UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE

BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICOLINESTERÁSICA DE EXTRATOS DA *PARKIA PLATYCEPHALA* (BENTH.)

RACHEL DE MOURA NUNES FERNANDES

PALMAS – TO

2023

RACHEL DE MOURA NUNES FERNANDES

BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICOLINESTERÁSICA DE EXTRATOS DA *PARKIA PLATYCEPHALA* (BENTH.)

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - REDE BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador (a): Prof.ª Dr.ª Elisandra Scapin

PALMAS – TO

MARÇO/2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

F363b FERNANDES, RACHEL DE MOURA NUNES.

Bioprospecção fitoquímica, toxicidade e atividades antioxidante e anticolinesterásica de extratos da Parkia platycephala (Benth.). / RACHEL DE MOURA NUNES FERNANDES. – Palmas, TO, 2023.

154 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Biodiversidade e Biotecnologia, 2023.

Orientadora : ELISANDRA SCAPIN

1. Fava de bolota. 2. Cromatografia. 3. DPPH. 4. Alzheimer. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RACHEL DE MOURA NUNES FERNANDES

BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICOLINESTERÁSICA DE EXTRATOS DA *PARKIA PLATYCEPHALA* (BENTH.)

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - REDE BIONORTE, na Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em: 17 / 03 / 2023

Banca Examinadora

Prof.ª Dr.ª Elisandra Scapin (Orientadora)
UFT

Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda
UFT

Prof.ª Dr.ª Filipa Alexandra Delgado Siopa
ULISBOA

Prof.ª Dr.ª Selene Maia de Morais
UECE

Prof.ª Dr.ª Claúdia Andrea Cardoso
UEMS

DEDICATÓRIA

Dedico àqueles que acreditam na ciência...

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por todas as bênçãos alcançadas até esse momento. Foram três anos de muita correria, de aprendizagem, de batalhas, externas e internas, de muito escreve, reescreve e reescreve. Não bastava ter que adentrar eu uma nova área, aquela que vem dos "antigos", aquela que salva, aquela que te mostra que as vezes, a resposta está no simples, no ouvir, no acreditar nos costumes. Não bastava!

O mundo quase desabou! O ser humano teve que acreditar em Deus e na Ciência! Porque é nisso que eu como cientista acredito, em Deus e na Ciência! A pandemia nos separou, nos calou, nos aterrorizou, mas a Ciência prosseguiu. A Ciência não pára! E nós não paramos!

Agradeço ao meu esposo Uálaci Fernandes, que muito me ouviu, me acalmou, me direcionou e me deu forças para finalizar mais essa etapa.

Agradeço aos meus pais e meus irmãos, por estarem sempre na torcida, seja de um resultado, seja da aprovação de um artigo, seja em estar feliz.

Agradeço à minha orientadora Prof.ª Dr.ª Elisandra Scapin, pela demonstração de persistência, pelo compartilhamento de conhecimento, pela companhia e pelo aceite em me orientar nesse projeto.

Agradeço aos meus estagiários Marcelo, Taís, Rayele e Maria Angélica, talvez vocês não tenham noção da importância que é ter pessoas engajadas juntamente com você no seu projeto, pessoas que se tornam amigas e são levadas para a vida.

Agradeço à toda equipe Labquim, especialmente aos colegas de batalha Juliane Farinelli, Fernando Cardoso e Daniela Sari. Cada conversa, cada risada, cada planta, um novo aprendizado.

Agradeço à equipe de profissionais (Prof. Dr Sérgio Ascêncio, Prof. Dr Guilherme Nobre, Prof. Dr Ilsamar Mendes, Robson Barbosa, Gabriela Eustáquio) que a UFT me proporcionou conhecer e com ela aprender muito sobre plantas medicinais.

Agradeço à Prof.ª Dr.ª Selene Maia e Daniela Ribeiro da Universidade Estadual do Ceará pela parceria nas análises da determinação da atividade anticolinesterásica.

Agradeço à Prof.ª Dr.ª Claúdia Andrea Cardoso da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul pela parceria nas análises de caracterização química por cromatografia.

Agradeço à Universidade Federal do Tocantins, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Tocantins - FAPT/Governo do Tocantins e ao programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal – Rede Bionorte por todo incentivo à qualificação profissional e aos auxílios nas análises e publicações dos artigos.

EPÍGRAFE

“Progresso é a soma dos problemas solucionados.
Evolução é barreria vencida.
Dificuldade é medida de resistência.
Tribulação é o cadinho da fé”.

Chico Xavier

FERNANDES, Rachel de Moura Nunes. **BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, TOXICIDADE E ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTICOLINESTERÁSICA DE EXTRATOS DA *PARKIA PLATYCEPHALA* (BENTH.)**. 2023. 155 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2023**.**

RESUMO

Apesar de ser histórico o uso de plantas com fins terapêuticos no Brasil, o avanço nas pesquisas que justifiquem tais efeitos farmacológicos ainda é ínfimo diante da vasta flora nacional. Com a perspectiva da indicação da espécie *Parkia platycephala* no tratamento da Doença de Alzheimer, realizou-se duas metodologias de extrações a quente (hidroetanólica e sequencial) da folha, casca, flor e semente desta espécie, para realizar a bioprospecção química (cromatografia liquida "LC", cromatografia gasosa " CG"), determinar a capacidade antioxidante (DPPH•), a atividade anticolinesterásica (Ellman) e a toxicidade (*Artemia salina*, *Allium cepa*) destes extratos. Os extratos brutos da folha (LE), casca (BE), flor (FE) e semente (SE) da *Parkia platycephala* foram obtidos após extração hidroetanólica em refluxo (Soxlhet), utilizando solução etanolica (70%) pelo período de 5h. A extração sequencial, teve início com solvente hexânico sob refluxo durante 5h. Após 12h de secagem em capela, a mesma amostra passou por nova extração com solvente metanólico. Repetiu-se a metodologia, para finalizar a extração com solução etanólica (70%). Assim obtiveram-se os extratos metanólicos e etanólicos da folha (LEM, LEE), da casca (BEM, BEE), da flor (FEM, FEE) e da semente (SEM, SEE), respectivamente. As presenças de taninos, flavonoides, saponinas, fitoesteróis/triterpenoides e alcaloides foram detectadas na triagem fitoquímica de ambas as metodologias. A atividade antioxidante dos extratos, sofreu influencia das metodologias, principalmente para o extrato etanólico da casca, com capacidade antioxante (IC_{50}=10,69 ± 0,35 µg. mL^{-1}) superior ao padrão rutina (IC_{50}=15,85 ± 0,08µg. mL^{-1}). A caracterização química dos extratos sequenciais, indicou uma diversidade de compostos, evidenciando-se o urs-12-eno e o 1,2,3 benzenotriol, nos extratos da folha, o ácido linoelaidico, o (Z)-9-octadecenamida e o (Z)-7-hexadecenal, nos extratos da semente, a trilinoleina, a (Z)-9-octadecenamida, nos extratos da casca e o 3-O-metil-d-glicose e (metilsulfinil)(metiltio)-metano nos extratos da flor. Para os extratos brutos identificou-se por CG-EM, três esteroides e dois triterpenoides. A análise por CL-DAD revelou a presença de naringina e kaempferol em todas as partes da planta, além de ácidos fenólicos (na folha, casca e flor). Dentre os extratos analisados, a casca e a semente apresentaram os maiores índices de toxicidade frente à *Artemia salina*, enquanto em relação à *Allium cepa,* os extratos da semente inibiram o crescimento radicular a partir de 250 µg. mL^{-1}. Apesar de todos os extratos terem apresentado potencial atividade anticolinesterásica, o extrato bruto da semente e os extratos sequenciais da flor se destacaram. Concluimos que, os extratos sequenciais

etanólicos apresentaram melhores resultados nos ensaios antioxidante (casca), de toxicidade (folha) e anticolinesterásico (flor), enquanto o extrato bruto da semente teve destaque na toxicidade e atividade anticolinesterásica.

Palavras-chave: Fava de bolota; Cromatografia; DPPH•; *Artemia salina*; Alzheimer.

FERNANDES, Rachel de Moura Nunes. **PHYTOCHEMICAL BIOPROSPECTION, TOXICITY AND ANTIOXIDANT AND ANTICHOLINESTERASIC ACTIVITIES OF EXTRACTS FROM *PARKIA PLATYCEPHALA* (BENTH.).** 2023. 155 f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology) - Federal University of Tocantins, Palmas, 2023.

ABSTRACT

Despite the historical use of plants for therapeutic purposes in Brazil, the progress in research that justifies such pharmacological effects is still negligible in the face of the vast national flora. With a view to indicating the *Parkia platycephala* species in the treatment of Alzheimer's disease, two methods of hot extraction (hydroethanolic and sequential) of the leaf, bark, flower and seed of this species were carried out to carry out chemical bioprospecting (liquid chromatography "LC", gas chromatography "GC"), determine the antioxidant capacity (DPPH•), anticholinesterase activity (Ellman) and toxicity (*Artemia salina*, *Allium cepa*) of these extracts. The crude extracts of the leaf (LE), bark (BE), flower (FE) and seed (SE) of *Parkia platycephala* were obtained after hydroethanolic extraction at reflux (Soxlhet), using ethanolic solution (70%) for a period of 5h. Sequential extraction started with hexane solvent under reflux for 5h. After 12 hours of drying in a hood, the same sample underwent a new extraction with methanolic solvent. The methodology was repeated, to finish the extraction with ethanolic solution (70%). Thus, the methanolic and ethanolic extracts of the leaf (LEM, LEE), bark (BEM, BEE), flower (FEM, FEE) and seed (SEM, SEE) were obtained, respectively. The presence of tannins, flavonoids, saponins, phytosterols/triterpenoids and alkaloids were detected in the phytochemical screening of both methodologies. The antioxidant activity of the extracts was influenced by the methodologies, mainly for the bark, whose BEE extract (IC50=10.69 ± 0.35 µg. mL^{-1}) showed an antioxant capacity superior to the rutin standard (IC50=15.85 ± 0.08µg. mL^{-1}). The chemical characterization of the sequential extracts indicated a diversity of compounds, evidencing urs-12-ene and 1,2,3 benzenotriol, in leaf extracts, linoelaidic acid, (Z)-9-octadecenamide and (Z)-7-hexadecenal, in seed extracts, trilinolein, (Z)-9-octadecenamide, in bark extracts and 3-o-methyl-d-glucose and (methylsulfinyl)(methylthio)-methane in flower extracts. For the crude extracts, three steroids and two triterpenoids were identified by GC-MS. Analysis by CL-DAD revealed the presence of naringin and kaempferol in all parts of the plant, in addition to phenolic acids (leaf, bark and flower). Among the analyzed extracts, the bark and the seed showed the highest levels of toxicity against Artemia salina, while in relation to Allium cepa, the seed extracts inhibited root growth from 250 µg. mL^{-1}. Although all extracts showed potential anticholinesterase activity, the crude seed extract and the sequential extracts of the flower stood out. We conclude that the sequential ethanol extracts showed better results in the antioxidant (bark), of toxicity (leaf) and

anticholinesterase (flower) assays, while the crude seed extract stood out in terms of toxicity and anticholinesterase activity.

Keywords: Fava de bolota; Chromatography; DPPH•; *Artemia salina;* Alzheimer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Copa (A), folha (B) e tronco (C) da *P. platycephala* 27

Figura 2. Inflorescência da *P. platycephala* 27

Figura 3. Frutificação da *Parkia platycephala* (A- vagem verde, B- vagem madura, C- sementes) 28

Figura 4. Esquema de um sistema para extração utilizando Soxhlet 31

Figura 5. Molécula do radical DPPH• (A) e molécula de hidrazina (B) 34

Figura 6. Design experimental da exposição dos bulbos de *Allium cepa*, expostos ao controle negativo (CN) e as concentrações variaveis dos extratos (CE) 36

Figura 7. Crescimento radicular e índice germinativo de *Allium cepa*: (1) antes do contato com o controle; (2) após 5 dias em contato com controle, (3) após 5 dias de contato com extrato vegetal (estímulo), (4) após 5 dias de contato com extrato (inibição) 36

Figura 8. Diferentes estágios da *Artemia salina*, desde a fase de cisto até a fase naupliar. (A) cisto hidratado, (B) cisto em ruptura, (C) estágio guarda-chuva, (D, E, F) náuplios, (G) metanáuplio e (H) adulta 38

Figura 9. Sinapse colinérgica: (A) sem inibição da enzima acetilcolinesterase; (B) com inibição da enzima acetilcolinesterase 41

Figura 10. Etapas da coleta, preparo, extração e análises do projeto de tese 59

Figura 11. Número de trabalhos publicados por estado da região do Cerrado 63

Figura 12. Quantidade de espécies (em ordem alfabética) por família citada nos estudos 64

Figura 13. Cromatogramas obtidos por análise de CG-EM para extratos da folha da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial. (LEH - extrato hexânico da folha; LEM - extrato metanólico da folha; LEE- extrato etanólico da folha) 102

Figura 14. Cromatogramas obtidos por análise de CG-EM para extratos da semente da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial. (SEH- extrato hexânico da semente; SEM- extrato metanólico da semente; SEE- extrato etanolico da semente) 103

Figura 15. Percentual de inibição da acetilcolinesterase dos extratos da *P. platycephala* (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM – extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente) 108

Figura 16. Análise CG-EM: cromatograma dos extratos da casca da *P. platycephala:* (A) BEM – extrato metanólico da casca, (B) BEE – extrato etanólico da casca 125

Figura 17. Análise CG-EM: cromatograma dos extratos da flor da *P. platycephala*: (A) FEM – extrato metanólico da flor, (B) FEE – extrato etanólico da flor 126

Figura 18. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da folha da *P. platycephala* ((LE – extrato bruto folha; LEM – extrato metanolico folha; LEE – extrato etanolico folha) 141

Figura 19. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da casca da *P. platycephala* (CE – extrato bruto casca; CEM – extrato metanolico casca; CEE – extrato etanolico casca) 142

Figura 20. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da flor da *P. platycephala* (FEB – extrato bruto flor; FEM – extrato metanolico flor; FEE – extrato etanolico flor) 143

Figura 21. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da semente da *P. platycephala* (SE – extrato bruto semente; SEM – extrato metanolico semente; SEE – extrato etanolico semente) 144

Figura S1. Cromatogramas (CL-DAD) dos extratos hidroetanolicos da *P. platycephala* Benth.: (A) folha; (B) casca; (C) flor e (D) semente. Pico 1: ácido gálico; Pico 2: ácido cafeico; Pico 3: ácido ferulico; Pico 4: ácido elagico; Pico 5: naringina; Pico 6: kaempferol 94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Solventes utilizados para extração de compostos ativos 32

Tabela 2. Relação das plantas do bioma Cerrado testadas para atividade anticolinesterásica 64

Tabela 3. Teores dos compostos químicos empregando CL-DAD nos extratos brutos hidroetanolicos da folha (LE), da casca (BE), da flor (FE) e da semente (SE) da *P. platycephala* 81

Tabela 4. Teores dos compostos químicos quantificados por CG-EM nos extratos brutos hidroetanolicos da folha (LE), da casca (BE), da flor (FE) e da semente (SE) da *P. platycephala* 82

Tabela 5. Potencial antioxidante e atividade inibidora da acetilcolinesterase dos extratos brutos hidroetanolicos da folha (LE), casca (BE), flor (FE) e semente (SE) da *P. platycephala* e do controle rutina (R) e fisostigmina (F) 83

Tabela 6. Concentrações letais de 50% (IC_{50}) dos extratos hidroetanolicos da folha (FE), casca (CE), flor (FRE) e semente (SE) da *P. platycephala* pelo teste com *Artemia salina* 86

Tabela 7. Triagem fitoquímica preliminar dos extratos da folha e semente da *P. platycephala* 101

Tabela 8. Principais constituintes químicos identificados por CG-EM nos extratos da *P. platycephala* (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM – extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente) 104

Tabela 9. Quantificação dos teores de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante dos extratos da folha e semente da *P. platycephala* 106

Tabela 10. Concentrações letais de 50% (IC_{50}) dos extratos de *P. platycephala* pelo teste com *Artemia salina*. (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM - extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente) 107

Tabela 11. Concentrações letais de 50% (IC_{50}) dos extratos de *P. platycephala* para inibição da acetilcolinesterase (LEH - extrato hexânico da folha; LEM - extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; 109

SHE - extrato hexânico da semente; SEM - extrato metanolico da semente; SEE - extrato etanolico da semente) e da Fisostigmina (controle positivo)

Tabela 12. Testes químicos para classe de compostos fitoquímicos de extratos de casca e flor de *P. platycephala* obtidos por extração sequencial 124

Table 13. Constituintes químicos identificados por CG-EM nos extratos da casca e flor *Parkia platycephala* obtidos por extração sequencial 127

Tabela 14. Compostos ativos identificados por CL-DAD nos extratos da casca e flor da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial 127

Tabela 15. Potencial antioxidante e atividade anticolinesterásica dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial 128

Tabela 16. Toxicidade e concentração inibitória 50% (IC_{50}) dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* frente a *Artemia salina*. 128

Tabela 17. Índice de crescimento relativo (RGI) observado em extratos de diferentes partes da *P. platycephala* 145

Tabela S1. Parâmetros de quantificação das análises da cromatografia líquida CL-DAD. 93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
DA	Doença de Alzheimer
DPPH•	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
iAChE	Inibição da Acetilcolinesterase
IC_{50}	Dose de uma substância com capacidade de 50% de inibição
CL-DAD	Cromatografia liquida com detecção por arranjo de diodo
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas
LE	Extrato bruto da folha
LEH	Extrato hexânico da folha
LEM	Extrato metanolico da folha
LEE	Extrato etanólico da folha
BE	Extrato bruto da casca
BEM	Extrato metanolico da casca
BEE	Extrato etanólico da casca
FE	Extrato bruto da flor
FEM	Extrato metanolico da flor
FEE	Extrato etanólico da flor
SE	Extrato bruto da semente
SEH	Extrato hexanico da semente
SEM	Extrato metanolico da semente
SEE	Extrato etanólico da semente
OMS	Organização Mundial da Saúde
P.	*Parkia*

APRESENTAÇÃO

Este trabalho está dividido em nove seções, das quais fazem parte Introdução, Revisão Bibliográfica, Fluxograma Metodológico, Capítulos (I, II, III, IV, V) e Considerações finais. Esta obra segue o modelo regido pela formatação "Artigo" do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG-BIONORTE).

Inicialmente, apresentamos um panorama geral sobre o tema do Projeto de Tese através da introdução, objetivos e referencial bibliográfico. Em seguida, foi desenvolvido um fluxograma para melhor compreensão de toda metodologia utilizada neste trabalho.

Nas seções "Capítulos", relatamos os resultados obtidos com esse Projeto, durante os anos de 2019 a 2022. Destacamos que cada capítulo segue, especificamente, as regras do periódico de publicação.

O **Capítulo I** é um artigo de revisão sistemática, referente ao tema: Plantas do Cerrado e Alzheimer, cujo objetivo foi realizar um levantamento de estudos com extratos vegetais de plantas do Cerrado, com capacidade inibidora da acetilcolinesterase. Tal artigo foi publicado na Revista Desafios, volume 7, número 3, em 04 de agosto de 2020.

O **Capítulo II**, tem como título: "Fitocomponentes, avaliação da atividade anticolinesterásica e toxicidade de extratos hidroetanolicos da *Parkia platycephala* (Benth.)", e aborda os resultados obtidos para os extratos brutos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala*, obtidos a partir da extração hidroetanólica (70%). Este artigo foi publicado no Journal of the Brazilian Chemiscal Society, volume 33, número 12, em 24 de maio de 2022.

O **Capítulo III** intitulado como: "Investigação química, potencial tóxico e efeito inibidor da acetilcolinesterase dos extratos da folha e semente da *Parkia platycephala*", refere-se aos resultados dos extratos obtidos por extração sequencial (hexânica, metanólica, etanólica) da folha e semente da *Parkia platycephala*. Este artigo foi publicado na revista Journal of Medicinal Plants Research, volume 15, número 9, em 10 de setembro de 2021.

O **Capítulo IV** denominado como: "*Parkia* do cerrado: bioprospecção fitoquímica, toxicidade e bioatividades *in vitro* dos extratos da casca e flor", refere-se aos resultados dos extratos obtidos por extração sequencial (metanólica, etanólica) da casca e flor da *Parkia platycephala.* Artigo submetido na Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências.

O **Capítulo V** designado como: “Efeitos da extração hidroetanólica e sequencial sobre o potencial tóxico dos extratos de diferentes partes da *Parkia platycephala* do cerrado tocantinense”, aborda os resultados de toxicidade frente à *Allium cepa* dos extratos brutos, metanólicos e etanólicos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala*. Este artigo foi publicado na Revista Research, Society and Development, volume 11, número 2, em 04 de fevereiro de 2022.

Por fim, os dados aqui observados, enfatizam o potencial desta espécie vegetal do cerrado, que responde positivamente às adversidades do meio, podendo, de forma sustentável, ser muito útil para o tratamento e prevenção de várias enfermidades humanas.

SUMÁRIO

RESUMO vii
LISTA DE FIGURAS xi
LISTA DE TABELAS xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS xv
APRESENTAÇÃO xvi

1 INTRODUÇÃO 20
1.1. OBJETIVO GERAL 23
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 23

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 24
2.1. PLANTAS MEDICINAIS 24
2.2. *PARKIA PLATYCEPHALA* 26
2.3. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS 29
2.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE 32
2.5. TOXICIDADE 35
2.5.1. *Allim cepa* 35
2.5.2. *Artemia Salina* 38
2.6. ALZHEIMER 39
2.6.1. Acetilcolinesterase 40
2.6.2. Inibidores da Acetilcolinesterase 40
2.7. REFERÊNCIAS 44

3 FLUXOGRAMA METODOLÓGICO 59

4 CAPÍTULO I 60
Plantas típicas do Cerrado brasileiro usadas como inibidores da acetilcolinesterase: uma revisão sistemática 60
4.1. INTRODUÇÃO 61
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS 62
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 63
4.4. CONCLUSÃO 70
4.5. AGRADECIMENTO 71
4.6. REFERÊNCIAS 71

5 CAPÍTULO II 75
Fitocomponentes, avaliação da atividade anticolinesterásica e toxicidade de extratos hidroetanolicos da *Parkia platycephala* (Benth.) 75

5.1. INTRODUÇÃO 76
5.2. MATERIAL E MÉTODOS 77
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 80
5.4. CONCLUSÃO 87
5.5. AGRADECIMENTOS 87
5.6. REFERÊNCIAS 87

6 CAPÍTULO III 95

Investigação química, potencial tóxico e efeito inibidor da acetilcolinesterase dos extratos da folha e semente da *Parkia platycephala* 95
6.1. INTRODUÇÃO 96
6.2. MATERIAS E MÉTODOS 97
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 101
6.4. CONCLUSÃO 110
6.5. REFERÊNCIAS 111

7 CAPÍTULO IV 118

Parkia do Cerrado: bioprospecção fitoquímica, toxicidade e bioatividades *in vitro* dos extratos da casca e flor 118
7.1. INTRODUÇÃO 118
7.2. MATERIAIS E MÉTODOS 120
7.3. RESULTADOS 124
7.4. DISCUSSÃO 128
7.5. CONCLUSÃO 133
7.6. AGRADECIMENTOS 133
7.7. REFERÊNCIAS 134

8 CAPÍTULO V 138

Efeitos da extração hidroetanolica e sequencial sobre o potencial tóxico dos extratos de diferentes partes da *Parkia platycephala* do cerrado tocantinense 138
8.1. INTRODUÇÃO 139
8.2. MATERIAIS E MÉTODOS 139
8.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 141
8.4. CONCLUSÃO 146
8.5. REFERÊNCIAS 147

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS 150
ANEXOS 151

1 INTRODUÇÃO

As plantas são capazes de sintetizar compostos para sua sobrevivência, seja para as atividades básicas, através do metabolismo primário, seja para sua defesa, através do metabolismo secundário (ZDUŃSKA et al., 2018). A relação intrínseca do metabolismo secundário com as condições de estresse biótico e abiótico do meio, origina ativos biológicos notáveis (WINK, 2008; YANG et al., 2018), e foi através destes compostos, que há muitos e muitos anos, as populações mais tradicionais, buscaram nas plantas, um alívio ou a cura de doenças e o controle de pragas (NEWALL *et al.*, 2002). Esse uso terapêutico das plantas, permanece ativo e crescente, seja nas comunidades mais carentes, devido aos elevados custos dos medicamentos alopáticos, seja na comunidade científica e farmacêutica, que além do estímulo ao uso seguro da medicina tradicional e medicina complementar, também buscam a produção de medicamentos fitoterápicos (ARGENTA *et al.*, 2011).

Nesse panorama, as pesquisas com espécies vegetais do bioma Cerrado tornam-se cada vez mais proeminentes (COLLI et al., 2020), pois o mesmo é composto por 40% de flora endêmica (SILVEIRA *et al*., 2015). Além disso, as condições edafoclimáticas da região são responsáveis pelo cenário de competição existente entre a sua flora, resultando em uma enorme variabilidade fitofisionômica (IBGE, 2007; RONDON NETO *et al*., 2010) e fonte riquíssima de diferentes moléculas de metabólitos secundários (BAILAO *et al*., 2015; ROCHA *et al*., 2022).

Uma espécie da região do Cerrado bastante exótica, que desperta interesse na obtenção de novos ativos biológicos, é a *Parkia platycephala* Benth. *(P. platycephala),* comumente conhecida como fava de bolota (CHAVES *et al.*, 2020). Definida por Hopkins (1986) como a *Parkia* do Cerrado, um exemplar do gênero *Parkia*, gênero este que apresenta uma variabilidade taxonômica nas florestas tropicais da bacia Amazônica. Completamente adaptada ao bioma Cerrado a *P. platycephala* suporta flutuações de temperaturas e outras adversidades, tanto que realiza seu processo de reprodução (floração e frutificação) em plena escassez hídrica (BULHÃO e FIGUEIREDO, 2002; SILVA *et al*., 2017).

Mesmo produzidos mediante estresse hídrico, os frutos da *P. platycepahala* são bastante utilizados na alimentação de ruminantes, por apresentarem elevados teores de carboidratos não fibrosos (68%) (ALVES *et al*., 2007). Tal conhecimento despertou o interesse farmacológico sobre a vagem e a semente da *P. platycephala* para o trato gastrointestinal de animais (SILVA,

R. *et al*., 2019; CAVADA *et al*., 2020), que foi expandido também para as folhas da espécie (FIGUEIREDO *et al*., 2020), sem focar na caracterização química dos extratos.

A análise química de uma espécie vegetal é extremamente importante, principalmente quando se almeja fazer o uso medicinal de uma espécie endêmica, pois quanto maior a explanação, maior a capacidade de associar a obtenção de fármacos ao planejamento das medidas de cultivo, manejo e extrativismo sustentável (ABDALA e CARLOS, 2020).

Nesse intuito, as pesquisas com ativos biológicos naturais avançam rumo a patamares mais específicos e desperta a ânsia por respostas a enfermidades que ainda apresentam efeitos e causas incompreendidos. Habitualmente, a primeira avaliação de um extrato vegetal é verificar sua capacidade antioxidante, ou seja, o potencial inibidor sobre as espécies reativas de oxigênio (ERO) ou de nitrogênio (ERN), que são diretamente relacionados à várias enfermidades (OTAEGUI-ARRAZOLA *et al*., 2014). Através do efeito inibidor dessa oxidação, pode-se prevenir, tratar e até mesmo sugerir tais extratos vegetais no combate a essas moléstias (TELES *et al*., 2015; CUNHA *et al*, 2016).

Vários pesquisadores afirmam que as ERO´s atuam na progressão da Doença de Alzheimer (DA), não sendo possível, ainda, comprovar o estresse oxidativo como causador desta doença (BIAZOTTO, 2014). Nessa incerteza, as pesquisas referentes à DA abordam algumas etiologias, dentre as quais, destacamos a hipótese colinérgica, que indica a ezima acetilcolinesterase como a responsável pela desativação do neurotransmissor acetilcolina, desencadeando efeitos no sistema nervoso central, tais como perda de memória e de funções cognitivas (OTAEGUI-ARRAZOLA *et al*., 2014).

Para controle desse equilíbrio, é indicado o uso de anticolinesterásicos, que são compostos capazes de inibir a aceticolinesterase (ARAÚJO *et al*., 2016). Atualmente o principal inibidor desta enzima, é um medicamento de origem natural (LI *et al*., 2019), entretanto, em virtude da elevada demanda deste composto, novos inibidores naturais estão sendo pesquisados (SANTOS *et al*., 2020).

Apesar do benefício das plantas medicinais, deve-se enfatizar que o estudo farmacognóstico, em via de regra, inicia-se pelo conhecimento popular, passa pelo levantamento etnofarmacológico e pela prospecção fitoquímica, entretanto, é necessário incluir etapas de testes de toxicidade, visando garantir a segurança do uso de quaisquer espécies, avaliando os efeitos prejudiciais das substâncias químicas aos organismos vivos.

Para o monitoramento prévio da toxicidade em extratos vegetais é comum a realização de bioensaios, que são testes com alta sensibilidade, rapidez e acessibilidade. Um dos testes, bastante comum, analisa a característica fitotóxica do vegetal, ou seja, através da influência de

um corpo sobre outro, utilizando como alvo a *Allium cepa*, que indica se um fator químico testado pode ser um risco à saúde humana (MERCADO e CALEÑO, 2020). Há também teste de toxicidade de extratos vegetais com *Artemia salina* (ALVES *et al*., 2000; REIS, 2011; SIMÕES e ALMEIDA, 2015), que indicam efeitos tóxicos semelhantes nos humanos, além de indicar potencial atividade pesticida, antimicrobiano e antitumoral dos extratos vegetais avaliados (HARADA, 2009; BOSE *et al*., 2011).

Diante do exposto, devido a busca por novos agentes anti-Alzheimer e a escassez de estudos sobre espécies do bioma Cerrado, foram conduzidas análises dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala*.

1.1. OBJETIVO GERAL

Realizar a bioprospecção fitoquímica e avaliar o potencial medicinal dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala.*

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar a caracterização dos metabólitos secundários dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala;*
- ✓ Determinar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala;*
- ✓ Determinar o potencial de inibição da acetilcolinesterase dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala;*
- ✓ Determinar a toxicidade dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. PLANTAS MEDICINAIS

Plantas medicinais são definidas como: “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos” (OMS, 1998). A crença no poder terapêutico das plantas advém de uma cultura milenar, entretanto, apenas em 1978, com a Declaração de Alma-Ata, que enfatizava a necessidade dos cuidados primários de saúde, foi verdadeiramente reconhecido, pela Organização Mundial da Saúde, o poder medicinal das plantas (OMS, 1979). Logo em seguida, a OMS, instituiu o Programa de Medicina Tradicional, com o objetivo de facilitar a integração da medicina tradicional e da medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de atenção à saúde.

No Brasil, tal integração, iniciou-se após a criação do Sistema Único de Saúde (SUS) em 1990, e efetivamente estabeleceu diretrizes na área de plantas medicinais e saúde pública, em 2006 com a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 1990; 2006a; 2006b). Em paralelo ao avanço das pesquisas e tecnologias, foi instituída a Lei nº 13.123 de 2015, definida como a Lei da Biodiversidade, que implementou o acesso ao patrimônio genético, ao conhecimento tradicional associado e à repartição de benefícios, preconizando regras mais claras e simples, com abordagens menos burocráticas e capazes de estabelecer um ambiente de tranquilidade e de segurança jurídica (BRASIL, 2013).

A perspectiva mundial, em 2019, indicava que aproximadamente 65% dos medicamentos terapêuticos modernos disponíveis eram derivados de fontes naturais, de plantas e/ou microorganismos, percentual esse que, supera 84% quando se analisava o setor oncológico (NEWMAN e CRAGG, 2020). Apesar de tal estatística, a representatividade dos fitoterápicos brasileiros era de 5% frente ao mercado global (DUTRA *et al.*, 2016; CALIXTO, 2019), mesmo o país possuindo diversidades biológicas e muitas espécies endêmicas (cerca de 40 mil espécies vegetais) (BFG, 2021).

Após a implementação da Lei da Biodiversidade, observou-se uma crescente resposta no sentido quantitativo em relação ao número de atividades com espécies vegetais regularizadas no Brasil, sendo que dentre os anos de 2002 e 2015, a maior quantidade de solicitações de acesso ao Patrimônio Genético Nacional ou aos Conhecimentos Tradicionais Associados (83)

foram realizadas no ano de 2015, mas apenas 57 autorizações de acesso foram concedidas. Entretanto em 2017, verificou-se um acréscimo de aproximadamente 300% nas atividades de acesso ao Patrimônio Genético Nacional ou ao Conhecimentos Tradicionais Associados (BRASIL, 2020). Dados mais recentes, ratificam a continuidade do efeito positivo durante os 5 anos consecutivos à referida lei (SOUZA e SILVA, 2021).

