Brasil apresenta a maior diversidade genética de plantas do planeta, isso corresponde aproximadamente 20% da flora no mundo e 75% das espécies vegetais presente nas florestas(OLIVEIRA, D. DE, 2008).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais antecede a colonização. Nessa época os índios já faziam uso, e ao longo do tempo foi passando os conhecimentos para os colonizadores, sendo largamente aplicada na medicina caseira(LIMA, R. K. *et al.*, 2012).

Dentre esses habitats, o bioma Caatinga merece destaque por apresentar uma diversidade de vegetais com potencial químico e farmacológico que é pouco estudado, no entanto com grande potencial terapêutico. O bioma Caatinga apresenta uma flora altamente diversificada o que demonstram ser fontes com enorme potencial de moléculas biologicamente ativa(JO ATILDE O *et al.*, 2016).

As plantas medicinais constituem os mais variados princípios ativos e muito deles é bem conhecido no bioma caatinga, onde muitas das vezes é a única forma no combate de várias doenças (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010).

Quando se realiza pesquisas com extratos de plantas fica evidente o sinergismos que existe entre os diferentes princípios ativos(GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Conhecer os compostos e princípios ativos existente nas plantas junto com seu mecanismo de ação sempre despertou muito interesse por parte dos pesquisadores, isso estar ligado ao fato das plantas terem uma constituição química variada e complexa. Desse modo há uma obrigação permanente de estudos que tenha a finalidade de compreender mais a fundo a constituição dos componentes bioativos presentes para que sejam utilizados com mais cautela(OLIVEIRA, M. *et al.*, 2014).

Entre as moléculas elaboradas pelas plantas, destacam-se o grupo dos polifenóis que são um dos mais estudados, da qual pode ser atribuído sua capacidade antioxidante as suas propriedades redutoras e sua estrutura química(BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Boa parte dos conhecimentos a respeito de plantas medicinais da Caatinga, foram conseguidos com a colaboração de levantamentos etnobotânicos (RIBEIRO *et al.*, 2014).

Os antioxidantes exercem uma função importante no combate de diversas enfermidades(NGO *et al.*, 2011). Entre essas patologias podemos destacar o cirrose, artrites, diabetes, enfisema, inflamações, câncer, envelhecimento precoce, assim como as doenças neurodegenerativas crônicas, aterosclerose, mal de Parkinson e doenças de Alzheimer é provável que estejam associada com o excesso de radicais livres (SORG, 2004).

Os antioxidantes estão associados as atividades biológicas dos compostos fenólicos (KAUR; ARORA; SINGH, 2008), visto que estes compostos possui a habilidade para inibir os radicais livres, isso é atribuído à sua natureza em doar elétrons para as espécies reativas.

Outro motivo estar ligado ao fato de serem largamente difundido no reino vegetal(AMAROWICZ et al., 2010).

As doenças neurodegenerativas se caracteriza pela perda da função neuronal, essas doenças é um grave problema para a saúde pública, no qual o número de casos só vem aumentando. Estas doenças assim como tantas estão relacionadas ao descontrole entre a formação de espécies reativas e antioxidantes(SILVA, W. J. M.; FERRARI, 2011).

As doenças degenerativas, como Alzheimer, vem crescendo junto ao aumento da expectativa de vida no mundo, o progresso no entendimento da doença vem sendo confirmado fazendo uso de inibidores da acetilcolinesterase (AChE) é de fato uma das formas mais eficiente de frear os sintomas da doença (YAMAGUCH, 2012).

Entre as atividades interessantes para o controle das doenças neurodegenerativas, tem crescido a investigação por novos inibidores da acetilcolinesterase (AChE) em extratos de origem vegetais, essa busca vem através de plantas medicinais que já fazem parte da medicina tradicional no tratamento de diversas enfermidades(FEITOSA *et al.*, 2011).

Diante do exposto, o presente estudo visa investigar o perfil fitoquímico potencial antioxidante e atividade da enzima acetilcolinesterase, além da atividade hemolítica por ensaios *in vitro* de extratos de plantas naturais da Caatinga, com o objetivo de fornecer subsídios para um posterior isolamento de biomoléculas de interesse assim como ensaios de atividade antioxidante *in vivo*.

2. Objetivos

Selecionar plantas da Caatinga em função do potencial antioxidante e da atividade acetilcolinesterase frente a ensaios in vitro, a partir de seus extratos orgânicos.

2.1. Objetivos específicos

- Coletar, identificar e processar a amostra vegetal;
- Realizar a extração para obtenção do extrato metanoico das plantas;
- Analisar o perfil fitoquímico dos extratos metanólicos através de cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência;
- Quantificar os Fenóis e Flavonoides Totais dos extratos;
- Avaliar a atividade antioxidante através de diferentes métodos in vitro;
- Investigar a toxicidade dos extratos pela atividade hemolítica;
- Realizar atividade da inibição da enzima acetilcolinesterase, além da atividade hemolítica.
- Determinar o perfil fitoquímico dessas plantas;
- Avaliar o teor de fenóis totais dos extratos vegetais;

3. Referencial teórico

3.1. Plantas medicinais

Não se sabe ao certo quando se deu início a utilização com plantas medicinais para fins terapêuticos (MARINHO et al., 2007). A utilização de produtos de origem naturais para fins medicinais é um hábito cultural antigo em diversos povos e se torna uma alternativa com uma forte aceitação, esse fato acontece nos centros urbanos e mais fortemente em áreas rurais. Essa atitude tem impulsionado cientistas a fim de elucidar sua eficácia e fomentar a utilização com segurança dos recursos naturais (SILVA et al., 2016).

Desde as civilizações mais antigas, a utilização de plantas medicinais para diversas doenças representou, ao longo do tempo, a única opção de cuidados e prevenção ao homem. Nesse sentido Com o avanço da medicina convencional, essa prática foi desvalorizada, no sentido que os profissionais da área de saúde consideram os medicamentos industrializados ou manipulados mais seguros. Ainda assim, é percebido que o uso de plantas medicinais pode ser motivado por questões econômicas, alto custo dos medicamentos, pela dificuldade a consultas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e também a dificuldade de mobilidade de áreas rurais aliado a sua tradição no uso de recursos naturais (BATTISTI *et al.*, 2013).

A definição de plantas medicinais é qualquer planta que possua propriedades químicas e apresente uma história de utilização por povos com poder de cura (MENEQUELLI, 2018) No entanto se a planta possuir entre seus compostos precursores químicos com potencial farmacêuticos por se só não a caracteriza como um a espécie de planta medicinal (BRASIL, 2006).

O saber sobre as propriedades terapêuticas das plantas medicinais vem sendo disseminado ao longo dos tempos, assim como outras práticas passada entre as gerações (LEITE et al., 2015).

O estudo da Etnobotânica trata da interação presente entre o ser humano e as plantas assim como elas são usadas (BOSCOLO, 2013), exibindo uma peculiaridade multidisciplinar no âmbito da educação, com o envolvimento dos saberes entre a população e a ciência (QUINTEIRO, 2013). Além disso, a etnobotânica é bastante significativo para que a ciência fique mais perto do conhecimento da população, valorizando a economia,

garantindo benefícios à sociedade e contribuindo para conservação e preservação da flora nas regiões do Brasil (GOMES, 2012).

A busca pelo conhecimento das plantas medicinais é notável para o registro de dado, para identificação de espécies e no prosseguimento da economia e do emprego medicinal das plantas (BESSA, 2013).

O poder que as plantas apresentam em curar é tão primitivo quanto o surgimento da nossa própria espécie na terra. As primeiras civilizações já tinham conhecimento que algumas plantas eram capazes de proporcionar, princípios ativos para curar doenças revelando assim seu poder curativo (BADKE *et al.*, 2011). A utilização das plantas medicinais pelos povos indígenas apresenta um grande valor para melhoria da saúde das comunidades em várias culturas (CHEN *et al.*, 2018).

Além disso, o homem fazia uso das plantas na sua alimentação, no seu aquecimento e também para construção de abrigos, assim como para se vestir, e o poder medicinal das plantas em curar enfermidades estava ligado ao seu poder fascinante e muitas vezes sobrenatural (KOVALSKI; OBARA; FIGUEIREDO, 2011).

Plantas com poder medicinal apresentam princípios valiosos na terapia alternativas de doenças e uma gama de metabolitos secundários com potencial terapêuticos e na prevenção de distúrbios dos mais variados (NEWMAN; CRAGG, 2016).

Segundo a Organização mundial de saúde (OMS), 80% de toda população no mundo faz uso da medicina tradicional no tratamento da saúde básica, visto que esse tipo de terapêutica é bem mais fácil e menos caro. A população em geral faz uso de plantas medicinais muito das vezes devido ao alto custo dos medicamentos sintéticos, além disso são menos acessíveis e bastante danoso ao organismo. Aliado a isso a demora do sistema de saúde e o baixo nível de vida da maioria da população sem falar da falta de políticas públicas relacionada a saúde, tudo isso tem forte influência para que as pessoas façam uso de plantas medicinais (GADELHA *et al.*, 2013).

No Brasil existem duas políticas nacionais que tem como objetivo incentivar a implementação de terapia com plantas medicinais. As duas foram criadas em 2006, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2006) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL, 2006), visa promover a discussão sobre a oportunidade, o interesse, os obstáculos, as facilidades e

os benefícios da execução da Fitoterapia nos Serviços de Saúde do Sistema único de Saúde (SUS). Vale salientar que além dessas duas temos, uma outra que a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) que indica uma lista com 71 espécies vegetais com potencial para gerar fitoterápicos ao SUS (BRASIL, 2009).

O Brasil apresenta uma das floras mais diversificada do mundo, essa flora é amplamente distribuída por alguns domínios fitogeográficos, como e o caso da Amazônia, Mata atlântica, Caatinga, Cerrado, Pampa e Pantanal, onde alguns desses são considerados como hotspots globais da biodiversidade (Ministério do Meio Ambiente, 2017; Lima et al., 2015; Paese et al., 2010). O Brasil por apresentar a maior diversidade do mundo, se torna um atrativo para pesquisadores, tendo em vista a conservação e utilização dos recursos (SANTOS, 2011). Vale apenas ressaltar que a maioria dessas plantas ainda nem foram estudadas tanto do ponto vista fitoquímico e biológico, sendo assim esses compostos bioativos são fontes promissoras para novos fármacos (DUARTE, 2009).

Atualmente, a maior parte do comércio com plantas medicinais são realizadas em farmácias e lojas de produtos naturais, no qual as manipulações vegetais são comercializadas com rótulos industriais. No geral, essas misturas não apresentam certificado de qualidade e segurança e são produzidas a partir de plantas cultivadas, o que sai do padrão da medicina tradicional que geralmente faz uso de plantas nativas (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005).

Hoje em dia a utilização de produtos naturais, em particular das plantas como agentes terapêuticos, não está preso simplesmente à utilização sob a forma de “receitas caseiras” (chás, compressas, unguentos, etc). Com o avanço do conhecimento científico esses produtos naturais representam um papel de extrema relevância na descoberta de novas substâncias químicas com efeito terapêutico/farmacológico (RATES, 2001; KRISHNAIAH et al., 2011; VASHIST; JINDAL, 2012).

3.2.Caatinga

A caatinga que significa floresta branca é a principal fitofisionomia do semi-árido brasileiro, chegando a ocupar mais de 70% do Nordeste do Brasil (RODRIGUES *et al.*, 2018). Essa região é formada por várias florestas secas que apresentam, características bem

peculiares, baixa precipitação, chegando abaixo de 800mm ao ano, essa chuva se concentra nos primeiros 3-4 meses do ano e com medias de altas temperaturas(DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2012).

O nome caatinga” significa “mata branca” em tupi-guarani isso se deve pela aparência de sua vegetação no período de seca, visto que as perde suas folhas ficando com os troncos acinzentados (DE ALBUQUERQUE; BANDEIRA, 1995).

A Caatinga apresenta um ecossistema bem diversificado abrange uma área de 826.411 Km², esse bioma é o principal da região Nordeste do Brasil, possui um clima quente e seco com vegetação xerófila e que ostenta uma ampla heterogeneidade florística(NUNES; DIAS; CAVALCANTE, 2016).

Ainda se falando em vegetação, esse bioma é formado, principalmente, por floresta espinhosa com arvores de 6-10m de altura e arbustos porte pequenos e de folhas miúdas, cactáceas, euforbiáceas e também bromeliáceas (GIULIETT; QUEIROZ, 2006; DRUMOND, 2013).

Figura 1. Vegetação da Caatinga



Fonte: Diego Assunção, (2011).

Estudos apontam que a diversidade de espécies e o grau de endemismo do bioma caatinga apresenta números bem maiores do que se pensava para o semiárido, destruindo argumentos que o bioma Caatinga exibe uma biota carente e pouco expressiva que sustente sua conservação e diversidade biológica global(SCIENCE *et al.*, 2015). A conservação da biodiversidade é significativa tanto no quis diz respeito a flora e a fauna, assim com além pela população que habita essas áreas, apresenta uma forte ligação e dependência da diversidade desse bioma, seja direta ou indiretamente para sua sobrevivência, fazendo aplicação de seus recursos naturais para as mais variadas finalidades(PAULA DANIELE MENDONÇA OLIVEIRA, 2016).

O bioma caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro (Figura 2), ocupando uma área de 11% do território nacional englobando os estados do Piauí, Rio grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Maranhão, Ceará, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais(JO ATILDE O *et al.*, 2016).

Figura 2: Áreas de ocorrência do Bioma Caatinga.



Fonte: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/bioma_caatinga/arvore/CONT000glz1ehqv02wx5ok0f7mv200nvg0xn.html

A preservação dos recursos naturais presentes no bioma Caatinga é marcante do ponto de vista da continuidade da biodiversidade local, e da manutenção de uma parcela significativa da biodiversidade do mundo, contribuindo para condições do clima global, facilitando o uso da água e de solos férteis, além de auxiliar no equilíbrio do êxodo rural (FERNANDES; MEDEIROS, 2009; TABARELLI; SILVA, 2003).

A diversidade da flora do bioma Caatinga é capaz de ser elucidada pela sua variabilidade de disposição hídrica do solo, estabelecendo ambientes bastante diferenciados: como aquáticos, rupestres, campos abertos, além de matas úmidas cerrados (SAMPAIO, 2010).

Este bioma apresenta períodos de chuvas intensas mas bastante irregulares e sendo distribuídas ao longo de seis meses durante o ano, e caracterizado por solos rasos com vegetação de savana, abrangendo uma fisionomia xerófita, com arbustos e espinhos e folhas decíduas (DE OLIVEIRA, G.; DINIZ-FILHO, 2010). Esse período de chuvas irregulares com temperaturas relativamente elevadas são características climáticas relevantes (PAULA DANIELE MENDONÇA OLIVEIRA, 2016).

As maiores temperaturas podem extrapolar os 45 graus, em alguns lugares durante a noite pode chegar a 10 ou até 15 graus em áreas mais elevadas (SANTOS, 2009). Apresenta uma precipitação por ano com variações de 150 mm a 1300mm, no entanto a maior parte desse domínio a quantidade de chuva é menor que 750 mm por ano, essas chuva são concentrada e distribuídas de forma irregular em apenas três meses seguido (ALVES; ARAÚJO; NASCIMENTO, 2009; NIMER, 1972 RAMALHO, 2013). Mesmo sofrendo com essas condições climáticas, o semi-árido nordestino é das regiões áridas do planeta mais populosa com 26 habitantes/km² (INSA, 2012).

Nos últimos tempos, o bioma Caatinga tem sofrido um grande desmatamento o que corresponde a aproximadamente 62% das áreas vulneráveis aos processos de desertificação que no Brasil são vistos nesse tipo de vegetação (Borges Nojosa et al., 2010).

O bioma caatinga é a principal formação vegetal do semiárido brasileiro, mesmo assim é uma das mais ameaçadas do mundo e entre os biomas brasileiros é o mais desvalorizado e do ponto de vista botânico o menos conhecido (GIULIETTI et al., 2002).

Embora nos últimos anos tem crescido a quantidade de estudos do potencial biológicos de plantas da caatinga, algumas dessas plantas usadas pelo povo para fins terapêuticos ainda

não foram realizadas pesquisas afim da confirmação da sua efetividade para o tratamento de várias enfermidades (SILVA, L. N. *et al.*, 2015). Por essa razão, o aumento de práticas dirigidas para a bioprospecção bioquímica de plantas do bioma caatinga é de grande interesse, visto que essas plantas podem ser fontes promissoras de biomoléculas que apresenta novas possibilidades para indústria na produção de analgésicos, tranquilizantes, diuréticos, laxantes e antibióticos entre outros ((ARCOVERDE *et al.*, 2014).

Dentro desse contexto dados relevantes da composição fitoquímicas e farmacológicas precisam ser confirmados para estas espécies, fundamentando a utilização medicinal dessas plantas (CARTAXO; DE ALMEIDA SOUZA; DE ALBUQUERQUE, 2010).

3.3.Efeitos biológicos das plantas medicinais

Geralmente a natureza é encarregada de produzir a maioria dos compostos orgânicos conhecidos, no entanto, fica a cargo dos vegetais a maior parte da diversidade química conhecida e mencionada na literatura. Essa variedade e o grau de complexidade dos constituintes derivados dos metabolitos secundários de plantas estão relacionado por milhões de ano no decorrer da evolução criando condições de defesa contra o clima, poluição e predadores que garanta a sua sobrevivência(VIEGAS; DA SILVA BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Estudos comprovam que durante a história da humanidade as plantas tem demonstrando ser fontes de uma gama de vários tipos de antioxidantes naturais, no qual as biomoléculas são isoladas e suas atividades biológicas comprovadas, muitas delas pode ser usadas como antimicrobiano, antifúngico, antiparasitário, antitumoral, anti-inflamatório, cicatrizante, além de várias outras possibilidades (RAFIEIAN-KOPAEI, 2012).

A pratica de se fazer uso de extratos de plantas vem trazendo subsídio no tratamento de várias doenças e essa utilização geralmente tem como base os saberes da população. Frequentemente essas fontes são de fácil acesso e com um baixo valor para população em geral, além do que, já se tinha um conhecimento das prováveis propriedades terapêuticas, biológicas e tóxicas, esses extratos são fontes promissoras de substancias ativas ou moléculas (OLIVEIRA, R. B. DE *et al.*, 2008).

As espécies vegetais além de possuírem moléculas tão complexa do ponto de vista estrutural que seria impossível de ser produzida através de síntese, outro fator que desperta

e favorece pesquisas com plantas afim de descobrir seu potencial farmacológicos é a ocorrência do sinergismo, esse pode ser observado nos extratos de plantas, esse efeito pode ser aplicado em técnicas da química para produção de fármacos com um efeito biológico maior de que a soma desse efeitos individualizados numa única dose (CHECHINEL FILHO; YUNES, 2014).

Os compostos bioativos, são estruturas orgânicas obtidas de fonte vegetal, em geral apresenta baixo peso molecular, que exercem atividades terapêuticas ao organismo humano, reduzindo o risco de doenças coronarianas, estimulação do sistema imunológico, atividade antioxidante, regulação hormonal, redução da pressão sanguínea, entre outras (CARRATÙ; SANZINI, 2005).

Embora nas plantas tenha centenas de metabólitos secundários, na maioria das vezes são isolados e isolados pela fitoquímica, apenas os compostos que estão em maiores concentrações. A análise desses compostos é bem mais complexa e longa, já que em geral os compostos que estão presentes em menor quantidade apresentam melhores efeitos biológicos (FILHO; YUNES, 1998). Por esse motivo existe a necessidade de um trabalho com a colaboração mais efetiva entre químicos e farmacólogos para melhor análise de extratos, onde se adquire extratos semi-puros, frações e finalmente, os compostos puros (FILHO; YUNES, 1998).

Diante do grande número de amostras a serem analisadas, se faz necessário que alguns aspectos sejam levados em consideração quando se procura princípios biologicamente ativos em plantas. Nesse sentido, alguns pontos devem ser avaliados como a rapidez, simplicidade a reprodutibilidade e o baixo custo dos testes biológicos (HAMBURGER.et al., 1991).

3.4 Metabólitos secundários

O marco da fitoquímica no Brasil teve início com a chegada do jovem alemão Theodoro Peckolt que em pode ser considerado pelo seu trabalho o pai da fitoquímica brasileira. Partindo desse trabalho, diversos pesquisadores vêm alterando a óptica da fitoquímica tradicional, levando em consideração as atividades biológicas, a parte da ecologia química e a biossíntese de micromoléculas das plantas. Além dos organismos marinhos,

microrganismos, e vários outros, assim sendo, aplicando novas metodologias analíticas afim de retirar o potencial dos produtos naturais (PINTO *et al.*, 2002).

Os vegetais são seres que ficam preso ao solo e não podem se locomover. Dessa forma, não responde aos estímulos do meio ambiente pelas vias prováveis que são comuns para a maioria dos animais (SUZUKI *et al.*, 2014).

O metabolismo caracteriza o conjunto de reações químicas que ocorre continuamente dentro das células. Os compostos químicos formados, transformados ou degradados são chamados de metabólitos (SIMÕES *et al.*, 2010). Eles são formados a parti das vias de biossíntese do metabolismo primário do carbono, que está presente na maioria das células vegetais (AUGUSTIN *et al.*, 2011).

Os compostos produzidos pelas plantas podem divididos em dois grupos: metabólicos primário e secundários. Os metabólitos primários constituem as classes de biomoléculas indispensáveis à vida como: proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios. Por outro lado os metabólitos secundários apresentam propriedades que colaboram para o progresso dos seres vivos e sua relação com outros organismos, produzindo aromas, pigmentos, hormônios, resistência a patologias e comunicação intercelular e intracelular (BRAZ FILHO, 2010; JABEEN *et al.*, 2014).

Para isso os vegetais elaboram em grande escala e bem variados constituintes orgânicos que são divididos em metabólitos primário e secundários. Enquanto os primários apresentam função estrutural e plástica, além do armazenamento de energia. Os secundários por sua vez, aparentemente participam do crescimento e desenvolvimento da planta (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Os metabólitos secundários são de fundamental importância na função de sobrevivência e competição das plantas no ambiente, visto que esse composto durante a evolução vem garantido a sobrevivência e reprodução (VIZZOTO, KROLOW E WEBER, 2010).

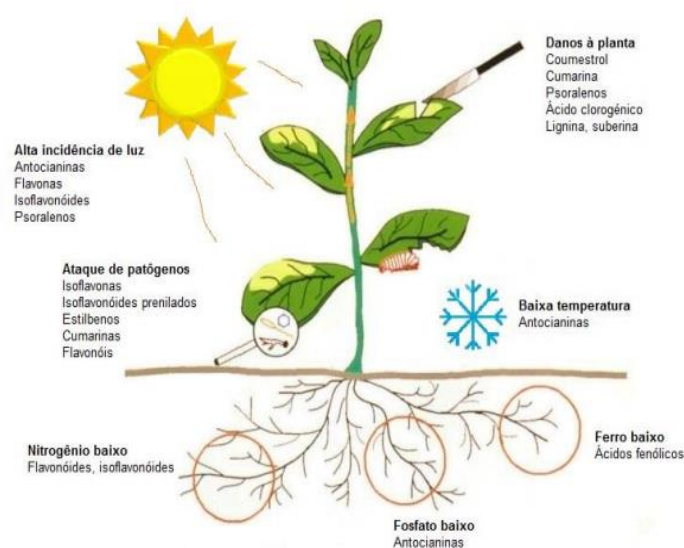
Embora os metabólitos secundários sejam envolvidos numa gama de funções nas plantas, é plausível que a sua relevância ecológica seja correlacionada com efeitos terapêuticos para os seres humanos. Nesse contexto, compostos secundários que serve como defesa na planta pela sua citotoxicidade contra patógenos microbianos poderiam ser úteis como fármacos antimicrobianos em humanos, caso sua toxicidade não seja elevada. Assim sendo, os que são envolvidos na defesa contra herbívoros através da atividade neurotóxica

seria capaz de ter efeitos antidepressivo, sedativos, relaxantes musculares ou anestésicos, por apresentar atuação no sistema nervoso central (KAUFMAN et al., 1999).

De modo geral esses metabólitos, têm uma estrutura complexa e de baixo peso molecular, no entanto apresentam atividades biológicas relevantes e, ao contrário dos metabólitos primários, sua concentração é em menor quantidade e em determinados grupos de plantas (BERG e LUBERT, 2008).

Vários são os fatores que pode influenciar nos metabólitos secundários, podem ser abióticos (condições climáticas, radiação ultravioleta, disponibilidade hídrica entre outros) e bióticos (a herbívora, ação antrópica, alelopatias e outros) (**Figura 3**), esses fatores têm influência significativa tanto na quantidade como na qualidade dos constituintes decorrente do metabolismo da planta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Figura 3: Principais fatores que podem influenciar na produção de alguns metabólitos secundários

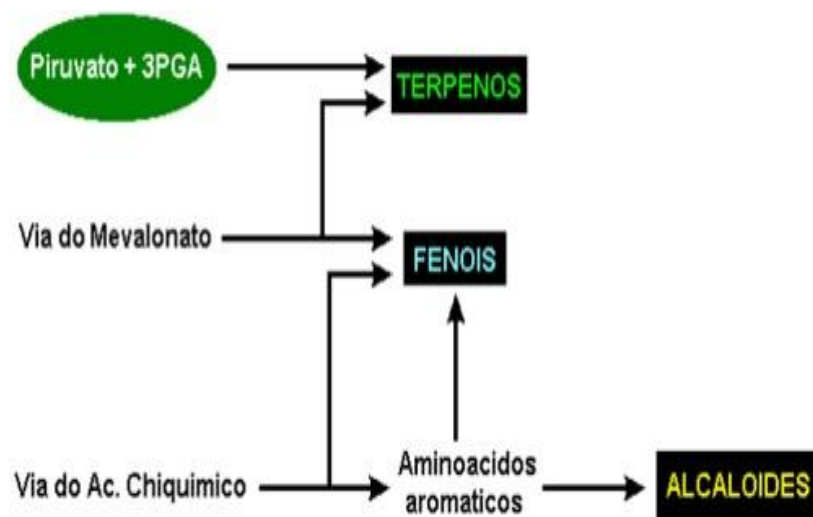


Fonte: DIXON, PAIVA (1995)

Os metabolitos secundários estão divididos em três grandes grupos químicos: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides. Os fenólicos representam o grupo mais abundante nas plantas, e são responsáveis por várias funções, pigmentação, proteção dos raios ultravioleta, antioxidante, ação alelopática, além de servi de proteção contra predadores (NACZK; SHAHIDI, 2006). Esses compostos têm sua formação por diversas rotas (FIGURA 4). Os terpenos são formados pela via do ácido mevalônico, no citoplasma, ou a do piruvato e 3-fosfoglicerato, esse no cloroplasto. No caso dos compostos fenólicos

segue a via do ácido chiquímico e do ácido mevalônico. Já os alcaloides são resultantes de aminoácidos aromáticos, no qual é produzido a partir do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (PERES, 2004). Vale salientar, que todos esses grupos apresentam propriedades antioxidantes, no entanto os principais responsáveis pela atividade são os compostos fenólicos (BOUKHRIS et al., 2012).

Figura 4: Principais vias do mecanismo de produção de metabólitos secundários



Fonte: PERES, (2004)

3.5. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos pertencem à uma das classes de metabólitos secundários mais notável, e estão presente em grande quantidade nos vegetais (NACZK; SHAHIDI, 2004). Esses compostos são encontrados em todos os órgãos da planta, e em diversos alimentos, sendo de fundamental importância na alimentação humana. Sua presença auxilia de forma significativa nos efeitos benéficos sobre a saúde humana (BRAVO, 2009).

São bem diversificados estruturalmente e exercem várias funções, como por exemplo proteção contra raios UV e funções de sustentação da planta (SOUSA, 2015), além do que, contribui com as características sensoriais dos vegetais. Compostos fenólicos são produzidos pelas plantas por diversas vias, isso pode explicar o fato de pertencerem ao um grupo bem diversificado metabolicamente. As duas rotas metabólicas básicas são: a rota do ácido mevalônico e a do ácido chiquímico (Figura 5), sendo esta última participante na maioria da biossíntese dos fenóis vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Esses compostos apresentam uma ampla variedade estrutural e isso deve-se a grande diversidade de combinações que acontece na natureza e o produto final são os polifenóis. Sendo assim essas combinações dos fenólicos podem ser divididas em diversas classes como segue na tabela 2 (HARBORNE, 19989; BAXTER, 1998).

Podemos destacar entre esses fenólicos, os flavonoides, os taninos, ácidos fenólicos, e os tocoferóis como sendo os mais gerais antioxidantes fenólicos de fonte naturais (KING; YOUNG, 1999).

Tabela 2. Classe dos compostos fenólicos em plantas

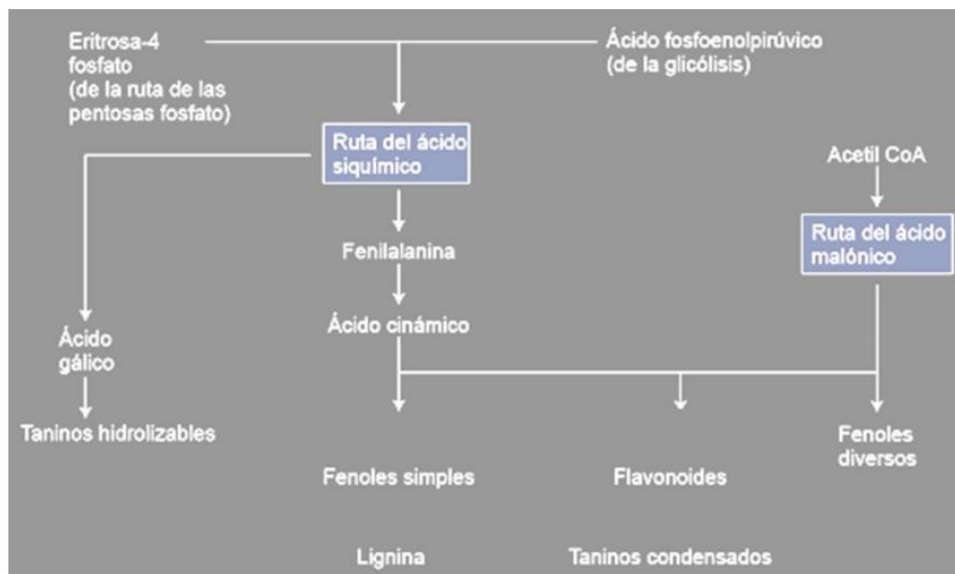
Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	C_6-C_1
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C_6-C_3
Nafitoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fonte: ANGELO, 2007

Estudos comprovam que os compostos fenólicos, e em especial os flavonóides demonstram sua capacidade antioxidante e sua importância na dieta, além de seu efeito no combate de várias doenças como: doenças cardiovasculares, cancerígenas e doenças neurológicas (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

Entre a grande variedade de compostos fenólicos pode-se destacar: os ácidos hidroxicinâmicos, ácidos hidroxibenzóico, as lignanas, flavonoides e os taninos condensados (SIMÕES, 2008).

Figura 5: Síntese dos compostos fenólicos



Fonte: GARCÍA, CARRIL (2009)

Esses compostos têm em sua estrutura no mínimo um anel aromático e possui uma ou mais hidroxila como substituintes, e podem ser moléculas bem simples assim como compostos com alta polimerização (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em dois grandes grupos: fenóis simples, que apresenta apenas um anel aromático, constituídos de uma ou mais hidroxilas substituintes e outro grupo são os polifenóis, que possui duas ou mais unidades monoméricas, fenólicas além de compostos poliméricos (HARBORNE, 1994).

Os compostos fenólicos apresentam muitas atividades biológicas, onde podemos destacar a antioxidantes, isso deve-se as suas propriedades redutoras e também sua estrutura química. Essa característica é de grande importância no processo de neutralização ou captura dos radicais livres e quelação dos metais de transição, esses exercem no processo de iniciação ou mesmo na propagação do processo oxidativo (HASLAM E, 1996; SOARES, 2002).

Vale salientar que os compostos fenólicos são compostos secundários elaborado por plantas e apresenta pelo menos um grupo fenol, e entre as inúmeras atividades atribuídas a este grupo de compostos estão a atividade de proteção contra o estresse oxidativo por possuir a capacidade de participar como sequestrador de radicais livres e na quelação de metais de transição (OLIVEIRA, L. DE *et al.*, 2016).

A estrutura química desses compostos envolvendo tipo, grau de metoxilação e número de hidroxilas são alguns dos parâmetros que caracterizam sua participação como agentes redutores, estando os intermediários produzidos nestas reações em que possuem relativa

estabilidade pela existência de ressonância do anel aromático destes compostos (OLIVEIRA, L. DE *et al.*, 2016).

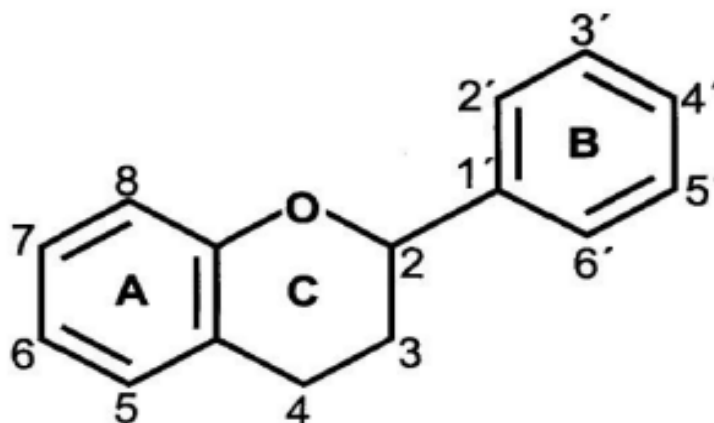
3.6. Flavonoides

Os flavonoides pertencem ao grupo dos compostos fenólicos sendo o mais significativo (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Esses compostos apresentam diversos efeitos nos sistemas biológicos como: atividade anti-inflamatória, vasodilatador, ação antialérgica, atividade antitumorais, anti-hepatóxica, antiulcerogênica, atuação antiplaquetária, além de atividade antimicrobianas, antivirais e antioxidantes (LIMA, G. S. *et al.*, 2015).

Esses compostos possuem várias funções nas plantas. Entre essas funções podemos destacar a proteção contra os raios UV, ação antioxidante, proteção contra microrganismos patogênicos, ação alelopática e inibição enzimática (SIMOES *et al.*, 2000; HARBONE, WILLIAMS, 2000; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002).

A grande diversidade dos flavonoides, pode ser explicado pelo seu nível de oxidação e sua variação do seu esqueleto carbônico (COUTINHO; MUZITANO; COSTA 2009). A sua estrutura é composta por cerca de quinze carbono, onde são formados por dois anéis aromáticos (A e B) que são ligados por um anel heterocíclico, denominado de anel C, onde as modificações e substituições deste anel dão origem as subclasses flavonóis, flavonas, flavononas, catequinas, isoflavonas e antocianidinas. Além disto, a estrutura básica dos flavonoides (Figura 6),(MARTÍNEZ-FLÓREZ *et al.*, 2002).

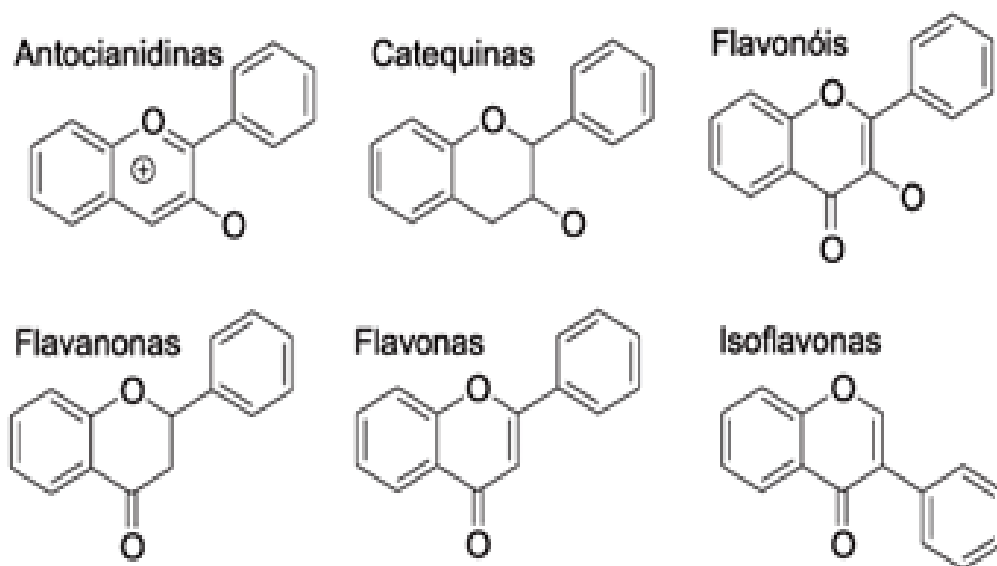
Figura 6: Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: HOLLMAN; KATAN (1999)

Esses compostos frequentemente se apresentam como agliconas, no entanto podem ocorrer como glicosídeos ou como forma de estruturas que contenha flavonoides, como as flavolignanas, mas frequentemente se apresentam como glicosídeos. Os flavonoides podem ser subdivididos em 13 classes, sendo destacado mais de 5000 compostos que foram descritos até 1990. Essa subdivisão ocorre conforme seu grau de oxidação e instauração do anel C (BRAVO, L., 1998). As principais classes dos flavonoides podem ser evidenciadas na (Figura 7).

Figura 7. Estruturas genérica das principais classes dos flavonoides



Fonte: (NACZK; SHAHIDI, 2004)

Os flavonoides são distribuídos nos vegetais dependendo de vários fatores a ordem e a família do vegetal, assim como a diversidade de espécies. Os que são encontrados nas folhas muitas vezes podem ser distinto dos que existem nas flores, galhos frutos e raízes. Além do que, a concentração de um mesmo composto pode ser diferente dependendo do tecido vegetal em que se encontra (SIMÕES et al., 2000).

A atividade antioxidante é bem difundida nos flavonoides. Estudos mostram que os flavonoides desempenham um importante papel sobre o antienvhecimento, agindo na inibição da enzima que é responsável por oxidar os tecidos (DÔRES, 2007). São responsáveis na estabilização dos radicais livres no processo de oxidação pela hidrogenação com espécies oxidantes e/ou inativa o oxigênio singlete, radicais peróxidos de lipídios e ânions superóxido (MACHADO, HUSSEN; NAGEM, TANUS; PETERS, VERA; FONSECA, CRISTIANE; OLIVEIRA, 2008).

3.7. Extração de compostos bioativos de plantas

A extração é um procedimento que envolve transferência de massa e se baseia, na separação de substâncias de importância de uma matriz, seja ela sólida ou líquida através de processos químicos, físicos e/ou mecânicos. Esses processos podem ser executados em meio sólido-líquido, líquido-líquido ou gás-líquido (VIEIRA, 2015).

O termo extração pode ser definido como a separação de compostos ativos dos órgãos das plantas, utilizando solventes seletivos por diversos métodos de extração (TIWARI et al., 2011). Existem diversas formas de extração que podem ser utilizados afim de se obter extratos vegetais. Os extratos vegetais para screening de compostos bioativos podem ser conseguidos por múltiplas abordagens que, têm sofrido mudanças significativas ao longo da História. A constituição e propriedades do extrato dependem do método de extração a ser utilizado, do material vegetal e também do tipo de solvente (VINATORU *et al.*, 1997).

Os métodos de extração, em especial a de matrizes vegetais, precisam ser escolhidos de em conformidade com a tecido vegetal a ser utilizada (raiz, caule, folhas, frutos, sementes) bem como o composto que se deseja extrair. Os processos mais usados comuns compreendem desde métodos convencionais como arraste, prensagem, maceração (NOVELLO, 2015) até métodos que envolvem maior tecnologia, como fluido pressurizado e extração assistida por ultrassom ou micro-ondas (VIEIRA, 2015).

Uma das metodologias mais eficiente para extração de biocompostos é PLE, que é conhecido como extração com fluido pressurizado (PFE) ou como extração acelerada com solvente (ASE), no qual foi descrito pela primeira vez em 1995 (HORFLER, 1996; GIERGIELEWICZ et al, 2001).

Nesse procedimento, a extração acontece a temperaturas que podem oscilar entre 50 a 200 °C e pressões de 1500 e 2000 bar. Essa temperatura alta de extração acaba causando um aumento na capacidade do solvente de solubilizar os compostos e a pressão elevada acelera sua propagação nos poros da matriz, possibilitando a transferência de massa no solvente extrator. Esse aumento de temperatura termina por romper a ligação entre o composto e a matriz e também diminui a viscosidade do solvente, isso facilita uma maior penetração do solvente na matriz e, portanto um aumento na eficiência da extração (RIBEIRO, C. *et al.*, 2014; MCCANT; INOUE; MCFARLAND, 1999).