Segundo o Anuário Estatítico do Mercado Farmacêutico Brasileiro, o faturamento deste mercado em 2019, foi próximo aos R$ 86 bilhões de reais, destes R$ 333 milhões de reais, são referentes a 71 medicamentos fitoterápicos que são comercializados no país (ANVISA, 2021). Esse panorama, também é favorecido pela acessibilidade a alguns fitoterápicos, oportunizados pelo Ministério da Saúde, onde apenas na cidade de São Paulo, o fornecimento desses produtos cresceu 662% entre 2015 e 2019 (SILVA *et al.*, 2022).

Atualmente, o Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza gratuitamente para a população, 12 medicamentos em 14 estados, totalizando 2.160 unidades de saúde, entretanto apenas 2 destes fitoterápicos são nativos brasileiros, *Mikania glomerata* Spreng. (guaco) e *Maytenus ilicifolia* Mart.ex Reissek (espinheira santa), sendo o guaco indicado para sintomas gripais (indicação para diabéticos) e a espinheira santa para úlceras e gastrites (AGENCIABRASILIA, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Além desse acesso, é importante também, ressaltar o programa Farmácia Viva, cujo objetivo é incentivar um modelo de saúde que aproxima a população dos seus valores tradicionais de uso de plantas medicinais, através da dispensação de fitoterápicos, realizada sob prescrição de profissional de saúde habilitado (BRASIL, 2021).

Esse programa foi instituido pela Portaria nº 886/2010, para se “realizar as etapas de cultivo, coleta, processamento, armazenamento de plantas medicinais, preparação e dispensação de produtos magistrais e oficinais de plantas medicinais e fitoterápicos” (BRASIL, 2010). Através da Farmácia Viva, pôde-se aumentar a diversidade dos medicamentos disponíveis no SUS, adaptando os xaropes, pomadas, lambedores, tinturas e até sabonetes, com os costumes e tradições locais, evitando assim a perda da geograficidade das plantas, particularidade cultural e simbólica do seu uso (CASTRO e LÉDA, 2021).

O programa apresenta boa aceitabilidade tanto que o Ministério da Saúde, somente em 2020, investiu cerca de R$8 milhões em projetos de melhoria para estruturar as Farmácias Vivas (BRASIL, 2021). Tais investimentos, são perceptíveis, na modernização de parques industriais, como é o caso do estado da Bahia, que adotou a produção de fitoterápicos, como alternativa secundária ao processo produtivo de medicamentos alopáticos, tornando-se assim, dentre os estados brasileiros participantes desse programa, o líder do ranking no uso terapêutico de

plantas (CASTRO e LÉDA, 2021). Os estados de São Paulo, Goiás e Minas Gerais também são destaque na quantidade de industrias farmacêuticas que produzem fitoterápicos. Ressalta-se que os estados supracitados têm em comum, em parte ou totalidade, a biodiversidade do bioma Cerrado, bioma denominado como "farmácia verde", por esconder entre suas árvores de cascas grossas e troncos retorcidos, centenas de ativos de plantas medicinais imprescindíveis para a saúde dos seres humanos (PENA, 2019).

O acervo empírico das plantas medicinais do Cerrado é grandioso devido à sua geograficidade, que corta o Brasil de norte a sul, característica que também eleva o nível de endemismo dos vegetais, despertando cada vez mais o interesse por essa região (BARBOSA, 2017). A manutenção deste acervo empírico e a proteção do Cerrado são diretrizes dos povos tradicionais que habitam cada um dos 11 estados brasileiros pertencentes a este bioma (SANO *et al.*, 2019). Como exemplo, temos a comunidade quilombola, localizada no interior do estado de Goiás, que mantém a sabedoria de seus antepassados, produzindo 90 medicamentos a partir de 450 plantas medicinais nativas do Cerrado, todas catalogadas (TAKASHIMA, 2021), sendo essa comunidade a responsável pelo Centro de Plantas Medicinais do Cedro, o qual registrou a Farmacopéia Popular do Cerrado, um dos poucos escritos sobre plantas medicinais nativas no Brasil (TAKASHIMA, 2021).

2.2. *PARKIA PLATYCEPHALA*

Pertencente ao gênero *Parkia* (Fabaceae, Subfamília, Mimosoideae), a espécie *Parkia platycephala* (*P. platycephala*) compreende uma das 34 espécies de árvores predominantemente perenes amplamente distribuídas pelos neotrópicos, Ásia e África. Essas espécies possuem comprovados efeitos contra diabetes, diarréia, hipertensão, tosse, hemorroidas crônicas, conjuntivite, sarampo e efeito cicatrizante (SALEH *et al*., 2021).

A *P. platycephala* está entre as 12 espécies do gênero *Parkia* que possuem relatos literários medicinais (SALEH *et al*., 2021). Ela tem relação com a influência no aumento do poder antibiótico da gentamicina contra *S. aureus* e *E. coli* (SILVA, R. *et al*., 2019) e efeito gastroprotetor (FERNANDES *et al*., 2010).

A *P. platycephala* (Figura 1) é uma espécie endêmica brasileira, encontrada principalmente no Cerrado e nas áreas de transição com os biomas circunvizinhos, Caatinga e Amazônia (FORZZA *et al*., 2010). Conhecida como "fava de bolota" ou "faveira", chega a atingir 18 m de altura e 45 cm de diâmetro, e é utilizada para variados fins, desde aproveitamento da madeira (com tronco curto e cilíndrico, apresentando de 30 a 60 cm de

diâmetro, com casca rugosa) e como planta ornamental (HOPKINS, 1986; AQUINO *et al*., 2007; ALVES *et. al*, 2016).

Fonte: Autor (2022)

Figura 1. Copa (A), folha (B) e tronco (C) da *Parkia platycephala*.

Essa espécie apresenta características peculiares, por estar em uma região com diversas intemperes ambientais e também uma característica exótica, sendo a sua inflorescência, um atrativo a parte (Figura 2).

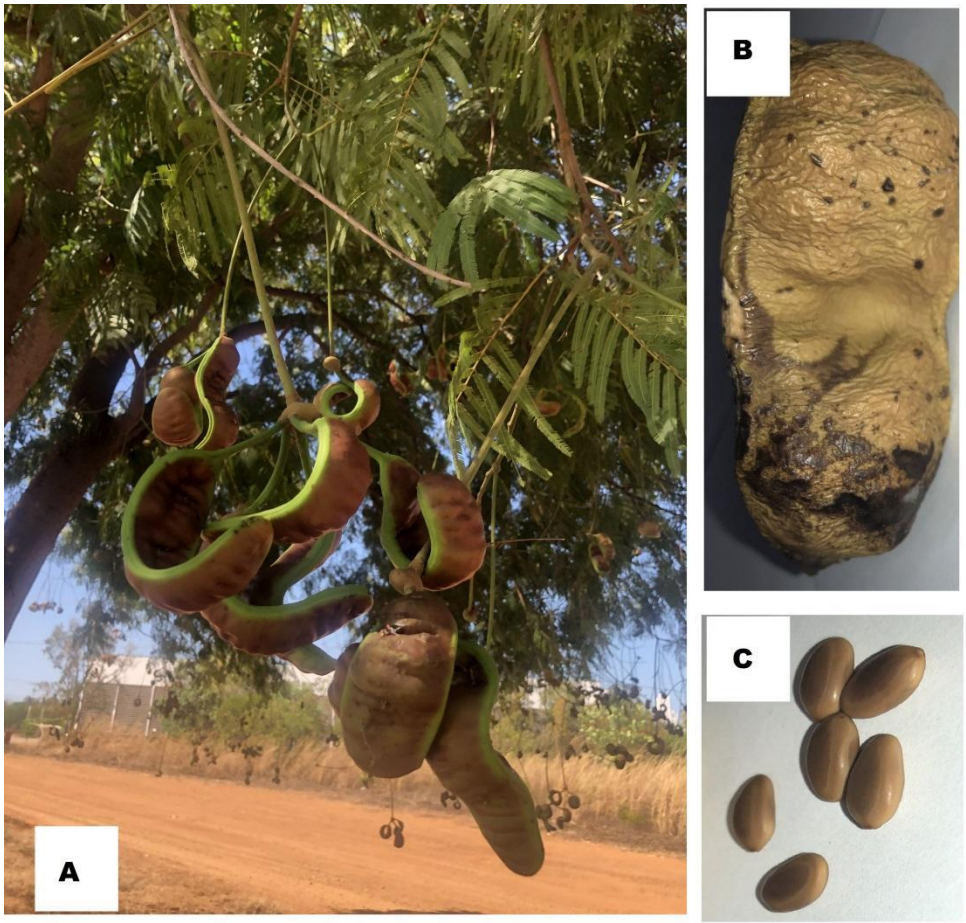
Fonte: Autor (2022)

Figura 2. Inflorescência da *Parkia platycephala*.

A sua reprodução diferentemente de outras espécies de leguminosas, é anual (BULHÃO e FIGUEIREDO, 2002) e no Cerrado ocorre no início do inverno brasileiro (junho e julho), sendo suas flores, acopladas a um capítulo globoso, algo em torno de 3,8-5,2 cm de diâmetro,

de coloração avermelhada, que visualmente assemelham-se a pompons pendurados, no sentido da gravidade, como se fossem pêndulos (Figura 2) (HOPKINS, 1986). Devido à capacidade de adaptação ao clima do estado do Tocantins (LACERDA e MAPELI, 2019) e ser bastante numerosa na região, foi declarada como a árvore símbolo do estado (TOCANTINS, 2012).

Possui frutos indeiscentes secos (vagens), que permanecem pendurados nos galhos até escurecimento do epicarpo (casca), marrom-claro ou marrom-escuro (Figura 3), quando se inicia a fase de amadurecimento e consequente queda espontânea. As sementes (tegumento marrom claro) são obtidas de forma manual após abertura das vagens (LORENZI, 2002; CRUZ e QUEIROZ, 2019). São estimados 1.208 kg de vagens/ha/ano (SILVA et al., 2005; ALVES et al., 2007), tendo, em média, 34 sementes em cada vagem, dispostas em duas séries (HOPKINS, 1986).



Fonte: Autor (2022)

Figura 3. Frutificação da *Parkia platycephala* (A- vagem verde, B- vagem madura, C- sementes).

As folhas e as sementes da *P. platycephala* possuem comprovada atividade anti-helmíntica contra *Haemonchus contortus* (OLIVEIRA *et al*., 2017) e há relatos de que o extrato das folhas possui efeito anti-helmíntico sobre tricostrongilídeos (inibição da eclosão dos ovos e efeito larvicida) (FIGUEIREDO *et al*., 2020).

Das sementes da *P. platycephala*, também foram extraídas lectinas, utilizadas como alternativa para inibir o desenvolvimento de bactérias patogênicas e nematóides gastrointestinais em pequenos ruminantes (SILVA, R. *et al*., 2019), entretanto, verificou-se o efeito inibidor dessa lectina na nocicepção (dor) orofacial humana para capsaicina (LEITE *et al*., 2020). Além desses efeitos, Bari *et al*. (2016) relataram a ação anti-inflamatória da lectina da *P. platycephala.*

Percebe-se que, mesmo apresentando algumas indicações terapêuticas, são poucos os estudos aprofundados em relação aos metabólitos secundários da *P. platycephala*. Essa escassez de dados, transparece a necessidade de pesquisas mais específicas, de forma a ampliar o conhecimento da composição e das aplicações dessa espécie.

2.3. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A composição química das espécies vegetais está diretamente relacionada com a ação farmacológica por elas apresentada. Tal caracterização, realizada inicialmente através da triagem fitoquímica, identifica a presença de metabólitos secundários, que são a representação da interface química entre as plantas e o ambiente circundante (TRINDADE *et al*., 2019).

Esses compostos classificam-se em três grupos principais: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides, todos com biossíntese, função e importância específicas (BORGES e AMORIM, 2020).

Os terpenos ou terpenoides são alcenos naturais, que apresentam como molécula principal o isopreno, uma combinação de cinco átomos de carbono ligados a oito átomos de hidrogênio (C_5H_8). São compostos que exercem importantes funções de defesa nos vegetais e possuem características de inibição do forrageio e também de toxicidade (KORTBEEK *et al*., 2019), além de uma gama de usos medicinais, como atividade antiplasmodial, propriedade antiviral, atividade antimicrobiana, reagentes anticancerígenos e antidiabéticos (COX-GEORGIAN *et al*., 2019). Os terpenos são bioativos em relação aos insetos e é bastante comum utilizá-los como aleloquímicos, principalmente os voláteis, como os óleos essenciais, que conferem aroma característico às folhas, sobretudo em espécies vegetais de regiões áridas e temperaturas elevadas (PIRES e OLIVEIRA, 2011).

Os compostos fenólicos são representados por compostos que possuem em sua estrutura ao menos um anel aromático ligado a uma hidroxila (C_6H_6O). O grupo fenol está presente em uma grande variedade de produtos secundários produzidos pelas plantas, sendo um dos grupos dos metabólitos secundários mais diversificados (ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignanas e ligninas). Tal variabilidade

influencia nas funções dos vegetais e consequentemente, em suas bioatividades (GONZÁLEZ-SARRÍAS *et al*., 2020). Os fenóis são compostos que apresentam atividades antimicrobiana, anticancerígena, anti-inflamatória, antimutagênica, antialérgica, antiviral, antitrombótica, hepatoprotetora alimentar dentre outras (DZIAŁO *et al*., 2016; SYTAR *et al*., 2018; KUMAR *et al*., 2019; KUMAR e GOEL, 2019).

Os alcaloides são aminas de cadeia fechada que possuem o nitrogênio entre os átomos de carbono do anel. São classificados em alcaloides verdadeiros, que são derivados de aminoácidos e apresentam um anel heterocíclico com o nitrogênio, já os que derivam de aminoácidos, mas não apresentam anel heterocíclico são considerados protoalcaloides, e os pseudoalcaloides, são aqueles que possuem heterocíclicos nitrogenados, mas não são derivados de aminoácidos (DEWICK, 2002). Quando presentes nas sementes são importantes fontes de nitrogênio durante a germinação, além de possuirem propriedade de defensivo químico natural (ISAH, 2019). Destacam-se pela ação sobre o sistema nervoso central, com efeitos alucinógenos e de envenenamento (ADIBAH e AZZREENA, 2019; BRITO-DA-COSTA *et al*., 2020), inclusive de insetos, competindo com o neurotransmissor acetilcolina (ALZUALDE *et al*., 2021).

Cientistas relatam que diferenças significativas na produção e acumulação dos metabólitos secundários são perceptíveis quando as condições ambientais de uma mesma espécie vegetal são modificadas, portanto, é crucial a caracterização química dessas plantas, cujas origens geográficas sejam diferentes (PAVARINI *et al*., 2012; VILELA *et al*., 2013; BHATTACHARYA, 2019).

Além dos fatores edafoclimáticos, a ação natural do fogo durante o período seco, principalmente no bioma Cerrado, influencia na manutenção tanto das espécies nativas brasileiras quanto das espécies endêmicas deste bioma. Em geral, a maioria destas plantas florescem na estação seca (MENDES *et al*., 2011), período no qual, o fogo atua removendo a biomassa seca dessas áreas e estimulando uma rápida recuperação das espécies vegetais após as primeiras chuvas (CAMARGOS *et al*., 2010). Estudos confirmaram que algumas espécies do Cerrado, tais como *Anadenanthera peregrina* (angico do cerrado), *Byrsonima verbascifolia* (murici), *Caryocar brasiliense* Cambess (pequi), *Dimorphandra mollis* Benth. (faveira), *Diospyros hispida* A.DC. (caqui-do-cerrado), *Eriotheca gracilipes* (paineirinha-do-cerrado), *Guapira noxia* (mariamole), *Handroanthus ochraceus* Cham. (ipê-amarelo-do-cerrado), *Machaerium acutifolium* Vogel (sapuva), *Ouratea spectabilis* (batiputá) e *Pouteria ramiflora* (abiu-do-cerrado) liberam substâncias químicas para retardar o efeito da chama (WEISER *et al.*, 2015).

2.3.1. Métodos extrativos

Para a obtenção dos metabólitos secundários das espécies vegetais, é necessária a extração dos compostos da amostra vegetal, promovida por um solvente para o qual o soluto (geralmente o analito) é transferido (JARDIM, 2010; ABUBAKAR e HAQUE, 2020). As principais extrações realizadas são do tipo sólido-líquido e incluem maceração, infusão, percolação, decocção, extração intermitente a quente (Soxhlet), extração em contra-corrente, extração assistida por microondas, ultra-som, fluido supercrítico e turbólise (PANDEY e TRIPATHI, 2014). Destas, a extração contínua a quente, utilizando aparato soxhlet (Figura 4) é um processo vantajoso, pois realiza-se uma extração eficiente, utilizando quantidades pequenas de amostra e de solvente, e também por ser um equipamento de fácil manipulação e pelos menores índices de contaminação dos extratos (DHODARE *et al*., 2015).

Fonte: Autor (2022)

Figura 4. Esquema de um sistema para extração utilizando Soxhlet.

Apesar de ser uma técnina descoberta em 1879, a extração padrão por Soxhlet continua sendo aplicada rotineiramente em quase todos os laboratórios analíticos, com resultados equivalentes aos de técnicas mais modernas (ZYNGLER *et al*., 2012).

Alguns estudos afirmaram que há três fatores importantes nas extrações utilizando Soxhlet: a temperatura, o tempo de extração e o solvente, sendo que ambos influenciam o tipo de analito extraído (ZYNGLER et al., 2012). Outro ponto a se destacar, é que essa metodologia, permite que vários solventes sejam usados sucessivamente, aumentando a polaridade dos

solventes usados na extração de uma mesma amostra, e ao final do processo extrativo, os solventes podem ser recuperados e reutilizados (SILVA, V. et al., 2019).

Nessa linha, os solventes que frequentemente são utilizados para obtenção dos extratos vegetais são: água, etanol/solução hidroetanólica, metanol, clorofórmio, éter e acetona (PANDEY e TRIPATHI, 2014; REZAIE et al., 2015), e são definidos dependendo da polaridade da classe de metabólitos que se deseja extrair (PILON *et al.*, 2020; KARABEGOVIĆ *et al*., 2014).

Há relatos de maiores eficiências na extração de metabólitos secundários de plantas, quando se faz uso da associação da água com álcoois de cadeias pequenas, mais especificamente, utilizando solução etanólica (70%) (MENEZES FILHO et al., 2019), principalmente frente aos compostos fenólicos, pois a polaridade dos solventes e/ou soluções afetam a transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, que são cruciais na extração desses compostos (NAWAZ *et al.*, 2020).

Na Tabela 1 está representada a relação entre as polaridades dos solventes e das classes de metabólitos secundários das plantas.

Tabela 1. Solventes utilizados para extração de compostos ativos.

Água	**Etanol**	**Metanol**	**Clorofórmio**	**Éter**	**Acetona**
Antocianinas	Taninos	Antocianinas	Terpenoides	Alcaloides	Fenóis
Taninos	Polifenóis	Terpenoides	Flavonoides	Terpenoides	Flavonoides
Saponinas	Flavonoides	Taninos		Coumarinas	
Terpenoides	Terpenoides	Saponinas		Ácidos graxos	
Lectinas	Esterois	Lactonas			
	Alcaloides	Flavonas			
		Fenóis			

Fonte: Pandey e Tripathi (2014)

2.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são compostos capazes de prevenir ou adiar várias enfermidades, ocasionadas pelo excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de nitrogênio (ERNs) (GULCIN, 2020). As EROs são encontradas em todos os sistemas biológicos, e são produzidas em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbio, quando o O_2 sofre redução tetravalente, levando à formação de H_2O. Entretanto, durante este processo de formação são gerados intermediários reativos como os radicais superóxido (O_2^{-}•), hidroperoxila (HO_2•) e hidroxila (OH•), e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GOUVEIA e LIMA, 2017).

Além da capacidade do O_2• em participar de reações de geração de OH•, pode ainda, por meio da reação com o radical livre óxido nítrico (NO•), gerar a espécie reativa de nitrogênio, peroxinitrito ($ONOO^{-}$), também potencialmente reativa (GOUVEIA e LIMA, 2017). Em

situações não-fisiológicas, também ocorre a formação das EROs, devido à exposição da célula a xenobióticos, que leva a redução incompleta de O_2 (ODETTI *et al.*, 2020).

Annesley e Fisher (2019) acreditavam ser essencial o equilíbrio entre agentes óxido-redutores e o sistema de defesa antioxidante e que as EROs estão relacionadas a mais de 50 doenças ou eventos nosológicos. O excesso de agentes oxidantes e/ou a deficiência do sistema protetor, denominado estresse oxidativo, causa efeitos de oxidação lipídica, protéica e até mesmo no DNA, características relacionadas ao envelhecimento, bem como a doença de Parkinson, o acidente vascular cerebral, a doença de Alzheimer, a esclerose múltipla e a catarata (ALAM *et al*., 2013; CUNHA *et al*., 2016).

Como forma de neutralizar esses radicais, os vegetais desenvolveram muitos mecanismos de defesa antioxidante, com o objetivo de controlar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (TANABE *et al.*, 2022). Destacam-se dois sistemas principais, o enzimático, composto pelas enzimas produzidas no organismo, e o não enzimático, fazendo parte deste grupo as vitaminas e outras substâncias, como os metabólitos secundários (SIES *et al*., 2017).

Dentre os metabólitos secundários, os flavonoides e outros derivados fenólicos são conhecidos por atuarem na captura e neutralização de espécies oxidantes como as EROs, sempre em sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E (VERRUCK *et al*., 2018), em ambos os compartimentos celulares, hidrofílico (ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis) e lipofílico (KRUK *et al*., 2022). Os fenóis, por sua estrutura aromática, são facilmente oxidáveis, seja por enzimas específicas seja pela sua propriedade de complexação com metais (Fe e Mn) (LIU *et al*., 2018; BIJLSMA *et al*, 2022).

Já nos compostos terpênicos, os carotenoides são os principais compostos que apresentam propriedades antioxidantes (GUTIÉRREZ-DEL-RÍO *et al*., 2021). Apesar das diversas substâncias desta classe serem, em geral, insolúveis em água, pode-se destacar a atuação de carotenoides polares (xantofilas), como zeaxantina e violaxantina, que reduzem a difusão das EROs e também seus efeitos danosos, ao alterarem a permeabilidade das camadas lipídicas, (GRUDZINSKI *et al*., 2017; PINNA *et al*., 2022).

Segundo Macáková *et al.* (2019), embora em menor destaque, os alcaloides também apresentam atividade antioxidante e são potentes sequestradores de espécies reativas. Tian-Peng *et al*. (2016) observaram além da atividade antioxidante de alguns alcaloides, a atividade quelante de íons metálicos, mais especificamente do íon ferroso (Fe^{2+}), influenciando na oxidação lipídica e no estresse oxidativo.

A maioria das metodologias que determinam a capacidade antioxidante monitora a eliminação ou a neutralização de um radical através da leitura da absorbância em um espectrofotômetro ultravioleta visível (UV/VIS) (FLOEGEL *et al*., 2011; GULCIN, 2020).

2.4.1 Eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•)

Brand-Williams *et al*. (1995) utilizaram o método baseado na eliminação de radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) para determinar o potencial antioxidante de compostos fenólicos e de amostras biológicas. O resultado é expresso em termos de IC_{50}, ou seja, a concentração mínima capaz de inibir 50% da concentração inicial do radical DPPH•.

O DPPH• é caracterizado como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. Tal deslocalização confere a este radical uma coloração púrpura, caracterizada por uma banda de absorção em etanol em cerca de 518 nm (BRAND-WILLIAMS *et al*., 1995).

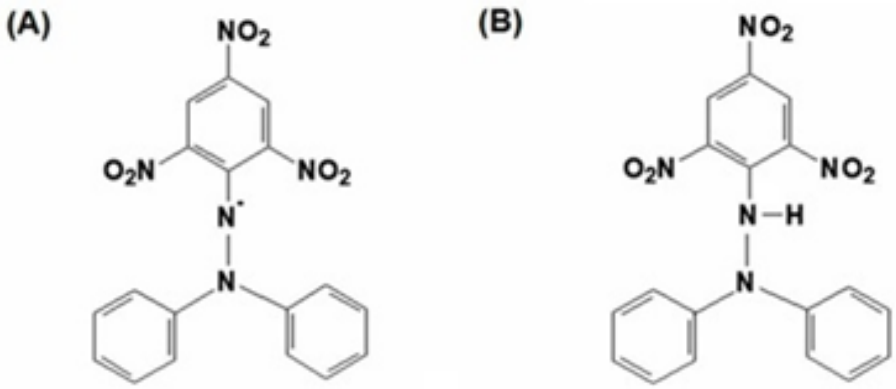


Figura 5. Molécula do radical DPPH• (A) e molécula de hidrazina (B).

O método de determinação antioxidante baseado na eliminação do radical DPPH• está relacionado com a capacidade de uma substância em sequestrar esse radical, representado na Figura 5A, reduzindo-o a hidrazina (Figura 5B). Tal redução, com mudança simultânea na coloração de púrpura a amarelo pálido, é consequência da doação de átomos de hidrogênio, por uma substância antioxidante (ALVES *et al*., 2010).

Este método é adequado para a determinação da capacidade antioxidante de substâncias puras e mistura, pois é de fácil manuseio, preciso, rápido, simples, e econômico, entretanto deve-se atentar para a realização do mesmo em ambiente escuro, pois a luminosidade interfere na reação do DPPH•, o que pode alterar o resultado da análise, devido a aceleração da diminuição da absorbância (SCHERER e GODOY, 2009; KEDARE e SINGH, 2011; MISHRA *et al*., 2012).

2.5. TOXICIDADE

As plantas produzem uma grande variedade de metabólitos secundários que frequentemente são relacionados a mecanismos de proteção contra predadores e patógenos. Dentre esses metabólitos, alguns podem causar alterações metabólicas prejudiciais ao homem e aos animais, caracterizando assim, compostos tóxicos. A toxicidade apresentada por uma espécie vegetal pode estar relacionada à fatores edafoclimáticos, à planta, ao modo de exposição, a questões ambientais e à interação com o ambiente local (CAMPOS et al., 2016).

O número de intoxicações causadas por plantas no Brasil em 2017 foi de 821 casos, o que correspondente a 1,08% dos casos de intoxicação humana ocorridos. Desse total 71,5% ocorreram na zona urbana e 1,02% foi na região norte do país (SINITOX, 2017). Segundo Campos *et al.* (2016), 36% das espécies vegetais tóxicas são ornamentais e 62% são utilizadas no tratamento de doenças. Os autores ainda relataram que apesar da conhecida toxicidade de muitas delas, a caracterização e isolamento dos metabólitos secundários responsáveis por tal toxicidade não é comum (CAMPOS *et al.*, 2016).

Frequentemente, utilizam-se bioensaios de toxicidade nas etapas iniciais de avaliação do risco/benefício no uso de extratos vegetais, destacando-se o teste *in vitro* com *Allium cepa* e o teste *in vivo* com *Artemia salina*.

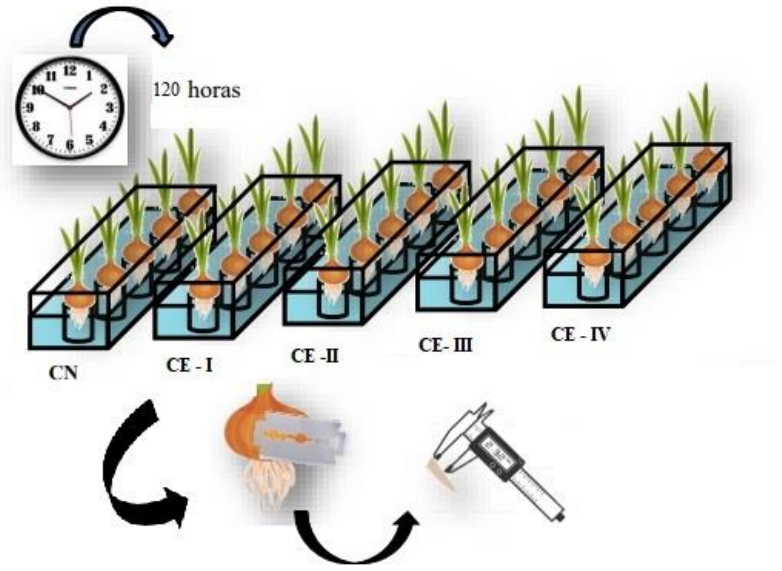
2.5.1. Bioensaio com *Allim cepa*

A fitotoxicidade dos extratos vegetais é comumente caracterizada pelo efeito alelopático, ou seja, é um processo que envolve metabólitos secundários produzidos por plantas que influenciam no desenvolvimento e crescimento de outras plantas (ALVES, 2013). Os triterpenoides glicosilados conhecidos como saponinas estão envolvidos na alelopatia, devido

as suas propriedades detergentes, o que acarreta a capacidade de se ligarem a membranas celulares, alterando o funcionamento celular (LEE *et al*.,2017; HUSSAIN *et al*., 2019). Assim como as saponinas, os flavonoides também possuem comprovado efeito alelopático, inibindo o crescimento tanto de plantas como de fungos (DESMEDT *et al*., 2020; KAAB *et al*., 2020).

A técnica do bioensaio é um procedimento padrão dos estudos de alelopatia, que consiste em uma resposta biológica de um organismo vivo, plantas superiores ou microorganismos, a uma determinada substância ou mistura de substâncias (ABDELSALAM *et al*., 2018), sendo o mais comum, a inibição da germinação de sementes ou raízes (PIRES e OLIVEIRA, 2011).

O teste com a espécie *Allium cepa* (*A. cepa*) (Figura 6) vem sendo amplamente utilizado para avaliação de efeitos tóxicos de extratos vegetais por ser altamente sensível às diferentes concentrações de aleloquímicos mesmo que estas sejam baixas, afetando o comprimento das raízes e o índice germinativo (Figura 7), e também por ser um excelente bioindicador de agentes poluentes ou tóxicos em mais de um ambiente (COSTALONGA, 2009; LESSA *et al*., 2017).



Meramente ilustrativa, **Fonte:** Adaptado SAMPAIO (2021)

Figura 6. Design experimental da exposição dos bulbos de *Allium cepa*, expostos ao controle negativo (CN) e as concentrações variaveis dos extratos (CE).

1 2 3 4

Fonte: Autora (2022)

Figura 7. Crescimento radicular e índice germinativo de *Allium cepa*: (1) antes do contato com o controle; (2) após 5 dias em contato com controle, (3) após 5 dias de contato com extrato vegetal (estímulo), (4) após 5 dias de contato com extrato vegetal (inibição).

Essa metodologia, indica que a redução do crescimento radicular da espécie, pode ser consequência de mudança nas condições ambientais, associadas à presença de sais que compõem os poluentes (SAMPAIO, 2021). Esses compostos podem afetar as condições hídricas causando uma tensão osmótica no meio e também causar toxicidade, quando se acumulam nos tecidos vegetais, alterando a capacidade da planta em absorver, transportar e utilizar os íons diretamente relacionados ao seu desenvolvimento (LACERDA *et al*., 2004; THODE FILHO *et al*., 2020).

Há relatos também, de que o comprometimento do desenvolvimento radicular da *A. cepa*, em função da conversão de reservas (sais minerais, açúcares, proteínas), pode ter relação com o aumento da salinidade. Uma vez que, os compostos tóxicos, prejudicam a permeabilidade dos íons sódio e potássio, que são responsáveis pelo ganho de biomassa e seu influxo. (RODRIGUES *et al*., 2013).

Desde 1985 pesquisadores afirmavam que a toxicidade verificada nos testes utilizando como bioindicar a *A. cepa*, eram indícios de que havia na substâcia testada, compostos químicos com provável risco à saúde humana (FISKESJÖ, 1985). Em meados de 2003, Teixeira *et al* (2003) demonstraram a equivalência de toxicidade entre o bioensaio com *A. cepa* com outros dois sistemas testes (células de medula óssea de camundongos e linfócitos humanos). A partir de então vários outros estudos, ratificaram a credibilidade do sistema teste *A. cepa* como primeiro screening da toxicidade de extrato de plantas medicinais (BAGATINI *et al*., 2007; POLETTO *et al*., 2011; FÃO *et al*., 2012; MENEGUETTI *et al*., 2014).

2.5.2. Bioensaio com *Artemia Salina*

Outro bioensaio bastante utilizado, que determina preliminarmente a toxicidade aguda de extratos vegetais, é o que utiliza a *Artemia salina* (*A. salina*) (NEVES, 2013), um microcrustáceo marítimo da ordem Anostraca, um simples organismo, utilizado como alimentação para peixes (NASCIMENTO *et al*., 2008) e popularmente conhecido como camarão de água salgada (BASEGGIO, 2021). Os cistos desta espécie permanecem inativos se conservados em local seco, podendo durar até 25 anos (ZAGATTO e BERTOLLET, 2008; MANZANARES *et al*., 2015).