Nesse sentido várias metodologias foram desenvolvidas nos últimos anos, afim de restringir o tempo de processo, reduzir o uso de solventes orgânicos, e aumentar a eficiência da extração, que tem por finalidade reduzir os custos de processo e tendo como resultado diminuição da poluição ambiental (HUANG *et al.*, 2013). Para isso diversos tipos de solventes são utilizados: metanol, etanol, acetona ou a sua combinação com a água, acetato de étila e também por destilação a vapor (BIESAGA, 2011).

A escolha do solvente a ser usado é uma condição chave para a extração de compostos. O tipo de solvente, a sua concentração e a proporção de solvente-soluto são razões fundamentais para uma melhor efetividade da extração (BARBERO *et al.*, 2008; DAS; TIWARI; SHRIVASTAVA, 2010; TIWARI *et al.*, 2011).

3.8. Radicais Livres e Estresse oxidativo

As plantas estão expostas a vários fatores que sempre podem surgir algum tipo de estresse, seja ele biótico ou abiótico. Devido a esses estímulos manifesta-se o estresse oxidativo, esse fenômeno ocorre naturalmente na planta após ser detectado algum agente patogênico (FIORI, 2011) essa reação é essencial para o fortalecimento da parede celular vegetal (FERNANDES *et al.*, 2013).

O estresse oxidativo é provocado pelo desequilíbrio das espécies reativas de oxigênio/nitrogênio e a eficiência do organismo em controlar os efeitos dessas com o sistema antioxidante (PERSSON; POPESCU; CEDAZOMINGUEZ, 2014).

Existe dois motivos que pode explicar esse tipo de estresse, pelo o aumento ERO/ERN ou simplesmente pela diminuição na produção dos antioxidantes endógenos de combater o ataque oxidativo as biomoléculas alvo. Este tipo de agressão está relacionada com inúmeras patologias como câncer, doenças cardiovasculares e envelhecimento (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013).

O oxigênio molecular e seus radicais apresentam é de fundamental importância como reagentes na bioquímica dos radicais livres nas células aeróbicas.

Dentro do contexto de espécies reativas de oxigênio (ERO) está incluído os RL que possui oxigênio, como o ânion superóxido (O_2^-), o radical (HO), o radical peroxila (ROO) e também espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio

singlete ($^1\text{O}_2$) eles são regularmente produzidos como subprodutos das reações biológicas ou de fatores exógenos (GYAMFI; YONAMINE; ANIYA, 1999; GÜLÇİN *et al.*, 2003).

Já as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) são derivadas do Óxido nítrico (NO) que sofre uma reação com o oxigênio e a formação de peroxinitrito (ONOO) e as espécies reativas de enxofre (ERSs) são formadas através da reação com radicais tióis com as EROs (LÜ *et al.*, 2010).

Além disso, esses danos provocados pelos radicais livres têm sido responsáveis por patogênese e fisiopatologia de doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer (MAULIK *et al.*, 2013; TODA; NAKANISHI-TODA, 2011).

Os radicais livres podem ser tanto compostos orgânicos como inorgânicos tendo um ou mais elétrons que são desemparelhados, se mostram instáveis e bastante reativos (SHINDI *et al.*, 2013). O aparecimento RL endógenos e exógenos é inevitável, visto que são processos normais do metabolismo que ocorrem a todo instante da vida pela ação de agente oxidantes do ambiente (POLJSKAK *et al.*, 2011). Essas espécies reativas são geradas através da respiração celular; por processos infecciosos, álcool; atividade física intensa; poluição, radiações ionizantes e ultravioleta, pesticidas e ozônio (LOBO *et al.*, 2010).

Radicais livres são produzidos por processos naturais aeróbicos como a respiração celular; processos infecciosos envolvendo ativação fagocitária; durante atividade física intensa; ou pela ação de poluentes e toxinas, como fumaça de cigarro, álcool, radiações ionizantes e ultravioleta, pesticidas e ozônio (LOBO *et al.*, 2010).

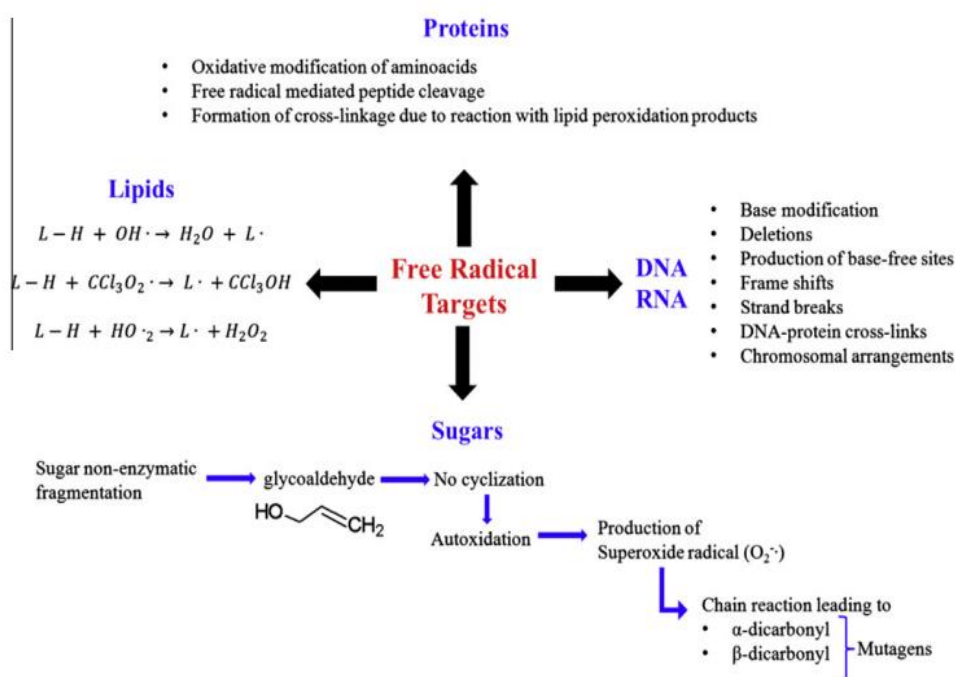
De modo geral as espécies reativas são formadas em quantidades moderadas e são responsáveis por várias funções fisiológicas, como regulação do estado redox da célula, sinalização celular e defesa imune. No entanto sua produção exacerbada está relacionada na mediação da lesão nas estruturas celulares, DNA e RNA, proteínas, lipídios e açúcares (Figura 8). Efetivamente, as EROS modulam o papel de todas as classes de biomoléculas (SENA; CHANDEL, 2012(VALKO *et al.*, 2007).

O processo de oxidação nos lipídios provoca danos em potencial nas membranas celulares. Por exemplo os ácidos graxos insaturados são bem sensíveis ao processo de oxidação e rapidamente sofrem peroxidação pelo ataque de $\text{OH}\cdot$ (SINGH; KAPOOR; BHATNAGAR, 2015). A peroxidação lipídica pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultante da ação dos RL sobre os lipídios insaturados das membranas

celulares, formando principalmente $L\cdot$, $LO\cdot$ e $LOO\cdot$, provocando à destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, numa condição extrema, à morte celular (BENZIE, 1996).

Figura 8. Principais alvos dos radicais livres.

Adaptado de Dizdaroglu et al. (2002), Valko et al. (2004), Benov e Beea (2003), Halliwell e Chirico (1993) e Lobo et al. (2010).



Fonte.(CAROCHO; FERREIRA, 2013)

Nas espécies reativas de oxigênio (EROs) temos os radicais livres e outras que, mesmo não apresentando elétrons desemparelhados, possui uma reatividade considerada isso em virtude de sua instabilidade (RIBEIRO, R. V. *et al.*, 2013).

Os RL são moléculas que possui uma alta reatividade e participam de reações normais no organismo, no entanto podem causar alterações no organismo. Sua reatividade é por conta da instabilidade da molécula, que apresentam elétrons desemparelhados (COTIGUIBA *et al.*, 2013). Os RL no organismo encontram-se relacionado com a produção de ATP, fagocitose, regulação do crescimento celular, entre outros (ABRAHÃO *et al.*, 2010).

Para uma boa preservação do sistema biológico, a estabilidade entre a oxidação e antioxição é bastante crítico, no qual a formação excessiva de radicais livres ocasiona um desequilíbrio nesse mecanismo gerando o estresse oxidativo (LETELIER et al., 2008). Sendo assim os principais alvos dessas espécies reativas são as moléculas de DNA e RNA, lipídios, proteína e açúcares (LÜ et al., 2010).

3.9. Antioxidantes

Visto que nos últimos anos as descobertas dos danos causados pelos radicais livres nos organismos, pesquisas com antioxidantes são bastante promissoras (BARREIROS; DAVID, 2006).

Antioxidante pode ser definido como qualquer substância existente em baixas concentrações em relação a do substrato oxidável, que por sua vez possui a capacidade de retardar ou bloquear a oxidação desse mesmo substrato de modo efetivo. As funções dos antioxidantes estão envolvidas em reduzir o estresse oxidativo, mutações de DNA, transformações malignas, dentre outros de danos celular (GODIC et al., 2014). Eles são agentes encarregados por inibir e reduzir as lesões que são provocadas pelos radicais livre nas células (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

A oxidação lipídica é uma das importantes causas de deterioração dos alimentos sendo capaz de ser prevenida pela adição de antioxidantes. Tornando-se responsável pelo cheiro e sabor e ranço, tendo uma decorrente redução da característica nutricional e da segurança, isso se deve à produção de compostos secundários potencialmente tóxicos (CHEVOLLEAU et al, 1992).

Os antioxidantes podem trabalhar de maneiras diferenciadas na preservação do equilíbrio entre os radicais livres e o estresse oxidativo, podem atuar desativando o oxigênio singlete; inibidores de enzimas pró-oxidativas; na quebra de cadeia; impedindo a formação de radicais livres; na conversão de hidroperóxidos e metal pró-oxidante em compostos estáveis, além de apresentar um sinergismo com outros antioxidantes (DARMANYAN et al., 1998; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; KANCHEVA, 20011; MIN; BOFF, 2002; POKORNY, 2007).

Os primeiros sistemas de defesa antioxidante que estão presentes para combater o dano oxidativo, são os que têm à finalidade de prevenir o surgimento de espécies reativas, além dos que bloqueiam os radicais que são gerados. De modo geral essas substâncias

antioxidantes podem ter origem tanto natural como sintética (CHEUNG; CHEUNG; OOI, 2003). Estes sistemas que atuam nos compartimentos hidrofóbicos das membranas celulares assim como em ambientes aquosos, eles podem ser divididos em duas classes: os enzimáticos e não enzimáticos (PISOSCHI; POP, 2015).

Pode-se destacar nos enzimáticos a eficiência da glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), e a catalase (CAT) (MATÉS; PÉREZ-GÓMEZ; DE CASTRO, 1999).

Estudos tem demonstrado que os antioxidantes exógenos presentes em frutas e vegetais tem um importante papel no sistema de defesa antioxidante endógeno. Alguns antioxidantes como a vitamina C e E, carotenoides e compostos fenólicos (estilbenos, ácidos fenólicos, e flavonoides) esses podem ser considerados os principais antioxidante exógenos (PISOSCHI; POP, 2015).

Os antioxidantes endógenos apresentam um papel fundamental na preservação da saúde sistêmica. Mesmo assim, estes antioxidantes não são suficientes sob situações que produzam o estresse oxidativo, sendo primordial o auxílio dos antioxidantes usados na alimentação para a manutenção da saúde e função celular (RAHMAN, 2007).

Os antioxidantes de origem sintética são bastante utilizados pelas indústrias, como por exemplo, na indústria alimentícia contribuindo para a manutenção dos alimentos e possíveis inibidores da peroxidação lipídica (SCHERER; GODOY, 2009).

Nesse sentido os antioxidantes sintéticos podem apresentar efeitos tóxicos, podendo atacar alvos biológicos, como, o galato de propila (GP) que reage com íons ferrosos, em presença de peróxido de hidrogênio, fato esse que produz espécies reativas de oxigênio (HASLAM E, 1996; SOARES, 2002). Alguns antioxidantes sintéticos são frequentemente utilizados pela indústria alimentícia, como o butilhidroxianisol e butilhidroxitolueno, podem acarretar lesões hepáticas e carcinogênese devido ao seu acúmulo no corpo (LUO; FANG, 2008; VALENTÃO et al., 2002).

Esses problemas fazem com que os consumidores procurem antioxidantes de origem naturais como alternativas para esses aditivos sintéticos (KARAKAYA; BAYRAK e ULUSOY, 2011; REISHE et al., 1997).

Diversa fontes de antioxidantes naturais são conhecidas e algumas delas são largamente encontradas no reino vegetal. Seu poder antioxidante pode ser em muitos casos atribuído

aos compostos fenólicos, essenciais para o desenvolvimento das plantas e eficazes na prevenção da autoxidação (ANGELO e JORGE, 2007).

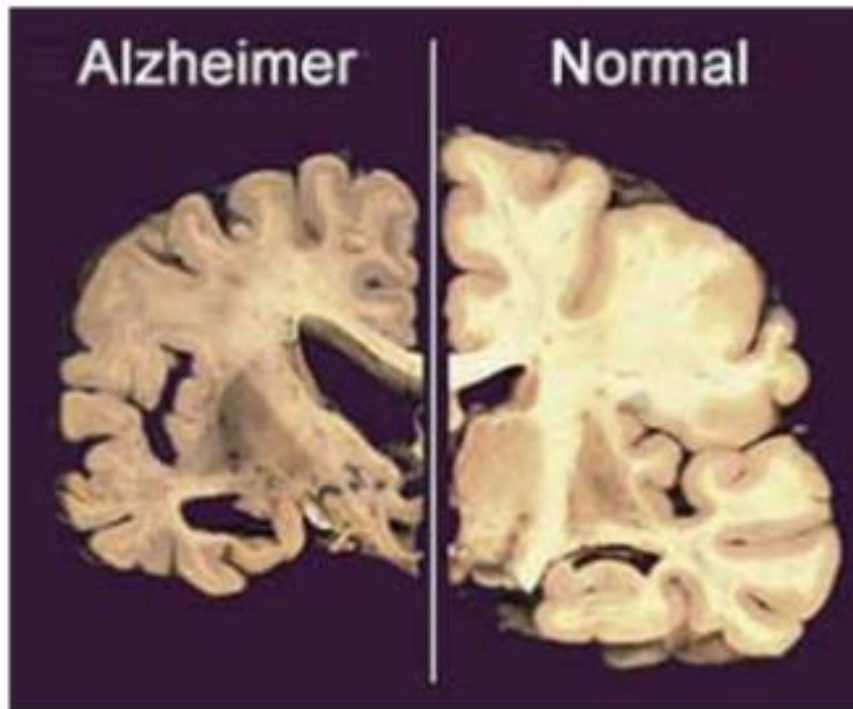
3.10. Atividade acetilcolinesterase e Doença de Alzheimer

Os transtornos do sistema nervoso central (SNC) tem causado sérios problemas a milhões de pessoas em todo mundo. Alguns desses podem ser distúrbio depressivo, ansiedade, insônia, (BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014) demência, epilepsia e dor esses são os principais sintomas neuropsiquiátricos que acometem boa parte da população no mundo. Essas patologias estão envolvidas numa parcela significativa de doenças na população mundial, e a estimativa é que seja até maior que doenças coronarianas e o câncer (WHITEFORD *et al.*, 2013, BAXTER; MITTLER; SUZUKI, 2014).

Nos dias atuais estima-se que exista aproximadamente 35,5 milhões de pessoas com demência no mundo. Segundos dados do relatório de 2012 da organização mundial de saúde (OMS) feito em conjunto com associação internacional de doença de Alzheimer (ADI), relata que esse número quase vai dobrar a cada 20 anos, podendo chegar a 65,7 milhões em 2030 e 115,4 milhões em 2050. De acordo com esse relatório, a estimativa é que a cada 4 segundos, tenha um novo caso de demência detectado no mundo (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA, 2012).

A DA ocasiona à morte dos neurônios. Com o passar dos anos, o cérebro diminui de tamanho, perdendo toda as funções (Figura 9). Nos casos da doença, o córtex encolhe, causando um comprometimento de áreas encarregadas pela memória e outras habilidades intelectuais. O processo mais agressivo ocorre no hipocampo, área do córtex onde acontece a formação de novas memórias, é nessa região que ocorre a perda de proteínas responsáveis pela doença. A proteína TAU ela passa de um neurônio para outro, provocando sua destruição. Essa mesma proteína vai movendo-se de um neurônio para o outro neurônio, havendo o processo de contágio (KAREN DUFF, 2014).

Figura 9: Cérebro normal e com doença de alzheimer



Fonte: <http://drhomecare.blogspot.com.br/2011/10/cerebro-patologia-doenca-de-alzheimer.html>

Os sintomas que são provocados na DA, são causados pela morte neuronal excessiva durante a progressão da doença, isso se dar devido ao acúmulo de duas principais proteínas, que são a proteína B-amilóide, que forma as placas B-amilóide (extracelularmente) (Figura 10), e a proteína TAU, que forma os emaranhados neurofibrilares (intracelularmente) (ROBERSON & MUCK 2006).

Figura 10. Formação da proteína B-amilóide



Fonte: Juan Gaertner/shutterstock/vx

A proteína TAU tem sua formação relacionada a microtúbulos normalmente alterada em determinados tipos de células nervosas humanas é de extrema importância para a patogênese da doença de Alzheimer (DA) (MANDELKOW *et al.*, 2007; KHALID *et al.*, 2009). Essa proteína é da família das proteínas que estão associada a formação de microtúbulos nos neurônios, elementos do citoesqueleto celular, atribuindo a essas células suporte anatômico necessário para a conservação adaptativa das sinapses (KRUMOVA *et al.*, 2015; CHUNG *et al.*, 2016).

Estudos mostram que a hiperfosforilação da proteína TAU e a modificação e na concentração das proteínas B-amiloides são dois dos relevantes biomarcadores vistos no fluído cerebrospinal (“segundo SPENCE 1991, é um fluido aquoso, sua composição se assemelha ao plasma sanguíneo, ele funciona como um coxim para todo o sistema nervoso central, protegendo-o assim contra choques”) e no encéfalo pós morte de pessoas com a doença de Alzheimer (KRUSE *et al.*, 2016). Pessoas que apresentam modificações no gene precursor da proteína amilóide (APP, da sigla em inglês) possui uma redução bem significativa na produção destas proteínas, e conseqüentemente um risco diminuído de desenvolver a DA, o que corrobora com a compreensão da proteína amiloide com a patologia (MUN *et al.*, 2016; LAZZARETTI, 2017).

A teoria do amilóide é a apontada a mais plausível por grande parte dos pesquisadores no momento. “Diversos pesquisadores concluíram que o acúmulo de proteína amilóide no

cérebro seja o evento-chave que leva ao desenvolvimento da doença de Alzheimer” (AINSEN; MARIN; DAVIS, 2001).

A demência está relacionada a uma série de sintomas no qual se encontram comumente em pessoas com doenças cerebrais, que é caracterizado pela destruição e perda de células do cérebro. A perda dessas células é um fenômeno natural, no entanto em patologias que levam a demência esse fato ocorre numa velocidade bem maior e faz com que o cérebro não funcione de como deveria. Entre as várias patologias que envolvem a demência, está a doença de Alzheimer.

Esta doença neurodegenerativa pode estar relacionada com a idade, onde os sintomas cognitivos e neuropsiquiátricos acabam em uma deficiência gradativa e consequentemente uma incapacitação (ZHAO, 2012). Além disso, essa doença está relacionada com déficits dos neurotransmissores, como acetilcolina, noradrenalina e a serotonina (BYRNE, 1998). No entanto o tratamento da doença de Alzheimer está envolvido primeiro com a restauração da função colinérgica. Nesse sentido uma elevação no nível de acetilcolina seria capaz de causar uma melhora significativa em dos sinais da doença, que seria a deficiência de aprendizagem (BIERER *et al.*, 1995).

A busca por novas alternativas que ajudem no tratamento de doenças degenerativas como a doença Alzheimer tem estimulado cientistas a realizarem ensaios *in vitro* e *in vivo* com compostos naturais afim de elucidar o potencial da atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase (BORBA, 2012). Esses inibidores são largamente empregados para o tratamento da doença de Alzheimer, que é uma patologia neurodegenerativa que possui a capacidade do comprometimento da memória, do raciocínio e comunicação (MARQUES *et al.*, 2013).

Na DA, que é bem complexa e progressiva, que atinge geralmente a população idosa com mais de 65 anos de idade (ADAMS; GMÜNDER; HAMBURGER, 2007). Nesse caso são observados déficits cognitivos e funcionais. Estudos comprovam que esses déficits estão correlacionados com a degeneração do sistema colinérgico, isso se deve ao fato essencialmente na diminuição dos níveis plasmático da acetilcolina (VINUTHA *et al.*, 2007).

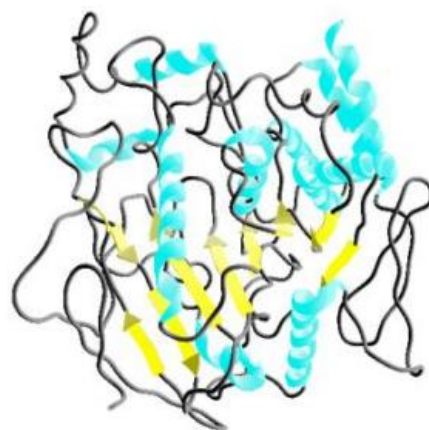
As pessoas com DA manifestam uma melhora dos sintomas cognitivos, comportamentais e funcionais que estão correlacionados às demências, quando são tratadas

com inibidores de acetilcolinesterase (AChE) (OH *et al.*, 2004). Esses inibidores tem função de aumentar os níveis da acetilcolina que estão presentes nas sinapses entre os neurônios colinérgicos (JUNG; PARK, 2007)

A doença de Alzheimer (DA), é responsável pela causa mais frequente de demência em pessoas idosas, é um distúrbio neurodegenerativo e progressivo. Essa doença é reconhecida pela deterioração global da função intelectual, perda da habilidade da linguagem e a deficiência visuoespacial. O comprometimento da função motora não é comum no início da doença e as atividades diária vai sendo agravadas à medida que os sintomas vão amentando. Além disso, sintomas como psicose e agitação acontecem durante as etapas intermediarias ou posteriores da doença. O tempo médio da DA gira em torno de uma década, mas a taxa de desenvolvimento é variável (HENDRIE, 1998; WHITEHOUSE, 1997).

A AChE ou acetilcolinesterase (Figura 11), é uma enzima que apresenta função de regulação e estar relacionada pelo final da transmissão dos impulsos nervosos. Estando presente em sistemas nervosos central e periférico, favorecendo a hidrólise da ACh nas junções neuromusculares, além de estar presente nas sinapses colinérgicas. Essa enzima é uma das mais poderosa para hidrolisar ésteres de colina e a sua competência catalítica junto com uma alta capacidade reativa de inibidores covalentes e não covalentes são definidas por sua arquitetura funcional do seu sitio ativo (MATOS, 2012).

Figura 11: Estrutura tridimensional da AChE.



Fonte: Matos, 2012

As doenças neurodegenerativas causa danos a substancia cinzenta do cérebro, isso afeta de forma significativa a perda sucessiva dos neurônios seguida das alterações secundárias

associadas à substância branca. Essas doenças estão geralmente associadas conforme a região anatômica do sistema nervoso central que onde tem início aos sintomas. A doença de Alzheimer tem sua manifestação na região proeminente do córtex cerebral (ROBBINS, et al, 2005).

A hipótese colinérgica determinada em 1976, nessa época já era evidente que os sintomas cognitivos, funcionais e comportamentais exibidos na DA, estavam relacionados com a deficiência na neurotransmissão colinérgica associada a perda de neurônios colinérgicos. Essa hipótese sinalizou a investigação por recurso terapêutico que promovessem uma melhora da qualidade de vida dessas pessoas com essa enfermidade (CUMMINGS; BACK, 1998).

A diminuição da acetilcolina, está correlacionado com o déficit cognitivo, cuja a mesma está envolvida com a função estimulante do SNC e é de extrema relevância na ativação das áreas da memória e aprendizagem (HEIBLUM *et al.*, 2007; VASCONCELLOS *et al.*, 2013; FOIDL *et al.*, 2016).

A acetilcolina é uma molécula orgânica, que liberada nas terminações nervosa como neurotransmissor. Essa molécula, nos neurônios colinérgicos é produzida pela a enzima colina acetilcolinesterase que por sua vez utiliza a acetilcoenzima-A e colina como substrato para a sua produção (ELDEM *et al.*, 2005)

A grande variedade estrutural dos inibidores da AChE conhecidos e alternativa de se investigar modos de ação importante têm estimulado o estudo fitoquímico de diversas espécies vegetais, que sejam capazes de fornecer compostos anticolinesterasicos. Sendo assim, diversos exemplares da biodiversidade têm se tornado fonte de estudos em virtude de sua utilização pela população ou de conhecimentos etnobotânicos (ALBERTO; FRAGA, 2004).

As preferências terapêuticas para o tratamento da DA estão baseados na modificação dos sistemas neurotransmissores, em especial o sistema colinérgico. Visando a otimização da atividade colinérgica, os tratamentos mais atuais o controle da DA nos estágios leves a moderados baseia-se na inibição das enzimas acetilcolinesterase e butilcolinesterase responsáveis pelos mecanismos de metabolização da acetilcolina. São três os inibidores de colinesterases usados para o tratamento de DA que são: rivastigmina, donepezil e galantamina.

A rivastigmina é um composto do fenilcarbamato que possibilita a inibição dupla das enzimas acetilcolinesterase e butilcolinesterase, seletivamente relativa no cérebro sendo esse efeito dose-dependente. A posologia inicial é de 1,5 mg duas vezes ao dia (3 mg/dia), e após um período de 4 semanas, a dose pode ser aumentada para 3mg duas vezes ao dia (6 mg/dia). Os efeitos contrários da rivastigmina estão associados à excitação parassimpática. O donepezil é um inibidor reversível da enzima acetilcolinesterase que apresenta eficácia quando administrado em doses de 5 a 10 mg uma vez ao dia. Causa como efeitos colaterais sintomas colinomiméticos onde estão incluídos náuseas, vômito, diarreia, insônia e anorexia, principalmente por ação sobre o sistema vagal. Enquanto isso a Galantamina é um alcalóide derivado do fenantreno (FROTA *et al.*, 2011). É originalmente extraído dos bulbos de anêmona caucasiana e do narciso, mas hoje já é sintetizada; é um inibidor reversível e competitivo da acetilcolinesterase com pequena atividade inibitória da butilcolinesterase (INOUE; OLIVEIRA, 2004).

3.11. Atividade hemolítica (Planta tóxica)

A utilização de plantas medicinais vem mostrando ao longo dos tempos, que algumas plantas podem exibir substâncias perigosas. Os estudos científicos mostram, que muitas dessas plantas apresentam substâncias com potencial agressivo e, devido a isso, elas precisam ser manuseadas com bastante atenção, frente aos riscos toxicológicos (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005).

A detecção de atividade citotóxica de fitoterápico constitui uma medida emergencial uma vez que várias substâncias químicas tem a capacidade de provocar efeitos tóxicos. Os eritrócitos são células frequentemente usadas para análises de citotoxicidade *in vitro*, em virtude principalmente, de ser de fácil acesso, garantindo assim a investigação do efeito tóxico ou protetor de princípios ativos na membrana celular. Após a exposição ao produto a ser testado, o aparecimento ou não da hemólise pode ser de modo direto correlacionada com a sua citotoxicidade e podendo ser usada como ponto de partida na triagem toxicológica *in vitro* (CAPRARI *et al.*, 1999; RABINI *et al.*, 2002 BRANDÃO *et al.*, 2005; GOUVÊA SILVA, 2006; SRINIVASAN; KEMPAIAH, 2006; NERES; AVERSI-FERREIRA, 2006; FIRMINO, 2007).

As plantas podem ser consideradas tóxica, quando em contato, inalação ou mesmo ingestão, venham a causar danos à saúde humana ou animal sendo capaz de gerar reações adversas ou até mesmo a morte em virtude de sua composição (PORTO *et al.*, 2016).

A toxicidade decorrente de uma planta medicinal pode apresentar vários fatores. Pode-se destacar a adulteração da planta, sazonalidade, identificação botânica divergente, a falta de padrão na hora da coleta. A falta de controle de qualidade mediante o processo de coleta pode corroborar para contaminações por microrganismos, pesticidas algumas toxinas e metais pesados (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005).

Além destes fatores, a população tem uma forte crença que uso das plantas credence popular de que as plantas inofensivas em virtude de ter a sua origem natural (DENG, 2002; SAAD et al., 2006) e a própria automedicação (STICKEL; PATSENKER; SCHUPPAN, 2005) também contribui para os efeitos nocivos.

Mesmo o uso de plantas medicinais ser bastante difundido, pouco se sabe de seus componentes, assim como os possíveis riscos à saúde humana, visto que o uso terapêutico é quase sempre baseado no conhecimento tradicional (DA SILVEIRA; BANDEIRA; ARRAIS, 2008). Nesse contexto, vale salientar que mesmo as plantas que são utilizadas pela população possuem atividade tóxica.

Essa toxicidade está intimamente ligada ao sistema de defesa das plantas, contra microorganismos e animais predadores, entre as substâncias ativas que podem causar intoxicações temos as resinas, saponinas, os glicosídeos cardioativos e os oxalatos (FONSECA; PEREIRA, 2004; PARDAL; ITHO, 2016).

A toxicidade de uma espécie vegetal pode ser apontada por informações de pessoas que teve algum tipo de efeito adverso ao esperado depois de ter tido contato com alguma planta tóxica (CAMPOS et al., 2016).

Os métodos para investigar a segurança dos extratos é avaliando sua capacidade citotóxica, que é mensurar o quanto essa planta pode causar danos fisiológicos nas células alvo para o estudo. Dentre as várias metodologias aplicadas, podemos ressaltar a atividade citotoxicidade hemolítica, que verifica o grau de hemólise frente ao extrato, no qual esse é incubado junto com uma suspensão de hemácias (DESOTI *et al.*, 2011).

A membrana eritrocitária é rica em ácidos graxos polinsaturados, isso faz com que sejam susceptíveis a agressão de radicais livres. Essa ação nos eritrócitos pode causar uma série de transformações, como a formação de lipoperóxidos, redução da deformabilidade, mudanças na morfologia, ligação cruzada e fragmentação de proteínas, além de hemólise

mudanças no metabolismo intracelular (SANDHU; WARE; GRISHAM, 1992; SATO *et al.*, 1995; BEGUM; TERAQ, 2002).

A hemólise consiste na lise dos eritrócitos, provocando o extravasamento da hemoglobina no plasma, esse fenômeno pode causar danos aos rins e ao coração. Os processos hemolíticos libertam íons de potássio para o meio extracelular e consequentemente um aumento K^+ . Fato que pode causar uma parada cardíaca e levar a pessoa a óbito (EUNICE *et al.*, 2007).

3.12. *Amburana cearenses*

A *Amburana cearenses* A. C. Smith pertencente à família fabaceae, é frequentemente conhecida por imburana-de-cheiro, apresenta grande importância econômica, encontrada em parte do sertão nordestino (MAIA, *et al.*, 2004). *Amburana cearenses* é uma planta de porte arbóreo e nativa do bioma Caatinga, a população há conhece por vários nomes como amburana, imburana, cumaru ou amburana-de-cheiro (MAIA, 2012).

Visando a economia, essa espécie apresenta um grande interesse para o comércio, isso se deve pelas suas aplicações, como na fabricação de móveis (CANUTO *et al.*, 2008), perfumaria e na medicina popular (MAIA, 2012).

No entanto, a sua maior aplicação está direcionada para utilização como planta medicinal. A *Amburana cearenses* foi descrita como espécie com mais de cinco usos medicinais como mostra a tabela 1.

Tabela 1. Utilização da Amburana como planta medicinal

Doenças	Casos analisados (%)
Sistema reprodutivo	39,3
Problemas menstruais	21,4
Infamações Ovarianas e Prostáticas	14,3
Sistema respiratório	38,6
Tratamento de bronquites	22,8
Gripes	14,0
Expectorante	7,0
Asmas e coqueluches	3,5
Doenças do estômago	26,5
Laxativo	17,6
Antidiarréico	14,7
Doenças hepáticas	11,8

Fonte: AGRA, 2007.

Num estudo realizado demonstrou que a *A. cearensis*, possui atividade hepatoprotetora (LEAL, 2006) e neuroprotetora (LEAL et al., 2005) esse efeito se deve à presença do amburosídeo A, em função de sua ação antioxidante enquanto que a ação broncodilatadora está ligado ao isocampferídio-2 foi evidenciada pelo seu efeito relaxante muscular em traquéia de cobaias (LEAL et al., 2006).

No Ceara por exemplo já existe a produção do fitoterápico que é o xarope de cumaru, indicado no tratamento de problemas pulmonares, asma, bronquite, coqueluche e tosse (PORTO, 2009).

As diferentes partes da planta, como folha, casca e sementes são utilizadas como agente terapêuticos contra cefaleia, dores, constipação, infecções do trato urinário e como anti-inflamatório e espasmolítico e nas doenças do sistema respiratório (AGRA et al., 2007).

A *Amburana* apresenta compostos fenólicos, em especial flavonoides e ácidos fenólicos que podem exercer função como antioxidantes pela sua competência de eliminar a reativação de espécies reativas de oxigênio (ROS)(LEAL et al., 2005; RUIJTERS et al., 2013). ; (WANG; SHAHIDI, 2014).

De acordo com alguns estudos tem sido elucidado o isolamento de compostos da *Amburana cearenses* glicosídeos fenólicos, cumarina e flavonoides como o isocampferideo, campferol e o ácido vanílico (BRAVO, Â. A. B. et al., 1999; NEGRI, et al., 2004).

Segundo a união internacional para a conservação da natureza e dos recursos naturais, *A. cearensis* se encontra em perigo de extinção, o que torna essencial o avanço de pesquisas com o objetivo de criar métodos mais seguro e autossustentável que permita um menor impacto na região (IUCN, 2014).

3.13. *Cróton conduplicatus*

A família Euphorbiaceae engloba aproximadamente cerca de 300 gêneros, no Brasil temos 64 gêneros e 940 espécies (CORDEIRO, et al., 2014), fazendo parte integrante árvores, arbustos, ervas e trepadeiras (CRONQUIST, 1981). Esta família é, bem representada e é a segunda dentro do bioma caatinga, e tem o número bem expressivos tendo 1300 espécies do gênero cróton (SOUZA; KILL. ARAÚJO, 2012). Este pode ser considerado o mais expressivo dos gêneros do Nordeste brasileiro, exibindo um elevado

padrão e variedade de espécies, isso é bem marcante no bioma caatinga (CARNEIRO-TORRES, 2009; RAMOS, 2013). No Brasil temos 316 espécies, no qual tem sua distribuição especialmente nos domínios fitogeográficos do cerrado, caatinga e mata atlântica. Vale apenas ressaltar que, 252 dessas espécies são endêmicas para o Brasil (FLORA DO BRASIL, 2015; CORDEIRO, et al., 2008).

O gênero *Croton* tem importância biológica devido à presença de metabólitos secundários responsáveis pelas atividades biológicas como terpenoides, proantocianidinas, flavonoides, compostos fenólicos, e alcaloides. Dessa forma, as substâncias bioativas conferem as diferentes atividades atribuídas a esse gênero, dentre elas destacando-se a antinoceptiva, antioxidante, anti-inflamatória, antiulcerogênica dentre outras (ROCHA, et al., 2008; SUAREZ, et al., 2006; XIMENES, et al., 2013; LAVOR, et al., 2014).

Entre as espécies nativas da caatinga, podemos destacar as que são do gênero *Croton*, por exibirem atividades biológicas consideráveis, podendo ser utilizadas com anti-inflamatório, antioxidante, antinoceptivo, anticonvulsivo e ansiolítico (ZHAO et al., 2012). *Croton conduplicatus* Kunth (Euphorbiaceae) é uma planta medicinal bastante utilizada pela população e é largamente distribuída na América do Sul, em especial no Brasil. No Nordeste do Brasil, suas folhas e barras-tronco dessa espécie é frequentemente utilizada para tratamentos de dores como um analgésico natural (Cartaxo et al., 2010).

Estudos comprovam que temos uma gama de informações a respeito de outras espécies de *Croton*, no entanto quando se fala de *Croton conduplicatus*, conhecida de quebra-faca, os relatos são insuficientes, mesmo ela sendo utilizada para fins terapêuticos no combate de gripe, dor de cabeça, indigestão e dor de estômago (CARTAXO et al., 2010).

Os compostos químicos do gênero *croton* são bem diversificados, evento esse que torna o gênero com enorme potencial para estudos de prospecção para substâncias naturais bioativas, sendo assim, objeto de pesquisas tanto do ponto de vista fitoquímicos e biológicos (RANDAU, 2004).

3.14. *Handroanthus impetiginosus*

O *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, é uma espécie de planta conhecida popularmente como ipê-roxo ou pau-d' arco-roxo, além de ser conhecido também por uma sinonímia de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standl.), essa espécie

é muito frequentemente utilizada pela população, no paisagismo e na medicina (LORENZI, 2002), é pertencente à família Bignoniaceae e mais recentemente incluída no gênero *Handroanthus* (GROSE; OLMSTEAD, 2007).

Ela pode ainda ter vários sinônimos *Gelseminum avellanadae* (Lorentz ex Griseb.) Kuntze, *Handroanthus avellanadae* (Lorentz ex Griseb.) Mattos, *Tabebuia avellanadae* Lorentz ex Griseb., *Tabebuia dugandii* Standl. *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl., *Tabebuia ipe* var. *integra* (Sprague) Sandwith, *Tabebuia nicaraguenses* S. F. Blake, *Tabebuia palmeri* Rose; *Tabebuia schunkevigoi* D. R. Simpson, *Tecoma adenophylla* Bureau & K. Schum. *Tecoma avellanadae* (Lorentz ex Griseb.) Speg. *Tecoma avellanadae* var. *alba* Lillo, *Tecoma impetiginosa* Mart. ex DC., *Tecoma integra* (Sprague) Hassl., *Tecoma ipe* var. *integra* Sprague, *Tecoma ipe* var. *integrifolia* Hassl. E *Tecoma ipe* f. *leucotricha* Hassl. (ROYAL BOTANIC GARDENS. KEW AND MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2016).

Apresenta uma forte distribuição geográfica nos trópicos americanos, sendo encontrado nas regiões do México e Antilhas até o Uruguai, além de ter sido encontrada ao sul da Bolívia, norte da Argentina e também no Paraguai (CARVALHO, 1994). No Brasil essa espécie é bem distribuída sendo comum para a vegetação da Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Amazônia (MAIA-SILVA et al., 2012).

Essa espécie tem sido utilizada na arborização urbana (TJHIO; PESTANA, 2011) esse tipo de uso estar ligado a sua beleza, além de servir como sombra propiciando um microclima mais agradável, isto é devido a sua concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz (ENGEL; POGGIANI, 1991).

Figura 12: *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos.



Fonte: Julcéia Camillo

Desde 1873, já se tinha conhecimento de algumas peculiaridades terapêuticas da espécie *H. impetiginosus*, como: redutor de febre, antiulceroso, além de servir no tratamento de doenças reumáticas, doenças venéreas, problemas de pele (GÓMEZ CASTELLANOS; PRIETO; HEINRICH, 2009).

Além de ser um recurso de madeira e medicinal. A casca do caule apresenta propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, diuréticas e anticancerígenas, e as folhas têm sido utilizadas como um adstringentes externos e agentes anti-sépticos JUSTINIANO et al., 2000, (PIJUT et al., 2012).

Num estudo realizado, verificou-se a capacidade do extrato *H. impetiginosus* como um antidepressivo. Foi provocado um modelo de depressão pela bulbectomia olfatória em ratos, nesse experimento houve administração por via oral do extrato etanólico, com doses de 10 e 30 mg/kg, durante 14 dias. Ao final foi observado uma diminuição da mobilidade da cauda, não alterando a atividade locomotora, isso prova que o extrato tem um poder antidepressivo (FREITAS et al., 2013).

3.15. *Vitex gardneriana*

Vitex é o maior gênero que pertence a família Verbenaceae, esse gênero inclui 250 espécies e tem sua distribuição por todo planeta. Espécies do gênero apresentam porte arbóreo e arbustivo e são distribuídos nos trópicos e subtrópicos. A espécie *Vitex gardneriana* (Verbenaceae) Figura 13 é comumente conhecida pela população de Jaramataia, possui porte arbustivo e é frequentemente encontrado pelo bioma caatinga do nordeste brasileiro. As folhas dessa planta são utilizadas como analgésicos e anti-inflamatórios (SÁ-BARRETO *et al.*, 2008).

Figura 13. *Vitex gardneriana*



PARCELLI *et al.*, 2017

Fonte:

É uma espécie restrita ao bioma caatinga, e são vistas em margens de rios, como o rio piranha e rio espiranharas, na Paraíba, no rio Moxoto em Pernambuco, rio curaçá na Bahia, Taparuaba no Ceará, e em Sergipe e Alagoas (LIMA & FRANÇA, 2009; SA BARRETO *et al.*, 2005).