O desenvolvimento desse crustáceo (Figura 8), após imersão dos cistos em água salgada em condições específicas, compreende: as fases de cisto pós hidratação, guarda-chuva, náuplio, juvenil e adulta. Na fase guarda-chuva, etapa pós eclosão, o embrião começa a nadar no meio externo, entretanto com pouca atividade muscular, durando de 1 a 8 horas. Na sequência, inicia-se a fase naupliar da *Artemia salina* que é dividida em 3 estágios, permanecendo por até 48 horas. Nessa fase em que o animal encontra-se em estágio de larva, o mesmo se alimenta por filtração da água. Ao atingir a fase adulta, o animal sobrevive de 8 a 15 dias (ZAGATTO e BERTOLLET, 2008).

Fonte: Mohammad (2020)

Figura 8. Diferentes estágios da *Artemia salina*, desde a fase de cisto até a fase naupliar. (A) cisto hidratado, (B) cisto em ruptura, (C) estágio guarda-chuva, (D, E, F) náuplios, (G) metanáuplio e (H) adulta.

McLaughlin *et al*. (1998), relataram que devido a sua alimentação por filtração não seletiva, os náuplios de *A. salina* são vulneráveis ao ataque de substâncias tóxicas (SHAOJIE e WENLI, 2012) e apresentam intolerância a mínimas alterações ambientais, com resposta nítida

e quase imediata a essas variações. Devido a isso, Merino *et al*. (2015) confirmaram que este bioensaio tornou-se um monitor conveniente para a citotoxicidade de produtos, por ser rápido e simples.

Vários estudos ratificam a correlação entre os testes de toxicidade deste bioindicador com outras atividades biológicas, tais como, antifúngica, antiviral, antimicrobiana, parasiticida, antitumoral, dentre outras (HARADA, 2009; ROSYADI *et al.*, 2020).

2.6. ALZHEIMER

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, na qual ocorre a deterioração do sistema nervoso de forma progressiva e irreversível (FRANCO *et al.*, 2021). Estima-se que, mais de 50 milhões de pessoas desenvolveram demência em 2020, sendo que 30 milhões foram casos de DA (SHARMA, 2019; MCGILL-CARTER, 2020). É uma enfermidade caracterizada pelas perdas de memória e de diversas funções cognitivas e de etiopatogenia complexa e multifatorial, tendo a hipofunção colinérgica como um dos principais fatores, assim como o estresse oxidativo, neuroinflamação, entre outros (LUO *et al*., 2008).

A nível mundial, apesar de atingir 1 em cada 4 pessoas acima de 85 anos em ambos os sexos, entre 65 e 69 anos, a demência afeta mais o sexo masculino, em uma média de 1 em cada 60, e no sexo feminino 1 em cada 80 mulheres. É uma enfermidade classificada em dois tipos: esporádica e a familiar. A DA esporádica, também denominada DA de início tardio, afeta habitualmente adultos após os 65 anos e tem como fator de risco evidente a existência prévia de um traumatismo craniano severo. Já a DA familiar, ocorre devido à presença de um gene mutante, que é repassado de geração a geração e é diagnosticada mais cedo, por volta de 40 a 60 anos (FCG, 2015).

A Doença de Alzheimer é caracterizada pela piora progressiva dos sintomas, com períodos de estabilidade, evoluindo do estágio leve, para moderado e grave (ABRAZ, 2022). Esses estágios ainda podem ser subdivididos em sete fases, sendo as fases 1 a 3 (leve), 4 e 5 (moderada) e 6 e 7 (grave) (BERLEZE, 2022). O estágio leve, pode durar de 2 a 10 anos, apresentando o paciente, na fase 1, condição normal, mas um exame específico do cérebro pode indicar que a pessoa apresenta a DA. Na fase 2, ocorre um declínio cognitivo muito leve, como esquecer nomes e locais de armazenamento de objetos. Nessa fase os sintomas da DA são sutis e muito característico de sintomas que também são comuns no envelhecimento. Na fase 3, ainda há o declínio cognitivo leve, entretanto, a perda da memória fica mais rotineira, o paciente não se lembra de algo que acabou de ler, faz perguntas repetidamente, e pode ser perder em local não conhecido (BERLEZE, 2022).

No estágio moderado, na fase 4 são comuns dificuldades mais evidentes com atividades do dia a dia, esquecimento de detalhes sobre si mesmo, não se lembrar do mês ou estação do ano que está, incapacidade de viver sozinho, necessidade de ajuda com a higiene pessoal e autocuidados. Na fase 5 já ocorre o declínio cognitivo moderadamente grave, onde a pessoa não consegue mais sobreviver sem assistência. Na fase 6, já condiz com o estágio grave da DA e o paciente já está com declínio cognitivo grave, confundindo pessoas mais próximas, tendo alucinações e necessitando de assistência para sobreviver. Na última fase, o declínio cognitivo é muito grave, o paciente não consegue realizar atividades básicas, como comer e caminhar (BERLEZE, 2022).

Os sintomas da DA perduram imperceptíveis por anos, talvez, devido ao não diagnóstico preciso da patogenicidade dessa enfermidade. Assim a literatura sugere algumas hipóteses como etiologia dessa enfermidade, dentre as quais se incluem os baixos níveis de acetilcolina (ACh) no hipocampo e área do córtex cerebral (hipótese colinérgica) (MO *et al*., 2020).

2.6.1. Acetilcolinesterase

A enzima acetilcolinesterase (AChE) é uma das responsáveis pelo equilíbrio da concentração de acetilcolina, através da desativação do neurotransmissor na fenda sináptica (LARIK *et al*., 2018). A AChE atua principalmente na junção neuromuscular, onde está envolvida na terminação da transmissão do impulso na região sináptica, (etapa da hidrólise da ACh) e recicla o transmissor, etapa da produção de colina e acetato (desintegra a Ach rapidamente em 10.000 moléculas/segundo) (MESULAM *et al*., 2002; MESHORER *et al*., 2004).

Além da relação com a perda das funções cognitivas (baixo nível da acetilcolina), outra característica patológica da DA cuja AChE é responsável, é a formação de placa senil (depósitos extracelulares de agredados de peptídeos β-amilóide) devido aos complexos de maior neurotoxicidade (derivadas insolúveis de peptídeos A-beta) (TORRES *et al*., 2012; HWANG *et al*., 2021).

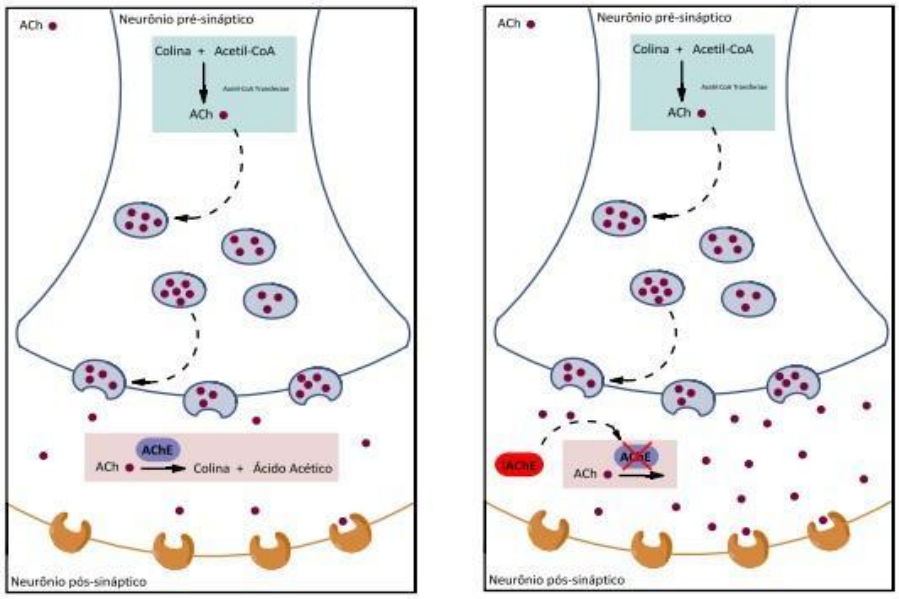
Assim, a hipótese colinérgica cita a necessidade de inibir a ação da enzima acetilcolinesterase, como uma forma de tratamento da DA, visando manter um nível de ACh, no qual as transmissões sinápticas permanecem estáveis (AKINCIOĞLU e GÜLÇIN, 2020).

2.6.2. Inibidores da Acetilcolinesterase

Um inibidor enzimático é uma molécula que se liga a uma enzima com o objetivo de diminuir a sua atividade (GÖÇER *et al*., 2013). Esses inibidores, ao participarem de uma das

etapas da reação catalítica com a enzima, geram alterações na estrutura desta, e de acordo com o mecanismo de reação são classificados em reversível e irreversível (LIEBERMAN *et al.*, 2009). A inibição reversível ocorre quando o inibidor se liga ao sitio ativo ou à outra parte da cadeia polipeptídica da enzima, através de ligação não covalente, enquanto na inibição irreversível, a ligação covalente ocorre apenas com sítio ativo da enzima (ZENKI, 2014).

Os inibidores da AChE (iAChE) são denominados anticolinesterásicos e tem a função de retardar a degradação da ACh, assim o neurotransmissor passa mais tempo na fenda sináptica, intensificando a transmissão colinérgica, Figura 9 (ARAÚJO *et al*., 2016).



A B

Fonte: Araújo *et al.* (2016)

Figura 9. Sinapse colinérgica: (A) sem inibição da enzima acetilcolinesterase; (B) com inibição da enzima acetilcolinesterase.

No processo de inibição da acetilcolinesterase, tanto o mecanismo irreversível como o reversível foram detectados. Um exemplo da inibição irreversível é através dos inseticidas organofosforados (o diisopropilfluorofosfato), que são frequentemente utilizados no controle de pragas em plantações (SILVA et al. 2012).

Tais inseticidas, reagem com o sítio ativo da acetilcolinesterase, formando um intermediário organofósforo, impedindo assim a ligação do substrato (acetilcolina). Esse intermediário, por ser mais estável que a acetilcolinesterase, reduz drasticamente a taxa de hidrólise e de regeneração da enzima, tornando-a inativa. Com a inibição da enzima, pelos compostos organofosforados, ocorre, em paralelo, o estímulo contínuo da acetilcolina e dos receptores (nicotínico e muscarínicos) responsáveis pelos efeitos tóxicos no sistema nervoso central e periférico (MANDOUR, 2013).

Em relação à inibição reversível da acetilcolinesterase, destacam-se os carbamatos, de estrutura (-NHCOO-), que são geralmente utilizados com finalidade terapêutica, em doenças neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson e demência com corpos de Lewy) (SINGH e SADIQ, 2020). O efeito reversível da ação inibitória do carbamato está na baixa estabilidade do complexo AChE-carbamato, que pode sofrer hidrólise em meio aquoso, ocasionando a reativação da enzima SILVA, 2015; ARAÚJO et al., 2016). Entretanto, a taxa de descarbamilação desse complexo é muito lenta, o que, permite diminuir a taxa de degradação da acetilcolina, aumentando a neurotransmissão colinérgica (COLOVIĆ *et al*., 2013; MAGAR *et al*., 2021).

O primeiro anticolinesterásico natural detectado, foi em 1970, a fisostigmina, um alcaloide (carbamato) obtido a partir da espécie *Physostigma venenosum L* (BITZINGER *et al*., 2019). O desenvolvimento da fisostigmina como tratamento potencial para a DA foi prejudicado por seu curto período de meia vida (aproximadamente 30 minutos) e alguns efeitos colaterais (BRUNTON *et al*., 2003).

A partir do ano 2000, novos compostos naturais de inibição reversíveis da AChE foram apresentados (AHMED *et al*., 2021). Dentre eles, a galantamina, um alcaloide obtido a partir de algumas espécies com flores bulbosas da família da Amaryllidaceae (TAKOS e ROOK, 2013). O destaque da galantamina, é que seu mecanismo de inibição da acetilcolinesterase é duplo, ou seja, ao mesmo tempo que inibe a enzima, também modula alostericamente o receptor nicotínico como agonista, o que permite uma ação prolongada, seletiva, reversível e competitiva e seus efeitos perduram além do findar do tratamento (VIEGAS *et al*., 2004).

Além do efeito iAChE, o tratamento com a galantamina gera variadas respostas benéficas ao cérebro, sendo uma alternativa de tratamento para todos os graus da DA (LI *et al.*, 2019). Os pacientes que fazem uso da galantamina respondem ao estresse por privação de glicose e oxigênio (testes *in vitro* e *in vivo*) (EGEA *et al.* 2012), apresentam redução dos níveis de peptídeo βA em cultura de células e no líquido cefalorraquidiano (MATHARU *et al*., 2009), degradação da deposição de placas amiloides (BHATTACHARYA *et al*., 2014) e promoção de neurogênese no hipocampo (KITA *et al*., 2014).

Segundo Koirala *et al.* (2022) a elevada demanda por galantamina, incentiva os pesquisadores a buscarem alternativas viáveis para a comercialização da mesma em maior escala. Entretanto, a complexa síntese orgânica de tal composto, reforçou a necessidade de vias biotecnológicas alternativas, como a obtenção de outros compostos naturias, com efeito iAChe semelhante, advindos de espécies vegetais, as quais biossintetizam esses metabólitos naturalmente (TAKOS e ROOK, 2013).

Por essas vias biotecnológicas, comprovou-se que outros metabólitos secundários (terpenos, cumarinas e polifenóis) possuem efeito inibidor da AChE (TAMFU *et al*., 2021). Tal processo enfatiza a busca por novas drogas anti-DA a partir de extratos vegetais, sem relação direta entre a polaridade dos solventes e a atividade iAChE, ratificando os efeitos inibidores de metabólitos não alcaloides (MURRAY *et al*., 2013).

Nesse contexto, o potencial das plantas brasileiras frente à inibição da AChE, é cada vez mais promissor. Segundo Lopes *et al*. (2022), nos últimos dez anos, foram relatadas 110 espécies inibidoras da AChE, sendo que mais de 66% destas, apresentaram elevado potencial. Entretanto, esses dados ainda são escassos, quando se trata da biodiversidade brasileira, que possui a maior flora mundial (IBGE, 2019).

Atualmente as pesquisas com plantas medicinais do Cerrado, vêm se destacando, principalmente por este bioma apresentar elevada heterogeneidade, tanto em tipo de solo, geologia, geomorfologia e clima, quanto em tipos de vegetação, decorrente do bioma abranger as cinco regiões brasileiras (COLLI *et al*., 2020).

2.7. REFERÊNCIAS

ABDALA, K.; CARLOS, S. Bioprospective potential in the traditional use of herbal medicines in an institution in Central Brazil. **Journal of Medicinal Plants Research.** v. 14, p. 389-405, 2020.

ABDELSALAM, N.; MEGEED, A; ALI, H.; SALEM, M.Z.; AL-HAYALI, M.; ELSHIK, M.S. Genotoxicity effects of silver nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.) root tip cells B. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, vol. 155, pp. 76-85, 2018.

ABUBAKAR, A.R.; HAQUE, M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. **Journal of Pharmacy and Bioallied Science**, vol. 12, n. 1, pp. 1-10, 2020.

ADIBAH, K.Z.M.; AZZREENA, M.A. Plant toxins: alkaloids and their toxicities. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, vol. 6, n. 2, 021–029, 2019.

AGENCIABRASILIA. **Fitoterápicos da Farmácia Viva são distribuídos em 22 UBSs**. 2021. Disponível em: https://www.agenciabrasilia.df.gov.br/2021/05/25/rfitoterapicos-da-farmacia-viva-sao-distribuidos-em-22-ubss/. Acesso em: 10/11/2022.

AKINCIOĞLU, H.; GÜLÇIN, İ. Potent acetylcholinesterase inhibitors: Potential drugs for Alzheimer's disease. **Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 8, 2020.

ALAM, M.N.; BRISTI, N.J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidante activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013.

ALVES, A.A.; SALES, R.O.; NEIVA, J.N.M.; MEDEIROS, A.N.; BRAGA, A.P.; AZEVEDO, A.R. Degradabilidade ruminal in situ de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 1045-1051, 2007.

ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; BAHIA, M.V.; AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, 2010.

ALVES, L.R.; DE OLIVEIRA, R.J.; COIMBRA, R.R.; FERREIRA, W.M. Crescimento inicial de *Parkia platycephala* (Benth.) e *Enterolobium timbouva* (Mart.) sob condições de campo numa área de Cerrado. **Revista Ceres**, v. 63, n. 2, p. 154-164, 2016.

ALVES, P. L.C.A. Potencial alelopático de extratos aquosos de plantas daninhas. *In:* Silva, J.F; MARTINS, D. **Manual de Aulas Práticas de Plantas Daninhas**. Jaboticabal, Funep, 2013. p.p. 17-24.

ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.A.; JÚNIOR, A.S.; ZANI, C.L. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-73, 2000.

ANNESLEY, S.J.; FISHER, P.R. Mitocôndrias na saúde e na doença. **Cells**, vol. 8, n. 7, 680. 10.3390/cells8070680, 2019.

ANVISA, Secretaria Executiva da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos. **Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico.** Edição Comemorativa. Brasília. 2021 Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=3521275&_101_type=document. Acesso em: 13/11/2022.

AQUINO, F.G.; WALTER, B.M.T.; RIBEIRO, J.F. Espécies vegetais de uso múltiplo em reservas legais de cerrado - Balsas, MA. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 147-149, 2007.

ARAÚJO, C.R.M.; SANTOS, V.L.A.; GONSALVES, A.A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, 2016.

ARGENTA, S.C..; ARGENTA, L.C.; GIACOMELLI, S.R.; CEZAROTTO, V.S. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências.** v. 7, n. 12, p.51-60, 2011.

ALZUALDE, A.; JAKA, O.; LATINO, D.A.R.S.; ALIJEVIC, O.; ITURRIA, I.; MENDOZA, J. H.; POSPISIL, P. *et al*. Efeitos dos alcaloides ativadores de receptores nicotínicos de acetilcolina no comportamento semelhante à ansiedade em peixe-zebra. **Jornal de Medicamentos Naturais**, vol. 75, pp. 926–941, 2021.

BAGATINI, M.D.; SILVA, A.C.F.; TEDESCO, S.B. Uso do sistema de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n.3, p. 444-447, 2007.

BAILÃO, E.F.L.C.; DEVILLA, I.A.; DA CONCEIÇÃO, E.C.; BORGES, L.L. Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. **Internation Journal of Molecular Science**, vol.16, p. 23760–23783, 2015.

BARBOSA, F.M. **CERRADANIA: Alumeia e óia pros encantamentos dos cerratenses**. 1. ed. Brasília: Clube de Autores, 2017. 190 p.

BARI, A.U.; SANTIAGO, M.Q.; OSTERNE, V.J.S.; PINTO-JUNIOR, V.R.; PEREIRA, L.P.; SILVA-FILHO, J.C.; DEBRAY, H.; ROCHA, B.A.M.; DELATORRE, P.; TEIXEIRA, C.S.; et al. Lectins from *Parkia biglobosa* and *Parkia platycephala*: A comparative study of structure and biological effects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 194–201, 2016.

BASEGGIO, Ediane Roncaglio. **Óleos essenciais e extratos vegetais no controle de *Monilinia fructicola in vitro* e da podridão parda na pós-colheita de pêssegos.** Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2021.

BERLEZE, M.C.C. **Sete fases do Alzheimer**. Brasil: Moderna idade, 2022. Disponível em:https://www.modernaidade.com.br/7-fases-do-alzheimer/. Acesso em: 15/02/2022.

BFG, Brazil Flora Group. Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. Taxon, vol. 71, n. 1, pp. 178-198, 2021.

BHATTACHARYA, S.; HAERTE, C.; MAELICKE, A.; MONTAG, D. Galantamine slows down plaque formation and behavioral decline in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. **Plos One,** v. 9:p. 89454, 2014.

BHATTACHARYA, A. **Effect of High Temperature on Crop Productivity and Metabolism of Macro Molecules**, 1ed. 2019, p.391–484. doi:10.1016/b978-0-12-817562-0.00005-7

BIAZOTTO, Fúvia de Oliveria. **Atividade antioxidante, anticolinesterásica e perfil metabolômico de diferentes tipos de pimentas: implicações na doença de Alzheimer.** Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

BIJLSMA, J.; BRUIJN, W.J.C.; VELIKOV, K.P.; VINCKEN, J.P. Unravelling discolouration caused by iron-flavonoid interactions: Complexation, oxidation, and formation of networks. **Food Chemistry**, vol. 370, Article 131292, 2022.

BITZINGER, D.I.; GRUBER, M.; TÜMMLER, S.; MALSY, M.; SEYFRIED, T.; WEBER, F.; REDEL, A.; GRAF, B.M.; ZAUSIG, Y.A. *In vivo* effects of neostigmine and physostigmine on neutrophil functions and evaluation of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as inflammatory markers during experimental sepsis in rats. Mediators of Inflammation, v. 2019, 8274903, 2019.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

BOSE, U.; BALA, V.; GHOSH, T.N.; GUNASEKARAN, K.; RAHMAN, A.A. Antinociceptive, cytotoxic and antibacterial activities of *Cleome viscosa* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 165-169, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. **Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências.** Brasília: Ministério da Saúde, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS** - PNPIC-SUS / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - Brasília: Ministério da Saúde, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 886, de 20 de abril de 2010**. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS).** Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumo Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos** / Ministério da Saúde Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento d Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde apoia ampliação de Farmácias Vivas em todo o País.** 2021. Disponível em: https://aps.saude.gov.br/noticia/11336. Acesso em: 14/11/2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Sistema nacional de gestão do patrimônio genético nacional e do conhecimento tradicional associado – Publicidade de cadastros e notificações. 2020. Disponível em: https://sisgen.gov.br/paginas/publicidade.aspx. Acesso em: 15/11/2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Lei nº 13123, de 20 de maio de 2015. **Dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional**

associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade e dá outras providências. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity., LWT - **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRITO-DA-COSTA, A.M.; DIAS-DA-SILVA, D.; GOMES, N.G.M.; DINIS-OLIVEIRA, R.J.; MADUREIRA-CARVALHO, Á. Toxicokinetics and Toxicodynamics of *Ayahuasca* Alkaloids N,N-Dimethyltryptamine (DMT), Harmine, Harmaline and Tetrahydroharmine: Clinical and Forensic Impact. **Pharmaceuticals**, vol. 13, 334, 2020.

BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. Goodman e Gilman: As bases farmacológicas da Terapêutica. 10 ed., Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2003. p.1647.

BULHÃO, C.F.; FIGUEIREDO, P.S. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no Maranhão. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 25, n. 3, p. 361-369, 2002.

CAMARGOS, V.L.; MARTINS, S.V.; RIBEIRO, G.A.; CARMO, F.M.S.; SILVA, A.F. Avaliação do impacto do fogo no estrato de regeneração em um trecho de floresta estacional semidecidual em Viçosa, MG. **Revista Árvore**, v. 34, n. 6, p.1055 -1063, 2010.

CAMPOS, S.C.; SILVA, C.G.; CAMPANA, P.R.V.; ALMEIDA, V.L. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais,** v.1, n.8, suppl 1, 2016.

CALIXTO JB. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, vol. 91, e20190105, 2019.

CARVALHO, A.C.B.; LANA, T.N.; PERFEITO, J.P.S.; SILVEIRA, D. The Brazilian market of herbal medicinal products and the impacts of the new legislation on traditional medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 29–35, 2018.

CASTRO, M.R; LÉDA, P.H.O. Normativas sanitárias e a distribuição geográfica na fabricação de fitoterápicos no Brasil. **Revista Fitos,** v. 15, n.4, p. 550-565. 2021.

CAVADA, B.S.; BARI, A.U.; PINTO-JUNIOR, V.R. et al. Purification and partial characterization of a new lectin from *Parkia panurensis* Benth. ex H.C. Hopkins seeds (Leguminosae family; Mimosoideae subfamily) and evaluation of its biological effects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 845-855, 2020.

CHALKER-SCOTT, L.; FUCHIGAMI, L.H. The role of phenolic compounds in plant stress responses. In: **Low temperature stress physiology in crops**. CRC Press, p. 67-80, 2018.

COLLI, G.R.; VIEIRA, C.R.; DIANES, J.C. Biodiversity and conservation of the Cerrado: recente advances and old challenges. **Biodiversity and Conservation**, vol. 29, p. 1465–1475, 2020.

COLOVIĆ, M.B.; KRSTIĆ, D.Z.; LAZAREVIĆ-PAŠTI, T.D.; BONDŽIĆ, A.M.; VASIĆ, V.M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current Neuropharmacology**, vol. 11, n. 3, pp. 315-35, 2013.

COSTALONGA, Schirley Aparecida, **Avaliação dos efeitos alelopáticos e mutagênicos de formas extrativas de *Passiflora edulis* Sims por meio do bioensaio *Allium cepa.*** 2009. 2009. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

COX-GEORGIAN, D.; RAMADOSS, N.; DONA, C. Therapeutic and medicinal uses of terpenes. **Medicinal Plants: From Farm to Pharmacy**, p. 333–359. 2019, doi:10.1007/978-3-030-31269-5_15.

CRUZ, E.D.; QUEIROZ, R.J.B. **Germinação de sementes de espécies amazônicas: faveira-preta (*Parkia platycephala* Benth.)**. Comunicado Técnico 306. Belém, Embrapa. 2019.

CUNHA, A.L.; MOURA, K.S.; BARBOSA, J.C.; SANTOS, A.F. Fundamentos químicos da ação dos radicais no organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 1, p. 08-13, 2016.

DESMEDT, W.; MANGELINCKX, S.; KYNDT, T.; VANHOLME, B. A phytochemical perspective on plant defense against nematodes. **Frontiers in Plant Science**, vol. 11, 602079, 2020.

DEWICK, P. M. 2002. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2nd ed. New York, Ed John Wiley & Sons Ltd, 2002. p.507.

DHODARE, G. D; WANDHARE, G. D; JIRAPURE, M. N; DUMORE, N. S. Extraction of Aloin from *Aloe vera* by using Soxhlet apparatus. **International Journal for Engennering Applications and Technology**, 2015.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, vol. 112, p.4–29, 2016.

DZIAŁO M., MIERZIAK J., KORZUN U., PREISNER M., SZOPA J., KULMA A. The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. **International Journal of Molecular Science**, v. 17, p. 160–201, 2016.

EGEA, J.; MARTIN-DE-SAAVEDRA, M.D.; PARADA, E.; ROMERO, A.; DEL BARRIO, L.; ROSA, A.O.; GARCIA, A.G.; LOPEZ, M.G. Galantamine elicits neuroprotection by inhibiting iNOS, NADPH oxidase and ROS in hippocampal slices stressed with anoxia/reoxygenation. **Neuropharmacology**, v. 62:1082–1090, 2012.

EMBRAPA. EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. **Plantas Medicinais nos Biomas Brasileiros.** Brasília: EMBRAPA, 2010. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/871881>. Acesso em: 25/01/2022.

FÃO, F.; ZAN, R.A.; BRONDANI, F.M.M.; RAMOS, L.J.; MENEGUETTI, D.U.O. Análise do potencial mutagênico da seiva da casca de *Croton lechleri* (Müll. Arg), no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental. **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, p. 91-98, 2012.

FERNANDES, H.B.; SILVA, F.V.; PASSOS, F.F.B.; BEZERRA, R.D.S.; CHAVES, M.H.; OLIVEIRA, F.A.; OLIVEIRA, R.C.M. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biological Research**, v. 43, n. 1, p. 451-57, 2010.

FISKEJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, p. 99-112, 1985.

FORZZA, R.C.; BAUMGRATZ, J.F.A.; BICUDO, C.E.M.; et al. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**, v. 2. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p.871.

FLOEGEL, A.; KIM, D.O.; CHUNG, S.J.; KOO, S.I.; CHUN, O.K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 24, n. 7, pp. 1043–1048, 2011.

FRANCO, D.P.; PEREIRA, T.M.; VITORIO, F.; NADUR, N.F.; LACERDA, R.B.; KÜMMER, A.E. A importância das cumarinas para a química medicinal e o desenvolvimento de compostos bioativos nos últimos anos. **Quimica Nova**, v. 44, n. 2, p. 180-197, 2021.

FCG, FUNDAÇÃO CALOUSTE GULBENKIAN. **Dossier Ciência em Cena: O Cérebro e as Doenças Neurodegenerativas**. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 2015. Disponível em:https://content.gulbenkian.pt/wp-content/uploads/sites/16/2018/04/24100926/Dossie_2015_Neurodegenerativas.pd. Acesso em:20/02/2022.

GÖÇER, H.; AKINCIOĞLU, A.; ÖZTAŞKIN, N.; GÖKSU, S.; GÜLÇIN, İ. Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds. **Arch Pharm (Weinheim)**, v. 346, n. 11, p. 783-792, 2013.

GONZÁLEZ-SARRÍAS, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GARCÍA-VILLALBA, R. Structural diversity of polyphenols and distribution in foods. In **Dietary Polyphenols: Their Metabolism and Health Effects**. Wiley: Chichester, UK, pp. 1–29, 2020.

GOUVEIA, S.S; LIMA, A.A. Relação entre espécies reativas de oxigênioe a promoção carcinogênica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, vol. 20, n. 3, pp. 174-179, 2017.

GRUDZINSKI, W.; NIERZWICKI, L.; WELC, R.; RESZCZYNSKA, E.; LUCHOWSKI, R.; CZUB, J.; GRUSZECKI, W.I. Localization and orientation of xanthophylls in a lipid bilayer. **Scientific Reports**, vol. 7, :9619, 2017.

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology,** 2020.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; LÓPEZ-IBÁÑEZ, S.; MAGADÁN-CORPAS, P.; FERNÁNDEZ-CALLEJA, L.; PÉREZ-VALERO, Á.; TUÑÓN-GRANDA, M. *et al.* Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation. **Antioxidants**, vol. 10, 1264, 2021.

HARADA, Thaís Nichikuma. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais.** 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

HOPKINS HCF. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoidea). Flora Neotropica, vol. 43, p. 1–123, 1986.

HUSSAIN, M.; DEBNATH, B.; QASIM, M.; BAMISILE, B. S.; ISLAM, W.; HAMEED, M. S. *et al*. Role of Saponins in Plant Defense Against Specialist Herbivores. **Molecules**, vol. 24, n. 1, 2067, 2019.

HWANG, J.; YOUN, K.; LIM, G.; LEE, J.; KIM, D.H.; JUN, M. Discovery of Natural Inhibitors of cholinesterases from *Hydrangea*: *In Vitro* and In Silico Approaches. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 254, 2021.

IBIAPINA, W.V.; LEITÃO, B.P.; BATISTA, M.M.; PINTO, D. S. Inserção da Fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS. **Rev. Ciência Saúde Nova Esperança**. v.12, n. 1, p. 58-68, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Biomas e sistema costeiro-marinho do Brasil: compatível com a escala 1:250 000**, Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. - Rio de Janeiro: IBGE, 2019. p.164.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Inventários da Biodiversidade do Bioma Cerrado: Biogeografia de Plantas.** Rio de Janeiro, IBGE, 2007. p.14.

ISAH, T. Stress and Defense Responses in Plant Secondary Metabolites Production. **Biological Research**, v.52, n. 39, p. 52- 39, 2019.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: Fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.

KAAB, S.B.; REBEY, I.B.; HANAFI, M.; HAMMI, K.M.; SMAOUI, A.; FAUCONNIER, M.L. *et al*. Screening of Tunisian plant extracts for herbicidal activity and formulation of a bioherbicide based on Cynara cardunculus. **South African Journal of Botany**, vol. 128, pp. 67–76, 2020.

KARABEGOVIĆ, I.T.; STOJIČEVIĆ, S.; VELIČKOVIĆ, D.T.; TODOROVIC, Z. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p.142-148, 2014.

KITA, Y.; AGO, Y.; HIGASHINO, K.; ASADA, K.; TAKANO, E.; TAKUMA, K.; MATSUDA, T. Galantamine promotes adult hippocampal neurogenesis via M1 muscarinic and α 7 nicotinic receptors in mice. **International Journal of Neuropsychopharmacology,** v. 17, p.1957–1968, 2014.

KEDARE, S.; SINGH, R. Genesis and development of DPPH• method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KOIRALA, M.; KARIMZADEGAN, V.; LIYANAGE, N.S.; MÉRINDOL, N.; DESGAGNÉ-PENIX, I. Biotechnological Approaches to Optimize the Production of Amaryllidaceae Alkaloids. **Biomolecules**, vol.12, 893, 2022.

KORTBEEK, R.W.J.; VAN DER GRAGT, M.; BLEEKER, P.M. Endogenous plant metabolites against insects. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, n. 1, p. 67-90, 2019.

KRUK, J.; ABOUL-ENEIN, B.H.; DUCHNIK, E.; MARCHLEWICZ, M. Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise. **The Journal of Physiological Sciences**, vol. 72, 19, 2022.

KUMAR, N.; GOEL, N. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology reports**. v. 24: e00370. 2019.