Essas plantas foram utilizadas no tratamento de várias doenças, como a malária, herpes, coceira, dermatite e sangramento da menstruação (SHARMA e RANI, 2013). Além disso, é utilizada na medicina tradicional para diversos fins terapêuticos, como: verminose, gripe, gases, dor de barriga, sinusite, inflamação de próstata (ROQUE, 2009), além de combater dores nos ossos, problema renal, na coluna e calmante (ANDRADE *et al.*, 2012).

Poucos estudos mostram suas atividades biológicas. Foi corroborado que os extratos das folhas e cascas de caule de *V. gardneriana* possuem atividade moluscicida em embriões de *Biomphalaria glabrata* (DE SÁ BARRETO *et al.*, 2007).

Em relação a composição de seus metabolitos o gênero *Vitex* têm sido pouco estudados, isso se deve ao difícil acesso e fenótipo, no caso seu tamanho e mau odor. Das 250 espécies, apenas 35 delas, já foram feitas caracterizações químicas. Onde desses vários são difíceis de serem identificados por conta de serem endêmicas da região Nordeste do Brasil, por exemplo, *Vitex capitata* Vahl, *Vitex rufences* A. Juss, *Vitex rufences* A. Juss e *Vitex gardinerina* Schauer, (DE SENA, 2017).

3.16 *Simaba Ferruginea*

A família simaroubaceae no qual é representada por seis subfamílias, com aproximadamente 170-200 espécies, possui porte arbóreo e arbustivos, e tem sua distribuição em 32 gêneros, dos quais podem ser encontradas pela América tropical, Ásia e ainda no Oeste da África (BARBOSA *et al.*, 2011; MUHAMMAD *et al.*, 2004).

A família no Brasil é composta por seis gêneros, e 28 espécies onde 12 delas pode ser considerada endêmicas, e duas subespécies não endêmicas (FORZZA *et al.*, 2010). As espécies vegetais dessa família apresentam uma característica bem peculiar, que são os quassinoides, que são substancias amargas no qual possui diversas atividades farmacológicas, tal como: antitumoral, antimalárica, antiviral, inseticida, antiparasitária, anorexígena, antiinflamatória e herbicida (ALVES *et al.*, 2014).

O gênero *Simaba* Aubl tem sua distribuição pela América do Sul, no entanto tem ocorrência de algumas espécies na América do Norte e central, a maioria das espécies são endêmicas, e não existe muito relatos de suas atividades (DEVECCHI; PIRANI, 2015; DEVECCHI *et al.*, 2016). Do ponto de vista químico, pouca foram as espécies de *Simaba* Aubl estudadas, algumas delas são: *S. cedron*, *S. subcymosa*, *S. guianensis*, *S. orinocensis*, *S. africana*, *S. multiflora*, *S. cuneata*, *S. cuspidata*, *S. undulata* e *S. polyphylla* (BARBOSA *et al.*, 2011, p. 21-2166; NUNOMURA *et al.*, 2012, p. 2153).

A *simaba ferrugínea* é uma espécie que pertence a família simaroubaceae chamada pela população de calunga ou féo-da-terra é uma planta que é nativa do Brasil central, tem si ' utilizada na medicina tradicional para o combate de úlceras gástricas, febre, diarreia, reumatismo, dor e diversas enfermidades (LORENZI & MATOS, 2002).

Referências:

- ALVES, Iasmine ABS et al. Simaroubaceae family: botany, chemical composition and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 24, n. 4, p. 481-501, 2014.
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.
- AISEN, Paul S.; MARIN, Deborah B.; DAVIS, Kenneth L. A doença de Alzheimer: perguntas e respostas. *Espanha: Merit Publishing Internacional*, 2001.
- ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*, v.66, n.1, p.1-9, jan./abr. 2007.
- ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A. de; NASCIMENTO, S. S. do. Degradação da Caatinga: *uma investigação ecogeográfica*. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 22, n. 3, p. 126-135, jul-set. 2009.
- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). *Ciencia e Agrotecnologia*, v. 34, n. 2, p. 414–420, 2010.
- ADAMS, M.; GMÜNDER, F.; HAMBURGER, M. Plants traditionally used in age related brain disorders-A survey of ethnobotanical literature. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 113, n. 3, p. 363–381, 2007.
- AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.
- ALBERTO, C.; FRAGA, M. ALZHEIMER Divulgação. v. 27, n. 4, p. 655–660, 2004.
- AMAROWICZ, R. et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food Chemistry*, v. 121, n. 3, p. 705–711, 2010.
- ANDRADE, S. et al. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade Várzea Comprida. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento*, v. 7, n. 3, p. 46–52, 2012. Disponível em:
<<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Estudo+etnobotânico+de+plantas+medicinais+na+comunidade+de+Santa+Rita+,+Ituiutaba+?+MG+Material+e+Metodologias#0%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Estudo+etnobotânico+>>.
- ARCOVERDE, J. H. V. et al. Screening of Caatinga plants as sources of lectins and trypsin inhibitors. *Natural Product Research*, v. 28, n. 16, p. 1297–1301, 2014.
- AUGUSTIN, J. M. et al. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, v. 72, n. 6, p. 435–457, 2011. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.015>>.
- BADKE, R. et al. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=127718940027>. 2011.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

- BARBERO, G. F. *et al.* Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, v. 75, n. 5, p. 1332–1337, 2008.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.
- BATTISTI, C. *et al.* Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões , RS , Brasil. *Rev. Bras. Biocienc.*, v. 11, p. 338–348, 2013.
- BAXTER, A.; MITTLER, R.; SUZUKI, N. ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of Experimental Botany*, v. 65, n. 5, p. 1229–1240, 2014.
- BEGUM, A. N.; TERAQ, J. Protective effect of alpha-tocotrienol against free radical-induced impairment of erythrocyte deformability. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, v. 66, n. 2, p. 398–403, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11999415>>.
- BENZIE, I. F. F. dietary influences. p. 233–261, 1996.
- BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52731999000200001&lng=pt&tlng=pt>.
- BIERER, L. M. *et al.* Neurochemical Correlates of Dementia Severity in Alzheimer's Disease: Relative Importance of the Cholinergic Deficits. *Journal of Neurochemistry*, v. 64, n. 2, p. 749–760, 1995.
- BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, n. 18, p. 2505–2512, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>>.
- BORBA, V. F. C. Avaliação in Vitro Da Atividade Anticolinesterásica De Plantas Medicinais Nativas Da Caatinga. 2012.
- BOSCOLO, O. H. Para comer, para beber ou para remédio? Categorias de uso múltiplo em Etnobotânica. *Cadernos UniFOA*, p. 61–67, 2013.
- BRAMBILLA, J. A. *et al.* RESUMO – Estratégias que busquem aumentar a produção de palha pelas culturas devem ser implementadas nos Cerrados, buscando consolidar a integração lavoura- pecuária. Objetivou-se avaliar o comportamento da cultura de milho safrinha integrado com. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 8, n. 3, p. 263–274, 2009.
- BRANDÃO, R. *et al.* Hemolytic effects of sodium selenite and mercuric chloride in human blood. *Drug and Chemical Toxicology*, v. 28, n. 4, p. 397–407, 2005.
- BRAVO, Â. A. B. *et al.* Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cearensis*. v. 50, p. 71–74, 1999.
- BRAVO, L. Polyphenols : Chemistry , dietary sources , metabolism , and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.
- CANUTO, K. M. *et al.* Uso de Plantas jovens de *Amburana Cearensis* A. C. Smith: Alternativa para Preservação e Exploração Econômica da Espécie. *Embrapa*, v. 208, p. 24, 2008.
- CAPRARI, P. *et al.* Aging and red blood cell membrane: A study of centenarians.

Experimental Gerontology, v. 34, n. 1, p. 47–57, 1999.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants , prooxidants and related controversy : Natural and synthetic compounds , screening and analysis methodologies and future perspectives. v. 51, p. 15–25, 2013.

CARRATÙ, B.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, v. 41, n. 1, p. 7–16, 2005.

CARTAXO, S. L.; DE ALMEIDA SOUZA, M. M.; DE ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 131, n. 2, p. 326–342, 2010.

CHEN, G.-T. *et al.* Medicinal uses, pharmacology, and phytochemistry of Convolvulaceae plants with central nervous system efficacies: A systematic review. *Phytotherapy Research*, n. December 2017, p. 1–42, 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.6031>>.

CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, v. 81, n. 2, p. 249–255, 2003.

CHUNG, P. J. *et al.* Tau mediates microtubule bundle architectures mimicking fascicles of microtubules found in the axon initial segment. *Nature Communications*, v. 7, p. 1–9, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms12278>>.

COTIGUIBA, G. G. *et al.* Methods of the Antioxidant Defense : A Literature Review. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*, v. 15, n. 3, p. 231–238, 2013.

CUMMINGS, J. L.; BACK, C. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, v. 6, n. 2 SUPPL., p. S64–S78, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/00019442-199821001-00009>>.

DA COSTA FILHO, L. O. *et al.* Foliar cuticular n-alkane of some Croton species from Brazilian semiarid vegetation. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 41, p. 13–15, 2012.

DA SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: Uma realidade. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, n. 4, p. 618–626, 2008.

DAS, K.; TIWARI, R. K. S.; SHRIVASTAVA, D. K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 4, n. 2, p. 104–111, 2010. Disponível em: <[http://www.academicjournals.org/JMPR/PDF/pdf2010/18Jan/Das et al.pdf](http://www.academicjournals.org/JMPR/PDF/pdf2010/18Jan/Das%20et%20al.pdf)>.

DE ALBUQUERQUE, U. P. *et al.* Caatinga Revisited: Ecology and Conservation of an Important Seasonal Dry Forest. *The Scientific World Journal*, v. 2012, p. 1–18, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/205182/>>.

DE OLIVEIRA, G.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Spatial patterns of terrestrial vertebrates richness in Brazilian semiarid, Northeastern Brazil: Selecting hypotheses and revealing constraints. *Journal of Arid Environments*, v. 74, n. 11, p. 1418–1426, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2010.05.015>>.

DE SÁ BARRETO, L. C. L. *et al.* Atividade moluscicida de extratos e de aucubina de Vitex gardneriana Schauer (Verbenaceae) em embriões da Biomphalaria glabrata. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 3, p. 339–343, 2007.

DENG, J. Clinical and laboratory investigations in herbal poisonings. v. 182, p. 571–576, 2002.

DESOTI, V. C. *et al.* Triagem Fitoquímica E Avaliação Das Atividades Antimicrobiana E Citotóxica De Plantas Medicinais Nativas Da Região Oeste Do Estado Do Paraná. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR*, v. 15, n. 1, p. 3–13, 2011.

DEVECCHI, M. F.; PIRANI, J. R. A new species of Simaba sect. Grandiflorae (Simaroubaceae) from Jalapão region, Tocantins, Brazil. *Phytotaxa*, v. 227, n. 2, p. 167–174, 2015.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Study of foliar chlorophyll concentration and its light absorption spectrum as related to shading at the juvenile phase of four ... *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 3, n. May, p. 39–45, 1991.

EUNICE, C. *et al.* Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, v. 29, n. 2, p. 149–152, 2007.

FEITOSA, C. *et al.* Acetylcholinesterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants. *Brazilian Journal of Biology*, v. 71, n. 3, p. 783–789, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842011000400025&lng=en&tlng=en>.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, v. 21, n. 1, p. 99–105, 1998.

FIRMO, W. D. C. A. *et al.* Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Cad. Pesq.*, v. 18, n. n. especial, p. 90–95, 2011.

FOIDL, B. M. *et al.* Cholinergic neurodegeneration in an Alzheimer mouse model overexpressing amyloid-precursor protein with the Swedish-Dutch-Iowa mutations. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 136, p. 86–96, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nlm.2016.09.014>>.

FONSECA, C. A. DA; PEREIRA, D. G. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. *Infarma*, v. 16, n. 7–8, p. 51–54, 2004.

FREITAS, A. E. *et al.* Antidepressant-like action of the bark ethanolic extract from *Tabebuia avellanedae* in the olfactory bulbectomized mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 145, n. 3, p. 737–745, 2013.

FROTA, N. A. F. *et al.* Critérios para o diagnóstico de doença de Alzheimer: Recomendações do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. *Dementia e Neuropsychologia*, v. 5, n. 3, p. 146–152, 2011.

GADELHA, C. S. *et al.* Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil Bibliographical study on the use of medicinal and herbal plants in Brazil. *Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 8, n. 5, p. 208–212, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_374_25-RV05289.pdf>.

GÓMEZ CASTELLANOS, J. R.; PRIETO, J. M.; HEINRICH, M. Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*)-A global ethnopharmacological commodity? *Journal of Ethnopharmacology*, v.

121, n. 1, p. 1–13, 2009.

GROSE, S. O.; OLMSTEAD, R. G. Taxonomic Revisions in the Polyphyletic Genus *Tabebuia* s. l. (Bignoniaceae). *Systematic Botany*, v. 32, n. 3, p. 660–670, 2007. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/10.1600/036364407782250652>>.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. DA S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importânciaterapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novosagentes. *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 667–679, 2010.

GÜLÇİN, I. *et al.* Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, v. 83, n. 3, p. 371–382, 2003.

GYAMFI, M. A.; YONAMINE, M.; ANIYA, Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *General Pharmacology*, v. 32, n. 6, p. 661–667, 1999.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, n. 6, p. 481–504, 2000.

HASLAM E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drug: possibles modes of action. *Journal of Natural Products*, v. 59, p. 205–215, 1996.

HEIBLUM, M. *et al.* “Didy,” a clinical case of cognitive dysfunction syndrome. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, v. 2, n. 3, p. 68–72, 2007.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

HEISLER, E. V. *et al.* Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. *Enfermería Global*, v. 14, n. 39, p. 390–403, 2015.

HENDRIE, H. C. Epidemiology of dementia and Alzheimer’s disease. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, v. 6, n. 2 SUPPL., p. S3–S18, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1097/00019442-199821001-00002>>.

HUANG, H. W. *et al.* Advances in the extraction of natural ingredients by high pressure extraction technology. *Trends in Food Science and Technology*, v. 33, n. 1, p. 54–62, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.001>>.

INOUE, K.; OLIVEIRA, G. H. D. E. Avaliação Crítica Do Tratamento Farmacológico. *Infarma*, v. 15, p. 80–84, 2004. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/84/i08-alzheimer.pdf>>.

JO ATILDE O, DA R. L. N. *et al.* Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 10, n. 27, p. 409–416, 2016. Disponível em: <<http://academicjournals.org/journal/JMPR/article-abstract/F679AE659546>>.

JUNG, M.; PARK, M. Acetylcholinesterase inhibition by flavonoids from *Agrimonia pilosa*. *Molecules*, v. 12, n. 9, p. 2130–2139, 2007.

KAUR, R.; ARORA, S.; SINGH, B. Antioxidant activity of the phenol rich fractions of leaves of *Chukrasia tabularis* A. Juss. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 16, p. 7692–7698, 2008.

KING, A.; YOUNG, G. *Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. Journal of the American Dietetic Association*. [S.l: s.n.], 1999

KOVALSKI, M. L.; OBARA, A. T.; FIGUEIREDO, M. C. Diálogo dos saberes: o conhecimento científico e popular das plantas medicinais na escola. *Viii Enpec*, p. 13, 2011. Disponível em: <<http://www.nutes.ufrj.br/abrapec/viiienpec/resumos/R1647-1.pdf%0Ahttp://www.nutes.ufrj.br/abrapec/viiienpec/listaresumos.htm>>.

KRUMOVA, P. *et al.* Chemical genetic approach identifies microtubule affinity-regulating kinase 1 as a leucine-rich repeat kinase 2 substrate. *FASEB Journal*, v. 29, n. 7, p. 2980–2992, 2015.

LAZZARETTI, C. Revista Perspectiva : Ciência E Saúde Alzheimer – S Disease and Diabetes Mellitus. v. 2, 2017.

LIMA, G. S. *et al.* Antileishmanial activity and trypanothione reductase effects of terpenes from the Amazonian species *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae). *Phytomedicine*, v. 22, n. 12, p. 1133–1137, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2015.08.012>>.

LIMA, R. K. *et al.* Bactericidal and antioxidant activity of essential oils from *myristica fragrans* houtt and *Salvia microphylla* H.B.K. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 89, n. 3, p. 523–528, 2012.

LOBO, V. *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, v. 4, n. 8, p. 118, 2010. Disponível em: <<http://www.phcogrev.com/text.asp?2010/4/8/118/70902>>.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, v. 763, p. 1–10, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>>.

LÜ, J.-M. *et al.* Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 14, n. 4, p. 840–860, 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x>>.

LUO, D.; FANG, B. Structural identification of ginseng polysaccharides and testing of their antioxidant activities. v. 72, p. 376–381, 2008.

MACHADO, HUSSEN; NAGEM, TANUS; PETERS, VERA; FONSECA, CRISTIANE; OLIVEIRA, T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução*, v. 27, n. 1/2, p. 33–39, 2008.

MANDELKOW, E. *et al.* Structural principles of tau and the paired helical filaments of Alzheimer's disease. *Brain Pathology*, v. 17, n. 1, p. 83–90, 2007.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S. *et al.* Flavonoids: Properties and antioxidizing action. *Nutrición Hospitalaria*, v. 17, n. 6, p. 271–278, 2002.

MATÉS, J. M.; PÉREZ-GÓMEZ, C.; DE CASTRO, I. N. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, v. 32, n. 8, p. 595–603, 1999. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912099000752>>.

MAULIK, M. *et al.* Role of cholesterol in APP metabolism and its significance in Alzheimer's disease pathogenesis. *Molecular Neurobiology*, v. 47, n. 1, p. 37–63, 2013.

MCCANT, D. D.; INOUE, L. S.; MCFARLAND, V. A. A one-step ASE(TM) extraction

method for TCDD TEQ determination. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 63, n. 3, p. 282–288, 1999.

MIN, D. B.; BOFF, J. M. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 1, n. 2, p. 58–72, 2002.

MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: An evolving role in future drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 46, n. 10, p. 4769–4807, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.07.057>>.

MUN, M. J. *et al.* Polymorphisms of small ubiquitin-related modifier genes are associated with risk of Alzheimer's disease in Korean: A case-control study. *Journal of the Neurological Sciences*, v. 364, p. 122–127, 2016.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016.

NGO, D. H. *et al.* Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: An overview. *Food Research International*, v. 44, n. 2, p. 523–529, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.030>>.

NUNES, F. R. S.; DIAS, H. M. C.; CAVALCANTE, G. M. Investigação das atividades antioxidante e antimicrobiana de duas espécies arbóreas ocorrentes no bioma caatinga. *Estação Científica (UNIFAP)*, v. 6, n. 1, p. 81, 2016. Disponível em: <<https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/view/2307>>.

OH, M. H. *et al.* Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. *Phytomedicine*, v. 11, n. 6, p. 544–548, 2004.

OLIVEIRA, M. *et al.* Aplicação De Terpenos Como Agentes Analgésicos: Uma Prospecção Tecnológica. *GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 4, n. 4, p. 1292–1298, 2014. Disponível em:

<<http://www.revistageintec.net/portal/index.php/revista/article/view/554%5Cnhttp://www.revistageintec.net/portal/index.php/revista/article/download/554/462>>.

OLIVEIRA, D. DE. Potencial da biodiversidade vegetal da Região Norte do Estado de Minas Gerais. *Unimontes Científica*, v. 8, p. 23–24, 2008. Disponível em: <<http://www.ruc.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/viewFile/162/159%5Cnhttp://www.ruc.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/viewArticle/162>>.

OLIVEIRA, L. DE *et al.* Full Paper Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na Amburana cearensis. v. 8, n. 1, 2016.

OLIVEIRA, R. B. DE *et al.* Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n. 3, p. 485–491, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000300019&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>.

PARCELLI, J. *et al.* Isolation and antioxidant activity of chemical constituents from *Vitex gardneriana* Schauer. v. 6, n. 6, p. 1806–1811, 2017.

PAULA DANIELE MENDONÇA OLIVEIRA. DESMATAMENTO NAS CAATINGAS PERNAMBUCANAS: uma análise da supressão de vegetação autorizada pelo Estado. 2016.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. D. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. November, p. 146–152, 2012.

PIJUT, P. M. *et al.* Invited paper. v. 12, n. Fao 2001, p. 25–51, 2012.

PINTO, A. C. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Química Nova*, v. 25, n. SUPPL. 1, p. 45–61, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000800009&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 97, p. 55–74, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>>.

PORTO, E. M. *et al.* Saber Científico, Porto Velho, V., n., p. – , Novembro. 2016. p. 1–13, 2016.

RABINI, R. A. *et al.* Reduced susceptibility to peroxidation of erythrocyte plasma membranes from centenarians. *Experimental Gerontology*, v. 37, n. 5, p. 657–663, 2002.

RAFIEIAN-KOPAEI, M. Medicinal plants and the human needs. *Journal of HerbMed Pharmacology*, v. 1, n. 1, p. 1–2, 2012.

RAMALHO, M. F. J. L. A fragilidade ambiental do Nordeste brasileiro : o clima semiárido e as imprevisões das grandes estiagens. *Sociedade e Território*, v. 25, n. 2, p. 104–115, 2013.

RIBEIRO, C. *et al.* Critical Reviews in Analytical Chemistry New Trends in Sample Preparation Techniques for Environmental Analysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 44, n. 2, p. 142–185, 2014. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/loi/batc20%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1080/10408347.2013.833850>>.

RIBEIRO, R. V. *et al.* Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. *Experimental Agriculture*, v. 49, n. 2, p. 212–224, 2013.

RODRIGUES, D. R. *et al.* Phenotypic, genetic and symbiotic characterization of *Erythrina velutina* rhizobia from Caatinga dry forest. *Brazilian Journal of Microbiology*, p. 1–10, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2017.09.007>>.

S??-BARRETO, L. C. L. *et al.* Avalia????o preliminar da atividade biol??gica e toxicidade aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 27, n. 6, p. 909–913, 2008.

SANDHU, I. S.; WARE, K.; GRISHAM, M. B. Peroxyl radical-mediated hemolysis: Role of lipid, protein and sulfhydryl oxidation. *Free Radical Research*, v. 16, n. 2, p. 111–122, 1992.

SATO, Y. *et al.* Mechanism of Free Radical-Induced Hemolysis of Human Erythrocytes: Hemolysis by Water-Soluble Radical Initiator. *Biochemistry*, v. 34, n. 28, p. 8940–8949,

1995.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v. 112, n. 3, p. 654–658, 2009.

SCIENCE, T. C. *et al.* Landscape attributes drive complex spatial microclimate configuration of Brazilian Atlantic forest fragments Landscape attributes drive complex spatial microclimate configuration of Brazilian Atlantic forest fragments. v. 3, n. August, p. 389–402, 2015.

SENA, L. A.; CHANDEL, N. S. Review Physiological Roles of Mitochondrial Reactive Oxygen Species. *Molecular Cell*, v. 48, n. 2, p. 158–167, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.025>>.

SILVA, L. N. *et al.* Anti-infective effects of Brazilian Caatinga plants against pathogenic bacterial biofilm formation. *Pharmaceutical Biology*, v. 53, n. 3, p. 464–468, 2015.

SILVA, W. J. M.; FERRARI, C. K. B. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. *Rev Bras Geriatr. Gerontol.*, v. 14, n. 1, p. 441–451, 2011.

SORG, O. Oxidative stress: A theoretical model or a biological reality? *Comptes Rendus - Biologies*, v. 327, n. 7, p. 649–662, 2004.

STEPP, J. R. The role of weeds as sources of pharmaceuticals. v. 92, p. 163–166, 2004.

SUZUKI, N. *et al.* Abiotic and biotic stress combinations. *The New phytologist*, v. 203, n. 1, p. 32–43, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24720847>>.

TJHIO, L.; PESTANA, C. Espécies arbóreas da arborização urbana do centro do município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revsbau*, v. 6, n. 3, p. 1–21, 2011.

TODA, N.; NAKANISHI-TODA, M. How mental stress affects endothelial function. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, v. 462, n. 6, p. 779–794, 2011.

VALKO, M. *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. v. 39, p. 44–84, 2007.

VASHIST, H.; JINDAL, A. Antimicrobial Activities of Medicinal Plants – Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, v. 3, n. 1, p. 222–230, 2012.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura? *Quimica Nova*, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.

VIEGAS, C.; DA SILVA BOLZANI, V.; BARREIRO, E. J. OS produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quimica Nova*, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.

VINATORU, M. *et al.* The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 4, n. 2, p. 135–139, 1997.

VINUTHA, B. *et al.* Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, n. 2, p. 359–363, 2007.

VOL, S.; NERES, A. C.; AVERSI-FERREIRA, T. A. eritrócitos humanos . v. 3, n. 2, p. 22–24, 2006.

WANG, J.; SHAHIDI, F. Acidolysis of p-coumaric acid with omega-3 oils and antioxidant

activity of phenolipid products in in vitro and biological model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 62, n. 2, p. 454–461, 2014.

WHITEFORD, H. A. *et al.* Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, v. 382, n. 9904, p. 1575–1586, 2013. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61611-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61611-6)>.

ZHAO, J. *et al.* Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton crassifolius* ethanol extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 142, n. 2, p. 367–373, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.04.050>>.

Perfil fitoquímico e atividades antioxidante e inibitória da acetilcolinesterase de plantas medicinais usadas por populações tradicionais em uma área de floresta tropical sazonalmente seca do Brasil

Luciclaudio Cassimiro de Amorim¹, Alexandre Gomes da Silva^{2,3}, Caio Rodrigo Dias de Assis, Kelma Sirleide de Souza, Ana Paula de Oliveira⁴, Ranilson de Souza Bezerra¹, Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida⁴, Márcia Vanusa da Silva^{1,3}, Maria Tereza dos Santos Correia^{1,3,*}

¹Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 Cidade Universitária, Recife, Brasil. CEP: 50670-901

²Departamento de Antibióticos, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife, Brasil. CEP: 50670-901

³Núcleo de Bioprospecção e Conservação da Caatinga, Instituto Nacional do Semiárido/Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. Av. Francisco Lopes de Almeida, S/N – Serrotão, Campina Grande, Brasil. CEP: 58429-970

⁴Núcleo de Estudos e Pesquisas de Plantas Medicinais, Universidade Federal do Vale do São Francisco. Av. José de Sá Maniçoba, S/N – Centro, Petrolina, Brasil. CEP: 563042051

*Correspondence author

E-mail address: mtscorreia@gmail.com (M.T.S Correia)

Abstract

Recently, the interest in discovering natural antioxidants has increased tremendously for their application to control onset of multiple diseases. Eight metanolic extracts of seven medicinal plants (*Amburana cearensis*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handroanthus impetuginosus*, *Hymenea courbaril*, *Simaba ferruginea* and *Vitex gardeneriana*) of a seasonal tropical dry forest in Northeastern Brazil (Pernambuco, Brazil) were studied for their screening phytochemical, antioxidant potential. In addition, total phenolic and flavonoid content were also determined by colorimetric methods using quercetin and gallic acid as standard. The

enzyme inhibitory potential of extracts was investigated against key enzymes involved in neurodegenerative [acetylcholinesterase (AChE)]. All extracts analyzed showed the presence of phenolic compounds, coumarins, mono-, sesqui- and diterpenes, naphthoquinones, triterpenes and steroids. The presence of alkaloids was determined only in the methanolic extracts of the leaves and branches of *E. velutina* and in the methanolic extract of the branches of *V. gardneriana*. Anthocyanins and xanthines were absent in the extracts analyzed. The content of total phenolic compounds in the investigated samples ranged from 19.10 (*S. ferruginea* methanolic extract) to 129.70 (*E. velutina* leaves methanolic extract) EmgAG / gPS. The antioxidant activity was measured by three spectrophotometric assays: elimination activity of the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical, inhibition of lipid peroxidation and total antioxidant capacity by the phosphomolybdenum method. All extracts presented antioxidant activity. In the DPPH radical elimination assay the IC 50 values ranged from 198.3 (for *H. courbaril*) to 309.9 (*S. ferruginea*) µg/mL. In the lipid peroxidation inhibition assay the inhibition values varied from 45.45% (for *A. cearenses*) to 62.12% (for *C. conduplicatus*). In the assay of total antioxidant capacity the values ranged from 27.74% (for the methanolic extract of *E. velutina* branches) to 73.49% (for *S. ferruginea*). *H. impetuginosus*, *H. courbaril*, *E. velutina* (twigs) and *V. gardneriana* inhibited 100% AChE. *E. velutina* (leaves), *C. conduplicatus* and *A. cearenses* inhibited 94%, 83% and 57% of AChE, respectively. Only *S. ferruginea* presented inhibition less than 50% of AChE.

Keywords: Antioxidant activity, Total phenolic content, Caatinga, Medicinal plants, Phytochemicals.

1. Introdução

Os radicais livres são espécies de oxigênio altamente reativas que são produzidas como resultado da respiração e do metabolismo no nível celular. Se os efeitos desses radicais não forem mitigados, eles podem causar efeitos prejudiciais às macromoléculas como lipídios, ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos (Kulbacka et al., 2009). Além disso, o estresse oxidativo imposto pelo acúmulo excessivo desses radicais livres pode causar uma ampla gama de doenças como inflamação, acidente vascular cerebral, doença cardíaca, diabetes mellitus, câncer, doença de Parkinson e doença de Alzheimer (Mensor et al., 2001; Parejo et al. 2002; Hou et al., 2003; Orhan et al., 2003; Tepe et al., 2005; Ozgen et al., 2006).

Antioxidantes são compostos capazes de prevenir ou reduzir os efeitos nocivos desses radicais livres. Os antioxidantes exógenos consistem principalmente de antioxidantes sintéticos e naturais. No entanto, tem havido crescentes preocupações de segurança sobre antioxidantes sintéticos. Por exemplo, o hidroxianisol butilado (BHA) e o hidroxitolueno butilado (BHT), os dois antioxidantes sintéticos bem conhecidos, têm sido limitados pelos seus efeitos danosos ao DNA e outros efeitos tóxicos (Sasaki et al., 2002). Como alternativa, os produtos naturais receberam atenção substancial como fonte de antioxidantes biologicamente ativos (Dillard e German, 2000).

Constituintes antioxidantes das plantas agem como sequestradores de radicais e ajudam a converter os radicais livres em espécies menos reativas. A maioria dos antioxidantes naturais das plantas são flavonóides, vitaminas, fenóis, carotenóides provenientes da dieta (Larson, 1988). Manach et al. (1998) relataram que os antioxidantes derivados de plantas podem suprimir o oxigênio singleto, eliminar os radicais livres, inibir enzimas e decompor os peróxidos. Portanto, flavonóides, taninos, carotenóides e outros constituintes das plantas têm atraído grande atenção do mundo como potenciais antioxidantes (Record et al., 2001). Estes antioxidantes podem ser usados para a prevenção de uma ampla gama de doenças, incluindo doenças neurodegenerativas. Portanto, a pesquisa mundial está agora se concentrando em antioxidantes naturais. Tradicionalmente, plantas medicinais são usadas para prevenção, bem como para o tratamento de várias doenças. Entre as propriedades por trás dessas virtudes, a atividade antioxidante ocupa um lugar de primeira ordem (Rahman, 2008).

Os antioxidantes obtidos a partir de produtos naturais de plantas agem como sequestradores de radicais e ajudam a converter os radicais livres em espécies menos reativas. A maioria dos antioxidantes naturais das plantas são flavonoides, vitaminas, compostos fenólicos, carotenoides e podem ser ingeridos a partir de uma dieta equilibrada (Larson, 1988). Manach et al. (1998) relataram que os antioxidantes derivados de plantas podem suprimir o oxigênio singleto, eliminar os radicais livres, inibir enzimas e decompor os peróxidos. Portanto, flavonoides, taninos, carotenoides e outros constituintes das plantas têm atraído grande atenção do mundo como potenciais antioxidantes (Record et al., 2001). Estes antioxidantes podem ser usados para a prevenção de uma ampla gama de doenças, incluindo mal de Parkinson e mal de Alzheimer. Portanto, a pesquisa mundial está agora se concentrando em antioxidantes naturais. Tradicionalmente, plantas medicinais são usadas para prevenção, bem como para o tratamento

de várias doenças. Entre as propriedades por trás dessas virtudes, a atividade antioxidante ocupa um lugar de primeira ordem (Rahman, 2008).

O Brasil possui a maior riqueza florística do mundo, com 236 famílias, 2970 gêneros e 35.934 táxons de Angiospermas, dos quais 56,12% (20.110) são endêmicos (Angiospermas 2018). Entre os biomas, o quarto mais rico do país é a Caatinga, com 5.300 táxons, agrupadas em 168 famílias e 1152 gêneros, e uma taxa de endemismo de 19,62% (913 espécies e 28 gêneros) (Flora do Brasil 2020).

A Caatinga, também conhecida como floresta tropical sazonalmente seca brasileira, compreende diferentes tipos de vegetação ocorrentes na região semi-árida que se estende pela maioria dos estados nordestinos e pequenas porções de Minas Gerais (2%) (MMA 2011; Albuquerque e cols. 2012). A região semiárida é caracterizada por alta intensidade luminosa, altas temperaturas com médias anuais entre 25 e 30 ° C, distribuição irregular de chuvas, com precipitações anuais médias que variam entre 300 e 1000 mm e altas taxas de evapotranspiração, geralmente entre 1500 mm e 2000 mm por ano (Gariglio et al. 2010). Apesar das condições adversas, a floresta tropical sazonalmente seca brasileira apresenta uma enorme diversidade florística, caracterizada por plantas xerófilas e caducifólias, que se tornam verdes apenas durante a estação chuvosa (Pereira Filho e Bakke 2010). Essa diversidade permite que a vegetação nativa seja utilizada para diversos fins, como alimentação, pastagem, produção de madeira e artesanato, produção de óleos fixos, cera e madeira, extração de fibras e arborização cívica de ruas, praças e jardins, além de ser amplamente utilizado na medicina popular (Giulietti et al. 2004).

Este estudo fornece informações sobre o potencial antioxidante in vitro de extratos metanólicos de sete plantas medicinais utilizadas na medicina popular brasileira, em áreas de floresta tropical sazonalmente seca no nordeste do Brasil. Os extratos foram examinados quanto ao conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides, bem como da presença das principais classes de metabólitos secundários com o objetivo de avaliar as atividades antioxidante e inibitória da acetilcolinesterase e o potencial hemolítico desses extratos.

2. Materiais e métodos

2.1 Coleta e identificação do material vegetal

As espécies vegetais foram selecionadas de acordo com relatórios etnomedicinais prévios que documentam seu uso na medicina tradicional brasileira para tratamento de processos inflamatórios e outras doenças que podem estar relacionadas ao estresse oxidativo (Tabela 1) e sua popularidade segundo nosso inventário de plantas medicinais (Silva et al., dados não publicados). Foram selecionadas sete espécies de plantas medicinais (Tabela 1). As amostras foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau (Pernambuco, Brasil) e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola (Pernambuco) entre janeiro e setembro de 2015. Essas duas unidades de conservação constituem áreas de extrema importância para a conservação da biodiversidade. Os espécimes foram depositados no Herbarium IPA (Dárdano de Andrade Lima), do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA).

2.2. Obtenção dos extratos

O material vegetal foi desidratado em estufa (40°C, por 72 horas) e, posteriormente, foi triturado e armazenado separadamente, em sacos de papel, nas condições do ambiente. As extrações foram realizadas na Central Analítica do Instituto Nacional do Semiárido (INSA), uma unidade de pesquisa vinculada ao Ministério de Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). O material vegetal seco e triturado, de cada espécie (100 g) foi extraído em metanol (MeOH), por método de extração acelerada por solvente ASE 350 (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, EUA), a 40°C, e a 1700 psi, tendo-se adaptado metodologias de Reigada (2007) e Hanwen et al. (2012). Após a extração, o solvente foi removido em pressão reduzida, a 50°C, em evaporador de alta velocidade Rocket.

2.3. Triagem fitoquímica preliminar dos extratos

A triagem fitoquímica preliminar dos extratos foi realizada por meio de um método que consiste na aplicação das amostras sobre uma placa de cromatografia em camada delgada analítica de sílica gel 60 (F252) com auxílio de um capilar, e a eluição da mesma realizada em sistemas de solventes específicos para cada classe de metabólito secundário investigado como descrito por Wagner & Bladt (1996). Essa metodologia permite a identificação dos principais grupos de metabólitos secundários que compõem os extratos e frações estudados através da utilização de reveladores específicos para cada classe de metabólitos. A triagem fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica pode identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES, 2001).

2.4 . Determinação de fenóis totais

A determinação espectrofotométrica dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com metodologia descrita por Slinkard e Singleton (1977), utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu com adaptações dos volumes. O ácido gálico foi utilizado como padrão (ALMEIDA et al., 2011). Para esse ensaio foram preparadas soluções do extrato, das frações e do padrão nas concentrações de 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L e 1000 mg/L, utilizando o etanol como solvente. Alíquotas de 40 µL de cada amostra (extrato, frações e padrão) foram adicionadas a 3,16 mL de água destilada e 200 µL de reagente de Folin-Ciocalteu. A mistura foi agitada e deixada em repouso durante 6 minutos, antes da adição de 600 µL da solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 20%. O branco foi preparado utilizando o procedimento descrito anteriormente, mas ao invés de utilizar 3,16 mL de água usou-se 3,2 mL e sem a amostra. As soluções foram deixadas a 20 °C durante 2 horas e a absorbância de cada solução foi determinada em espectrofotometro UV-VIS (Quimis) a 765 nm contra o branco. A absorção versus a concentração de cada amostra foi plotada em gráfico e o teor de fenóis totais foi expresso como miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg EqAG/g) através da curva de calibração com ácido gálico. A faixa da curva de calibração foi 50-1000 mg/L. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.5. Determinação de flavonoides totais

A análise para flavonoides totais dos extratos foi realizada por espectrofotometria. A técnica baseia-se na medida da absorbância, do complexo formado entre o flavonoide e o Alumínio, formando compostos de coloração amarelada. O teor de flavonoides totais foi determinado através do método colorimétrico por complexação metálica descrito por Zhishen e colaboradores (1999). Neste experimento foi utilizado como padrão a (+)-Catequina. Preparou-se soluções do padrão e extratos nas seguintes concentrações: 50, 100, 150, 250, 500 e 1000 mg/L. Em seguida 300 µL da solução, dos extratos e do padrão, foi adicionada a 1,5 mL de água destilada. Posteriormente, foram adicionados 90 µL de uma solução de NaNO_2 . Após 6 minutos de reação, 180 µL de uma solução de $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 10% foram adicionados à mistura. Após 5 minutos de reação, 600 µL de uma solução de NaOH 1M foram adicionados à mistura anterior. Finalmente, completou-se o volume com 330 µL de água destilada e o sistema foi homogeneizado por completo. A absorbância foi mensurada contra o branco em 510 nm, em espectrofotômetro. O branco utilizado continha todos os reagentes e, no lugar da amostra

adicionou-se 300 µL de água destilada. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de catequina por grama de amostra (mg EqC g⁻¹) por meio da interpolação dos dados obtidos das amostras na curva padrão com o padrão catequina dissolvido em metanol e água nas concentrações descritas anteriormente. As análises foram efetuadas em espectrofotômetro UV-VIS Quimis.

2.6 . Atividade antioxidante

Os potenciais antioxidantes dos oito extratos produzidos a partir de sete plantas utilizadas pela população tradicional de duas áreas de floresta tropical sazonalmente seca no Brasil foram testados contra os radicais DPPH.