KUMAR N., GUPTA S., YADAV TC, PRUTHI V., VARADWAJ PK, GOEL N. Extrapolation of phenolic compounds as multi-target agents against cancer and inflammation. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics,** v. 37, n. 9, p. 2355–2369, 2019.

LACERDA, C.D.; CAMBRAIA, J.; OLIVA, RUIZ, M.A.; H.A. Influência do cálcio sobre o crescimento e solutos em plântulas de sorgo estressadas com cloreto de sódio**. Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 2, p. 289-295, 2004.

LACERDA, V.O.; MAPELI, A.M. Efeitos da sazonalidade sobre a fenologia e a fisiologia de *Parkia platycephala* Benth (Fabaceae, Caesalpinioideae) em área de Cerrado. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 3, p. 1344-1363, 2021.

LEE, H.-A.; LEE, H.-Y.; SEO, E.; LEE, J.; KIM, S.-B.; OH, S.; CHOI, E.; CHOI, E.; LEE, S.E.; CHOI, D. Current understandings on plant nonhost resistance. **Molecular Plant-Microbe Interactions,** vol. 30, pp. 5–15, 2017.

LEITE, G.O.; SANTOS, S.A.A.R.; BEZERRA, F.M.D.H.; SENA E SILVA, F.E.; RIBEIRO, A.D.C.; ROMA, R.R.; SILVA, R.R.S. et al. Is the orofacial antinociceptive effect of lectins intrinsically related to their specificity to monosaccharides? **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 1079–1085, 2020.

LI, D.D.; ZHANG, Y.H.; ZHANG, W.; ZHAO, P. Meta-analysis of randomized controlled trials on the efficacy and safety of donepezil, galantamine, rivastigmine, and memantine for the treatment of Alzheimer's Disease. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, p. 472, 2019.

LIEBERMAN, M., MARKS, A.D., SMITH, C.M. **Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach**. 3rd ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2009. p.634.

LIU, T.; ZHANG, M.; LIU, W.; ZENG, X.; SONG, X.; YANG, X.; ZHANG, X.; FENG, J. Metal ion/tannic acid assembly as a versatile photothermal platform in engineering multimodal nanotheranostics for advanced applications. **ACS Nano**, vol. 12, n.4, pp. 3917–27, 2018.

LOPES, F.F. S.; FROTA, L.S.; FONTENELE, G.A.; SILVA, M.V.F.; FERNANDES, V.B.; MONTES, R.A.; MORAIS, S.M. Plantas brasileiras com ação anticolinesterásica – uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n.1, e6211124262, 2022.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 5 ed., v. 2. Nova Odessa, Ed. Instituto Plantarum, 2002. p.352.

LUO, W.; RODINA, A.; CHIOSIS, G.; **BMC Neuroscience,** v. 9, S7, 2008.

MACÁKOVÁ, K.; AFONSO, R.; SASO, L.; MLADĚNKA, P. The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. **Free Radical Biology and Medicine**, v.134, p. 429-444, 2019.

MAGAR, P.; PARRAVICINI, O.; ŠTĚPÁNKOVÁ, Š.; SVRČKOVÁ, K.; GARRO A.D.; JENDRZEJEWSKA, I.; PAUK, K.; HOŠEK, J. *et al.* Novel Sulfonamide-Based Carbamates as Selective Inhibitors of BChE. **International Journal of Molecular Sciences,** vol. 22, n. 17, 9447, 2021.

MANDOUR, R. Environmental risks of insecticides cholinesterase inhibitors. **Toxicology International**, v. 20, n. 1, pp.30–4, 2013.

MANZANARES, D.L.; MORILLA, L.J.G.; MALAWANI, A.D.; LAGARE, N.J.S.; ABRENICA-ADAMAT, L.R. Effects of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extract on early life stages of *Artemia salina*. **Advances in Environmental Sciences**, v. 7, p. 468–474, 2015.

MATHARU B, GIBSON G, PARSONS R, HUCKERBY TN, MOORE SA, COOPER LJ, MILLICHAMP R, ALLSOP D, AUSTEN B. Galantamine inhibits β-amyloid aggregation and cytotoxicity. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 280, p. 49–58, 2009.

MCGILL-CARTER, T. Market analysis Alzheimer's disease 2020. **Journal of Psychiatry**, vol. 22, pp.21-22, 2020.

MCLAUGHLIN J.L., ROGERS, L.L, ANDERSON, J.E. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Information Journal**, v. 32, p. 513–524, 1998.

MENDES, F.N.; RÊGO, M.M.C.; ALBUQUERQUE, P.M.C. Fenologia e biologia reprodutiva de duas espécies de *Byrsonima Rich*. (Malpighiaceae) em área de Cerrado no Nordeste do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 4, p.103-115, 2011.

MENEGUETTI, D.U.O.; LIMA, R.A.; SILVA, J.B.; SILVA, R.P; PAGOTTO, R.C.; FACUNDO, V.A. Análise Citotóxica e Mutagênica do Extrato Aquoso de Maytenus guyanensis Klotzsch Ex Reissek (Celastraceae) Chichuá (Xixuá) Amazônico. **Ciência e Natura**, v. 36, n. 3, p.301– 309, 2014.

MENEZES FILHO, A.C.P.; OLIVEIRA FILHO, J.G.; SOUZA, J.C.P.; CASTRO, C.F.S. Avaliação de diferentes solventes para extração dos compostos fenólicos totais da farinha do fruto Calabur (*Muntingia calabura* Linn.). **Biota Amazônia**, v. 9, n. 2, p.21-23, 2019.

MERCADO, S.A.S.; CALEÑO, J.D.Q. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicator. **Science of the Total Environment**, vol. 700, 134452, 2020.

MERINO, F.J.Z.; OLIVEIRA, V.B.; PAULA, C.S.; CANSIAN, F.C.; SOUZA, A.M.; ZUCHETTO, M. *et al.* Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.17, n.4, supl. III, p.1031-1040, 2015.

MESHORER, E.; TOIBER, D.; ZUREL, D.; SAHLY, I.; DORI, A.; CAGNANO, E.; SCHREIBER, L.; GRISARU, D.; TRONCHE, F.; SOREQ, H. Combinatorial complexity of 5′ alternative acetylcholinesterase transcripts and protein products, **Journal of Biological Chemistry** v. 279, n. 28, p. 29740–29751, 2004.

MESULAM, M.M.; GUILLOZET, A.; SHAW, P.; LEVEY, A.; DUYSEN, E.G.; LOCKRIDG, E O. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. **Neuroscience,** v. 110, n. 4, p. 627-39, 2002.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH• assay: A critical review and results, **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1036-1043, 2012.

MO, J.; CHEN, T.; YANG, H.; GUO, Y.; LI, Q.; QIAO,V; LIN, H.; FENG, V; LIU, W.; CHEN, Y.; LIU, Z.; SUN, H. Design, synthesis, *in vitro* and *in vivo* evaluation of benzylpiperidine-

linked 1,3-dimethylbenzimidazolinones as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 330-343, 2020. DOI: 10.1080/14756366.2019.1699553

MOHAMMAD, Suham Nowrooz. **Avaliação da proteção à toxicidade do cloreto de chumbo por isoterápico em modelo de *Artemia salina***. 2020. Dissertação (Mestrado em Patologia Ambiental e Experimental). Universidade Paulista. São Paulo. 2020.

MURRAY, A.P.; FARAONI, M.B.; CASTRO, M.J.; ALZA, N.P.; CAVALLARO, V. Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 388–413, 2013.

NASCIMENTO, J.E.; MELO A.F.M.; LIMA, T.C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E.M. ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthu* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 145 150, 2008.

NAWAZ, H.; SHAD, M. A.; REHMAN, N.; ANDALEEB, H.; ULLAH, N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidante properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences,** vol. 56, e17129, 2020.

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

NEVES, Camila Siqueira. **Pfaffia glomerata Spreng. Pedersen (Ginseng brasileiro): Citogenotoxidade no ensaio de *Allium cepa* L**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora. 2013. Disponível em: < https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/988>. Acesso em: 18/01/2022.

NEWALL, C.A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. **Plantas Medicinas: Guia para profissional de saúde.** 1ed. Porto Alegre, Premier, 2002, p.308.

ODETTI, L. M., LÓPEZ GONZÁLEZ, E. C., ROMITO, M. L., SIMONIELLO, M. F.; POLETTA, G. L. Genotoxicity and oxidative stress in *Caiman latirostris* hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, vol. 193, 110312, 2020.

OLIVEIRA, A. F.; COSTA JUNIOR, L. M.; LIMA, A. S.; SILVA, C. R.; RIBEIRO, M. N. S.; MESQUISTA, J. W. C.; ROCHA, C. Q.; TANGERINA, M. M. P.; VILEGAS, W. Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. **Veterinary Parasitology**, v. 236, p. 121-127, 2017.

OLIVEIRA, S.R.; LIMA-RIBEIRO, M.S.; SOUZA, A.O.; SANTOS, C.E.; SILVA, K.V.; ZÓRTEA, M.; GUILHERME, F.A.G.; MELO, F.R.; CARNEIRO, S.E.S.; SILVA, W.V.; MORAIS, A.R. Are protected áreas effective in preserving anurans and promoting biodiversity discoveries in the Brazilian Cerrado? **Journal for Nature Conservation**, v.52, 125734, 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE/UNICEF – OMS. **Cuidados Primários de Saúde**. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1979. p.64.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS. **Regulatory situation of herbal medicines**. A world wide review, 1998.

OTAEGUI-ARRAZOLA, A.; AMIANO, P.; ELBUSTO, A.; URDANETA, E.; MARTÍNEZ-LAGE, P. Diet, cognition, and Alzheimer's disease: food for thought. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 1-23, 2014.

PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of stadardization, extraction and pr phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemitry**, v. 2, n. 5, p. 115-9, 2014.

PAVARINI, D.P., PAVARINI, S.P., NIEHUES, M., LOPES, N.P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, p.5-16, 2012.

PENA, R.A. **Cerrado: a farmácia verde do Brasil.** 2021. Disponível em: https://www.wwf.org.br/?71422/Cerrado-a-farmacia-verde-do-Brasil. Acesso em: 10/11/2022.

PENIDO, A.B.; MORAIS, S.M.; RIBEIRO, A.B.; ALVES, D.R.; RODRIGUES, A.L.M.; SANTOS, L.H.; MENEZES, J.E.S.A. Medicinal Plants from Northeastern Brazil against Alzheimer's Disease, **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2017, 1753673, 2017.

PINNA, N.; IANNI, F.; BLASI, F.; STEFANI, A.; CODINI, M.; SABATINI, S.; SCHOUBBEN, A.; COSSIGNANI, L. Unconventional extraction of total non-polar carotenoids from pumpkin pulp and their nanoencapsulation. **Molecules**, vol. 27, 8240, 2022.

PIRES, N.M.; OLIVEIRA, V.R. Alelopatia. In: Oliveira Júnior, R.S.; Constantin, J.; Inoue, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/51228/1/BMPD-cap5.pd>. Acesso em 24/01/2022.

POLETTO, P.O.; DINIZ, A.P.; BERNARDON, B.; ZAN, R.A.; RAMOS, L.J.; MENEGUETTI, D.U.O. Análise da mutagenicidade do extrato hidrossolúvel de *Derris rariflora* (Mart. Ex Benth. J. F. Macbr: Fabaceae), timbó amazônico, através do teste micronúcleo em *Allium cepa*. **Revista Pesquisa & Criação**, v. 10, n. 1, p.163-175, 2011.

REIS, Graciene Dias. **Avaliação da atividade biológica do Taro [(Colocasia esculenta (L.) Schott)] no ensaio de letalidade com *Artemia salina* Leach, no teste antifúngico de microdiluição em caldo e na hipercolesterolemia em coelhos.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, 2011.

REZAIE, M.; FARHOOSH, R.; IRANSHAHI, M.; SHARIF, A.; GOLMOHAMDZADEH, S. Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (*Pistacia atlântica* subsp. mutica) hull using various solvents of different physicochemical properties. **Food Chemistry**, v. 173, p. 577-583, 2015.

ROCHA, J.D; CARNEIRO, F.M.; FERNANDES, A.S.; MORAIS, J.M.; BORGES, L.L.; CHEN-CHEN, L, *et al*. Toxic Potential of Cerrado Plants on Different Organisms. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 23, 3413, 2022.

RODRIGUES, L.C.A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B.S.; BEIJO, L.A.; KUMMROW, F. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano

em bioensaio com Lactuca sativa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099-1108, 2013.

RONDON NETO, R.M.; SANTOS, J.S.; SILVA, M.A.; KOPPE, V.C. Potencialidades de uso de espécies arbustivas e arbóreas em diferentes fisionomias de cerrado, em Lucas do Rio Verde/MT. **Revista de Biologia e Ciências da Terra.** v. 10, n. 2, p. 113-126, 2010.

ROSYADI, A.; FAIZAH, R.N.; NURI, N.; PUSPITASARI, E. Anticancer properties of methanolic extract of *Piper crocatum* leaf using BST and cytotoxicity on HeLa cell lines. **Ann Trop & Public Health**, vol. 23, n. 3, pp. 3-11, 2020.

RUFINO, M.S.M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 237 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal Rural do Semi- Árido, Mossoró, 2008.

SALEH, M.S.M.; JALIL, J.; ZAINALABIDIN, S.; ASMADI, A.Y.; MUSTAFA, N.H.; KAMISAH, Y. Genus *Parkia*: Phytochemical, Medicinal Uses, and Pharmacological Properties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 618, 2021.

SALMERÓN-MANZANO, E.; GARRIDO-CARDENAS, J.A.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2020, 17: 3376.

SAMPAIO, L.L.G. **Shedding light sobre a toxicidade de mistura de poluentes na biota aquática vegetal: um estudo envolvendo *Allium cepa* L.** 2021. 50 f. Dissertação (Mestrado em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado), Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2021.

SANO, E. E.; RODRIGUES, A. A.; MARTINS, E. S.; BETTIOL, G. M.; BUSTAMANTE, M. M. C.; BEZERRA, A. S.; COUTO JR, A. F.; VASCONCELOS, V.; SCHÜLER, J.; BOLFE, E. L. Cerrado ecoregions: a spatial framework to assess and prioritize Brazilian savana environmental diversity for conservation. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p.818-828, 2019.

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.

SHAOJIE, D.; WENLI, Z. Response of growth and development of *Artemia salina* to four kinds of heavy metals stress. **Procedia Environmental Sciences**, v. 12, p. 1164–1171, 2012.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G.C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; SHARIFI-RAD, M.; LOIZZO, MR.; ADEMILUYI, A.O.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, A.S.; IRITI, M. Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 02-55, 2017. doi: 10.3390/molecules22010070

SHARMA K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). **Molecular Medicine Reports**, vol. 20, pp.1479–87, 2019.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D.P. Estresse Oxidativo. **Annual Reviews of Biochememistry,** vol. 86, pp. 715-748, 2017.

SILVA, G.G.; LÉDA, P.H.O.; OLIVEIRA, D.R. Fitoterápicos disponíveis na RENAME e aquisição pelo SUS: uma contribuição para análise da PNPMF. **Revista Fitos**, 2022. Ahead of

print. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/136>. Acesso em: 19/11/2022.

SILVA, I.P.; MACHADO, F.A.; NASCIMENTO, M.P.S.C.B. Produção e valor nutritivo de vagens de três leguminosas arbóreas nativas do Nordeste. In: **Encontro de Iniciação Científica**, Teresina: FAPEPI, 2005.

SILVA, G.R.; BORGES, JR, I.; VILLAR, J.D.F; CASTRO, A.T. Defesa química: histórico, classificação dos agentes de guerra e ação dos neurotóxicos. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2083-2091, 2012.

SILVA, R.B.; MATOS, V.P.; FARIAS, S.G.G.; SENA, L.H.M.; SILVA, D.Y.B.O. Germinação e vigor de plântulas de *Parkia platycephala* Benth. Em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 142-150, 2017.

SILVA, R.R.S.; SILVA C.R.; SANTOS, V.F.; BARBOSA, C.R.S.; MUNIZ, D.F.; SANTOS, A.L.E.; SANTOS, M.H.C.; ROCHA, B.A.M.; BATISTA, K.L.R.; COSTA-JÚNIOR, L.M.; et al. *Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of *Haemonchus contortus*. **Microbial Pathogenesis**, v. 135, p. 103629, 2019.

SILVA, V.F.; VALLE, B. S.; SILVA, L.D.; RIBEIRO, R.S.G.; PEREIRA, C.S.S. Análise do rendimento do extrato da folha da *Aloe arborescens. In:* Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 2019, Uberlândia. **Anais** [...]. Minas Gerais: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2019.

SILVEIRA, F.A.O.; NEGREIROS, D.; BARBOSA, N.P.U.; BUISSON, E.; CARMO, F.F.; CARSTENSEN, D.W. *et al*. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: A neglected conservation priority. **Plant Soil**, vol. 403, p. 129–152, 2015.

SIMÕES, R., ALMEIDA, S. Estudo fitoquímico *Bauhinia forficata* (Fabaceae). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 1, p. 27-31, 2015.

SINGH, R.; SADIQ, N.M. **Cholinesterase Inhibitors**. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Disponível em: https://puBEMd.ncbi.nlm.nih.gov/31335056/, Acesso em: 21/12/2022.

SINITOX (Sistema Nacional de Informações Toxico Farmacológicas). **Registros de Intoxicações.** Brasil: SINITOX, 2017. Disponível em:https://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//Brasil7_1.pdf Acesso em: 02/02/2022.

SOUZA, A.L.G.; SILVA, G.F. Acesso legal ao conhecimento tradicional associado à biodiversidade no Brasil: Novas perspectivas nacionais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, e26510413999, 2021.

SYTAR O., HEMMERICH I., ZIVCAK M., RAUH C., BRESTIC M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi Journal of Biological Science**, v. 25, n. 4, p. 631-641, 2018.

TAKASHIMA, A. Comunidade quilombola preserva farmácia centenária com plantas do Cerrado. 2021. Disponível em: www.uol.com.br/ecoa/ultimas-

noticias/2021/06/01/comunidade-quilombola-preserva-farmacia-centenaria-com-plantas-do-cerrado.htm. Acesso em: 25/11/2022.

TAKOS, A.M.; ROOK, F. Towards a molecular understanding of the biosynthesis of Amaryllidaceae alkaloids in support of their expanding medical use. **International Journal of Molecular Science,** v. 14, p. 11713–11741, 2013.

TAMFU, A.N.; KUCUKAYDIN, S.; YESKALIYEVA, B.; OZTURK, M.; DINICA, R.M. Non-Alkaloid Cholinesterase Inhibitory Compounds from Natural Sources. **Molecules**, vol. 26, 5582, 2021.

TANABE, S.; O'BRIEN, J.; TOLLEFSEN, K.E.; KIM, Y.; CHAUHAN, V.; YAUK, C.; HULIGANGA, E.; RUDEL, R.A.; KAY, J.E.; HELM, J.S. *et al.* Reactive oxygen species in the adverse outcome pathway framework: toward creation of harmonized consensus key events. **Frontiers in Toxicology**, vol. 4, 887135, 2022.

TEIXEIRA, R.O.; CAMPAROTO, M.L.; MANTOVANI, M.S.; VICENTINI, V.E.P. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in *in vivo* assays. **Genet. Mol. Biol**, v. 26, n.4, p. 551-555, 2003.

TELES, Y.C.F.; MONTEIRO, R.P.; OLIVEIRA, M.S.; RIBEIRO-FILHO, J. O papel do estresse oxidativo na síndrome metabólica. **Journal of Health Science Institute**, v. 33, n. 1, p. 89-93, 2015.

THODE FILHO, S.; PAIXÃO, C.P.S.; MARANHÃO, F.S.; FRANCO, H.A. Avaliação do impacto do extrato solubilizado da borra de café sobre de germinação de sementes de alface. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science,** v. 9. Nn.1, p. 414-23, 2020.

TIAN-PENG, Y.; LE, C.; YUN, X.; JING, Y.; XUE-JIAO, L.; RUI-FENG, M.; ZHONG-TAO D. Alkaloids with antioxidant activities from Aconitum handelianum, **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 18, n. 6, p.603-610, 2016. doi: 10.1080/10286020.2015.1114473

TOCANTINS. Lei 2.619 de 09 de agosto de 2012. **Define os símbolos da natureza do Estado do Tocantins, e adota outras providências.** Diário Oficial do Estado do Tocantins. Palmas, TO, 2012. Disponivel em: http://diariooficial.to.gov.br/sistema/diario/2057/download. Acessado em 17 mar. 2022.

TORRES, K.C.L.; SANTOS, R.R.; MAPA, F.C.; MORAES, F.L.; MORAES, E.N.; SILVA, M.A.R. Biomarkers in Alzheimer disease. **Geriatria Gerontologia Aging**, vol. 6, pp. 273-282, 2012.

TRINDADE, G.O.; ALVES, V. H.; MARIÑO, P.A.; MALDANER, G.; MENEZES, A.P.S.; REIS, R.O. Triagem fitoquímica e avaliação do potencial antibacteriano de extratos das folhas de *Plantago major* L. **Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 9, n. 1, p. 41-48, 2019.

VERRUCK, S.; PRUDENCI, O.E.S.; SILVEIRA, S.M. Compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas. **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**, v. 4, n. 1, p.112, 2018.

VILELA, E.C., DURATE, A.R., NAVES, R.V., SANTOS, S.C., SERAPHIN, J.C., FERRI, P.H. Spatial chemometric analyses of essential oil variability in *Eugenia dysenterica*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p.873-879, 2013.

WEISER, V.L.; CAVASSAN, O.; SOUZA, A.R.; ALMEIDA, M.V.; ALARCON, R.T.; BANNACH, G. Caracterização térmica do súber de espécies do cerrado. **Brazilian Journal of Thermal Analysis**, v. 4, p.47-49, 2015.

WINK, M. Evolução do metabolismo vegetal secundário. **Encyclopedia of Life Sciences**. p. 1-12, 2008.

YANG, L.; WEN. K.S.; RUAN, X.; ZHAO, Y.X.; WEI, F.; WANG, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. **Molecules**. v. 23, n. 4, p. 762-788, 2018.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLLETI, E.B. **Ecotoxicologia: princípios e aplicações**. 2 ed. São Carlos, RiMa, 2008. p. 472.

ZDUŃSKA, K.; DANA, A.; KOLODZIEJCZAK, A.; ROTSZTEJN, H. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. **Skin Pharmacol Physiol**, v. 31, n. 6, p.332-336, 2018.

ZENKI, K.C. **Inibidores enzimáticos em intoxicações**., 2014. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2014/08/inibid_enzim_intox.pdf. Acesso em: 28/11/2022.

ZU, Y.G., TANG, Z.H., YU, J.H., LIU, S.G., WANG, W., GUO, X.R. Different responses of camptothecin and 10-hydroxycamptothecin to heat shock in *Camptotheca acuminate* seedlings. **Acta Botonica Sinica**, v. 45, n.7, p.809-814, 2003.

ZYGLER, A.; SŁOMIŃSKA, M.; NAMIEŚNIK, J. Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. *In:* **Comprehensive Sampling and Sample Preparation**, p.65–82, 2012.

3 FLUXOGRAMA METODOLÓGICO

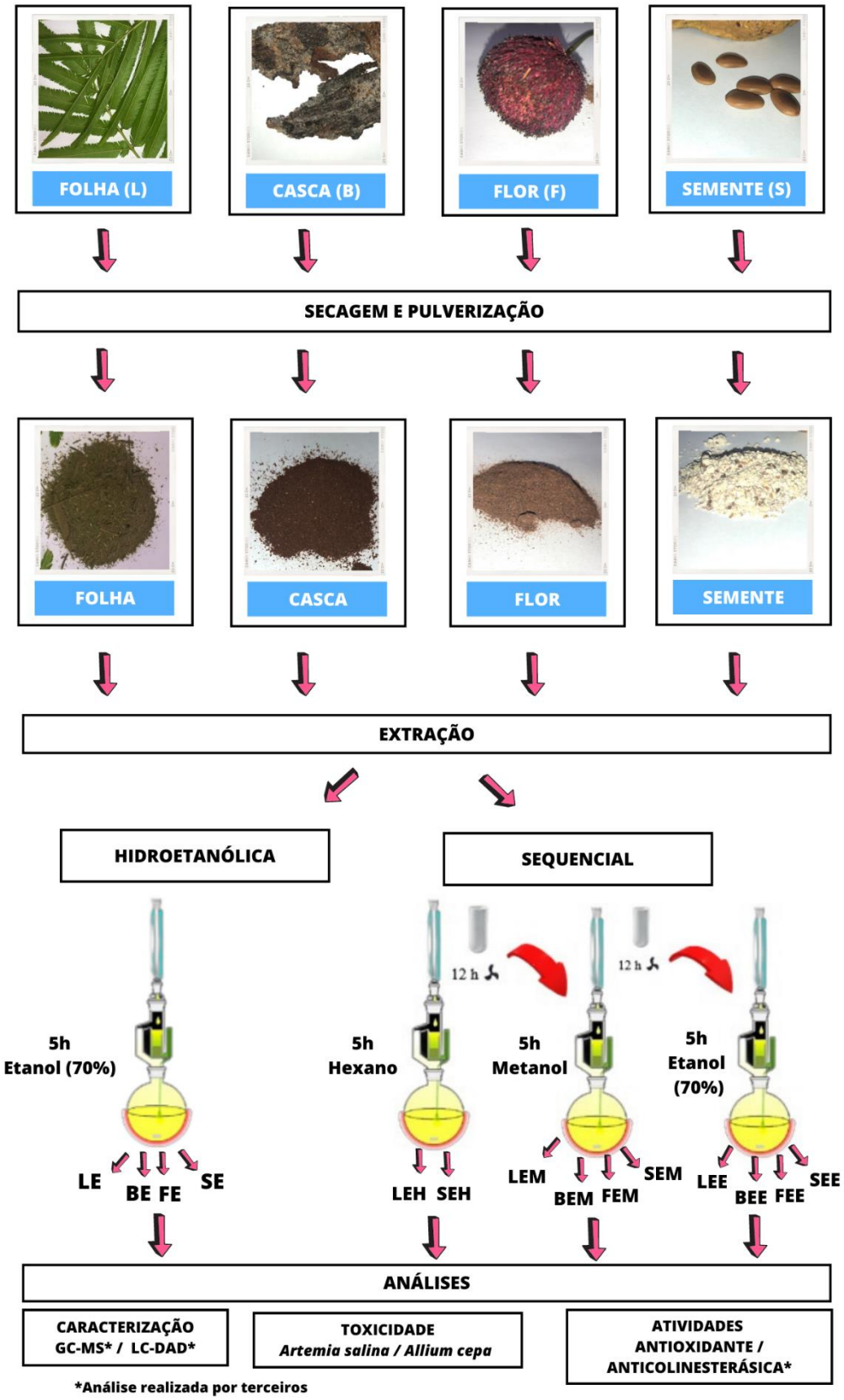


Figura 10. Etapas da coleta, preparo, extração e análises de bioprospecção do projeto de tese.

4 CAPÍTULO I

Plantas típicas do Cerrado brasileiro usadas como inibidores da acetilcolinesterase: uma revisão sistemática

Artigo publicado no periódico Revista Desafios

DOI: http://dx.doi.org/10.20873/uftv7-8048

2020, 7(3):20-31

RESUMO

O bioma Cerrado vem se destacando quanto à fonte de compostos bioativos devido à sua flora vegetal, estimada em cerca de doze mil espécies. O uso de plantas para o tratamento de doenças é tão antigo quanto à espécie humana e essa utilização saiu do âmbito do empirismo e hoje ganha status de ciência. Dentre as doenças com maiores índices de crescimento da taxa de mortalidade, destacamos a Doença de Alzheimer (DA), a qual está associada ao "déficit" nos níveis de neurotransmissores cerebrais, dentre eles a acetilcolina, responsável pela memória e raciocínio lógico. Os medicamentos modernos elevam os níveis desse neurotransmissor pela inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE). Atualmente, as pesquisas buscam novos inibidores da AChE a partir de extratos de plantas. Neste estudo foi realizada uma busca bibliográfica em periódicos especializados nas bases Scientific Eletronic Library Online, Science Direct e Google Acadêmico, utilizando-se as seguintes palavras-chaves: atividade anticolinesterásica e Cerrado. Como resultado obteve-se 32 estudos que após serem submetidos à análise dos títulos possibilitaram a recuperação de 20 trabalhos publicados entre 2009 e 2019. Ao todo foram identificados estudos com 33 famílias botânicas, sendo que a família Fabaceae foi a majoritária. Contabilizou-se 66 espécies analisadas, sendo que 62% apresentaram atividade anticolinesterásica.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Cerrado. Acetilcolinesterase.

4.1. INTRODUÇÃO

O Bioma Cerrado apresenta um cenário exuberante de diversidade biológica, não apenas pela influência dos ecossistemas circundantes (Amazônico, Semi-Árido, Mata Atlântica e Pantanal) bem como pelo arcabouço cultural das populações que o habitam (VILA VERDE et al., 2003). Devido à forma desenfreada de ocupação, aos investimentos na monocultura intensiva de grãos e a pecuária extensiva de baixa tecnologia, 80% do Cerrado já foi modificado, o que explica os elevados impactos ambientais sofridos pelo segundo maior Bioma do Brasil (MITTERMEIER et al., 2004).

Como uma das formas de limitar a expansão dessa degradação deve-se abrir espaço para projetos que fazem uso da diversidade biológica do Cerrado de forma sustentável. O Cerrado é composto por onze tipos principais de vegetação, enquadrados em formações florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão), savânicas (Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda) e campestres (Campo Sujo, Campo Limpo e Campo Rupestre), podendo estender para 25 tipos de vegetação, se analisados os subtipos (MMA, 2006).

A indicação de plantas como tratamento medicinal advém do acervo empírico, principalmente de comunidades indígenas e quilombolas, e auxilia no levantamento do patrimônio genético que precisa ser conhecido e absorvido por essa geração para que possa ser utilizado pelas gerações futuras. Os primeiros relatos da utilização das plantas com finalidades terapêuticas datam de 3.000 anos A.C. na China (GOGTAY et al., 2002) e, apesar do enorme avanço tecnológico presenciado no Século XXI, a cultura sobre o uso de plantas medicinais ainda é o recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Silva e Fernandes Junior (2010) constataram que “80% da população brasileira consomem apenas 37% dos medicamentos comercialmente disponíveis, dependendo quase exclusivamente de medicamentos de origem natural”.

Hoje, os fitoterápicos são vistos como uma forma saudável de prevenção, tratamento e cura de determinadas doenças, tudo isso alavancado em consequência da dependência que os produtos sintéticos vêm ocasionando.

A galantamina é um exemplo claro de tratamento terapêutico utilizando plantas medicinais. É um alcaloide, isolado de plantas da família Amaryllidaceae, utilizado no tratamento da Doença de Alzheimer (DA). Esta enfermidade atinge a memória e a capacidade de raciocínio, devido a seus efeitos neurodegenerativos, afetando diretamente o sistema colinérgico. Esse sistema é responsável pela contração dos músculos lisos, dilatação dos vasos sanguíneos e regulação da taxa de batimentos cardíacos (VIEGAS JUNIOR et al., 2004).

O bom funcionamento do sistema colinérgico depende de níveis normais de uma substância chamada acetilcolina (ACh), um transmissor envolvido no aprendizado e na memória (VINUTHA et al., 2007). Este neurotransmissor é encontrado no cérebro e junções neuromusculares e a hidrólise da acetilcolina é essencial para que as transmissões sinápticas colinérgicas ocorram antes da chegada de um novo impulso elétrico (SANTOS, 2009). Esse processo é realizado pela enzima acetilcolinesterase (AChE), que no sistema nervoso, age como mediadora das sinapses.

Os pacientes com DA apresentam baixos níveis de acetilcolina, devido à elevada atividade da AChE. O tratamento indicado para esses pacientes é fazer uso de inibidores da AChE (OH et al., 2004; JUNG e PARK, 2007), o que melhora sintomas cognitivos, comportamentais e funcionais, devido ao retardamento da degradação da ACh, assim o neurotransmissor passa mais tempo na fenda sináptica, intensificando desta forma a transmissão colinérgica (MOTA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2017).

Os atuais inibidores da AChE retardam a degradação metabólica da acetilcolina, otimizando a disponibilidade deste substrato para a comunicação entre as células. Isto auxilia no retardo da progressão da disfunção cognitiva e pode ser eficaz para alguns pacientes nos estágios inicial e intermediário da doença, entretanto, os efeitos colaterais como náuseas, vômitos, diarreia, perda de peso, tontura, dor de cabeça e cansaço, são relatados constantemente (ANAND e SINGH, 2013).

A taxa de mortalidade referente à Doença de Alzheimer vem aumentando significativamente em todo mundo nas duas últimas décadas. No Brasil, segundo Teixeira et al. (2015), as taxas de mortalidade nos idosos com 60 anos ou mais, referentes à DA, tem aumento anual e significativo. Nos Estados Unidos a taxa aumentou em 55% entre os anos 1999 e 2014 e entre as dez principais causas de morte em idosos, destaca-se a taxa ajustada para a doença de Alzheimer, com variação percentual de 43% (MOSCHETTI et al., 2012).