2.6.1. Atividade de eliminação do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Neste ensaio a atividade de radical livre do extrato foi medido em termos de hidrogênio doado usando o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; Sigma-Aldrich) (BLIOS, 1958). Uma alíquota de 250 µL de solução de DPPH (1mM) foi misturada com 40 µl de diferentes concentrações de extratos (50 - 250 µg/mL). Trinta minutos mais tarde, a absorbância foi medida a 517 nm. Etanol (1,0 mL) mais solução do extrato da planta (2,5 mL) foram usados como branco. Subsequentemente, a porcentagem da atividade antioxidante foi convertida para EC₅₀ (half maximal effective concentration). Uma solução de DPPH (1,0 mL) e etanol (2.5 mL) foram usados como controle negativo. O ácido ascórbico, quercetina, ácido gálico e butylhydroxytoluene (BHT) foram utilizados como controle positivo. A sequestradora de radicais livres foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$[DPPH](\%) = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100$$

Onde: A_c = controle de absorção; A_s = Absorbância da Amostra

2.6.2 . Inibição da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi determinada segundo Kikuzaki; Nakatani, 1993, baseado na indução da peroxidação lipídica de um ácido graxo (ácido linoleico), por aquecimento à 40 °C, onde na presença de compostos antioxidantes, a produção dos radicais peroxilas (LOOH●) é inibida. Nesse método, duzentos microlitros da amostra, do padrão (controle positivo) ou do branco

(água) foram adicionados em um tubo (separadamente) com 0,2 mL da solução de ácido linoleico (2,5 M), 0,4 mL de tampão fosfato (20 mM, pH 7) e 0,2 mL de água destilada (volume final 1 mL) (KIKUZAKI; NAKATANI, 1993). Posteriormente, os tubos foram incubados no escuro por 24 horas a 40 °C. Após a incubação, 0,05 mL da mistura foi adicionado a 0,05 mL de etanol (75%), 0,05 mL da solução de tiocianato de amônio (0,3 M) e 0,05 mL de solução de cloreto ferroso (20 mM) em um uma placa de microtitulação de fundo chato. Após 3 minutos, foi mensurada a densidade ótica em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 500 nm. A mistura original voltou para incubadora e o experimento foi realizado a cada 24h até 1 dia após o controle positivo atingir o seu valor máximo de absorbância. Os resultados foram expressos em porcentagem de Inibição, calculados pela fórmula: $64 I (\%) = [(Abs \text{ do controle positivo do último dia} - Abs \text{ da amostra no último dia}) / Abs \text{ do controle positivo do último dia}] \times 100$, onde abs é absorbância

2.6.3 Capacidade Antioxidante Total pelo Método do Fosfomolibdênio

A capacidade antioxidante total (CAT) dos oito extratos produzidos a partir de sete plantas medicinais foi determinada pelo método do fosfomolibdênio. Os extratos foram diluídos para concentração de 1 mg/mL em metanol. Foi misturado 0,1 mL de cada amostra a 1 mL da solução de fosfomolibdênio (600 mM de ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sódio e 4 mM de molibdato de amônio), e posteriormente incubados em água a 95 °C por 90 minutos. Após voltarem à temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram medidas a 695 nm contra um branco (1 mL de solução e 0,1 mL do metanol) (PIETRO et al., 1999). A atividade antioxidante total foi expressa em relação ao ácido ascórbico, calculada pela fórmula abaixo e comparada com a atividade do BHT (hidroxitolueno butilado) e ácido gálico.

$$CAT (\%) = \frac{(Aa - Ac)}{(Aaa - Ac)} \times 100$$

Onde: Ac = Absorbância do controle, Aa = Absorbância da amostra e Aaa = Absorbância do ácido ascórbico.

2.7 . Atividade hemolítica

A atividade foi realizada seguindo a metodologia de Oliveira et al. (2012). Sangue (5- 10 mL) foi obtido a partir voluntários saudáveis, não-fumantes, por punção venosa, após consentimento informado por escrito. Eritrócitos humanos partir de sangue citratado foram imediatamente

isolados por centrifugação a 1500 rpm por 10 min. Após a remoção do plasma, os eritrócitos foram lavados três vezes com tampão fosfato-salina (PBS; pH 7,4) e depois uma suspensão de eritrócitos a 1% foi preparado como mesmo tampão. Uma alíquota de 1,1 mL de suspensão de eritrócitos foi misturada a 0,4 mL de cada extrato em várias concentrações (0,156 - 2,5 mg/mL). O controle negativo e controle positivo receberam 0,4 mL de DMSO e de Triton X-100, respectivamente. Após 60 minutos de incubação à temperatura ambiente, as células foram centrifugadas e o sobrenadante foi usado para medir a absorbância da hemoglobina liberada a 540 nm. O valor médio foi calculado a partir dos ensaios em quadruplicata. A atividade hemolítica foi expressa em relação à ação do Triton X-100 e calculada pela seguinte fórmula:

Atividade hemolítica (%) = $[(As - Ab) \cdot 100] / (Ac - Ab)$

$$Atividade\ hemolítica(\%) = \frac{(As - Ab) \times 100}{(Ac - Ab)}$$

Sendo, Ac a absorbância do controle (branco, sem extrato), As a absorbância na presença de extrato e Ab sendo referente a absorbância da solução de Triton X-100.

2.8 . Ensaio de inibição da acetilcolinesterase

2.8.1. Extração da Acetilcolinesterase

Brânquias de *Crassostrea rhizophorae* foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl 0,5 mol/L, pH 8,0 e diluídas até uma concentração de 20 mg de tecido por mL de tampão, utilizando um homogeneizador de tecidos (IKA RW-20 digital). Os homogenatos foram centrifugados durante 10 min a 10.000 x g (4°C) e os sobrenadantes (extratos brutos) foram congelados a -20° C (ASSIS et al., 2014).

A AChE comercial de *Electrophorus electricus* (Sigma-Aldrich, type VI-S) foi dissolvida em tampão Tris-HCl 0,5 mol/L, pH 8,0 até uma concentração de 1 µg por mL de tampão.

2.8.2. Atividade enzimática e determinação proteica

200 µL de DTNB 0,25 mM, dissolvido em tampão HCl Tris 0,5 M pH 7,4 foi adicionado a 20 µL de extrato bruto. A reação foi iniciada pela adição de 62 mM de acetiltiocolina (20 µL) (ASSIS et al., 2010; SILVA et al., 2013; ARAUJO et al., 2016). A reação foi promovida em quadruplicata (microplacas de 96 poços) por espectrofotometria (Bio-Rad xMark™) com

leituras de absorbância a 405 nm nos tempos 0 e 180 s, fase linear da reação. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de converter 1 μmol de substrato por minuto, por mL de solução. Os brancos foram preparados utilizando o tampão Tris-HCl a 0,5 mol/L, pH 8,0 em substituição à amostra de extrato bruto. O teor de proteína foi estimado de acordo com Sedmak and Grossberg (1977), utilizando albumina de soro bovino como padrão.

2.8.3. Ensaios de inibição

A atividade inibitória da AChE foi realizada de acordo com método de Ellman (Ellman et al. 1961). AChE cerebral de *C. Rhizophorae* e do órgão elétrico de *E. electricus* foi exposta a oito extratos produzidos a partir de sete plantas de duas áreas de floresta tropical sazonalmente seca do Brasil, incubando-se 10 μL de extrato de AChE (nas concentrações indicadas no item “Extração de acetilcolinesterase”) com 10 μL dos extratos de cada planta, durante 60 min (Assis et al., 2010). A atividade enzimática foi determinada de acordo com o descrito acima e a atividade residual foi calculada utilizando a ausência de extrato de plantas como 100% de atividade. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição da atividade residual (média $\pm$ DP) *versus* extratos vegetais.

2.9. Análise estatística

Todos os testes foram realizados em quadruplicata. A análise estatística foi realizada pelo teste t-Student com auxílio do software Statistica 8.0. As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$. Os índices de correlação foram calculados utilizando o coeficiente de Pearson (ρ).

3. Resultados e Discussão

O perfil fitoquímico dos oito extratos produzidos a partir de sete plantas medicinais coletadas em duas áreas de floresta tropical sazonalmente seca no Brasil foi avaliado para identificar as principais classes de metabólitos secundários (Tabela 3). Fitoquímicos, como polifenóis, flavonoides, alcaloides, terpenoides, taninos, etc., obtidos de fontes vegetais, têm excelente potencial para combater doenças crônicas, além da promoção à saúde enquanto atuam em conjunto. Assim, a análise fitoquímica revela informações significativas sobre o valor medicinal das plantas.

Todos os extratos analisados mostraram a presença de compostos fenólicos, cumarinas, mono-, sesqui- e diterpenos, naftoquinonas, triterpenos e esteroides (Tabela 3). A presença de alcaloides foi determinada apenas nos extratos metanólicos das folhas e galhos de *Erythrina velutina* e no extrato metanólico dos galhos de *Vitex gardneriana*. Antocianinas e xantinas estavam ausentes nos extratos analisados. Os resultados indicam que *Amburana cearenses*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handronthus impetuginosus*, *Hymenaea courbaril*, *Simaba ferruginea* e *Vitex gardneriana* são fontes promissoras de fitoquímicos farmaceuticamente importantes.

A quantidade de fenólicos totais nos extratos foi determinada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu e os resultados foram expressos como equivalentes em miligrama (Emg) de ácido gálico (AG) por grama de peso seco de material vegetal (EmgAG/gPS). O teor de compostos fenólicos totais nas amostras investigadas variou de 19,10 (extrato metanólico de *Simaba ferruginea*) a 129,70 (extrato metanólico dos galhos de *Erythrina velutina*) EmgAG/gPS.

A quantidade de flavonoides totais nos extratos foi determinada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu e os resultados foram expressos como equivalentes em miligrama (Emg) de quercitina (Q) por grama de peso seco de material vegetal (EQ/gPS). O teor de flavonoides totais nas amostras investigadas variou de 6,556 (*Vitex gardneriana*) a 88,708 (*Handroanthus impetuginosus*) EQ/gPS.

Os compostos fenólicos e flavonoides são conhecidos por apresentarem atividade antioxidante (Cragg & Newman 2013) devido a presença do grupo hidroxila em sua estrutura, sua contribuição para o sistema de defesa contra o dano oxidativo devido aos radicais livres endógenos é extremamente importante (Saggu et al. 2014). *Amburana cearenses*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handronthus impetuginosus*, *Hymenaea courbaril*, *Simaba ferruginea* e *Vitex gardneriana* podem ser uma boa fonte desses compostos bioativos que tem uma potente capacidade de suprimir os radicais livres.

Os organismos vivos são repetidamente expostos a vários agentes oxidantes (alguns necessários para a vida) e é bem sabido, de fato, que um aumento no consumo de alimentos ricos em antioxidantes, obtidos a partir de fontes naturais, podem atuar como inibidores dos radicais livres, retardando ou inibindo o dano celular. Espécies de plantas podem ser consideradas como uma rica fonte de moléculas antioxidantes. *Amburana cearenses*, *C.*

conduplicatus, *E. velutina*, *H. impetuginosus*, *H. courbaril*, *S. ferruginea* e *V. gardneriana* são usadas por populações locais para tratar várias doenças, como mencionado acima, e as evidências científicas que apoiam seu uso são escarças. Neste estudo, as atividades antioxidante dessas plantas foram investigadas. Os oito extratos, produzidos a partir de sete plantas medicinais de duas áreas de floresta tropical sazonalmente seca do Brasil, foram testados para avaliar a atividade antioxidante. A atividade antioxidante foi mensurada por três ensaios espectrofotométricos: Atividade de eliminação do radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Inibição da peroxidação lipídica e a Capacidade Antioxidante Total pelo Método do Fوسفomolibdênio. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante (Tabela 5). No ensaio de eliminação do radical DPPH os valores de IC₅₀ variaram de 198,3 (para *H. courbaril*) a 309,9 (*S. ferruginea*) µg/mL. No ensaio de inibição da peroxidação lipídica os valores de inibição variaram de 45,45% (para *A. cearenses*) a 62,12% (para *C. conduplicatus*). No ensaio da capacidade antioxidante total os valores variaram de 27,74% (para o extrato metanólico dos galhos de *E. velutina*) a 73,49% (para *S. ferruginea*).

Os radicais livres são produzidos dentro do corpo e encontrados principalmente em alimentos fritos. Eles são responsáveis pela oxidação de lipídios celulares e danos no DNA (Asokkuman et al. 2008). Os antioxidantes sintéticos presentemente disponíveis como hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, hidroquinona butilada terciária e ésteres de ácido gálico são suspeitos de causar efeitos negativos na saúde. Assim, uma forte restrição foi colocada em suas aplicações e há uma tendência de substituí-las por antioxidantes que ocorrem naturalmente com altos níveis de eficácia e segurança. Além disso, esses antioxidantes sintéticos existentes são menos solúveis e apresentam atividade antioxidante moderada (Barlow, 1990; Branen, 1975). Recentemente, tem havido um interesse acrescido nos potenciais terapêuticos das plantas medicinais como antioxidantes na redução dessas lesões dos tecidos induzidas por radicais livres. Além disso, antioxidantes naturais bem conhecidos e tradicionalmente usados do chá, vinho, frutas, vegetais, temperos e alguns antioxidantes naturais, como alecrim e sálvia, já foram explorados comercialmente como aditivos antioxidantes ou suplementos nutricionais (Schuler, 1990).

A atividade hemolítica dos oito extratos produzidos a partir de sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu Bola foi realizada utilizando eritrócitos humanos frescos e mostraram baixa citotoxicidade (Figura 1).

Mesmo na maior concentração testada (1000µg/mL), os extratos CR, CL e ChL induziram baixos níveis de hemólise (1,18; 4,54 e 11,13%, respectivamente).

Os efeitos inibitórios sobre AChE dos oito extratos produzidos a partir de sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu Bola estão apresentados na figura 1. As atividades inibitórias dos extratos na AChE foram relatadas como potentes (> 50%), moderadas (30–50%), inativas ou baixas (<30%) (Vinutha et al. 2007).

Handroanthus impetuginosus, *Hymenaea courbaril*, *Erythrina velutina* (galhos) e *Vitex gardeneriana* inibiram 100% da AChE. *Erythrina velutina* (folhas), *Croton conduplicatus* e *Amburana cearenses* inibiram 94%, 83% e 57% da AChE, respectivamente. Apenas *Simaba ferruginea* apresentou inibição inferior a 50% da AChE. De acordo com a classificação de Vinutha et al. (2007) sete extratos avaliados apresentaram inibitória potente e apenas um extrato (*Simaba ferruginea*) apresentou atividade inibitória moderada.

A doença de Alzheimer é a forma mais comum de doença neurodegenerativa nos idosos e o paciente tem perda de memória, habilidades cognitivas e obstáculo no comportamento (Mohamed et al. 2011). Atualmente, a patologia da doença de Alzheimer mais aceita é a hipótese colinérgica e a estratégia de tratamento eficaz é inibir a atividade da AChE e melhorar o nível de acetilcolina no cérebro (Kurt et al. 2015). Os pacientes que sofrem de doença de Alzheimer experimentam uma perda de sinapses colíngicas na região do cérebro. Em pacientes com doença de Alzheimer, considera-se que uma diminuição na ACh parece ser um elemento importante no desenvolvimento de demência. Assim, a doença de Alzheimer e outras formas de demência podem ser tratadas pelo uso de agentes que restauram o nível de acetilcolina através da inibição de ambas as principais formas das enzimas colinesterases AChE e BChE (Referência). A história de encontrar novos candidatos a medicamentos mostra que as plantas são a principal fonte de compostos novos e ativos e se tornaram uma prioridade das indústrias farmacêuticas modernas. Muitas drogas sintéticas devem sua origem à medicina complementar à base de plantas. A doença de Alzheimer tornou-se uma das causas mais comuns de morte em todo o mundo representando uma ameaça à saúde pública, portanto, novas estratégias de tratamento baseadas em plantas medicinais estão ganhando atenção (Howes, Perry & Houghton 2003).

Existem muitos medicamentos usados no tratamento da doença de Alzheimer, e esses medicamentos têm alguns efeitos colaterais. Portanto, é necessário obter um novo inibidor da doença de Alzheimer que seja menos tóxico. Atualmente, há um número limitado de inibidores (galantamina, tacrina e fisostigmina) que são derivados de fontes naturais de plantas e reduzem os efeitos da doença de Alzheimer (Referência).

A partir do levantamento bibliográfico de várias plantas medicinais, é obviamente claro que as plantas possuem certos metabolitos secundários que são responsáveis por atividades farmacológicas específicas. O grupo mais comumente relatado de metabólito secundário responsável pela atividade antioxidante é flavonóides. Os flavonóides possuem grupos funcionais fenólicos que têm a capacidade de extinguir os radicais livres e exibir atividade antioxidante milagrosa (Kamal et al. 2015).

No conhecimento atual, a inibição da atividade da AChE por fenólicos e alcalóides tem sido relatada em muitas referências relacionadas (Gulcan et al., 2015; Orhan et al., 2013; Orhan, 2013, 2015, 2016; Pang et al., 2012; Pinho et al., 2013). Portanto, alcalóides e fenólicos de plantas podem ser considerados antagonistas da AChE (Pinho et al., 2013). Da mesma forma, as naftoquinonas (Changwong et al., 2012) e os feniletanóides (Georgiev et al., 2011) mostraram agir como inibidores da AChE e estes tipos de compostos estão ocorrendo nas folhas de *A. chilensis*.

4. Conclusões

Com base em nossos achados atuais, conclui-se que *Amburana cearensis*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handroanthus impetuginosus*, *Hymenaea courbaril*, *Simaba ferruginea* e *Vitex gardneriana* são ricas em compostos bioativos e uma fonte potencial de compostos antioxidantes e anticolinesterásicos, com efeitos citotóxicos ausentes. Estudos posteriores são necessários para isolar e caracterizar a(s) substância(s) presentes nas espécies estudadas, bem como avaliar os efeitos antioxidantes e anticolinesterase dos compostos isolados. Os resultados do presente estudo permitiram ampliar o conhecimento sobre as atividades biológicas e composição química de *Amburana cearensis*, *Croton conduplicatus*, *Erythrina velutina*, *Handroanthus impetuginosus*, *Hymenaea courbaril*, *Simaba ferruginea* e *Vitex gardneriana*.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações) e a SUDENE (Superintendência de Desenvolvimento do Nordeste, do Ministério da Integração Nacional) pelo apoio financeiro bem como a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, do Ministério da Educação) e CNPq pelas bolsas.

Referências

ARAÚJO, M. C.; ASSIS, C. R. D.; SILVA, L. C.; MACHADO, D. C.; SILVA, K. C. C.; LIMA, A. V. A.; CARVALHO JR., L. B.; BEZERRA, R. S.; OLIVEIRA, M. B. M. Brain acetylcholinesterase of jaguar cichlid (*Parachromis managuensis*): From physicochemical and kinetic properties to its potential as biomarker of pesticides and metal ions. *Aquatic Toxicology*, v.177, p. 182–189, 2016b.

Asokkumar K, Umamaheswari M, Sivashanmugam A, Subhadradevi V, Subhashini N, Ravi T. Antioxidant activities of *Erythrina Stricta* Roxb. Using various in vitro and ex vivo models. *Oriental Pharm Exp Med*. 2008;8:266–78.

ASSIS, C. R. D.; CASTRO, P. F.; AMARAL, I. P. G.; CARVALHO, M. E. V. M.; CARVALHO JR, L. B.; BEZERRA, R. S. Characterization of acetylcholinesterase from the brain of the Amazonian tambaqui (*Colossoma macropomum*) and in vitro effect of organophosphorus and carbamate pesticides. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.29, p. 2243–8, 2010.

ASSIS, C. R. D.; LINHARES, A. G.; OLIVEIRA, V. M.; FRANÇA, R. C. P.; SANTOS, J. F.; MARCUSCHI, M.; MACIEL CARVALHO, E. V. M.; BEZERRA, R. S.; CARVALHO JR., L. B. Characterization of catalytic efficiency parameters of brain cholinesterases in tropical fish. *Fish Physiol. Biochem.*, v. 40 (6), p. 1659–1668, 2014.

Barlow SM. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: Hudson BJJ, editors. *Food antioxidants*. Elsevier Applied Food Science Series. Dordrecht: Springer; 1990. p. 253–307.

Branen A. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc*. 1975;52(2):59–63.

BLIOS, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 26:1199–1200.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* 10, 178–182.

- Chen, X., Ahn, D.U., 1998. Antioxidant activities of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *JAOCS* 75, 12.
- Cragg, G.M.; Newman, D.J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1830, 3670–3695.
- Dillard, C.J., German, J.B., 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J. Sci. Food Agric.* 80, 1744–1756.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 1961; 7(2):88±95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Gilani, S.A., Qureshi, R.A., Gilania, S.J., 2007. Indigenous uses of some important ethnobotanical herbs of Ayubia national park, Abbottabad, Pakistan. *Hamayun, M., Khan, S.A., Sohn, E.Y., Lee, I.J.*, 2006. Folk medicinal knowledge and conservation status of some economically valued medicinal plants of district Swat, Pakistan. *Lyonia* 11 (2), 101–113.
- HANWEN, S.; XUSHENG, G.; YUNKAI, L.; ANBANG, W. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *Journal of Chromatography A*, v.1237, p.1-23, 2012. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.03.003.
- Hou, W.C., Lin, R.D., Cheng, K.T., Hung, Y.T., Cho, C.H., Chen, C.H., Hwang, S.Y., Lee, M.H., 2003. Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine* 10, 170–175.
- Howes MJR, Perry NS, Houghton PJ. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytother Res.* 2003;17(1):1–18.
- Huang, M.T., Smart, R.C., Wong, C.Q., Conney, A.H., 1998. Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-O tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer Res.* 48, 5941.