Nessa perspectiva, várias espécies de plantas vêm sendo exploradas na busca de inibidores mais seletivos e com menos efeitos colaterais para o tratamento e cura da DA. Assim, este estudo teve como objetivo realizar o levantamento das espécies de plantas do Cerrado que foram analisadas frente à atividade anticolinesterásica.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho configurou-se em um levantamento de literatura sobre a atividade anticolinesterásica realizada com extratos obtidos a partir de plantas típicas do Cerrado. Foi realizada uma busca bibliográfica em periódicos especializados nas bases Scientific Eletronic

Library Online, Science Direct e Google Acadêmico, utilizando-se as seguintes palavras-chaves: atividade anticolinesterásica e Cerrado nos idiomas português e inglês. Como resultado obteve-se 32 estudos que após serem submetidos à análise possibilitaram a avaliação de 20 trabalhos publicados entre 2009 e 2019.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise dos trabalhos pôde-se verificar que houve estudos nos estados de Goiás, Minas Gerais, Piauí, Maranhão, Roraima, Paraná, Tocantins, Mato Grosso do Sul, São Paulo e no Distrito Federal. Os estados majoritários foram Goiás e Minas Gerais, com 20% dos estudos cada, seguido de 15% do Distrito Federal, conforme demonstrado na Figura 11.

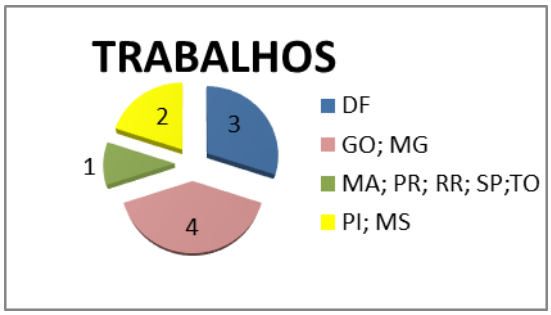


Figura 11. Número de trabalhos publicados por estado da região do Cerrado.

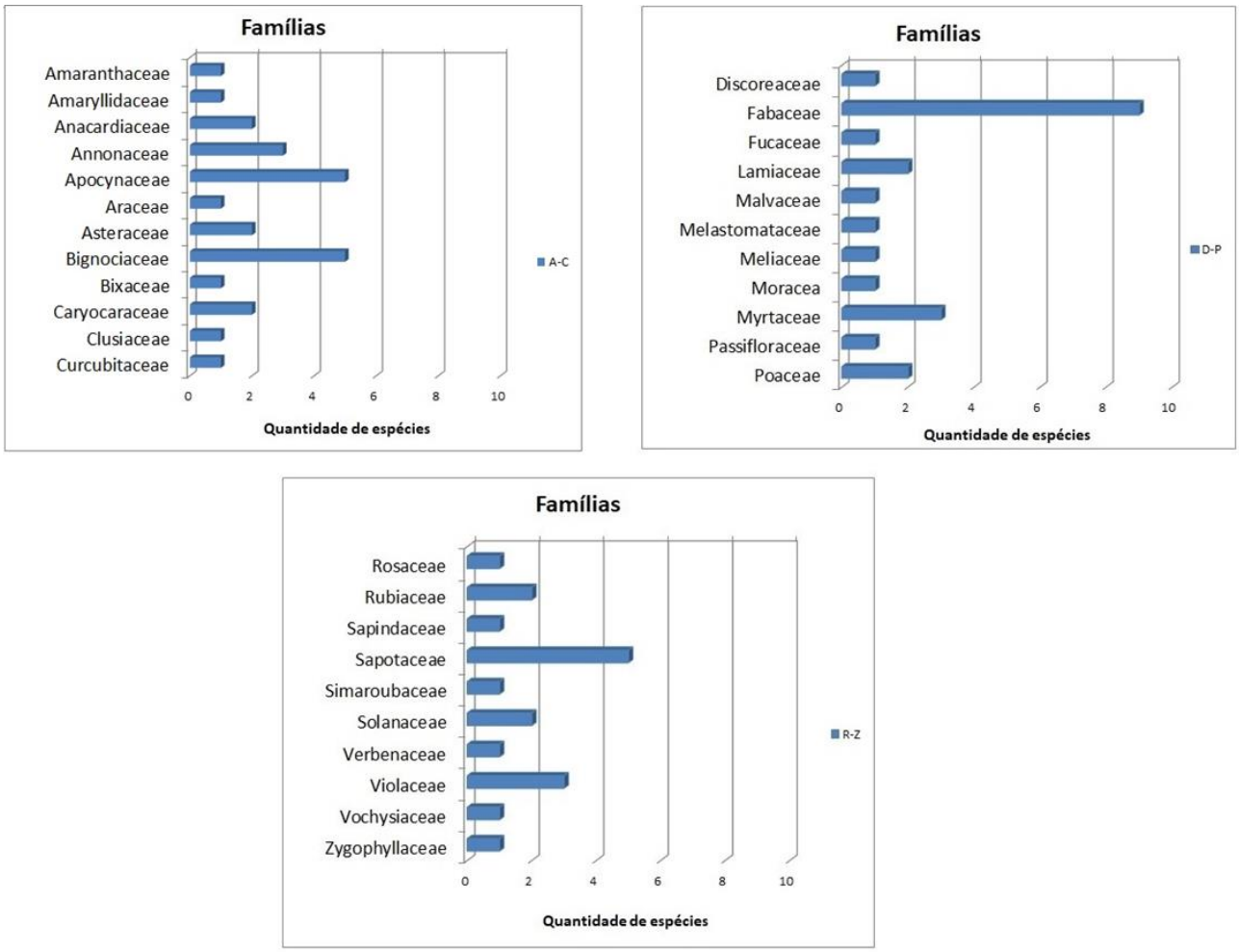


Figura 12. Quantidade de espécies (em ordem alfabética) por família citada nos estudos.

No total 33 famílias botânicas foram identificadas (Figura 12), sendo que a família Fabaceae foi a mais citada, com 9 espécies, correspondendo a 14% das plantas. Outras que também se destacaram foram a Apocynaceae, Bignoniaceae e Sapotaceae com 6% ambas, e a Annonaceae, Myrtaceae e Violaceae com 5%. As demais espécies não ultrapassaram 3% de citação.

Na Tabela 2 estão denominadas (nome científico) as 66 espécies vegetais citadas, seus nomes comuns e a resposta à atividade anticolinesterásica.

Tabela 2. Relação das plantas do bioma Cerrado testadas para atividade anticolinesterásica (AA).

ESPÉCIE		
Nome Científico	**Nome Comum**	**AA**
Ageratum conyzoide	Erva de são joão	-
Allamanda blanchetti	Viúva alegre	-
Anadenanthera peregrina	Angico	-
Anchietea pyrifolia	Cipó sumo	+

Annona crassiflora	Araticum	+
Annona coriacea	Fruta do conde	+
Annona cacans	Araticum cagão	+
Arundo donax	Cana comum	+
Bauhinia forficata	Pata de vaca	-
Bauhinia microstachya	Escada de macaco	+
Caryocar cf. villosum	Pequiarana	-
Caryocar brasiliense	Pequi	+
Cochlospermum regium	Algodãozinho do campo	+
Copaifera langsdorffii	Copaíba	+
Discorea glandulosa	Japecanga	+
Eugenia dysenterica	Cagaita	+
Fucus vesicolosus	Fava do mar	+
Garcinia cambogia	Malabar tamarindo	-
Genipa americana	Genipapo	-
Hancornia speciosa	Mangaba	+
Handroanthus ochraceus	Ipê amarelo	+
Handroanthus serratifolius	Ipê amarelo	-
Hippeastrum goianum	Amarílis	+
Himatanthus lancifolius	Agoniada	+
Hybanthus bigibbosus	NI	+
Hymenaea stignocarpa	Jatobá	-
Hyptis dilatata	Hortelã do mato	+
Jacaranda micrantha	Caroba-rosa	+
Jacaranda sp.	Caroba	+
Jacaranda oxyphylla	NI	+
Lippia origanoide	Alecrim-pimenta	+
Lychnophora pinaster	Arnica	-
Mangifera indica	Mangueira	+
Morus nigra	Amora negra	-
Mouriri elliptica	Croadinha, Puçá	-
Myracrodruon urundeuva	Aroeira	+
Passiflora actinia	Maracujá	-
Pfaffia paniculata	Ginseng-brasileiro	+
Philodendron sellowianum	Cipó imbé	+
Phoradendron falcifrons	NI	+
Picrasma crenata	Pau amargo	+
Plathymenia reticulata	Vinhático	-
Plectranthus neochilus	Boldo japonês	-
Pouteria caimito	Abieiro	-
Pouteria gardneri	Sapotinha	-
Pouteria ramiflora	Curriola	-
Pouteria torta	Abiu amarelo	-
Psidium guajava	Goiaba-araçá	+

Pterodon pubescens	Sucupira branca	+
Qualea parviflora	Pau-terra	+
Rauvolfia sellowii	Café de anta	+
Rosa chinensis	Rosa branca	+
Rudgea viburnoides	Casca-branca	+
Sapindus saponaria	Jequiri	-
Serjania erecta	Cipó cinco-folhas	+
Solanum lycocarpum	Lobeira	+
Solanum scuticum	Jurubeba	+
Stryphnodendron adstringens	Barbatimão verdadeiro	-
Stryphnodendron coriaceum	Barbatimão	+
Syzygium aromaticum	Cravo da india	-
Tabernaemontana solanifolia	Leiteira	-
Tribulus terrestris	Abre os olhos	+
Trichilia catigua	Catiguá	+
Uuehea divaricata	Açoita cavalo	-
Wilbrandia ebracteata	Tauiá	+
Zea mays	Milho	-

+ inibe a acetilcolinesterase; - não inibe a acetilcolinesterae

No estado de Goiás, a espécie *Mouriri elliptica* (Croadinha, Puçá) apresentou extratos com inibição relevante, acima de 70%. Foram analisados os extratos brutos de acetato de etila e de metanol e frações desses extratos. As frações foram obtidas após 10 g do extrato bruto ser solubilizado (em água para o metanol e em metanol para o acetato de etila) e aplicado em uma coluna cromatográfica (45 cm x 5,5 cm) empacotada com Sephadex LH20. Destacam-se duas frações metanólicas que apresentaram uma concentração de inibição de 50% (IC_{50}) correspondente a 4,68 e 4,18 μg/mL, resultados satisfatórios quando comparados à Eserina (IC_{50} = 1,37 μg/mL) (SILVA, 2016).

As frações do extrato metanólico da espécie *Qualea parviflora* (Pau-terra) e *Rudgea viburnoides* (Casca-branca) também foram testadas como inibidores enzimáticos da AChE, sendo que o extrato metanólico da espécie Rudgea, apresentou maior inibição frente à enzima (SILVA et al., 2018).

O estudo de Santos et al. (2015) pesquisaram as sementes de quatro frutas comestíveis do Cerrado brasileiro: *Annona crassiflora* (Araticum), *Eugenia dysenterica* (Cagaita), *Hymenaea stignocarpa* (Jatobá) e *Hancornia speciosa* (Mangaba), mas não foi detectada atividade inibitória sobre acetilcolinesterase em nenhum dos extratos das sementes estudadas.
Porfiro (2017) analisou a espécie *Pterodon pubescens*, nativa do Cerrado e conhecida popularmente como Sucupira branca. O autor obteve os extratos brutos em metanol e em acetato de etila e também frações desses extratos, sendo que cada extrato bruto foi fracionado em

apenas uma fase com o solvente oposto supracitado. Os resultados de inibição obtidos para a *P. pubescens* foram valores inibitórios de 73%, 77%, 79% e 70 %, respectivamente, na dose recomendada de 80 μg/mL, não havendo diferença significativa de inibição entre os extratos brutos e as fases.

Das espécies analisadas no estado de Minas Gerais, Mota et al. (2011) selecionaram as plantas *Ageratum conyzoides* (Erva de São João.), *Lychnophora pinaster* (Arnica), *Rosa chinensis* (Rosa branca), *Solanum scuticum* (Jurubeba) e *Solanum lycocarpum* (Lobeira) e destas foram feitos extratos etanólicos das partes aéreas e/ou raízes. Dentre as espécies analisadas, a espécie *S. lycocarpum* mostrou ser a melhor fonte de inibição da acetilcolinesterase, tendo como controle positivo a galantamina. A espécie *R. chinesis*, o exemplar da família *Rosaceae* testado, apresentou atividade positiva e as plantas da família *Asteraceae* não apresentaram atividade.

A espécie *Jacaranda sp*., conhecida como Caroba, foi avaliada através dos extratos etanólicos das três partes da planta (folhas, galhos e raízes) e apresentou grande capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase, com ênfase nos extratos obtidos dos galhos (CAMPOS et al., 2011). Resultados semelhantes foram obtidos por Pereira et al. (2016) com extratos hexânicos dos galhos da espécie *Jacaranda oxyphylla.*

Estudos realizados por Carvalho (2017) identificaram que o óleo essencial de *Lippia origanoide,* o Alecrim-pimenta, apresenta elevado potencial inibidor da enzima acetilcolinesterase, com IC_{50} = 1,81 μg/mL, justificado pela presença do composto acetato de farnesila. O carvacrol e o 1,8-cineol, compostos constituintes do óleo essencial da *L. origanoide,* também foram avaliados sobre a enzima acetilcolinesterase, sendo que, seus resultados demonstraram inibição relevante, com valores de IC_{50} iguais a 2,30 e 0,57 μg/mL, respectivamente.

Na região do Distrito Federal, o extrato aquoso das folhas da *Eugenia dysenterica* (Cagaita) apresentou 66,3% de inibição da acetilcolinesterase na concentração de 1 mg/mL. O valor de IC_{50} para o extrato foi 155,20 mg/mL frente ao padrão fisostigmina 18,69 mg/mL. Após o isolamento dos compostos quercetina e catequina do extrato, os mesmos apresentaram valores de IC_{50} 46,59 mg/mL e 42,39 mg/mL, respectivamente (GASCA et al., 2017).

Anteriormente ao estudo de GASCA et al.(2017), Souza (2011) avaliou extratos aquosos, etanólicos e hexânicos da folha, caule e frutos de 14 espécies do bioma Cerrado, sendo *Allamanda blanchetti* (Viúva alegre), *Hancornia speciosa* (Mangaba), *Tabernaemontana solanifolia* (Leiteira), *Morus nigra* (Amora negra), *Eugenia dysenterica* (Cagaita), *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão verdadeiro), *Plectranthus neochilus* (Boldo

japonês), *Genipa americana* (Genipapo), *Pouteria gardneri* (Sapotinha), *Pouteria ramiflora* (Curriola), *Pouteria caimito* (Abieiro), *Pouteria torta* (Abiu amarelo), *Caryocar cf.* (Pequiarana), *Sapindus saponaria* (jequiri) e nenhum dos extratos exibiu potencial de inibição relevante.

Ainda no Distrito Federal, Costa et al. (2019) avaliaram o extrato etanólico (previamente desengordurado com hexano) do bulbo da *Hippeastrum goiamum* (Amarílis), germinada *in vitro*. Os pesquisadores verificaram uma leve atividade anticolinesterásica do extrato, em função da presença do alcaloide licorina.

No estado do Piauí espécies da família *Bignoniaceae*, os Ipês, (*Handroanthus ochraceus* e *H. serratifolius*), foram utilizados para obtenção de extratos hexânicos, etanólicos e aquosos, sendo que apenas o extrato etanólico das folhas de *H. ochraceaus* (ipê amarelo) apresentou resultado significativo, equiparando-se a inibição da cafeína (COSTA e ARAUJO, 2011).

As espécies *Eugenia dysenterica* (Cagaita) e *Annona crassiflora* (Araticum), também foram estudadas no estado supracitado, e a atividade qualitativa anticolinesterásica do óleo essencial de folhas de *E. dysenterica* teve resultados promissores de IC_{50}= 0,916 μg/mL em comparação ao fármaco rivastigmina (IC_{50}= 1,87 μg/mL), inibidor convencional da AChE (FEITOSA et al., 2017).

Formagio et al. (2015) realizaram um estudo no Mato Grosso do Sul, com 3 espécies de *Annonaceae, Annona crassiflora* (Araticum), *Annona coriacea* (Fruta do conde), *Annona cacans* (Araticum cagão) e verificaram positiva a atividade anticolinesterásica para os extratos metanólicos das folhas e sementes das espécies citadas.

No mesmo estado, Pedroso et al. (2019) realizaram testes *in vivo* em ratos, com extrato hidrometanólicos (70%) da raiz da *Cochlospermum regium* (Algodãozinho do campo), para verificar a atividade anticolinesterásica da espécie. Os resultados demonstraram inibição da AChE em diferentes estruturas cerebrais (no córtex cerebral, no hipotálamo e no hipocampo) dos animais, que tiveram administração oral do extrato.

No estado do Maranhão, Penido (2017) selecionou 11 espécies de plantas medicinais, a partir de um estudo anterior, enfatizando os maiores potenciais de atividade antioxidante. Extratos hidroetanólicos (70%) foram obtidos da casca das espécies *Anadenanthera peregrina* (Angico); *Bauhinia forficata* (Pata de vaca); *Copaifera langsdorffii* (Copaíba); *Hancornia speciosa* (Mangaba); *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira); *Stryphnodendron coriaceum* (Barbatimão); da folha da *Luehea divaricata* (Açoita cavalo); *Mangifera indica* (Mangueira); *Plathymenia reticulata* (Vinhático); *Psidium guajava* (Goiaba-araçá); e do fruto da *Syzygium aromaticum* (Cravo da índia). Após analisar as atividades antioxidante e inibitória da

acetilcolinesterase, o estudo apontou seis espécies com relevantes potenciais de agentes terapêuticos contra a DA: *Hancornia speciosa, Myracrodruon urundeuva, Copaifera langsdorffii, Stryphnodendron coriaceum, Psidium guajava, Mangifera indica*.

Almeida (2017) realizou um estudo em Roraima analisando os óleos essenciais das folhas e flores da espécie *Hyptis dilatata* (Hortelã do mato). A avaliação levou em consideração o período chuvoso e seco da região. O óleo essencial extraído das flores, nos dois períodos, inibiu a enzima acetilcolinesterase acima de 90%, enquanto que o óleo essencial extraído das folhas, no período seco, apresentou a maior inibição, 96,4%. Acredita-se que os compostos monoterpeno fenchona, α-pineno, 3-careno, limoneno, cânfora, β-pineno e β-cariofileno, presentes no óleo essencial da folha, tenham ação direta na inibição da enzima acetilcolinesterase (ALMEIDA, 2017).

Os testes com *Serjania erecta* (Cipó cinco-folhas) coletadas no estado de São Paulo, indicou que a fração flavonoide do extrato aquoso, apresentou melhor seletividade para inibição da AChE, quando comparada às frações hexânica e acetato de etila (BROGGINI et al., 2010).
No Paraná, Seidl (2010) avaliou a atividade inibitória de dezenove extratos hidroetanólicos (56%) de diferentes espécies, tais como *Pfaffia paniculata* (Ginseng-brasileiro), *Himatanthus lancifolius* (Agoniada), *Rauvolfia sellowii* (Café de anta), *Tribulus terrestris* (Abre os olhos), *Philodendron sellowianum* (Cipó imbé), *Jacaranda micrantha* (Caroba-rosa), *Fucus vesiculosus* (Fava do Mar), *Garcinia cambogia* (Malabar tamarindo), *Wilbrandia ebracteata* (Tauiá), *Discorea glandulosa* (Japecanga), *Bauhinia microstachya* (Escada de macaco); *Trichilia catigua* (Catiguá), *Passiflora actinia* (Maracujá), *Zea mays* (Milho), *Arundo donax* (Cana comum), *Picrasma crenata* (Pau amargo), *Anchietea pyrifoli*a (Cipó sumo), *Hybanthus bigibbosus* e *Phoradendron falcifrons*.

Para a espécie Rauvolfia sellowii as frações diclorometano, n-butanol e aquosa foram às mais ativas, enquanto que, para a espécie *Himatanthus lancifolius* foram às frações diclorometano e acetato de etila. Ao alcaloide uleína, identificado na espécie H. lancifolius, foi atribuído IC_{50} = 0,45 μM, valor próximo ao intervalo de IC_{50} referente à galantamina (0,39 a 1,5 μM). Dentre todos os extratos avaliados, somente as espécies de *P. actinia, Z. mayz* e *G. cambogia* não apresentaram resultados de inibição da enzima satisfatórios (SEIDL, 2010).

Oliveira et al. (2018) realizaram a pesquisa com extratos hidroetanólicos (70%) e com frações orgânicas (hexano, clorofórmio, acetato de etila, butanol) da folha do *Caryocar brasiliense* (Pequi) coletadas no estado do Tocantins. As frações hexânica e clorofórmica não apresentaram atividade anticolinesterásica. Dentre os demais extratos, a fração com acetato de

etila obteve a melhor atividade (IC_{50}= 81,5 µg/mL), valor aproximado ao padrão neostigmina (IC_{50}= 88,0 µg/mL).

Assim, observamos após este levantamento que no bioma Cerrado, 36 espécies de plantas possuem potencial de inibição da atividade colinesterásica, sendo 4 espécies coletadas no estado de Goiás, 3 espécies em Minas Gerais, 1 no Distrito Federal, 2 no Piauí, 6 no Maranhão, 1 em Roraima, 1 no Tocantins, 1 em São Paulo, 16 no Paraná e o Pequi no Ceará.

Apesar de o Brasil ser um país biologicamente tão rico, estudos referentes a plantas medicinais cresceram somente a partir dos anos 2005 (CARNEIRO et al., 2014), muito provavelmente, devido à instituição da Política Brasileira de Plantas Medicinais. Carneiro et al. (2014) realizaram um levantamento entre os anos de 1995 a 2011, sobre as tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil e os dados na base Scielo do ano de 2009 se destacaram, totalizando aproximadamente 45 publicações, um crescimento significativo, pois a média anterior ao ano de 2005 era de 1 publicação por ano. Esses dados demonstram que apesar do interesse no assunto, ainda são ínfimas as pesquisas em uma região com enorme biodiversidade e com ecossistemas tão ameaçados.

Podemos relatar com o nosso levantamento que a *Myracrodruon urundeuva* é uma das plantas que consta na lista de plantas ameaçadas de extinção conforme Portaria do MMA 443/2014 (MMA, 2014).

Nesse contexto há a necessidade de uma reorganização das estruturas do uso dos recursos naturais, que padronizem planos de manejos, para que se possa compreender o papel desse recurso natural no ecossistema e em consequência viabilizar o seu uso e até mesmo para garantir que futuras gerações usufruam dessas potencialidades.

4.4. CONCLUSÃO

Analisando os dados obtidos podemos afirmar que 62% das espécies avaliadas apresentaram atividade inibidora da acetilcolinesterase.

A espécie *Eugenia dysenterica* apareceu em 3 estudos, embora estes demonstram que extratos da semente, das folhas, do caule e dos frutos não apresentaram atividade de inibição, em 2017 novos estudos, no Distrito Federal e no Piauí, tanto o extrato aquoso como o óleo essencial da folha apresentaram inibição da acetilcolinesterase.

Outra espécie também reincidente em estudos foi a *Hancornia speciosa*, sendo que em Goiás e no Distrito Federal não foram verificados testes positivos para a inibição da acetilcolinesterase, embora no Maranhão, a espécie foi apontada como relevante potencial de agentes terapêuticos contra a DA.

Dados do último levantamento das plantas do Cerrado quantificam 12.734 espécies, das quais 10.845 são plantas pequenas. Estas são responsáveis pela cobertura do solo, prevenindo a erosão causada pelo vento ou pela enxurrada, facilitando a infiltração das chuvas, realizando também o armazenamento de carbono no solo (DURIGAN et al., 2018). Além da questão de proteção ambiental e do potencial terapêutico, o fator econômico também pode ser relacionado a essas plantas, tanto pelo potencial ornamental como pelas propriedades nutritivas.

O levantamento realizado demonstra o potencial das plantas do bioma Cerrado, considerando que poucas espécies foram investigadas, embora apresente resultados *in vitro* positivos se comparados aos atuais inibidores. Testes *in vivo* devem ser realizados para confirmar os resultados promissores aqui observados. O isolamento e identificação de novos princípios ativos se faz necessário perante a diversidade de plantas do bioma.

4.5. AGRADECIMENTO

Agradecemos a Universidade Federal do Tocantins pelo apoio. Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

4.6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, S.P. Estudos químicos e biológicos dos óleos essencias e extratos de Hyptis dilatata benth (lamiaceae), procedentes da serra do tepequém - Amajari / Roraima. Manaus, AM. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Amazonas. Manaus – UFAM; 2017.

ANAND, P.; SINGH, B.; A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. Archives of Pharmacal Research. v.36, n.4, p.375-399, 2013.

BROGGINI, L. S.C.; FERNANDES, R.S.; NOGUEIRA, T.; SUZANO, F.R.; CAETANO, A.L.; BUCK, H. S.; COUTO, L.B.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, P.S. Behavioral and enzymatic bioassays with Serjania erecta Radlk., Sapindaceae, correlated with cognitive dysfunctions. Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn. v. 20, n.4, p.519-528, 2010.

CAMPOS, K.F.; MOURA, F.; SALLUM, W. S. T.; MOTA, R.F.; TAKAHASHI, J. A. 2011. Estudo do extrato etanólico de Jacaranda sp., uma espécie vegetal do cerrado, como fonte de antibóticos e substâncias para o tratamento do mal de alzheimer. In: Reunião Anual da SBPC, 63, Goiânia, Anais. SBPC, 2011. Disponível em: http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/2100.htm, Acesso em: 23/06/2019.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J.P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P., Tendências dos Estudos com Plantas Medicinais no Brasil. Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais, v.3, n. 2, p.44-75, 2014.

CARVALHO, S.Y.B. Óleo essencial de Lippia origanoides: avaliação do potencial fungitóxico e estudo do efeito inibitório sobre acetilcolinesterase. São João Del Rei, MG. Monografia de Graduação. Universidade Federal de São João Del Rei; 2017.

COSTA, G. G. P.; SILVA, C. A. G.; GOMES, J.V. D.; TORRES, A. G.; SANTOS, I. R. I.; ALMEIDA, F. T. C.; FAGG, C. W.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D.; GOMES- COPELAND, K. K. P. Influence of *in vitro* micropropagation on lycorine biosynthesis and anticholinesterase activity in Hippeastrum goiamum. Revista Brasileira de Farmacognosia. v.29, n.1, p. 262–265, 2019.

COSTA, L.P.S.; ARAUJO, M.S.R. 2011. Documentação química e farmacológica de espécies vegetais do cerrado e caatinga piauiense. Disponível em: < http://leg.ufpi.br/21sic/Documentos/RESUMOS/Modalidade/Exatas/Luis%20Paulo.pdf>. Acesso em: 12/07/2019.

DURIGAN, G.; PILON, N. A. L.; ASSIS, G. B.; SOUZA, F. M.; BAITELLO, J. B. Plantas pequenas do cerrado: biodiversidade negligenciada. São Paulo, Editora Instituto Florestal. 2018.

FEITOSA, C. M.; BARBOSA, A. R.; MELO, C. H. S.; FREITAS, R. M.; FONTES, J. E. N.; COSTA, E. V.; RASHED, K. N. Z.; COSTA JÚNIOR, J. S. Antioxidant and anticholinesterase activities of the essential oil of Eugenia dysenterica DC. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. v. 1, n.19 p. 241-249, 2017.

FORMAGIO, A.S.; VIEIRA, M.C.; VOLOBUFF, C.R.; SILVA, M.S.; MATOS, A.I.; CARDOSO, C.A.; FOGLIO, M.A.; CARVALHO J.E. *In vitro* biological screening of the anticholinesterase and antiproliferative activities of medicinal plants belonging to Annonaceae. Braz J Med Biol Res. v.48, n.4, p.308-315, 2015.

GASCA, C. A.; CASTILLO W.O., TAKAHASHI, C.S., FAGG, C.W.; MAGALHÃES, P.O.; FONSECA-BAZZO, Y.M.; SILVEIRA, D. Assessment of anti-cholinesterase activity and cytotoxicity of cagaita (Eugenia dysenterica) leaves. Food and Chemical Toxicology, v.109, n.2, p. 996-1002, 2017.

GOGTAY, N.J.; BHATT, H.A. DALVI, S.S.; KSHIRSAGAR, N.A. The use and safety of non-allopathic Indian medicines. Drug Saf. v.25. n.14, p.1005-19, 2002.

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

MARQUES, J. P.; LOPES, G.C., Alcaloides como agentes antitumorais: considerações químicas e biológicas. Revista UNINGÁ Review. v.24, n.1, p.56-61, 2015.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA, 2006. Programa Cerrado Sustentável. Disponível em:<http://www.mma.gov.br/estruturas/201/_arquivos/programa_cerrado_sustentvel_201.pdf >. Acesso em: 10/06/2018.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA. Portaria 443 de 17 de dezembro de 2014. Lista nacional das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. Brasília, 18 dez., Seção 1, p. 110-121, 2014.

MITTERMEIER, R.; ROBLES GIL, P.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOREUX, J.; FONSECA, G.A.B. Hotspots revisited: Earth's

biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. México. CEMEX/Agrupación Sierra Madre. 392p. 2004.

MOSCHETTI, K.; CUMMINGS, P.L.; SORVILLO, F.; KUO, T. Burden of Alzheimer's disease-related mortality in the United States, 1999-2008. J Am Geriatr Soc, v.60, p.1509-1514, 2012.

MOTA, W.M.; BARROS, M.L.; CUNHA, P.E.L.; SANTANA, M.V.A.; STEVAM, C.S.; LEOPOLDO, P.T.G., FERNANDES, R.P.M., Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.4, p.624-628, 2012.

MOTA, R. F.; CAMPOS, K.F.; MOURA, F.; SALLUM, W. S. T.; TAKAHASHI, J. A., 2011. Bioprospecção da atividade de plantas medicinais do cerrado das famílias asteraceae, rosaceae e solanaceae como fontes de fármacos inibidores da acetilcolinesterase. In: Reunião Anual da SBPC, 63, Goiânia, Anais Virtuais. SBPC, 2011. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/2877.htm>. Acesso em: 01/06/2019.

OH, M.H; HOUGHTON, PJ; WHANG, WK; CHO JH., Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. Phytomedicine, v.11, p.544-8, 2004.

OLIVEIRA, L. V.; ANJOS, C.J. F.; CONFESSOR, M.; VILAR D. A.; VILAR, M.S.A. 2017. Fitoterapia como alternativa ao retardamento do alzheimer. Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/revistas/conbracis/trabalhos/TRABALHO_EV071_MD1_SA4_ID1360_09052017100412.pdf. Acesso em: 11/08/2019.

OLIVEIRA, T.S.; THOMAZ, D.V.; SILVA NERI, H.F.; CERQUEIRA, L.B.; GARCIA, L.F.; GIL, H.P.V.; PONTAROLO, R.; CAMPOS, F.R.; COSTA, E.A.; SANTOS, F.C.; SOUZA GIL, E.; GHEDINI, P.C. Neuroprotective effect of caryocar brasiliense camb. Leaves is associated with anticholinesterase and antioxidant properties. Oxid Med Cell Longev. v.2018, p.1-12, 2018.

PEDROSO, T. F. M.; BONAMIGO, T. R.; SILVA, J.; VASCONCELOS, P.; FÉLIX, J. M.; CARDOSO, C. A. L.; SOUZA, R. I. C.; SANTOS, A. C.; VOLOBUFFA, C. R. F.; FORMAGIO, A. S. N.; TRICHEZA, V. D. K. Chemical constituents of Cochlospermum regium (Schrank) Pilg. root and its antioxidant, antidiabetic, antiglycation, and anticholinesterase effects in Wistar rats. Biomedicine & Pharmacotherapy. v.111, p.1383-1392, 2019.

PENIDO, A. B.; MORAIS, S. M.; RIBEIRO, A. B.; ALVES, D. R.; RODRIGUES, A. L. M. S.; L. H; MENEZES, J. E.S. A. Medicinal plants from northeastern Brazil against Alzheimer’s disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v.2017, p. 1-7, 2017.

PEREIRA, V. V.; SILVA, R. R.; DOS SANTOS, M.; DIAS, D. F.; MOREIRA, M.; TAKAHASHI, J.A. Antioedematogenic activity, acetylcholinesterase inhibition and antimicrobial properties of Jacaranda oxyphylla. Nat Prod Res. v.30, n.17, p.1974-1979. 2016.

PORFIRO, C.A., Atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase frente aos extratos das folhas de Perodon pubescens Benth, Rio Verde, GO. Dissertação de Mestrado. Instituto Federal de Tecnologia Goiano; 2017.

SANO, E.E; ROSA, R, BRITO, JL; FERREIRA LG. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. Environ. Monit. Assess. v.166, p.113–124, 2010.

SANTOS, G.H.S.F.; BATISTA, K. A.; GHEDINI, P.C.; FERNANDES, K.F.; GARCIA-RODRIGUEZ, A. 2015. Inibição Enzimática Por Toxinas De Sementes De Frutos Do Cerrado. Disponível em: https://proceedings.science/slaca/slaca-2015/papers/inibicao-enzimatica-por-toxinas-de-sementes-de-frutos-do-cerrado?lang=pt-br Acesso em: 05/07/2019.

SANTOS, P. I. M. Avaliação da toxicidade aguda do inseticida metomil e o seu efeito sobre a atividade de acetilcolinesterase do peixe Danio rerio. Natal, RN. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2009.

SANTOS, G.S.; SINOTI, S.B.P.; ALMEIDA, F.T.C.; SILVEIRA, D.; SIMEONI, L.A.; GOMES‑COPELAND, K.K.P. Use of galantamine in the treatment of Alzheimer's disease and strategies to optimize its biosynthesis using the *in vitro* culture technique. Plant Cell, Tissue and Organ Culture**,** v. 143, p. 13–29, 2020.

SEIDL, C. Pesquisa de substâncias naturais inibidoras da acetilcolinesterase. Curitiba, PR. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná; 2010.

SILVA, H. R. L.; PEREIRA, P. S.; CARPINI, T. 2018. Caracterização de metabólitos secundários em qualea parviflora e rudgea viburnoides e atividade enzimática frente a acetilcolinesterase. Disponível em: https://even3.blob.core.windows.net/anais/113478.pdf. Acesso em: 05/07/2019.

SILVA, L.S. Inibição de acetilcolinesterase e α-amilase por extrato das folhas de mouriri elliptica martius. Rio Verde, GO. Dissertação de Mestrado. Instituto Federal Goiano; 2016.

SILVA, N.C.C.; FERNANDES JÚNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 16, p.402-413, 2010.

SOUZA, P.M., Atividade de inibição enzimática por espécies vegetais do bioma Cerrado. Brasilia, DF. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília; 2011.

TEIXEIRA, J. B.; SOUZA JUNIOR, P. R. B.; HIGA, J.; THEME FILHA, M. M., Doença de Alzheimer: estudo da mortalidade no Brasil, 2000-2009. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.31, n.4, p.1-12, 2015.

VIEGAS JUNIOR, C. et al., Naturalv products as candidates for useful drugs in the treatment of Alzheimer's disease. Quim Nova. v.27, n.4, p. 655-660, 2004.

VILA VERDE, G. M.; PAULA, J. R.; ARNEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmede- GO. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 13, p. 64-66, 2003.

VINUTHA, B.; PRASHANTH D.; SALMA K.; SREEJA SL.; PRATITI D.; PADMAJA R.; RADHIKA S.; AMIT A.; VENKATESHWARLU K.; DEEPAK M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. Journal of Ethnopharmacology, v.109, p.359-63, 2007

5 CAPÍTULO II

Fitocomponentes, avaliação da atividade anticolinesterásica e toxicidade de extratos hidroetanolicos da *Parkia platycephala* (Benth.)

Artigo publicado em inglês no periódico Journal of the Brazilian Chemical Society

https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20220077

2022, 33(12):1414-1422

RESUMO

O bioma cerrado, composto por especificidades raras, aumenta a expectativa das indicações terapêuticas das plantas ali adaptadas. Neste estudo realizou-se a avaliação da composição química, das atividades antioxidante e anticolinesterásica e a da toxicidade de extratos hidroetanólicos da espécie *Parkia platychepala*. Utilizou-se extração a quente (soxhlet) com solução hidroetanólica 70% para a obtenção de extratos brutos da folha (LE), casca (BE), flor (FE) e semente (SE). A separação e identificação dos compostos foram realizadas por cromatografia liquida com detecção por arranjo de diodo e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. As atividades antioxidante e anticolinesterásica foram realizadas pelo método DPPH• e Ellman, respectivamente, e a toxicidade preliminar pelo método com *Artemia salina*. As análises por cromatografia indicaram a presença de naringina, kaempferol, estigmasterol e β-sitosterol em todos os extratos. Destaca-se o ácido gálico nos LE e FE, o ácido ferúlico no BE e o lupeol e o acetato de lupeol no SE. Os LE, BE e FE apresentaram atividade antioxidante, sendo que a atividade do BE (IC_{50} = 14,72 ± 0,13 µg/ml) é equivalente ao padrão rutina (IC_{50} = 15,85 ± 0,08 µg/ml). O SE apresentou o melhor potencial de inibição da acetilcolinesterase (IC_{50} = 5,73 ± 0,68 µg/ml). Além do SE não ser tóxico, os outros extratos apresentaram baixo (LE, FE) e moderado (BE) nível de toxicidade. Os extratos da *P. platycephala* apresentam potencias usos antioxidante e terapêutico, principalmente frente à Doença de Alzheimer.

Palavras-chave: Caracterização química, Potencial Antioxidante, Fava de bolota, Cerrado, Alzheimer.

5.1. INTRODUÇÃO

A savana brasileira (Cerrado) é uma vasta região, comumente caracterizada por uma vegetação resistente às condições edafoclimáticas, consideradas desfavoráveis. Apesar de representar a maior flora entre as savanas do mundo (Fank-de-Carvalho et al., 2015), apenas 8,21% de sua área total permanece em estado de conservação natural (Barbosa, 2017).

A região possui expressiva produção agrícola (aproximadamente 17,43 Mha dos grãos soja, milho e algodão, em 2014) o que acarretaram na destruição de grande parte de sua cobertura nativa, afetando o estoque de carbono e a biodiversidade deste bioma (Bolfe et al., 2016; Coelho et al., 2020; Lehmann and Parr, 2016; Scaramuzza et al., 2017).

Por sua área ser limítrofe com os biomas Amazônia e Caatinga, sua biodiversidade abrange uma variedade de plantas, das quais apenas 30% está catalogada (Fank-de-Carvalho et al., 2015). Mesmo sendo baixos os índices etnobotânicos, há uma ampla utilização dessas plantas com finalidades terapêuticas (Santos et al., 2020), ocasionando a exploração indiscriminada em decorrência de ações extrativistas predatórias e políticas fracas de conservação (Rosa, 2020).

A bioprospecção das espécies vegetais é uma ferramenta para o desenho de estratégias de conservação das espécies nativas, que promove um desenvolvimento regional sustentável ao revelar o valor social, econômico, cultural e ambiental das plantas medicinais (Abdala e Carlos, 2020). Além disso, produz novas aberturas de como o construtivismo social e o realismo podem ser combinados em estudos de ecologia política (Benjaminsen and Svarstad, 2021).

A espécie *Parkia platycephala*, ou fava de bolota, faveira, visgueira, pertence à família Mimosaceae (subfamília Mimosoideae ou Leguminosae II) e é uma planta endêmica encontrada nos estados do Tocantins, Maranhão e Piauí (Chaves et al., 2020; Lindoso et al., 2009).

Testes *in vivo,* comprovaram algumas atividades farmacológicas dessa espécie, tais como os efeitos antinociceptivo, anti-inflamatório, gastroprotetor e anti-helmíntico da lectina purificada dos extratos da semente *P. platycephala* (Bari et al., 2016; Silva et al., 2019). Dos estudos científicos com a espécie *P. platycephala*, quase todos são referentes as vagens e com aplicabilidade nos ramos da nutrição e infecções gastrointestinais em bovinos (Araújo et al., 2019; Cavada et al., 2020; Santos et al., 2018).

O gênero *Parkia* é bastante numeroso, entretanto a química dessas espécies é pouca conhecida (Saleh et al., 2021). Há relatos da presença de ácidos fenólicos (Builders et al., 2014), flavonoides (Fayinminnu et al., 2017), terpenoides (Adaramola et al., 2012; Chhikara et al., 2018), esteroides (Ezema et al., 2016), taninos (Fred-Jaiyesimi e Abo, 2009) e ácidos graxos

(Rahman et al., 2012) neste gênero. Tais compostos são eficazes no tratamento de pacientes com Alzheimer (Santos et al., 2018).

Os pacientes portadores da doença de Alzheimer não sintetizam a acetilcolina (ACh), que é uma substância essencial na atividade neuronal. Acredita-se atualmente que inibidores da acetilcolinesterase (AChE) melhoram os sintomas de demência relacionados à doença (Stanciu et al., 2019). Estudos *in vitro* e *in vivo* da inibição da acetilcolinesterase (iAChE), sugerem que espécies do Cerrado são fontes promissoras de compostos terapêuticos contra a doença de Alzheimer (Oliveira et al., 2018; Penido et al., 2017; Thomaz, 2020).

A avaliação da capacidade antioxidante é citada em algumas pesquisas do gênero *Parkia*, entretanto a análise do potencial neuroprotetor, tal como a inibição da acetilcolinesterase são escassos, além do que a preocupação com a toxicidade dessas espécies também é pouco enfatizada, mesmo com atividades farmacológicas em crescente processo.

Assim, o objetivo deste estudo foi realizar a bioprospecção fitoquímica, determinar as atividades antioxidante e anticolinesterásica e a toxicidade dos extratos da espécie *Parkia platycephala*.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Preparo

As amostras da folha, casca, flor e da semente da *Parkia platycephala* foram coletadas no município de Palmas – TO, na Universidade Federal do Tocantins (UFT) - Campus Palmas (10°10’55” S e 48°21’45” W). As amostras passaram pelas etapas de secagem (60º C/48h) e pulverização (moinho de facas) e foram armazenadas em frascos de vidros fechados em ambiente livre de luz. O projeto encontra-se cadastrado junto ao SISGEN sob número A06B860.

Extração

Utilizou-se o método extrativo a quente em sistema fechado por meio do equipamento Soxhlet para a obtenção dos extratos brutos hidroetanólicos da folha (LE), da casca (BE), da flor (FE) e da semente (SE). Foi utilizada a proporção de 5 g do pó da espécie vegetal para 200 ml da solução etanol 70% (extração polar), durante aproximadamente 5h de refluxo. Após o término da extração, o solvente foi removido usando rotaevaporador (Marca FISATOM) at -600 mmHg at 45 ◦C, em seguida os extratos foram congelados a -70º C e depois liofilizados no Liofilizador de bancada L101 da LIOTOP.

Caracterização por Cromatografia liquida com detecção por arranjo de diodo (CL-DAD)

A análise foi realizada pelo Centro de Estudos em Recursos Naturais da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. Os extratos foram solubilizados em água: metanol (8:2; v: v) e avaliados em uma coluna analítica CL (CL-6AD Shimadzu, Kyoto, Japão) com o auxílio de um sistema detector de fotodiodo que foi monitorado entre os comprimentos de onda λ = 200-800 nm. Em um aparelho analítico LC, onde a coluna era ODS HYPERSIL (C-18, 150 mm x 4,6 mm de diâmetro, Thermo Electron Corporation). O fluxo e o volume de injeção foram, respectivamente, 1 $mL.min^{-1}$ e 10 µL. Todas as análises cromatográficas ocorreram à temperatura de 25 ºC. O eluente A foi composto por uma fase móvel binária de água com ácido acético (6%) e acetato de sódio (2 mM), e o eluente B, composto por acetonitrila e foi aplicado o seguinte gradiente: 0 min 5% B; 20 min 15% B; 30 min 60% B; e 40 min 100% B. Padrões de ácido cafeico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido sinápico, ácido ferúlico e ácido gálico, rutina, luteolina, apigenina, naringina, kaempferol e quercetina foram usados (Sigma, 98%), preparados em metanol-água na concentração de 1000 $µg.mL^{-1}$. A identificação dos compostos com auxílio do detector de varredura na faixa espectral de 200-800 nm não revelou interferências no tempo de retenção das amostras em CL pelo método de eluição desenvolvido. Os padrões foram facilmente identificados e quantificados com base em seus espectros de absorção na região do UV e no tempo de retenção. Os padrões encontrados nos extratos foram identificados de forma inequívoca por meio da realização de experimentos de co-injeção em que alíquotas dos extratos e padrões foram misturadas e diluídas para um volume conhecido e analisados por CL. As curvas de calibração foram determinadas por regressão linear. A linearidade dos padrões foi avaliada para 10 intervalos de concentração. Os erros padrão médios para as áreas de pico de injeções replicadas (n = 5) foram inferiores a 2%, mostrando assim uma boa repetibilidade da curva de calibração. O limite de detecção foi determinado injetando (n = 5) soluções dos padrões de concentração conhecida (20 µL cada) e, em seguida, diminuindo as concentrações das amostras até a detecção de um pico com relação sinal/ruído de 3 (Tabela S1 - seção Informações Complementares). As análises foram realizadas em quintuplicata.

Caracterização por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

A análise foi realizada pelo Centro de Estudos em Recursos Naturais da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. A análise de CG-EM foi realizada usando um GC-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão, equipado com um detector de espectrometria de massa (CG-EM Ultra 2010), usando LM-5 (5% fenildimetilpolissiloxano), coluna capilar de sílica fundida (15 m x

0,2 mm de comprimento e filme de 0,2 µm de espessura. Foi pesado 100 mg do extrato, em seguida foram adicionados 2 ml de água e 2 ml de hexano, após a formação da fase, a fração de hexano foi separada da fração aquosa. À fração aquosa foram adicionados 2 ml de hexano e o processo foi repetido novamente. Após as duas extrações, as frações de hexano foram secas e suspensas em 1000 ml de hexano. Para análise de CG-EM, a solução foi primeiro filtrada através de ultrafiltro de 0,45 µm. A análise ocorreu nas seguintes condições: gás de arraste de hélio (99,999% e vazão de 1 mL min^{-1}), 1 µL de volume de injeção, razão de divisão (1:20), temperatura inicial do forno ajustada para 150˚C e o aquecimento em 150˚C a 280˚C a 15˚C min^{-1} e uma manutenção a 280 ºC por 15 min (Cardoso, 1998). A temperatura do injetor era de 280 °C e a temperatura do detector quadrupolo era de 280 °C. Os parâmetros de varredura de MS incluíram uma voltagem de ionização por impacto de elétrons de 70 eV, uma faixa de massa de 45-600 nm (m/z) e um intervalo de varredura de 0,3 s. As identificações foram realizadas comparando os espectros de massa obtidos nas bibliotecas NIST21 e WILEY229. Em alguns casos, quando os espectros identificados não foram encontrados, apenas o tipo estrutural do componente correspondente foi proposto com base em sua fragmentação espectral de massa. Quando possível, os compostos de referência foram cocromatografados para confirmar os tempos de retenção de CG. Os padrões do estigmasterol, campesterol, β-sitosterol, lupeol e acetato de lupeol (Sigma, ≥98%) foram preparados em hexano na concentração de 1000 µg/mL. As concentrações dos compostos foram determinadas por calibração externa. A linearidade para os padrões foi avaliada para 5 intervalos de concentração. Os erros padrão médios para as áreas de pico de injeções replicadas (n = 5) foram inferiores a 2%, mostrando assim uma boa repetibilidade da curva de calibração. Os respectivos coeficientes de determinação (r^2) foram 0,9996 para estigmasterol, kaempferol, β-sitosterol e lupeol e r^2 = 0,9994 para acetato de lupeol. As análises foram realizadas em quintuplicata.

Determinação de Atividade Antioxidante

O poder antioxidante foi mensurado pelo método do radical DPPH•, seguindo as descrições de Brand-Williams et al. (1995) e com algumas modificações conforme Fernandes et al. (2021). Determinou-se o IC_{50} (µg/mL), denotando a concentração de uma amostra necessária para diminuir a absorbância em 50% a 517 nm.

Determinação Atividade Anticolinesterásica

A análise foi realizada pelo Laboratório de Química de Produtos Naturais do Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará. A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (iAChE) foi determinada baseando-se na metodologia descrita por Ellman

et al. (1961), a qual utilizou placas de 96 poços e concentração final de 0,2 mg/mL, para aferição da absorbância a 405 nm (Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software "Gen5 V2.04.11") durante 30 segundos. Em seguida, incubou-se a enzima acetilcolinesterase (0,25 U/mL) e absorbância foi aferida por 25 min, em intervalos de 1 em 1 minuto. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. Utilizou-se a fisostigmina como controle positivo.

Determinação Toxicidade

A análise preliminar do potencial tóxico foi realizada usando o método da *Artemia salina* segundo metodologia de Meyer et al. (1982) com adaptações. Inicialmente incubou-se os ovos de *Artemia salina* (0.1g), em 1L de solução salina a 3%, com sal marinho sintético, pH ajustado entre 8 a 9 (com carbonato de sódio 1 M), expostos à luz artificial (lâmpada incandescente de 60W) durante 24 horas para que houvesse a eclosão.

Preparou-se tubos de ensaios, em triplicatas, com 5 mL de solução dos extratos (LE, BE, FE, SE) diluídos em solução salina de DMSO (1%), em concentrações variadas (4-4000 µg/mL) e também tubos contendo apenas solução de DMSO (1%) diluída em solução salina (3%) para o grupo controle, todos com pH ajustado entre 8 e 9. Adicionou-se 10 nauplios em cada tubo de ensaio. Após um período de 24 horas, foi realizada a contagem do número de náuplios imóveis e determinado o percentual de mortalidade, a partir do qual determinou-se o IC_{50} de cada extrato. A classificação do extrato seguiu os critérios estabelecidos por Nguta et al. (2011), que definem extratos com valores de $IC_{50} < 100$ µg/mL como altamente tóxicos, $100 < IC_{50} < 500$, moderadamente tóxicos, $500 < IC_{50} < 1000$, apresentam baixa toxicidade e $IC_{50} > 1000$ µg/mL são considerados atóxicos (não tóxicos).

Análise Estatística

O conteúdo da caracterização química, a atividade antioxidante e atividade anticolinesterásica são apresentados em média ± desvio padrão (DP) da determinação em quintuplicatas e triplicatas, respectivamente. O IC_{50} foi determinado a partir do programa Graphpad Prism 9, por regressão não linear. Foram utilizados análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização por CL-DAD

Na análise por CL-DAD dos extratos da folha, casca, flor e semente da *P. platycephala* foram identificados (Figura S1) e quantificados os ácidos fenólicos (gálico, elágico, cafeíco e ferúlico), a flavonona naringina e o flavonol kaempferol (Tabela 3).

Tabela 3. Teores dos compostos químicos empregando CL-DAD nos extratos brutos hidroetanolicos da folha (LE), da casca (BE), da flor (FE) e da semente (SE) da *P. platycephala*.

Composto	Concentração (mg/g)			
	LE	BE	FE	SE
Ácido gálico	$217,6 \pm 1,1^{a}$	$159,4 \pm 0,9^{b}$	$192,9 \pm 1,1^{c}$	-
Ácido cafeico	$174,6 \pm 1,2^{a}$	$119,7 \pm 0,7^{b}$	-	-
Ácido ferúlico	$107,9 \pm 1,0^{b}$	$182,7 \pm 1,0^{a}$	-	-
Ácido elágico	$182,1 \pm 0,7^{a}$	-	$123,4 \pm 1,0^{b}$	-
Naringina	$84,8 \pm 0,4^{a}$	$77,3 \pm 0,2^{b}$	$65,9 \pm 0,5^{d}$	$75,1 \pm 0,4^{c}$
Kaempferol	$98,7 \pm 0,2^{a}$	$87,6 \pm 0,5^{b}$	$79,2 \pm 0.3^{c}$	$87,2 \pm 0,2^{b}$

Valores representam a média seguida do desvio padrão (Média ± DP). As letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

Em todos os extratos foram detectados, naringina e kaempferol, destacando-se o LE com maiores teores de ambos. Uma semelhança estatística entre BE e SE também foi detectada para kaempferol. Destacam-se os teores de ácido gálico no LE (217,6 ± 1,1 mg/g) e FE (192,9 ± 1,1 mg/g), ácido ferúlico no BE (182,7 ± 1,0 mg/g) e ácido elágico (182,1 ± 0,7 mg/g) no LE.

A caracterização química da espécie *P. platycephala* ainda é pouco descrita, embora existam estudos com o gênero *Parkia* que possam indicar possíveis compostos em comum. Os ácidos gálico e elágico, a naringina e o kaempferol já foram identificados em estudos com o extrato etanólico da folha da *P. platycephala* (Figueiredo et al., 2020).

Os ácidos caféico e ferúlico estão presentes nas vagens das espécies *Parkia speciosa* e *Parkia javanica* (Ko et al., 2014; Loukrakpam et al., 2019). Esses compostos inibem a produção da secreção do ácido gástrico (Umre et al., 2018), gerando um efeito gastroprotetor. Tal bioatividade foi comprovada nas folhas da espécie *P. platycephala* (Silva et al., 2019).

Ressalta-se que o ácido gálico possui acentuada atividade anti-inflamatória em doenças neurodegenerativas, sendo capaz de reverter a amnésia induzida por escopolamina, devido a capacidade de inibição do estresse oxidativo, age também na diminuição da atividade da acetilcolinesterase (Kahkeshani et al., 2019).

O ácido elágico gera efeitos neuroprotetores e melhoramento cognitivo, resultados alcançados pela redução no estresse oxidativo (Jha et al., 2018). O kaempferol alivia o

comprometimento da memória, reduz a neuroinflamação, podendo ser indicado como agente contra a doença de Parkinson, doença de Alzheimer e isquemia cerebral (Kouhestani et al., 2018; Yang et al., 2019).

Outro potencial agente neuroprotetor é a naringina, estudos comprovam que o composto provocou a supressão da atividade da acetilcolinesterase em ratos, bem como, o aumento da expressão do fator neurotrófico e a redução de convulsões (Jeong et al., 2015; Sachdeva et al., 2014).

Caracterização por CG-EM

Na análise por CG-EM foram identificados e quantificados cinco compostos, dos quais, três são esteroides (campesterol, estigmasterol e β-sitosterol) e dois triterpenoides (lupeol e acetato de lupeol) (Tabela 4).

Tabela 4. Teores dos compostos químicos quantificados por CG-EM nos extratos brutos hidroetanolicos da folha (LE), da casca (BE), da flor (FE) e da semente (SE) da *P. platycephala*.

Composto	**Concentração (mg/g)**			
	LE	BE	FE	SE
Campesterol	$21,0 \pm 0,1^{a}$	$20,7 \pm 0,1^{b}$	-	$18,9 \pm 0,1^{c}$
Estigmasterol	$25,3 \pm 0,1^{c}$	$25,7 \pm 0,2^{b}$	$24,7 \pm 0,1^{d}$	$34,3 \pm 0,1^{a}$
β-sitosterol	$61,3 \pm 0,2^{a}$	$60,1 \pm 0,2^{b}$	$22,1 \pm 0,1^{d}$	$23,7 \pm 0,2^{c}$
Lupeol	$49,5 \pm 0,2^{b}$	$48,4 \pm 0,1^{c}$	-	$71,8 \pm 0,3^{a}$
Acetato de lupeol	$51,9 \pm 0,2^{c}$	$52,7 \pm 0,2^{b}$	-	$55,5 \pm 0,2^{a}$

Valores representam a média seguida do desvio padrão (Média ± DP). As letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

O teor de β-sitosterol foi majóritário em LE (61,3 ± 0,2 mg/g) seguido de BE (60,1 ± 0,2 mg/g) comparando-se todos os extratos. Em relação ao lupeol (71,8 ± 0,3 mg/g), acetato de lupeol (55,5 ± 0,2 mg/g) e estigmasterol (34,3 ± 0,1 mg/g), o SE apresentou níveis estatisticamente superiores aos demais extratos.

Apesar da maioria dos relatos de caracterização do gênero *Parkia* serem das vagens ou sementes, há alguns dados sobre folhas e casca (Saleh et al., 2021). Alguns estudos de espécies deste gênero também identificaram os compostos deste estudo. A espécie *Parkia speciosa* apresenta em suas sementes, o campesterol, o estigmasterol, o β-sitosterol e o lupeol (Rahman et al., 2012). Na *Parkia biglobosa (P. biglobosa)* foi detectado, o campesterol, o estigmasterol e o β-sitosterol (sementes), o lupeol (casca) e o acetato de lupeol (folhas e casca) (Gnansounou et al., 2019; Ibrahim et al., 2016; Olatunya et al., 2019). Verificou-se, também a presença do β-

sitosterol nas folhas da *Parkia javanica* (Dinda et al., 2009). Há relatos da presença do β-sitosterol (casca) e do lupeol (raiz) na espécie *Parkia bicolor* (Fotie et al., 2004; Nkainsa et al., 2020).

O lupeol é um triterpeno natural, com comprovadas ações anti-inflamatórias e imunomoduladoras, que agem diretamente no cérebro, induzindo a neuroproteção (Oliveira-Junior et al., 2019). Já o acetato de lupeol, possui comprovado efeito neuroprotetor, devido à atividade anti-inflamatória que atua no opioide cerebral (Lucetti et al., 2010). Segundo Wang et al. (2016), esse efeito é extremamente benéfico para o tratamento da doença de Alzheimer.

Ayaz et al. (2017) afirmam que o β-sitosterol possui eficiência dupla, pois inibe a enzima acetilcolinesterase e elimina as espécies reativas no cérebro. Tais efeitos, por consequência melhoram os déficits cognitivos, a memória de curto prazo e as deficiências locomotoras (Ayaz et al., 2017).

Atividades Antioxidante e Anticolinesterásica

Foram determinados elevados potenciais antioxidante, $IC_{50} < 3 \times IC_{50}$[rutina], (Melo et al., 2010) e iAChE, $IC_{50} < 20$ μg/ml (Santos et al., 2018), nos extratos brutos da folha, casca, flor e semente da *P. platycephala* (Tabela 5).

Tabela 5. Potencial antioxidante e atividade inibidora da acetilcolinesterase dos extratos brutos hidroetanolicos da folha (LE), casca (BE), flor (FE) e semente (SE) da *P. platycephala* e do controle rutina (R) e fisostigmina (F).

Extrato	DPPH•	iAChE
	IC_{50}(μg/ml)	IC_{50}(μg/ml)
LE	$29,32 \pm 1,00^{b}$	$13,07 \pm 0,61^{c}$
BE	$14,72 \pm 0,13^{a}$	$13,02 \pm 0,15^{c}$
FE	$35,45 \pm 1,36^{c}$	$12,73 \pm 0,73^{c}$
SE	ND	$5,73 \pm 0,68^{b}$
R	$15,85 \pm 0,08^{a}$	-
F	-	$1,15 \pm 0,05^{a}$

ND- não detectado. Valores representam a média seguida do desvio padrão (Média ± DP). As letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).

A atividade antioxidante do BE ($IC_{50} = 14,72 \pm 0,13$ μg/mL) equivale estatisticamente à atividade do controle positivo, a rutina ($IC_{50} = 15,85 \pm 0,08$ μg/mL). Estudos realizados com a casca da espécie *P. biglobosa* confirma o excelente potencial antioxidante ($IC_{50} = 6,210 \pm 0,001$ μg/mL) das cascas desse gênero (Ouedraogo et al., 2021).

Observou-se que, dentre os compostos fenólicos detectados no BE, o ácido ferúlico, em teor majoritário nesse extrato, vem sendo amplamente estudado, devido ao seu elevado potencial antioxidante (Tee-Ngam et al., 2013). Ele é facilmente absorvido pelo corpo e têm a capacidade de permanência prolongada no sangue (Zduńska et al., 2018).

Estudos recentes com a folha e a semente da *P. platycephala* demonstraram que a extração sequencial com polaridade crescente (hexano, metanol e etanol (70%), foi promissora para os extratos da folha, apresentando relevante potencial antioxidante, tanto para o extrato metanólico (IC_{50} = 30.19 ± 0.75 μg/mL) quanto para o hidroetanólico (IC_{50} = 40.62 ± 0.65 μg/mL) (Fernandes et al., 2021). Entretanto, o potencial antioxidante do LE (IC_{50} = 29,32 ± 1,00 μg/mL) sugere que o método por extração polar, otimizou o processo de extração, uma vez que aumenta a capacidade antioxidante do extrato hidroetanólico. Em relação os extratos da semente, o método de extração não teve influência na capacidade antioxidante, pois ambos não atingiram 50% nas concentrações testadas (10-200 μg/mL) (Fernandes et al., 2021). Assim como relatado por Farias et al. (2013), a atividade antioxidante para o extrato da semente da *P. platycephala* é de baixo potencial, o que pode ser justificado pela ausência de ácidos fenólicos em sua composição.

Nos estudos realizados por Dubey et al. (2020), os extratos da folha e flor da espécie *Parkia roxburghii* apresentaram potencial antioxidante de IC_{50} = 16 ± 0.002 μg/mL e IC_{50} = 68 ± 0.004 μg/mL, respectivamente. Realizando um comparativo entre as espécies, verificou-se que em ambas, a folha apresentou poder antioxidante superior à flor, entretanto o potencial antioxidante da folha (IC_{50} = 35,45 ± 1,36 μg/mL) da *P. platycephala* é inferior ao potencial do extrato da folha da *Parkia roxburghii*, já para a flor o efeito foi contrário. Tais variações, podem ser justificadas, além da diferenciação de espécies, também pelas condições edafoclimáticas, que afetam diretamente a composição metabólita do vegetal (Zduńska et al., 2018).

Em relação ao efeito iAChE, conforme a Tabela 3, observou-se que o SE (IC_{50} = 5,73 ± 0,68 μg/mL) é o extrato mais potente. Os demais extratos são estatisticamente semelhantes e também possuem elevado potencial inibidor. Essa bioatividade é ratificada por Fernandes et al. (2021).

Ao realizar o comparativo entre métodos extrativos polar e sequencial com aumento de polaridade, da folha e semente da *P. platycephala*, foi observada a influência dos mesmos no efeito inibidor da acetilcolinesterase, apenas nos extratos da semente, tendo o método extrativo polar uma melhor eficiência (IC_{50} = 5,73 ± 0,68 μg/mL), enquanto o método sequencial apresentou IC_{50} = 9.85 ± 0.76 μg/mL, IC_{50} = 12.14 ± 0.12 μg/mL e IC_{50} = 12.90 ± 0.14 μg/mL,

para os extratos hexânico, metanólico e hidroetanólico, respectivamente (Fernandes et al., 2021).

O excelente efeito do SE foi associado aos compostos lupeol (71,8 ± 0,31 mg/g) e acetato de lupeol (55,5 ± 0,2 mg/g). Ahmad et al. (2020) realizaram testes *in vivo* em camundongos, com acúmulo de placas de beta-amiloide, umas das características do Alzheimer. Foram administradas doses orais (50 mg/kg) de lupeol nesses camundongos, e os resultados mostraram a diminuição significativa do estresse oxidativo, da neuroinflamação e das deficiências de memória (Ahmad et al., 2020).

Segundo Nejma et al. (2017), o lupeol apresenta efeito iAChE (IC_{50} = 38.31 ± 1.30 µg/mL) devido a configuração triterpênica e o álcool secundário livre C-3 do composto. O seu derivado, acetato de lupeol, também apresenta poder de inibição da acetilcolinesterase (IC_{50} = 142.55 ± 2.12 µg/mL) (Nejma et al., 2017). De acordo com os critérios de Santos et al (2018), esses compostos apresentam efeito inibidor da AChE moderado (20 µg/mL < IC_{50} < 200 µg/mL).

Acredita-se que, o poder inibidor dos demais extratos (LE, BE e FE), esteja relacionado à associação entre os compostos fenólicos e os esteroides detectados em cada extrato.

Karimi et al. (2021) afirmaram que mesmo moléculas pequenas como, estigmasterol, β-sitosterol e campesterol apresentam efeito inibidor para a acetilcolinesterase e são possíveis casos de sucesso na descoberta de novas drogas anti-Alzheimer.

Segundo Elufioye et al. (2017) o campesterol apresenta alto poder iAChE (IC_{50} = 1,89 µg/mL), ratificando as variadas pesquisas que apontam os fitoesterois como excelentes inibidores desta enzima.

Compostos como o ácido gálico, possuem excelente efeito de iAChE (IC_{50} = 5,85 µM ou 0,995 µg/mL) (Murray et al., 2013). Kaur et al. (2019) observaram o efeito iAChE de frações de acetato de etila da espécie *Ganoderma mediosinense*, e após purificação de uma dessas frações, relataram ser o ácido gálico o responsável por tal efeito.

Testes comprovaram que a administração em camundongos, do ácido ferúlico (10 e 20 mg/kg de peso corporal) associada ao cádmio, inibiram a AChE e melhoraram as condições neuromodolatórias dos animais (Adefegha et al., 2016).

O ácido cafeico possui comprovada ação modulador da atividade da AChE (*in vitro* e *in vivo)*, com efeitos positivos na circulação cerebral e no desempenho cognitivo (Anwar et al., 2012). Sabernavaei et al. (2018) isolaram o ácido cafeico da fração metanólica da espécie *Leutea avicennia.* Esse composto apresentou excelente poder de iAChE (IC_{50} = 12,06 ± 2,01 µg/mL).