Inayatullah, S., Prenzler, P.D., Obied, H.K., Rehman, Ata.-ur., Mirza, B., 2012. Bioprospecting traditional Pakistani medicinal plants for potent antioxidants. *Food Chem.* 132, 222–229.

Kamal Z, Ullah F, Ayaz M, Sadiq A, Ahmad S, Zeb A, Hussain A, Imran M. Anticholinest... and antioxidant investigations of crude extracts, subsequent fractions, saponins and flavonoids of *atriplex laciniata* L.: potential effectiveness in Alzheimer's and other neurological disorders. *Biol Res.* 2015;48(1):21.

Kanwal, S., Ullah, N., Ihsan-ul-Haq, Afzal, I., Mirza, B., 2011. Antioxidant, antitumor activities and phytochemical investigation of *Hedera nepalensis* K. Koch, an important medicinal plant from Pakistan. *Pak. J. Bot.* 43, 85–89.

Karadag, A., Ozcelik, B., Saner, S., 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal. Methods* 2, 41–60.

Kessler, M., Ubeaud, G., Jung, L., 2003. Anti- and pro-oxidant activity of rutin and quercetin derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.* 55, 131–142.

Khan, R.A., Khan, M.R., Sahreen, S., Ahmed, M., 2012a. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. *Chem. Cent. J.* 6, 12.

Khan, R.A., Khan, M.R., Sahreen, S., Ahmed, M., 2012b. Assessment of flavonoids contents and in vitro antioxidant activity of *Launaea procumbens*. *Chem. Cent. J.* 6, 43.

Kim, D.O., Lee, C.Y., 2004. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 253–273.

Kulbacka, J., Saczko, J., Chwilkowska, A., 2009. Oxidative stress in cells damage processes. *Pol Merkur Lekarski* 27, 44–47.

Larson, R.A., 1988. The antioxidants in higher plants. *Phytochemistry* 27, 969–978.

Lee, M.C., Shoji, H., Miyazaki, H., Yoshino, F., Hori, N., Toyoda, M., Ikeda, Y., Anzai, K., Ikota, N., Ozawa, T., 2004. Assessment of oxidative stress in the spontaneously hypertensive rat brain using electron spin resonance (ESR) imaging and in vivo L-Band ESR. *Hypertens. Res.* 27, 485–492.

Li, H., Wang, X., Li, Y., Li, P., Wang, H., 2009. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chem.* 112, 454–460.

Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, Menichini F. Natural products and their derivatives as cholinesterase inhibitors in the treatment of neurodegenerative disorders: an update. *Curr Med Chem.* 2008;15(12):1209–28.

Manach, C., Morand, C., Crespy, V., Demigne, C., Texier, O., Regerat, F., Remesy, C., 1998. Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. *FEBS Lett.* 426, 331–336.

Mensor, L.L., Menezes, F.S., Leitao, G.G., Reis, A.S., Dos Santos, T.C., Coube, C.S., Leitao, S.G., 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.* 15, 127–130.

Nasir, E., 1975. Flora of Pakistan. In: Stewart herbarium, Gordon College, Rawalpindi and Department of Botany, University of Karachi, Karachi.

OLIVEIRA, Y. L. C.; SILVA, L. C. N.; SILVA, A. G.; MACEDO, A. J.; ARAÚJO, J. M.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, M. V. Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of *Buchenavia tetraphylla* (Aubl.) R. A. Howard (Combretaceae: Combretaceae). *The Scientific World Journal*. Volume 2012.

Orhan, I., Aydin, A., Colkesen, A., Sener, B., Isimer, A.I., 2003. Free radical scavenging activities of some edible fruit seeds. *Pharm. Biol.* 41, 163–165.

Oyaizu, M., 1986. Antioxidant activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35, 771–775.

Ozgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Yildirim, A., Coskun, M., Houghton, P.J., 2006. Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae species. *Pharm. Biol.* 44, 107–112.

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., Codina, C., 2002. Comparison between the radical scavenging activities and antioxidant activity of six

distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6882–6890.

Prieto, P., Pineda, M., Aguiar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Ann. Biochem.* 269, 337–341.

Qian, Z.J., Jung, W.K., Byun, H.G., Kim, S.K., 2008. Protective effect of an antioxidative peptide purified from gastrointestinal digests of oyster, *Crassostrea gigas* against free radical induced DNA damage. *Bioresour. Technol.* 99, 3365–3371.

Rahman, I., 2008. Antioxidant therapeutic advances in COPD. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2, 351–374.

Record, I.R., Dreosti, I.E., McInerney, J.K., 2001. Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with an antioxidant mixture. *Br. J. Nutr.* 85, 459–464.

REIGADA, J.B.; TCACENCO, C.M.; ANDRADE, L.H.; KATO, M.J.; PORTO, A.L.M; LAGO, J.H.G. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) - antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). *Tetrahedron: Asymmetry*, v.18, p.1054-1058, 2007. DOI: 10.1016/j.tetasy.2007.05.006.

Ruch, R.J., Chung, S.U., Klaunig, J.E., 1984. Spin trapping of superoxide and hydroxyl radicals. *Methods Enzymol.* 105, 198–209.

Ruch, R.J., Cheng, S.J., Klaunig, J.E., 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen* 10, 1003–1008.

Sahreen, S., Khan, M.R., Khan, R.A., 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruits. *Food Chem.* 122, 1205–1211.

Salazar, R., Pozos, M.E., Cordero, P., Pe´rez, J., Salinas, M.C., Waksman, N., 2008. Determination of the antioxidant activity of plants from Northeast Mexico. *Pharm. Biol.* 46, 166–170.

Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., et al, 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat. Res.* 519, 103–119.

Schuler P. Natural antioxidants exploited commercially. In: Hudson B.J.F., editor. *Food antioxidants*. Elsevier Applied Food Science Series. Dordrecht: Springer; 1990. p. 99–170.

Shahidi, F., Janitha, P.K., Wanasundara, P.D., 1992. Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32, 67–103.

Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M., 2004. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chem.* 112, 885–888.

Shon, M.Y., Choi, S.D., Kahng, G.G., Nam, S.H., Sung, N.J., 2004. Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food Chem. Toxicol.* 42, 659–666.

SILVA, K. C. C.; ASSIS, C. R. D.; OLIVEIRA, V. M.; CARVALHO JR., L. B.; BEZERRA, R. S. Kinetic and physicochemical properties of brain acetylcholinesterase from the peacock bass (*Cichla ocellaris*) and in vitro effect of pesticides and metal ions. ***Aquat. Toxicol.***, v. 126, p. 191–197, 2013.

Springfield, E.P., Eagles, P.K.F., Scot, G., 2005. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. *J. Ethnopharmacol.* 101, 75–83.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A., 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. *Food Chem.* 90, 685–689.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4113–4117.

Wagner H, Bladt S. *Plant drug analysis*. 2nd ed. New York (NY): Springer Verlag; 1996.

Weyant, M.J., Carothers, A.M., Dannenberg, A.J., Bertagnolli, M.M., 2001. Catechin inhibits intestinal tumor formation and suppresses focal adhesion kinase activation in the Min/1 Mouse1. *Cancer Res.* 61, 118–125.

Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, O.F., Bilaloglu, V., 2000. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia argenta* DesfEx DC), sage (*Salvia triloba* L.) and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J. Agric. Food Chem.* 48, 503.

Zu, Y., Li, C., Fu, Y., Zhao, C., 2006. Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin, kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by RPHPLC with DAD. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41, 714–719.

Tabela 1 – Espécies selecionadas para ensaios biológicos coletadas em duas áreas de floresta sazonalmente secas do Nordeste do Brasil

Família/Espécie	Nome popular
Bignoniaceae	
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Ipê-roxo, pau d'arco roxo
Euphorbiaceae	
<i>Croton conduplicatus</i> Kunth	Quebra-faca
Fabaceae	
<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm.	Umburana-de-cheiro, cumaru
<i>Erythrina velutina</i> Willd.	Mulungu
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Jatobá
Verbenaceae	Amargoso
<i>Vitex gardneriana</i> Schauer	Salgueiro

Uso tradicional	Atividades registradas	Parte coletada	Vouche
Câncer, sífilis, malária, Tripsinossomiose, úlceras Infecções bacterianas, e Fungicas e desordem Estomacais	Câncer[carcinoma(Walter 256), prostate câncer(DU-145,PC-3, INCaP) (Li et al 1995),human promyelocytic leukaemia(HL60), breast carcinoma ovari, ovarian Carcinoma, epidermoid laryngeal Carcinoma(HEp-2) (Boothman et Al, 1987) radio-resitan human Malignant melanoma (U1-Mel) (Boothman et al, 1989), human breast câncer(MCF-7:WS8) (Wuerzbeger et a, 1998), human Lung adeno carcinoma(A549), Human cervical câncer (HeLa) And osteosarcoma(Hu09) (Simamura et al, 2003)]	Folhas	IPA 92.456
Processos inflamatórios Desordens gastrointestinais	sem registro na literatura	Ramos	IPA 93.458
Dores abdominais, gripes, Resfriados, tosse e outras Doenças respiratórias,	ação anti-inflamatória Broncodilatadora e analgésica (Canuto et al, 2010)	Casca	IPA 94.003
Processos inflamatórios E calmante	anticonvulsão, calmante e sedativo(vasconcelos et al, 2003)	Folhas e ramos	IPA 94.101
Gripes, resfriados e outras	antimicrobiano(Gomes	Ramos	IPA 94.203

Doenças respiratórias e Processos inflamatórios	et al,2002)		
Desordens gastrointestinais	anti-ulceras (Nodim et al, 2005; Ameida et al 2011)	Folhas	IPA 94.205
Problemas urinários e Próstata inchada	sem registro na literatura	Ramos	IPA 94.2013

Tabela 2 – Sistema de eluição e reagents usados para caracterizar as principais classes de metabólitos secundários nos oito extratos, das sete espécies de plantas coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu Bola, por cromatografia em camada delgada.

Fitoquímicos	Sistema eluente	Padrão	Revelador
Alcaloides gerais	Tolueno: acetato de etila: Dietilamina (70:20:10)		Dragendorff
Antocianinas	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Azul de metileno	Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C
Antraquinonas	Éter de petróleo: acetato de etila: ácido fórmico (75:25:1)		Ácido fosfomolibdico
Compostos Fenólicos	Acetato de etila : ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Quercetina	Folin
Cumarinas	Tolueno: éter (1:1 saturado com ácido acético 10%)		Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C
Derivados Antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10)		Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C
Lignanas	Clorofórmio: metanol: água(70:30:4)		Vanilina fosfórica 5-10 min a 100°C
Mono, sesqui e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7)	Timol	Vanilina Sulfúrica 10 min a 100°C
Naftoquinonas	Tolueno – ácido fórmico (99:1)		KOH etanólico 10%
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético: metanol: água (64:32:12:8)	Saponina	Vanilina Sulfúrica 10 min a 100°C
Taninos condensados	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água(100:11:11:26)	Catequina	Vanilina clorídrica 5-10 min a 100°C
Taninos Hidrolizáveis	n-Butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10)	Ácido gálico	Cloreto férrico
Triterpenos e Esteroides	Tolueno - clorofórmio - etanol (40:40:10)		Lieberman-Burchard 5-10 min a 110°C
Xantinas	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10)	Cafeína	Dragendorff

Tabela 3 – Perfil fitoquímico dos oito extratos das sete espécies de plantas coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.

Fitoquímicos	<i>Amburana</i>	<i>Croton conduplicatus</i>	<i>Erythrina velutina</i>	<i>Erythrina velutina</i>	<i>Handroanthus impetugin</i>	<i>Hymenaea</i>	<i>Simaba ferrugínea</i>	<i>Vitex gardneriana</i>
--------------	-----------------	-----------------------------	---------------------------	---------------------------	-------------------------------	-----------------	--------------------------	--------------------------

	<i>cearenses</i> (extrato metanólico da casca)	(extrato metanólico dos galhos)	(extrato metanólico das folhas)	(extrato metanólico dos galhos)	<i>osus</i> (extrato metanólico das folhas)	<i>courbaril</i> (extrato metanólico dos galhos)	(extrato metanólico das folhas)	(extrato metanólico dos galhos)
Alcaloide gerais	-	-	+	+	-	-	-	+
Antocianinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas	+	-	+	+	+	-	+	-
Compostos Fenólicos	+	+	+	+	+	+	+	+++
Cumarinas	+++	+	+	++	+	++	+	+
Derivados Antracênicos	-	+	-	+	+	++	-	+
Lignan	-	-	+	++	-	-	+	-
Mono, sesqui e diterpenos	+	+	+	+	+	+++	+	+++
Naftoquinonas	+	+	+	+	+	++	+	+
Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos Condensados	-	-	-	-	-	-	-	+
Taninos Hidrolisáveis	-	-	+	++	-	+	+	+
Triterpeno e Esteroides	+	+	+	++	++	+	++	+
Xantinas	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) Não detectado; (+) presença fraca; (++) presença moderada; (+++) presença forte.

Tabela 4 – Conteúdo de fenois totais e de flavonoides dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.

Amostras	Conteúdo de fenois totais¹ mg (GAE)/g DW	Conteúdo de flavonoides² mg (QE)/g DW
<i>Amburana cearenses</i> (extrato metanólico da casca)	42,98	83,731
<i>Croton conduplicatus</i> (extrato metanólico dos galhos)	58,89	50,097
<i>Erythrina velutina</i> (extrato metanólico das folhas)	44,90	70,074
<i>Erythrina velutina</i> (extrato metanólico dos galhos)	129,70	81,231
<i>Handroanthus impetuginosus</i> (extrato metanólico das folhas)	69,70	88,708
<i>Hymenaea courbaril</i> (extrato metanólico dos galhos)	61,70	83,401
<i>Simaba ferruginea</i> (extrato metanólico das folhas)	19,10	14,148
<i>Vitex gardneriana</i> (extrato metanólico dos galhos)	105,21	6,556

1 Expresso como mg de ácido gálico por g de material vegetal seco.

2 Expresso como mg de quercetina por g de material vegetal seco.

Tabela 5 – Atividade antioxidante dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.

Amostras	DPPH(IC₅₀, µg/mL)	Peroxidação lipídica(%)	Antioxidante total (%)
<i>Amburana cearenses</i> (extrato metanólico da casca)	218,7	45,45	48,99
<i>Croton conduplicatus</i> (extrato metanólico dos galhos)	232,6	62,12	36,06
<i>Erythrina velutina</i> (extrato metanólico das folhas)	271,9	51,35	27,74
<i>Erythrina velutina</i> (extrato metanólico dos galhos)	211,0	47,02	41,44
<i>Handroanthus impetuginosus</i> (extrato metanólico das folhas)	249,2	48,35	51,53
<i>Hymenaea courbaril</i> (extrato metanólico dos galhos)	198,3	60,30	49,35
<i>Simaba ferruginea</i> (extrato metanólico das folhas)	309,9	57,89	73,49
<i>Vitex gardneriana</i> (extrato metanólico dos galhos)	188,2	48,04	57,37

Figura 1 – Atividade hemolítica dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.

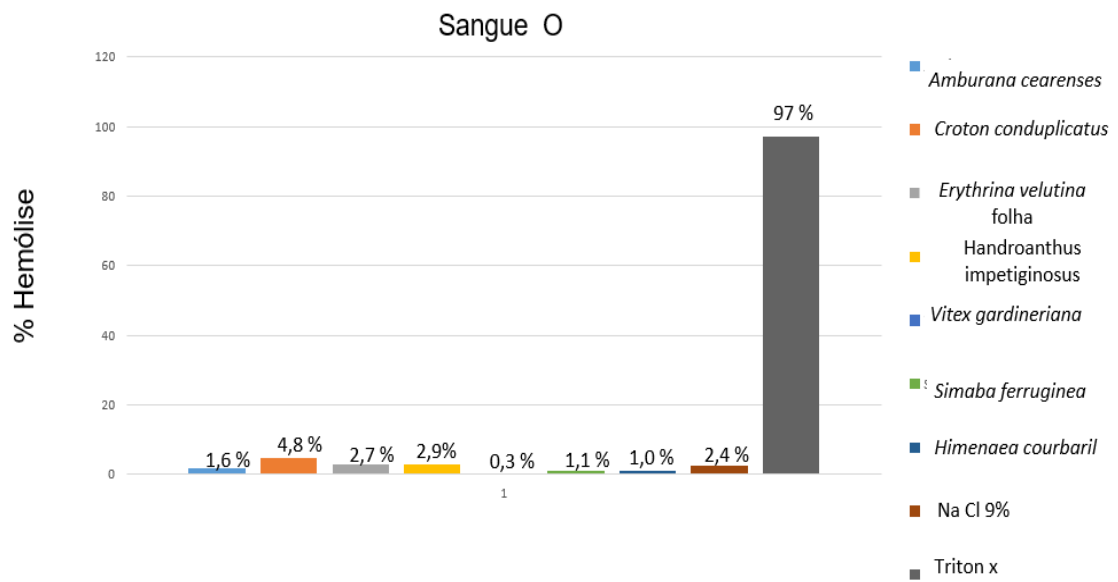
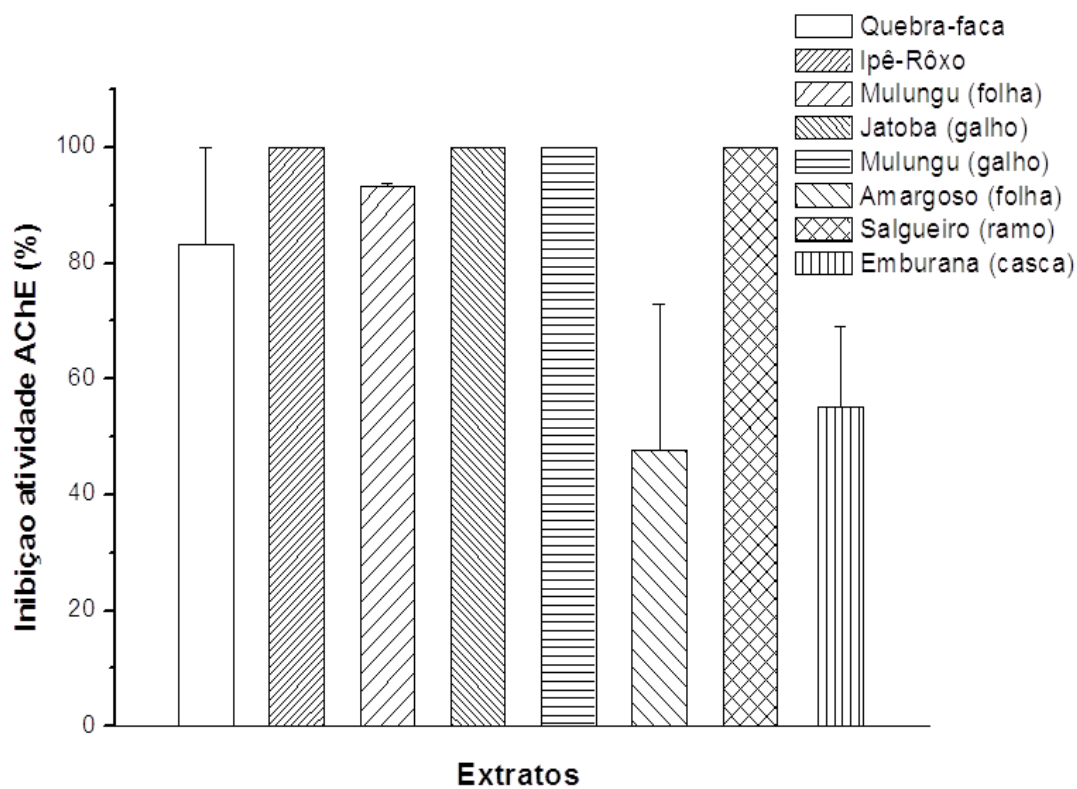


Figura 2 – Atividade inibitória da Ache dos oito extratos produzidos a partir das sete plantas medicinais coletadas no Parque Nacional do Catimbau e no Refúgio de Vida Silvestre Tatu-Bola.



ANEXO



SOUTH AFRICAN JOURNAL OF BOTANY

An International Interdisciplinary Journal for Plant Sciences

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.2
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.4



ISSN: 0254-6299

DESCRIPTION

The *South African Journal of Botany* publishes original papers that deal with the classification, biodiversity, morphology, physiology, molecular biology, ecology, biotechnology, **ethnobotany** and other botanically related aspects of species that are of importance to **southern Africa**. Manuscripts dealing with significant new findings on other species of the world and general **botanical** principles will also be considered and are encouraged.

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

AUDIENCE

Plant biochemists, physiologists, molecular biologists, taxonomists, ecologists and ethnobotanists

IMPACT FACTOR

2016: 1.427 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2017