Oh et al. (2021) isolaram o ácido elágico da espécie *Castanopsis cuspidata* e verificaram, em testes *in vivo*, que esse composto apresenta elevado poder de iAChE (IC_{50} = 12,40 ± 2,4 µM).

Ressalta-se que não foram encontrados estudos anteriores que avaliaram a inibição da acetilcolinesterase por extratos de espécies vegetais da casca e flor do gênero *Parkia*, assim os dados aqui apresentados são os primeiros relatos do gênero, especificamente da espécie *Parkia platycephala*, indicando potencial uso terapêutico da mesma contra a doença de Alzheimer.

Toxicidade preliminar

A Tabela 6 mostra os resultados toxicológicos para os extratos brutos da folha, casca, flor e semente da *P. platycephala*.

Tabela 6. Concentrações letais de 50% (IC_{50}) dos extratos hidroetanolicos da folha (LE), casca (BE), flor (FE) e semente (SE) da *P. platycephala* pelo teste com *Artemia salina*.

Extrato	**IC_{50}** (µg/ml)	**Toxicidade**
LE	522,37 ± 65,8	baixa
BE	445,00 ± 68,2	moderada
FE	772,00 ± 0,01	baixa
SE	ND	não tóxica

ND – não detectável; Valores representam a média seguida do desvio padrão (Média ± DP).

O uso dos extratos da *P. platycephala* para fins medicinais é relativamente seguro, visto que, além de 50% dos extratos apresentaram toxicidade de nível baixo (500 µg/ml < IC_{50} < 1000 µg/ml), verificou-se também a ausência de toxicidade no SE, cujo IC_{50} > 1000 µg/ml.

Fernandes et al. (2010) ratificam o uso seguro dos extratos da folha da *P. platycephala*, após verificarem ausência de toxicidade aguda (1000 mg/kg) e de citotoxicidade em eritrócitos (100µg/mL) de camundongos.

O extrato da folha da *P. biglobosa* apresentou ligeira toxicidade em peixes na faixa de 500–5000 mg/kg de peso corporal (Abalaka et al., 2010). O extrato aquoso da semente de *Parkia clappertoniana,* administrado por via oral (100-500 mg/kg) em ratos foi classificado como não tóxico (Boye et al., 2016; Saleh et al., 2021).

Não houve indícios de citotoxicidade do extrato da casca da *P. biglobosa* em células musculares C_2C_{12} murinas em concentrações até 300 µg/mL (Asuzu e Harvey, 2003). Porém testes *in vivo* de toxicidade aguda oral e intraperitoneal (ip), também foram realizados em camundongos Wistar adultos, e apesar de nenhuma morte ter sido registrada com a dose máxima (1000 mg/kg), foi relatado que, após a administração ip, alguma toxicidade foi

observada e o IC_{50} foi estimado em 457 mg/kg (Asuzu e Harvey, 2003), que classifica o extrato da casca como moderadamente tóxico (GHS, 2021) .

Testes preliminares de toxicidade com *A. salina*, também foram realizados por Nounagnon et al. (2017) em extratos etanólicos da folha e casca da *P. biglobosa* e demonstraram na casca uma toxicidade mais acentuada, apresentando dose letal, equivalente à metade da dose da folha.

Por fim, percebe-se assim, ser importante a continuidade dos estudos com a espécie *P. platycephala*, visto que, os dados aqui apresentados indicam promissoras atividades biológicas, tanto antioxidante quanto à anticolinesterásica.

5.4. CONCLUSÃO

A composição química de *P. platycephala* do cerrado tocantinense permitiu a quantificação de ácidos fenólicos (ácido gálico, elágico, ferúlico, caféico), flavonona (naringina), flavonol (kempferol), esteroides (campesterol, estigmasterol e β-sitosterol) e triterpenoides (lupeol e acetato de lupeol).

Apresentaram um bom potencial antioxidante os LE, CE e FE. A inibição da acetilcolinesterase por todos os extratos da *P. platycephala*, fortalece os indícios de ação contra a doença de Alzheimer. Além disso, os extratos apresentaram baixa toxicidade no modelo com *A. salina*, com exceção do BE que foi moderada.

Nesse contexto, é indicado dar continuidade aos estudos com a espécie com fins de incentivar as pesquisas locais, em busca do isolamento dos princípios ativos e aplicação das novas indicações terapêuticas.

5.5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal do Tocantins (UFT) pelo apoio recebido. Esta publicação recebeu apoio financeiro da EDITAL nº17 / 2021, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Ambiental (PPsGCiamb) da UFT.

5.6. REFERÊNCIAS

Abalaka, S.E., Fatihu, M.Y., Ibrahim, N.D.G., Kazeem, H.M., 2010. Histopathologic changes in the gills and skin of adult Clarias gariepinus exposed to ethanolic extract of *Parkia biglobosa* pods. Basic Appl. Pathol. 3, 109–114. https://doi.org/10.1111/j.1755-9294.2010.01088.x

Abdala, K., Carlos, S., 2020. Bioprospective potential in the traditional use of herbal medicines in an institution in Central Brazil. J. Med. Plants Res. 14, 389-405. https://doi.org/10.5897/JMPR2020.6912

Adaramola, T.F., Ariwaodo, J.O., Adeniji, K.A., 2012. Distribution, phytochemistry and antioxidant properties of the genus *Parkia R.br.*(mimosaceae) in Nigeria. Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res. 4, 172–178.

Adefegha, S.A., Omojokun, O.S., Oboh, G., Fasakin, O., Ogunsuyi O., 2016. Modulatory Effects of Ferulic Acid on Cadmium-Induced Brain Damage. J. Evid. Based Complementary Altern. Med. 21, 56-61. http://dx.doi.org/10.1177/2156587215621726.

Ahmad, R., Khan, A., Lee, H.J., Rehman, I.U., Khan, I., Alam, S.I., Kim, M.O., 2020. Lupeol, a Plant-Derived Triterpenoid, Protects Mice Brains against Aβ-Induced Oxidative Stress and Neurodegeneration. Biomedicines 8, 380. http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines8100380.

Anwar, J., Spanevello, R.M., Thomé, G., Stefanello, N., Schmatz, R., Gutierres, J., Vieira, J., Baldissarelli, J., Carvalho, F.B., Rosa, M.M., Rubin, M.A., Fiorenza, A., Morsch, V.M., Schetinger, M.R.C., 2012. Effects of caffeic acid on behavioral parameters and on the activity of acetylcholinesterase in different tissues from adult rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 103, 386–394. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.09.006.

Araújo, M.J., Miranda H.H., MARQUES C.A.T., Batista L., Carvalho F.J.V., Jácome D.L.S., Edvan R.L., Silva T.P.D., Bezerra L.R., Lima A.G.V.O., Oliveira R.L., 2019. Effect of replacing ground corn with *Parkia platycephala* pod meal on the performance of lactating Anglo-Nubian goats. Anim. Feed Sci. Technol. 258, 114313. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114313.

Asuzu, I.U., Harvey, A.L., 2003. The antisnake venom activities of *Parkia biglobosa* (Mimosaceae) stem bark extract. Toxicon. 42, 763–768. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.10.004.

Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., Sadiq, A., Ali, G., Ovais, M., Shahid, M., AHMAD, A., Wadood, A., El-Shazly, M., Ahmad, N., Ahmad, S., 2017. Anti-Alzheimer's Studies on β-Sitosterol Isolated from Polygonum hydropiper L. Front. Pharmacol. 8, 697. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00697.

Barbosa, F.M., 2017. Cerradania: alumeia e óia pros encantamentos dos cerratenses, 1st ed. Clube de Autores, Brasília.

Bari, A.U., Santiago, M.Q., Osterne, V.J.S., Pinto-Junior, V.R., Pereira, L.P., Silva-Filho, J.C., Debray, H., Rocha, B.A.M., Delatorre, P., Teixeira, C.S., Neto, C.C., Assreuy, A.M.S., Nascimento, K.S., Cavada, B.S., 2016. Lectins from *Parkia biglobosa* and *Parkia platycephala*: A comparative study of structure and biological effects. Int. J. Biol. Macromol. 92, 194–201. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.032.

Benjaminsen T.A., Svarstad H., 2021. Discourses and Narratives on Environment and Development: The Example of Bioprospecting. Political Ecology, 59-87. https://doi.org/10.1007/978-3-030-56036-2_3.

Bolfe, E.L., Victória, D.D.C.; Contini, E.; Bayma-Silva, G.; Spinelli-Araujo, L.; Gomes, D., 2016. Matopiba em crescimento agrícola aspectos territoriais e socioeconômicos. Revista de Política Agricola. 25, 38-62.

Boye, A., Boampong, V.A., Takyi, N., Martey, O., 2016. Assessment of an aqueous seed extract of *Parkia clappertoniana* on reproductive performance and toxicity in rodents. J. Ethnopharmacol. 185, 155–161. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.037.

Builders, M., Alemika, T., Aguiyi, J., 2014. Antimalarial Activity and isolation of phenolic compound from *Parkia biglobosa*. IOSR J. Pharm. Biol. Sci. 9, 78–85. https://doi.org/10.9790/3008-09347885.

Cardoso, C. A. L.; Vilegas, W. ; Honda, N. K. J. Chromatography 1998, 808, 264.

Cavada, B.S., Bari, A.U., Pinto-Junior, V.R., Lossio, C.F., Silva, M.T.L., Souza, L.A.G., Oliveira, M.V., Souza-Filho, C.H.D., Correia, S.E.G., Vital, A.P.M.S., Lima, L.D., Osterne, V.J.S., Nascimento, K.S., 2020. Purification and partial characterization of a new lectin from *Parkia panurensis* Benth. ex H.C. Hopkins seeds (Leguminosae family; Mimosoideae

subfamily) and evaluation of its biological effects. Int. J. Biol. Macromol. 145, 845-855. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.102.

Chaves, S.R., Santos, R.R., Silva, A.L.G., 2020. Reproductive biology of *Parkia platycephala* Benth (leguminosae, caesalpinioideae, clado mimosoide). Braz. J. of Dev. 6, 79442-79458. http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n10-393.

Chhikara, N., Devi, H.R., Jaglan, S., Sharma, P., Gupta, P., Panghal, A., 2018. Bioactive compounds, food applications and health benefits of *Parkia speciosa* (stinky beans): A review. Agric. Food Secur. 7, 46. https://doi.org/10.1186/s40066-018-0197-x.

Coelho, A.J.P., Magnago, L.F.S., Matos, F.A.R., Mota, N.M., Diniz, É.S., Meira-Neto, J.A.A., 2020. Effects of anthropogenic disturbances on biodiversity and biomass stock of Cerrado, the Brazilian savanna. Biodivers. Conserv. 29, 3151–3168. https://doi.org/10.1007/s10531-020-02013-6.

Dinda, B., Chandra-Mohanta, B., Debnath, S., Ghosh, B., Arima, S., Sato, N., Harigaya, Y., 2009. Iridoid glucosides from leaves and stem barks of *Parkia javanica*. J. Asian Nat. Prod. Res. 11, 229–235. https://doi.org/10.1080/10286020902727280.

Dubey, R.K., Upadhyay, G., Singh, V., Pandey, S., 2020. Antioxidant potential and free radical scavenging activity of *Parkia roxburghii*, G. Don, a lesser known leguminous tree from North East India. S. Afr. J. Bot. 131, 454-461. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.013.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7, 88-90. https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9.

Elufioye, T.O., Obuotor, E.M., Agbedahunsi, J.M., Adesanya, S.A, 2017. Anticholinesterase constituents from the leaves of Spondias mombin L. (Anacardiaceae). Biologics. 11, 107–114. http://dx.doi.org/10.2147/BTT.S136011.

Ezema, B.E., Eze, F.U.; Ezeofor, C.C., 2016. Phytochemical and antibacterial studies of eastern nigerian mistletoe (Loranthus micranthus) parasitic on Pentacletra macrophylla and *Parkia biglobosa*. Int. J. Pharm. Technol. Res. 9, 360–365.

Fank-De-Carvalho, S., Marchioretto, M.S., Somavilla, N.S., Báo, S., 2015. Plant structure in the Brazilian neotropical savannah species. Biodiversity in ecosystems - Linking structure and function. 407-442 https://doi.org/10.5772/59066.

Farias, D.F., Souza, T.M., Viana, M.P., Soares, B.M., Cunha, A.P., Vasconcelos, I.M., Ricardo, N.M.P.S., Ferreira, P.M.P., Melo, V.M.M., Carvalho, A.F.U., 2013. Antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase activities of plant seed extracts from brazilian semiarid region. BioMed Res. Int. 2013, 1-9. https://doi.org/10.1155/2013/510736.

Fayinminnu, O.O., Adeniyi, O.O.; Alabi, O.Y.; Omobusuyi, D.O, 2017. Potentials of Aqueous Extract of Pod Husk *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth as a Biopesticide in Okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench) Production. J. Agric. Ecol. Res. Int. 12, 1–12. http://dx.doi.org/10.9734/JAERI/2017/32529.

Fernandes, H.B., Silva, F.V., Passos, F.F.B., Bezerra, R.D.S., Chaves, M.H., Oliveira, F.A., Oliveira, R.C.M, 2010. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. Biol. Res. 43, 451-457. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602010000400010

Fernandes, R.M.N., Rodrigues, M.A.M., Panontin, J.F., Alves, D.R., Morais, S.M., Soares, I. M., Scapin, E., 2021. Chemical investigation, toxic potential and acetylcholinesterase inhibitory effect of *Parkia platycephala* leaf and seed extracts. J. Med. Plants Res. 15, 401-412. http://dx.doi.org/10.5897/JMPR2021.7158.

Figueiredo, B.N.S., Sato M.O., Moura L.T.S., Mariano S.M.B., Alvim T.C., Soares I.M., Kawai S., Ascêncio S.D., Santos H.D., Paiva J.A., Sato M., Maruo V.M., 2020. Preliminary report on the effect of savanna plants *Leucaena leucocephala*, *Parkia platycephala* and *Senna alata* against Eggs and immature stages of *Trichostrongylid Nematodes in vitro*. Pathogens, 9, 986. https://doi.org/10.3390/pathogens9120986.

Fotie, J., Nkengfack, A.E., Peter, M.G., Heydenreich, M., Fomum, Z.T., 2004. Chemical constituents of the ethyl acetate extracts of the stem bark and fruits of *Dichrostachys cinerea* and the roots of *Parkia bicolor*. Bull. Chem. Soc. Ethiop., 18, 111–115. https://doi.org/10.4314/bcse.v18i1.61646.

Fred-Jaiyesimi, A.A., Abo, K.A., 2009. Hypoglycaemic effects of *Parkia biglobosa* (Jacq) Benth seed extract in glucose-loaded and NIDDM rats. Int. J. Biol. Chem. Sci., 3, 545–550. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v3i3.45340.

Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), 9th ed., United Nations: New York, 2021, https://unece.org/transport/standards/transport/dangerous-goods/ghs-rev9-2021 (acessed September 2021).

Gnansounou, S., Iskandar, S., Abou, L., Robin, M., Giorgio, C., Dahouenon, E., Piccerelle, P., Sonhounhlou, D., 2019. GC-MS screening and evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of ethanolic leaves and stem barks extracts from *Dialium guineense* Willd, *Parkia biglobosa* (Jacq.) R. Br. ex Benth. and Tamarindus indica L. J. Pharmacogn. Phytochem. 8, 295-301.

Ibrahim, M.A., Habila, J.D., Koorbanally, N.A., Islam, M.S., 2016. Butanol fraction of *Parkia biglobosa* (Jacq.) G. Don leaves enhance pancreatic β-cell functions, stimulates insulin secretion and ameliorates other type 2 diabetes-associated complications in rats. J. Ethnopharmacol. 183, 103-111. https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.018.

Jha, A.B., Panchal, S.S., Shah, A., 2018. Ellagic acid: Insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic Alzheimer's disease. Pharmacol. Biochem. Behav. 175, 33–46. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.08.007.

Jeong, K.H., Jung, U.J., Kim, S.R., 2015. Naringin attenuates autophagic stress and neuroinflammation in kainic acid-treated hippocampus *in vivo*. Evid. Based. Complement. Alternat. Med. *Medicine*. 2015, 354326. https://doi.org/10.1155/2015/354326.

Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S.S.H., Bahramsoltani, R., Naseri, R., Momtaz, S., Abbasabadi, Z., Rahimi, R., Farzaei, M.H., Bishayee, A., 2019. Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. Iran. J. Basic. Med. Sci. 22, 225-237. https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.32806.7897.

Karimi, I., Yousofvand, N., HusseiN, B.A, 2021. *In vitro* cholinesterase inhibitory action of Cannabis sativa L. Cannabaceae and in silico study of its selected phytocompounds. In Silico Pharmacol. 9, 1-13. https://doi.org/10.1007/s40203-021-00075-0.

Kaur, A., Randhawa, K., Singh, V., Shri, R., 2019. Bioactivity-Guided Isolation of Acetylcholinesterase Inhibitor from *Ganoderma mediosinense* (Agaricomycetes). Int. J. Med. Mushrooms. 21, 755-763. https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.2019031508.

Ko, H.J., ANG, L.H.; NG, L.T., 2014 2014. Antioxidant activities and polyphenolic constituents of bitter bean *Parkia speciosa*. Int. J. Food Prop., 17, 1977–1986.

Kouhestani, S., Jafari, A., Babaei, P., 2018. Kaempferol attenuates cognitive deficit via regulating oxidative stress and neuroinflammation in an ovariectomized rat model of sporadic dementia. Neural. Regen. Res. 13, 1827–1832. https://doi.org/10.4103/1673-5374.238714.

Lehmann, C.E.R., Parr, C.L., 2016. Tropical grassy biomes: Linking ecology, human use and conservation. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 371, 20160329. https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0329.

Lindoso, G.S., Felfili, J.M., Costa, J.M., Castro, A.A.J.F., 2009. Diversidade e estrutura do Cerrado sensu stricto sobre areia (Neossolo Quartzarênico) na Chapada Grande Meridional, Piauí. Rev. Biol. Neotrop. 6, 45-61. http://dx.doi.org/10.5216/rbn.v6i2.12854.

Loukrakpam, B., Rajendran, A., Chyne, D.A.L., Longvah, T., 2019. 12th IFDC 2017 Special Issue—Nutrient and phytonutrient profiles of some indigenous vegetables of Manipur, Northeast India. J. Food Compos. Anal. 79, 12–22. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.03.003.

Lucetti, D., Lucetti, E., Bandeira, M., Veras, H., Silva, A., Leal, L., Lopes, A., Alves, V., Silva, G., Brito, G., Viana, G.B., 2010. Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. J Inflamm (Lond). 7, 1-60. https://doi.org/10.1186/1476-9255-7-60.

Melo, J.G., Araújo TAS, Castro, V.T.N.A., Cabral, D.L.V., Rodrigues, M.D., Nascimento, S.C., Amorim, E.L.C., Albuquerque, U.P., 2010. Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. Molecules. 15, 8534-8542. https://doi.org/10.3390/molecules15128534.

Meyer, B.N., Ferrigini, R.N., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichol,s D.E., Mclaughlin, J.L., 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med 45:31–35. www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2007-971236.

Murray, A.P., Faraonia, M.B., Castro, M.J., Alza, N.P., Cavallaro, V., 2013. Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's Disease Therapy. Curr. Neuropharmacol. 11, 388-413. https://dx.doi.org/10.2174%2F1570159X11311040004.

Nejma, A.B., Besbes, M., Guerineau, V., Touboul, D., Jannet, H.B. And Hamza, M.A., 2017. Isolation and structure elucidation of acetylcholinesterase lipophilic lupeol derivatives inhibitors from the latex of the Tunisian Periploca laevigata. Arab. J. Chem. 10, S2767-S2772. http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.10.026.

Nguta, J.M., Mbaria, J.M., Gakuya, D., And Gathumbi, P.K., 2011. Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). Pharmacologyonline. 2, 458-478.

Nkainsa, A., Fotso, S.C., Fusi, A.A., Francioli, K., Alfred, T.F.A., Wansi, J.D., Désiré, D.D.P., Dongmo, A.B., Dimo, T., 2020. Phytochemical analysis and *in vitro* antimicrobial screenings of the methanolic stem bark extract and constituents of *Parkia bicolor* A. Chev. (Leguminosae). Trends. Phytochem. Res. Journal. 4, 193-200.

Nounagnon, M., Dah-Nouvlessounon, D., N'tcha, C., Nanoukon, C., Assogba, F., Lalèyè F,O.A, Noumavo P., Gbénou D.J., Baba-Moussa L., 2017. Phytochemical composition, antimicrobial and cytotoxicity activities of *Parkia biglobosa* (Jacq) benth extracts from Benin. J. Pharmacogn. Phytochem. 6, 35-42.

Oh, J.M., Jang, H.J., Kang, M.G., Song, S., Kim, D.Y., Kim, J.H., Noh, J.I., Park, J.E., Park, D., Yee, S.T., Kim, H., 2021. Acetylcholinesterase and monoamine oxidase-B inhibitory activities by ellagic acid derivatives isolated from *Castanopsis cuspidata* var. sieboldii. Sci. Rep. 11, 13953. https://doi.org/10.1038/s41598-021-93458-4.

Olatunya, A.M., Omojola, A., Akinpelu, K., Akintayo, E.T., 2019. Vitamin E, Phospholipid, and Phytosterol Contents of *Parkia biglobosa* and *Citrullus colocynthis* Seeds and Their Potential Applications to Human Health. Prev. Nutr. Food Sci., 24, 338–343. https://doi.org/10.3746/pnf.2019.24.3.338.

Oliveira-Junior, M.S., Pereira, E.P., Amorim, V.C.M., Reis, L.T.C., Nascimento, R.P., Silva, V.D.A, Costa, S.L.,2019. Lupeol inhibits LPS-induced neuroinflammation in cerebellar cultures andinducesneuroprotection associated to the modulation of astrocyte response and expression of neurotrophic and inflammatory factors. Int. Immunopharmacol. 70, 302-312. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.02.055.

Oliveira, T.S., Thomaz, D.V., Neri, H.F.S., Cerqueira, L.B., Garcia, L.F., Vicente-Gil, H.P., Pontarolo, R., Campos, F.R., Costa, E.A., Santos, F.C.A., Gil, E.S., Ghedini, P.C., 2018. Neuroprotective Effect of *Caryocar brasiliense* Camb. Leaves Is Associated with Anticholinesterase and Antioxidant Properties. Oxid. Med. Cell. Longev. 2018, 9842908. https://doi.org/10.1155/2018/9842908.

Ouedraogo, N., Atchade, C., Traore, T.K., Ouedraogo, B., Laurent, B.A., Kabre, W.E., Yoda, J., Kini, F.B., Lompo, M., Ouedraogo, M., Ouedraogo, S., 2021. Anti-Inflammatory Activity of Extracts from *Parkia biglobosa* (Jacq.) R.Br. Ex G.Don. (Fabaceae-Mimosoideae) Trunk Bark. J. Pharmacol. Toxicol. 16, 1-8. https://dx.doi.org/10.3923/jpt.2021.1.8.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidante activity. Food Science and Technology, 28,
25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

Penido, A.B., Morais, S.M., Ribeiro, A.B., Alves, D.R., Rodrigues, A.L.M., Santos, L.H. And Menezes, J.E.S.A., 2017. Medicinal Plants from Northeastern Brazil against Alzheimer's Disease. Evid. Based. Complement. Alternat. Med. 2017, 1753673. https://doi.org/10.1155/2017/1753673.

Rahman, N.N.N.A., Zhari, S., Sarker, M.Z.I., Ferdosh, S., Yunus, M.A.C., Kadir, M.O.A., 2012. Profile of *Parkia speciosa* hassk metabolites extracted with SFE using FTIR-PCA method. J. Chin. Chem. Soc., 59, 507–514. http://dx.doi.org/10.1002/jccs.201100104.

Rosa, C.A., 2020. Savannah for sale: Is there hope for neotropical biodiversity on private, Brazilian properties? Anim. Conserv. 24, 1–2. http://dx.doi.org/10.1111/acv.12617.

Sabernavaei, M., Kobarfard, F., Hadjiakhoondi, A., Aghaahmadi, M., Amin, M. And Yassa, N., 2018. Biological Evaluation of the Isolated Compounds from Methanol Fraction of Leutea avicennia Mozaff. Iran. J. Pharm. Res., 17, 1386-1391.

Sachdeva, A.K., Kuhad, A., Chopra, K., 2014. Naringin ameliorates memory deficits in experimental paradigm of Alzheimer's disease by attenuating mitochondrial dysfunction. Pharmacol. Biochem. Behav. 127, 101–110. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.11.002.

Saleh, M.S.M., Jalil J., Zainalabidin S., Asmadi A.Y., Mustafa N.H., Kamisah Y., 2021. Genus *Parkia*: Phytochemical, Medicinal Uses, and Pharmacological Properties. Int J Mol Sci. 22, 618. https://doi.org/10.3390/ijms22020618.

Santos, L., Viel, A.M., Tarosso, L.F., Momesso, L.S., Palmieri, D.A. And Spera, K.D., 2020. Medicinal plants of the brazilian cerrado: knowing to preserve. Biosci. J. 36, 556-567. https://doi.org/10.14393/BJ-v36n2a2020-42784.

Santos, T.C., Gomes, T.M., Pinto, B.A.S., Camara, A.L., Paes, A.M.A., 2018. Naturally Occurring Acetylcholinesterase Inhibitors and Their Potential Use for Alzheimer's Disease Therapy. Front. Pharmacol. 9, 1192. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01192.

Scaramuzza, C.A.M., Sano, E.E., Adami, M., Bolfe, E. L., Coutinho, A. C., Esquerdo, J.C.D.M., Maurano, L.E.P., Narvaes, I.S., Oliveira Filho, F.J.B., Rosa, R., Silva, E.B., Valeriano, D.M., Victoria, D.C., Bayma, A.P., Oliveira, G.H., Gustavo, B.S., 2017. Land-use and land-cover mapping of the brazilian cerrado based mainly on landsat-8 satellite images. Rev. Bras. Cartogr. 69, 1041-1051.

Silva, R.R.S., Silva, C.R., Santos, V.F., Barbosa, C.R.S., Muniz, D.F., Santos, A.L.E., Santos, M.H.C., Rocha, B.A.M., Batista, K.L.R., Costa-Júnior, L.M., Coutinho, H.D.M., Teixeira, C.S., 2019. *Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of Haemonchus contortus. Microb Pathog. 135, 103629. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103629.

Stanciu, G.D., Luca, A., Rusu, R.N., Bild, V., Chiriac, S.I., Solcan, C., Bild, W., Ababei, D.C., 2019. Alzheimer's Disease Pharmacotherapy in Relation to Cholinergic System Involvement. Biomolecules. 10, 1-40. https://doi.org/10.3390/biom10010040.

Tee-Ngam, P., Nunant, N., Rattanarat, P., Siangproh, W., Chailapakul, O., 2013. Simple and rapid determination of ferulic acid levels in food and cosmetic samples using paper-based platforms. Sensors. 13, 13039–13053. https://doi.org/10.3390/s131013039.

Thomaz, D.V., 2020. The Therapeutic Potential of Phytomedicines from Brazilian Cerrado Herbs against Neurodegenerative Diseases. Am. J. Biomed. Sci. Res. 7. http://dx.doi.org/10.34297/AJBSR.2020.07.001180.

Umre, R., Ganeshpurkar, A., Ganeshpurkar, A., Pandey, S., Pandey, V., Shrivastava, A., Dubey, N., 2018. *In vitro*, *in vivo* and *in* silico antiulcer activity of ferulic acid. Future J. Pharm. Sci. 4, 248-253. https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.08.001.

Wang, X., Dubois, R., Young, C., Lien, E.J., Adams, J.D., 2016. Heteromeles arbutifolia, a Traditional Treatment for Alzheimer's Disease, Phytochemistry and Safety. Medicines. 3, 1-17. https://dx.doi.org/10.3390%2FEMdicines3030017.

Yang, Y.L., Cheng, X., Li, W.H., Liu, M., Wang, Y.H., Du G.H., 2019. Kaempferol Attenuates LPS-Induced Striatum Injury in Mice Involving Anti-Neuroinflammation, Maintaining BBB Integrity, and Down-Regulating the HMGB1/TLR4 Pathway. Int. J. Mol. Sci. 20, 491. https://doi.org/10.3390/ijms20030491.

Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A., Rotsztejn, H., 2018. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. Skin. Pharmacol. Physiol. 31, 332–336. https://doi.org/10.1159/000491755.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1. Parâmetros de quantificação das análises da cromatografia líquida CL-DAD.

Pico	TR (min)	Composto	λ (nm)	Curva de calibração	LOD (ng)	LOQ (ng)
1	2,31	Ácido galico	270	$Y= 0,007 + (1,41 \times 10^{-5}) X$	0,40	1,33
2	6,31	Ácido caféico	325	$Y= 0,004+ (2,23 \times 10^{-5}) X$	0,35	1,17
3	8,83	Ácido ferúlico	325	$Y= 0,006+ (1,67 \times 10^{-5}) X$	0,35	1,17
4	21,56	Ácido elágico	250	$Y= 0,006 + (2,74 \times 10^{-5}) X$	0,42	1,40
5	23,75	Naringina	325	$Y= 0,008 + (2,11 \times 10^{-3}) X$	0,78	2,60
6	27,92	Kaempferol	250	$Y= 0,003 + (1,98 \times 10^{-3}) X$	0,69	2,30

TR: tempo de retenção; λ: comprimento de onda; LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação.

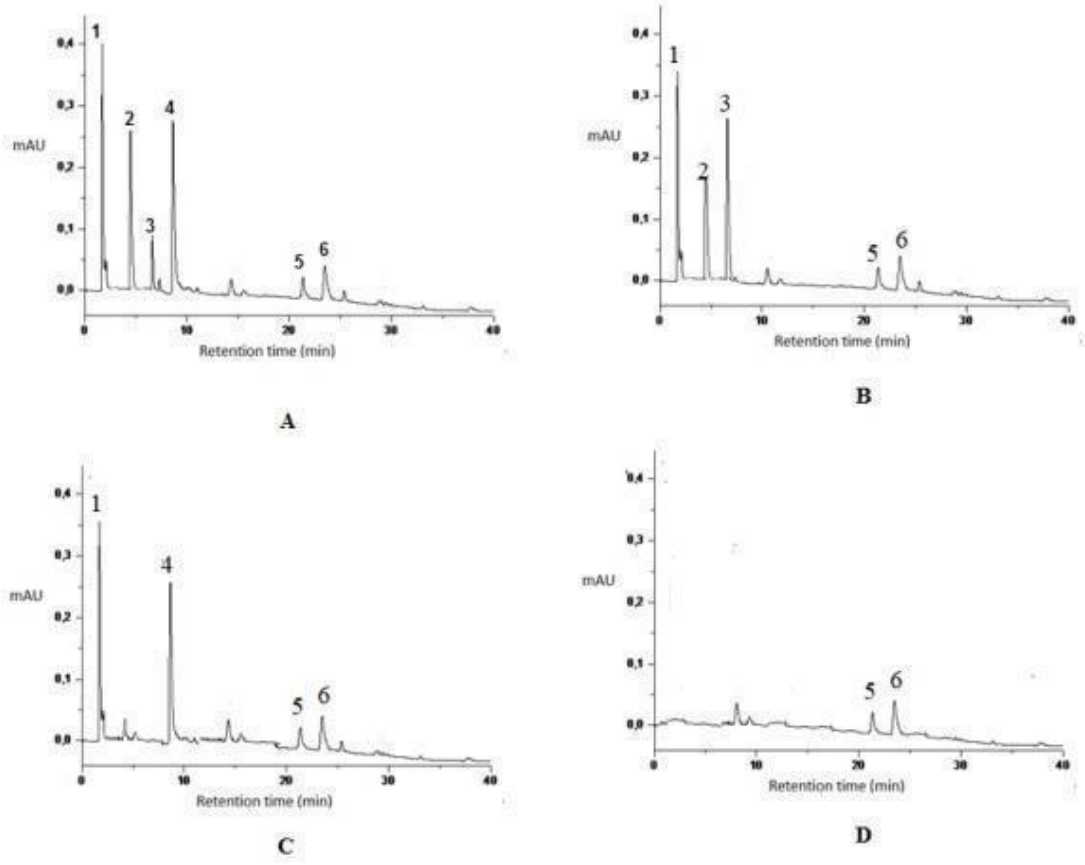


Figura S1. Cromatogramas (CL-DAD) dos extratos hidroetanolicos da *P. platycephala* Benth.: (A) folha; (B) casca; (C) flor e (D) semente. Pico 1: ácido gálico; Pico 2: ácido cafeico; Pico 3: ácido ferúlico; Pico 4: ácido elagico; Pico 5: naringina; Pico 6: kaempferol.

6 CAPÍTULO III

Investigação química, potencial tóxico e efeito inibidor da acetilcolinesterase dos extratos da folha e semente da *Parkia platycephala*

Artigo publicado em inglês no periódico Journal of Medicinal Plants Research

DOI: http://dx.doi.org/10.5897/JMPR2021.7158

2021, 15(9):401-412

RESUMO

O presente trabalho avaliou o potencial inibidor sobre a acetilcolinesterase, a toxicidade e determinou os componentes ativos de diferentes extratos da folha e semente da *Parkia platycephala*. Todos os extratos foram obtidos através da extração à quente em sistema fechado (Soxhlet). Realizou-se extração sequencial na mesma amostra vegetal utilizando-se hexano, metanol e solução hidroetanolica (70%), obtendo-se extratos hexânico, metanólico e etanólico da folha e da semente, LEH, LEM, LEE e SEH, SEM e SEE, respectivamente. Foi realizada a análise fitoquímica, e a caracterização por cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massa (CG-EM). Em seguida quantificou-se o teor de fenóis, flavonoides totais e o potencial antioxidante. Finalizou-se com a toxicidade frente à *Artemia salina* e o potencial de inibição da acetilcolinesterase. A presença de taninos, flavonoides, saponinas, fitoesteróis/triterpenoides e alcaloides foi detectada na análise fitoquimica. Os extratos da folha apresentaram potencial antioxidante, LEM (IC_{50} = 30,19 ± 0.75 µg/mL) e LEE (IC_{50} = 40,62 ± 0.65 µg/mL. A análise por CG-EM indicou uma diversidade de compostos, evidenciando-se o urs-12-ene (triterpenoide) e o 1,2,3-benzenetriol (fenol) nos extratos da folha, o ácido linoelaidico (ácido graxo), o (Z)-9-octadecenamida, triciclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane 1(22),7(16)-diepoxy, (Z)-7-hexadecenal (aldeído graxo), nos extratos da semente. A análise preliminar de toxicidade demonstrou que o uso de folhas e sementes de *P. platycephala* para fins medicinais é relativamente seguro. Todos os extratos inibiram a acetilcolinesterase, comparando-se ao controle fisostigmina, com valores de IC_{50} na faixa de 9,85 a 15,68 mg/mL. Assim, estes dados apoiam a indicação da *Parkia platycephala* como potencial terapia contra o Alzheimer.

Palavras-chave: Fitoquímica, atividade antioxidante, toxicidade, fava de bolota, Alzheimer.

6.1. INTRODUÇÃO

A procedência da doença de Alzheimer (DA) apesar de variadas indicações, ainda é alimentada pela hipótese colinérgica, que relaciona os sintomas de demência à queda do nível da acetilcolina, um neurotransmissor e neuromodulador (KUPPUSAMY et al., 2017; SHARMA, 2019). A disponibilidade da acetilcolina é regulada pela enzima acetilcolinesterase (AChE), ou seja, a inibição desta enzima aumenta a concentração da acetilcolina nas sinapses, melhorando a comunicação entre as células (DECKER e DUNCAN, 2020; MOTA et al., 2012).

Dentre as principais abordagens terapêuticas para o tratamento da DA, está a galantamina, um composto isolado da espécie *Galanthus spp*., com capacidade de inibir a acetilcolina (HEINRICH, 2010). O interesse em espécies vegetais (ervas) com ação medicinal frente ao Alzheimer (SOHEILI et al., 2021), é devido a algumas drogas sintéticas disponíveis atualmente, estarem associadas a várias reações indesejáveis nos pacientes, como efeito colateral periférico, hepatotoxicidade e distúrbios do trato gastrointestinal, apesar de terem se mostrado eficazes na inibição da AChE (SHAIKH et al., 2021).

Apesar da evolução da pesquisa cientifica na busca por novos ativos contra a DA, ainda são ínfimos os dados que confirmam o efeito de iAChE das plantas brasileiras (abaixo de 1%), comparado à tamanha biodiversidade nacional (SANTOS et al., 2018). Em estudos regionais, do Bioma Cerrado, além de ratificar esse dado, foi detectado que apenas testes qualitativos de iAChE eram realizados, demonstrando a necessidade de uma investigação mais detalhada das espécies da região.

Nessa perspectiva, a espécie *Parkia platycephala* (*P. platycephala*), uma arvore muito conhecida no Brasil pelos nomes vernáculos “faveira”, “faveira-preta”, “visgueiro”, “fava de boi”, “sabiú” ou “fava de bolota” (CHAVES et al., 2020), que apesar de carregar toda uma representativadade regional (árvore símbolo do estado do Tocantins e características peculiares por sua localização na transição entre o Cerrado e a Caatinga brasileira) (LORENZI, 2020; TOCANTINS, 2012), pouco se conhece sobre seu potencial terapêutico, muito embora seus extratos e ativos isolados, principalmente das vagens, sejam notórios nos ramos da nutrição e infecções gastrointestinais em animais (ARAUJO et al., 2019; CAVADA et al., 2020; SANTOS et al., 2018).

Há relatos da presença de compostos fenólicos, flavonoides, flavonas, taninos condensados fitoesteróides, e saponinas nessa espécie (OLIVEIRA et al., 2017). Dentre seus usos terapêuticos, os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório, foram observados após aplicação intravenosa da lectina purificada, obtida da semente da *P. platycephala*, em camundongos (BARI et al., 2016). Ainda em estudos com lectina, o efeito gastroprotetor e anti-helmíntica foi relatado, contra as cepas multirresistentes de *S. aureus* e *E. coli*. após associação da mesma com gentamicina (SILVA et al., 2019). O extrato etanólico e as frações hexânica, acetatica e metanolica da folha da *P. platycephala* apresentaram inibição na eclosão de ovos de tricoestrongilídeos (FIGUEIREDO et al., 2020). Mesmo que escassos, há outros enfoques da aplicação dos extratos da espécie *P. platycephala*, tal como à análise

preliminar da iAChE, que avaliou os extratos etanólicos de sementes de espécies vegetais do semiárido brasileiro, constatando atividade anti-colinesterásica (71,5%) dessa espécie (FARIAS, 2013).

Na busca por novos iAChE de origem natural, o objetivo do presente trabalho é realizar a caracterização fitoquímica e avaliar a toxicidade preliminar dos extratos da folha e semente de *P. platycephala*, bem como, o potencial de inibição de acetilcolinesterase desses extratos, com a perspectiva de desenvolvimento de novos fármacos contra a DA.

6.2. MATERIAS E MÉTODOS

Material Vegetal

A coleta das folhas e sementes da *P. platycephala* foi realizada dentro da Universidade Federal do Tocantins - Campus Palmas, entre as coordenadas 10°10'55"S e 48°21'45"W e foram tombadas e incorporadas ao acervo do Herbário do Tocantins (HTO) localizado na Universidade Federal do Tocantins (UFT), no município de Porto Nacional, sob número HTO 12007. O projeto encontra-se cadastrado junto ao SIGEN sob número A06B860.

Preparação dos extratos

Após a coleta, o material vegetal (folha e semente) foi seco em estufa a 60 °C pelo período de 48 horas, pulverizado com o auxílio do moinho de facas tipo Willye (Fortinox STAR FT 50) com granulometria abaixo do Mesh 20 e armazenado em recipiente de vidro livre de contaminação, preservando-a de umidade. Foram realizadas extrações sequenciais à quente em sistema fechado, por meio de aparato Soxhlet. Iniciou-se a extração com solvente hexano, para o desengorduramento da amostra, por um período de 5h de refluxo, obtendo-se o extrato hexânico da folha (LEH) e da semente (SEH). Após completado o tempo da extração, antes de se iniciar a extração com o solvente subsequente, a amostra vegetal foi seca a temperatura ambiente por 12 horas. Em seguida repetiu-se o processo extrativo para cada solvente (metanol e etanol 70%), obtendo-se os extratos metanólicos (LEM, SEM), e etanólicos (LEE, SEE), da folha e semente, respectivamente.

O solvente de todos os extratos foi removido usando rotaevaporador (Marca FISATOM) at -600 mmHg at 45 oC. Em seguida os extratos foram congelados a -70 ºC, liofilizados em liofilizador de bancada L101 da LIOTOP e armazenados em frascos herméticos para análises posteriores.

Prospecção fitoquímica

A caracterização qualitativa das principais classes de metabolitos secundários foi realizada através de análises baseadas em reações de precipitação e/ou coloração, com reativos específicos para flavonoide, tanino, fitoesterol, terpenoide, quinona, saponina e alcaloide (MATOS, 2009; SARAIVA et al., 2018; SIMÕES et al., 2017).

Caracterização por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (CG-EM)

A análise foi realizada pela Central Analítica do Instituto de Química da USP. Os extratos foram analisados por CG-EM usando um cromatógrafo Shimadzu® modelo QP2020 Ultra equipado com uma coluna ZB-5HT (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme). Foi realizado a metodologia nas seguintes condições: aquecimento a 50°C por 1 min, até atingir 320°C em 35 min. Temperatura de injeção: 320°C; Temperatura da interface: 320 °C; gás arraste (Hélio): 1 ml/min; A energia do elétron era de 70 eV e a temperatura da fonte de íons era de 320°C; modo de digitalização. Foi injetado 1 µL de cada extrato, no qual os constituintes foram identificados por comparação com os espectros de massa da biblioteca Instituto Nacional Americando de Padrões e Tecnologia (NIST) 14.

Determinação do teor de Compostos Fenólicos Totais

A quantificação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método Folin–Ciocalteu, segundo Amorim et al. (2012), com modificações, usando ácido gálico como padrão. Amostras (0,2 mL) de soluções metanólicas (1 mg/mL, p/v) dos extratos (LEH, LEM, LEE, SEH, SEM, SEE) ou do padrão (4 a 100 µg/mL, p/v) foram misturadas com solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu (0,5 mL a 10%, v/v), carbonato de sódio (1 mL a 7.5%, p/v) e 8,3 mL de água destilada, cuidadosamente agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz. A absorbância foi mensurada a 760 nm, em espectrofotômetro UV-VIS HACH DR 5000. Os teores de fenóis totais foram determinados por interpolações das absorbâncias das amostras contra uma curva de calibração construída com as diferentes concentrações do padrão de ácido gálico ($y = 0.006x + 0.0449$, adjusted $R^2 = 0.997$), expressos como miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato liofilizado (mg EAG/g). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Determinação do teor de Flavonoides Totais

A quantificação de flavonoides totais foi realizada de acordo com Peixoto-Sobrinho (2008) com modificações conforme Soares et al. (2017). Mediante a mistura de 0,5 mL de soluções metanólicas (1mg/mL, p/v) dos extratos (LEH, LEM, LEE, SEH, SEM, SEE) ou do padrão (10 a 400 µg/mL, p/v) com uma solução aquosa de ácido acético (0,5 mL a 60%, v/v), solução metanólica de piridina (2 mL a 20%, v/v), cloreto de alumínio (1 mL a 5%, p/v) e água milli-Q (6 mL). O branco foi construído pela junção de todos os componentes da reação e o extrato ou padrão, substituindo-se o cloreto de alumínio por água. O complexo reacional e o branco foram cuidadosamente agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorbâncias medidas a 420 nm, em espectrofotômetro. Os teores de flavonoides totais foram determinados por interpolação das absorbâncias das amostras (descontando a absorbância do

branco) contra uma curva de calibração construída com as diferentes concentrações do padrão rutina (y = 0,0022x – 0,0124, adjusted R^2 = 0,999), expresso em miligramas equivalentes de rutina por grama de extrato liofilizado (mg ER/g). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Determinação de Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante foi mensurada pela eliminação do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) segundo Peixoto-Sobrinho et al. (2011), tendo como controle positivo o padrão rutina. Em triplicatas, 0,5 mL de diferentes concentrações dos extratos ou padrões (10 – 200 μg/mL, p/v) foram adicionados a uma solução metanólica de DPPH• (3 mL a 40 μg/mL, p/v). O branco foi construído pela substituição do DPPH• por metanol no meio reacional. O complexo reacional e o branco foram agitados e mantidos por 30 minutos ao abrigo da luz, e as absorbâncias medidas a 517 nm em espectrofotômetro calibrado com metanol. A absorbância da solução de DPPH• a 40 μg/mL também foi medida e utilizada como controle negativo. A atividade de remoção de radicais livresou atividade antioxidante (AA) foi expressa como a porcentagem de inibição determinada pela equação:

$$AA(\%) = \frac{(Ac - (Aa - Ab))}{Ac} \; x\,100$$

onde AA (%) é a porcentagem de atividade antioxidante; Ac, a absorbância do controle negativo; Aa, a absorbância da amostra; Ab, a absorbância do branco. A IC_{50} (μg/mL) foi obtida utilizando as curvas de calibração obtidas pela plotagem das diferentes concentrações em relação à % AA.

Determinação Preliminar da Toxicidade

A análise preliminar do potencial tóxico foi realizada usando o método da *Artemia salina* segundo metodologia de Meyer et al. (1982) com adaptações. Inicialmente foi preparado 1L de solução salina a 3%, com sal marinho sintético, pH ajustado entre 8 a 9 (com carbonato de sódio 1 M), para incubação dos ovos de *Artemia salina* (0,1g), que foram expostos à luz artificial (lâmpada incandescente de 60W) durante 24 horas para que houvesse a eclosão.

Para realizar o bioensaio, foram colocados, em triplicata, dez exemplares de náuplios em tubos de ensaio contendo, separadamente, 5 mL de solução dos extratos (LEH, LEM, LEE, SEH, SEM, SEE) diluídos em solução salina de DMSO (1%), em concentrações de 4, 200, 1000, 4000 μg/mL. Um grupo controle foi preparado contendo apenas solução de DMSO (1%) diluída em solução salina (3%). Após um período de 24 horas, foi realizada a contagem do número de náuplios imóveis e determinado o percentual de mortalidade. Os percentuais de

mortalidade de cada concentração foram utilizados para os cálculos de regressão não linear, a partir do qual foi possível determinar a IC_{50} de cada extrato. A classificação do extrato seguiu os critérios estabelecidos por NGUTA et al. (2011), tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de $IC_{50} < 100$ µg/ml apresentam alta toxicidade, $100 \leq IC_{50} \leq 500$ µg/ml apresentam toxicidade moderada e $IC_{50} > 1000$ µg/mL são considerados atóxicos (não tóxicos).

Determinação da Atividade anticolinesterásica

Os testes foram realizados pelo Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Estadual do Ceará. A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi aferida em placas de 96 poços de fundo chato utilizando leitor Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software "Gen5 V2.04.11", baseando-se na metodologia descrita por Ellman et al. (1961). Em placas de 96 poços, foram utilizadas as seguintes soluções por poço: 25 µL de iodeto de acetiltiocolina (15 mM), 125 µL de 5,5'–ditiobis-[2-nitrobenzóico] na solução Tris/HCl (50nM, pH=8, com 0,1 M de NaCl e 0,02 M de $MgCl_2.6H_2O$ (3 mM, DTNB ou reagente de Ellman), 50 µL da solução Tris/HCl (50 nM, pH=8, com 0,1% de albumina sérica bovina (BSA)), 25 µL da amostra de extrato dissolvida em DMSO (1%) e diluída 10 vezes na solução Tris/HCl (50 mM, pH=8) para obter uma concentração final de 0,2 mg/mL (RHEE et al. 2001; TREVISAN e MACEDO, 2003).

A absorbância foi aferida a 405 nm durante 30 segundos. Em seguida, foram adicionados 25 µL da enzima acetilcolinesterase (0,25 U/mL) e a absorbância foi aferida por minuto até o total de 25 minutos de incubação da enzima. Como padrão negativo foram utilizadas todas as soluções, excetuando-se a amostra. As diluições das amostras e dos padrões positivos utilizadas nas avaliações quantitativas em microplaca, partindo de solução mãe com concentração de 2 mg/mL foram: 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 e 0.78 µg/mL. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. Foram extintos da análise os valores referentes às colorações naturais dos extratos.

A porcentagem de inibição da acetilcolinesterase foi calculada através da comparação das velocidades de reação (hidrólise do substrato) das amostras em relação ao branco (considerada atividade total da AChE, 100%). O padrão utilizado como controle positivo foi a fisostigmina (eserina).

Análise Estatística

O conteúdo de fenóis totais, flavonoides, atividade antioxidante e atividade anticolinesterásica são apresentados em média ± desvio padrão (DP) da determinação em triplicatas. Os dados foram analisados por meio do programa SISVAR versão 5.6. O IC_{50} foi

determinado a partir do programa GRAPHPAD PRISM (v.8.0). Foram utilizados análise de variância (ANOVA) para comparar os valores médios obtidos nas análises e os valores $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos pelo teste de Tukey.

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem fitoquímica

Os resultados obtidos para a triagem fitoquímica dos extratos da *P. platycephala* estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Triagem fitoquímica preliminar dos extratos da folha e semente da *P. platycephala* (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM – extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente).

CLASSE	LEH	LEM	LEE	SEH	SEM	SEE
Flavonoide	+	+++	+++	-	+++	+++
Tanino	-	+++	+++	-	+++	+++
Fitoesterol/Triterpeno	++	+	+	++	+	+
Quinona	-	-	-	-	-	-
Saponina	-	+	+	-	+	-
Alcaloide	+	+	-	+	+	-

(+) presença fraca; (++) presença média; (+++) presença forte; (-) ausência

A triagem fitoquímica qualitativa dos extratos da folha e semente de *P. platycephala* revelou a presença de flavonoides, taninos, fitoesterois/triterpenoides, saponinas e alcaloides. Há registros da presença de flavonoides, alcaloides, fenóis, taninos, saponinas, glicosídeos, terpenoides, antraquinonas e esteróis na folha, casca, semente e vagem do gênero *Parkia* (P.) (CHANU et al., 2018; CHHIKARA et al., 2018; SÁ-SANTOS et al., 2018).

Percebe-se que a extração com solvente apolar (LEH, SEH) mostrou-se mais eficiente na triagem fitoquímica dos metabólitos fitoeserol/triterpeno, isso devido a esses compostos serem lipossolúveis (CHEOK et al., 2014). Os metabólitos flavonoide e tanino tiveram presença mais acentuada nos extratos obtidos após o desengorduramento (LEM, LEE, SEM, SEE), ou seja, com solventes polares. Assim a extração sequencial por polaridade crescente de solventes, auxilia na otimização da obtenção de cada classe de metabólitos secundários, tendo a extração apolar a função de evitar possíveis concorrências de obtenção de alguns compostos, que interferem entre si, quando se faz apenas o uso de solventes polares (SOARES et al., 2017).

Analises por CG-EM

As Figuras 13 e 14 mostram os cromatogramas obtidos por CG-EM dos extratos das folhas (LEH, LEM, LEE, Figura 13) e sementes (SEH, SEM, SEE, Figura 14) da *P. platycephala.*

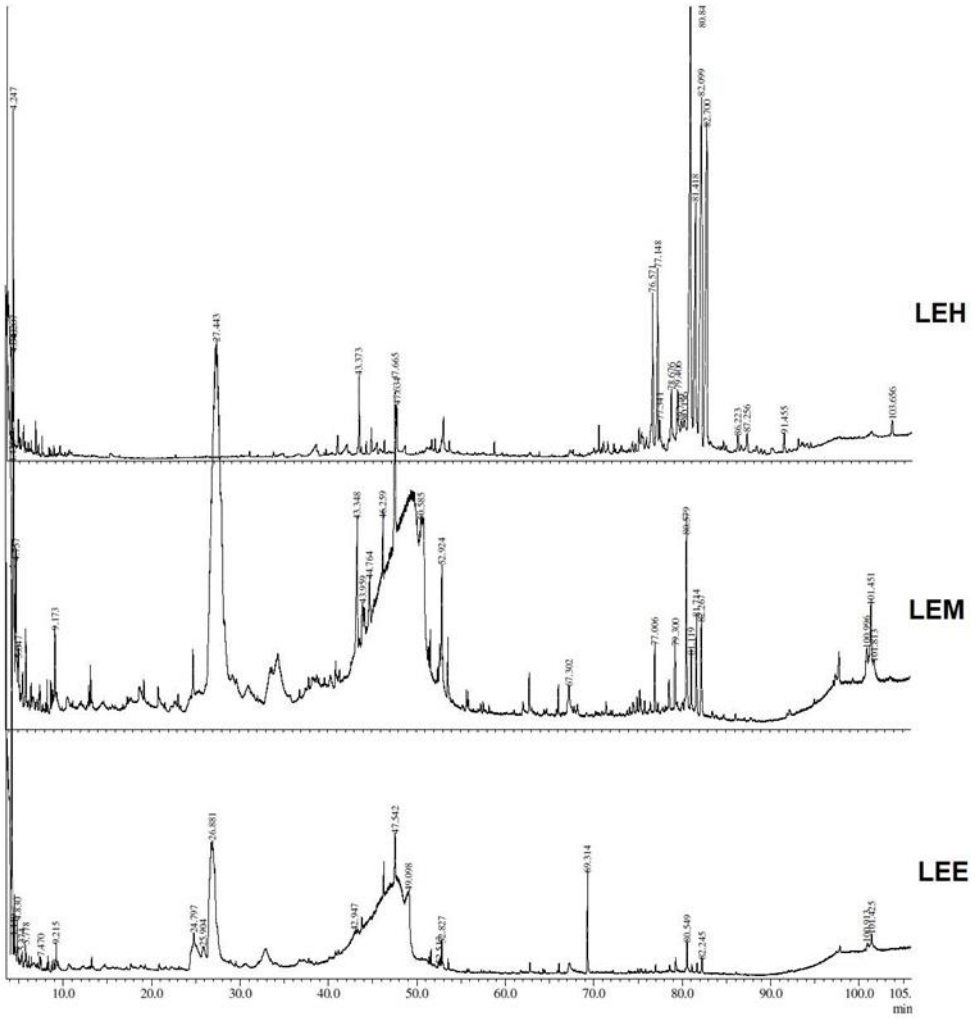


Figura 13. Cromatogramas obtidos por análise de CG-EM para extratos da folha da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial. (LEH - extrato hexânico da folha; LEM - extrato metanólico da folha; LEE- extrato etanólico da folha).

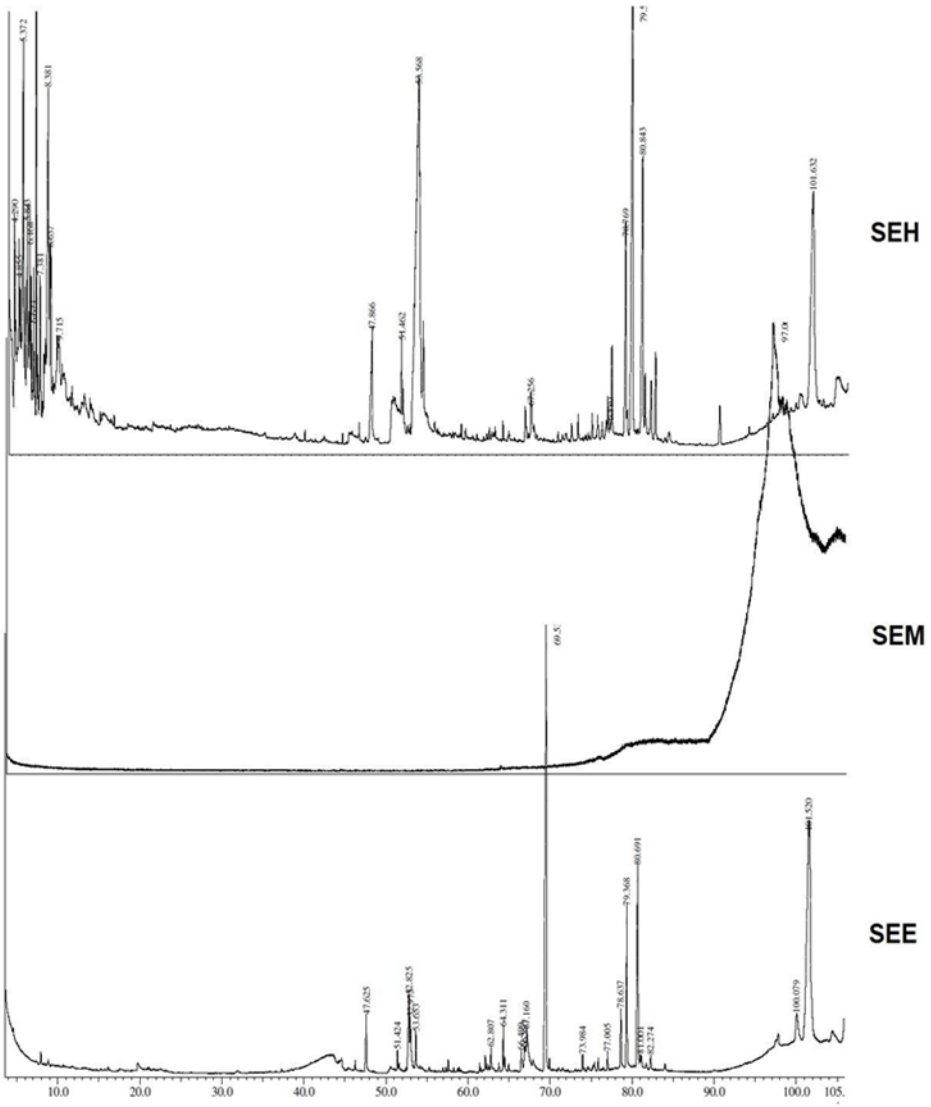


Figura 14. Cromatogramas obtidos por análise de CG-EM para extratos da semente da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial. (SEH- extrato hexânico da semente; SEM- extrato metanólico da semente; SEE- extrato etanolico da semente).

A partir da análise dos resultados obtidos por CG-EM dos extratos da folha e semente da *P. platycephala* (Figuras 8 e 9) observou-se uma variabilidade nos compostos identificados, demonstrando especificidade da polaridade dos solventes nos extratos analisados. Na Tabela 8 estão relacionados os compostos dominantes dos LEH, LEM, LEE, SEH, SEM e SEE.

Tabela 8. Principais constituintes químicos identificados por CG-EM nos extratos da *P. platycephala* (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM – extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente).

		Área Pico (%)					
TR (min)	**Composto**	LEH	LEM	LEE	SEH	SEM	SEE
4.168-4.616	metilsulfinil(metiltio)metano	4,31	-	14,07	2,80	-	-
8.381	3-metil-2-ciclopenteno-1-one	-	-	-	9,60	-	-
26.881- 27.443	1,2,3-benzenotriol	-	55,62	41,16	-	-	-
47.513-47.665	ácido n-hexadecanoico	0,72	3,48	7,30	2,53	-	2,39
49.098-50.585	4-O-metilmanose	-	4,86	5,47	-	-	-
53.568	ácido linoelaidico	-	-	-	23,51	-	-
69.314-69.531	(Z)-9-octadecenamida	-	-	4,10	-	-	24,52
78.913-79.592	estigmasterol	2,58	0,98	-	9,20	-	5,42
80.549-80.579	β-sitosterol	-	3,67	1,81	-	-	-
80.691-80.843	y-sitosterol	-	-	-	6,43	-	8,84
80.840	urs-12-eno	23,93	-	-	-	-	-
81.119-81.418	4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octametil-1,4,4a, 5,6,6a,6b	12,04	1,08	-	-	-	-
81.714-82.099	lup-20(29)-en-3-one	20,15	1,70	-	-	-	-
82.267-82.700	lupeol	17,13	1,93	0,81	-	-	0,59
97.068	triciclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane1(22),7(16)-diepoxi	-	-	-	-	100	-
101.520	(Z)-7-hexadecenal	-	-	-	10,70	-	36,26

Os compostos (metilsulfinil)(metiltio)-methano, ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico), (Z)-9-octadecenamida (oleamida) e estigmasterol foram detectados tanto na folha como na semente da *P. platycephala*. Evidencia-se que destes, o (Z)-9-octadecenamida, é característico dos extratos etanólicos, principalmente na semente (24%). O composto 1,2,3-benzenetriol (pirogalol) foi majoritário nos LEM e LEE, demonstrando maior afinidade pela extração com solventes polares (acima de 40%). Outros compostos exclusivos da extração polar da folha são 4-O-metilmanose e β-sitosterol.

Nos extratos hexânicos, verificou-se alguns compostos com características altamente apolares, urs-12-eno (23.93%), 4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octametil-1,4,4a, 5,6,6a,6b (12.04%), lup-20(29)-en-3-one (20.15%) e lupeol (17.13%) no LEH e 2-ciclopenten-1-one, 3-metil-2-ciclopenteno-1-one (9.60%) e ácido linoelaidico (23.51%) no SEH.

Ressalta-se que os compostos 3-metiyl-2-ciclopenten-1-one, ácido linoelaidico, triciclo [20.8.0.0(7,16)] triacontane,1(22),7(16)-diepoxi e (Z)-7-hexadecenal, foram detectados apenas nos extratos da semente da *P. platycephala*.

Há relatos da presença dos compostos 1,2,3-benzenetriol e 4-O-metil-manose em extratos da casca e raiz da *P. biglobosa* extraídos sequencialmente com hexano, acetato de etila, etanol e água (IBRAHIM et al., 2013). Gnansounou et al. (2019) detectaram na folha e casca da *P. biglobosa* o estigmasterol e derivados de sitosterol, enquanto Shahidah et al. (2019) confirmaram o (Z)-9-octadecenamida nas sementes. O lupeol foi detectado em variadas partes das espécies *P. biglobosa, P. bicolor* e *P. speciosa* (SALEH et al., 2021). Também está presente no gênero *Parkia*, o ácido palmítico (OLOWOKERE et al., 2018; SANGODARE et al., 2017).

Assim como o urs-12-eno detectado no LEH, há relatos da presença do ácido ursólico nas folhas da espécie *P. javanica* (DINDA et al., 2009), ambos derivados do ursano. Os derivados de compostos triterpenoides pentacíclicos são altamente atraentes, devido as promissoras expectativas frente a variabilidade de propriedades biológicas dessa classe (LUCHNIKOVA et al., 2020).

Os principais compostos da Tabela 8 são biologicamente ativos. Conforme Beulah et al. (2018) o pirogalol apresenta efeito antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante, analgésico, inseticida e citotóxico. O ácido palmítico, além de atividade antioxidante e hipocolesterolêmica, possui efeito nematicida, pesticida, lubrificante, antiandrogênico, hemolítico e inibidor de 5-alfaredutase (BEULAH et al., 2018).

Não menos importante, o (Z)-7-hexadecenal possui atividade antiviral (DEVAKUMAR et al., 2017), e o (Z)-9-octadecenamida alto poder anti-inflamatório (ANO et al., 2015).

Os triterpenoides pentacíclicos (urs-12-eno, lup-20(29)-en-3-one, lupeol) apresentam atividade anticâncer (SHAN et al., 2016), quimiopreventiva (PRASAD et al., 2007), anti-inflamatória (FENG et al., 2018), anti-HIV (SMITH et al., 2007) e antimicrobianas (DURIC et al., 2013).

O composto triciclo[20.8.0.0(7,16)]triacontane,1(22),7(16)-diepoxi, apesar de ser citado em alguns estudos de caracterização química de extratos vegetais (MOHIUDDIN et al., 2018), não está relacionado a estudos específicos de compostos bioativos.

Os compostos (metilsulfinil)(metiltio)methano, 3-metil-2-ciclopenten-1-one, 4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octametil-1,4,4a,5,6,6a,6b, lup-20(29)-em-3-one, triciclo[20.8.0.0 (7,16)] triacontane 1(22),7(16)-diepoxi- e (Z)-7-hexadecenal aparecem pela primeira vez no perfil de compostos de uma espécie do gênero *Parkia*.

Teor de fenois e flavonoides totais e atividade antioxidante *in vitro*

As análises dos teores de fenóis totais, flavonoides totais e a atividade antioxidante dos extratos da folha e da semente da *P. platycephala*, estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Quantificação dos teores de fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante dos extratos da folha e semente da *P. platycephala* (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM – extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente) e da rutina (RUT) (controle positivo).

Extrato	Fenóis Totais (mg GAE/g)	Flavonoides Totais (mg RE/g)	DPPH• IC_{50} (µg/ml)
LEH	*	**	ND
LEM	85,11 ± 0,25[a]	11,85 ± 0,69[c]	30,19 ± 0,75[b]
LEE	84,17 ± 0,33[a]	25,64 ± 0,91[a]	40,62 ± 0,65[c]
SEH	*	**	ND
SEM	*	**	ND
SEE	*	20,86 ± 2,25[b]	ND
RUT	-	-	15,77 ± 0,08[a]

*teor de fenóis < 4 mg EAG/g; ** teor de flavonoides < 10 mg RE/g. ND- não detectado. Valores seguidos pela mesma letra indicam semelhanças significativas na mesma coluna (p <0,05, ANOVA seguido por teste de Tukey).

Nos extratos da folha detectou-se teores de fenóis totais superiores aos extratos da semente. Ainda referente aos fenóis, percebeu-se também que não houve diferença significativa, entre o LEM (85,11 ± 0,25 mg GAE/g) e LEE (84,17 ± 0,33 mg GAE/g) e que estes valores são aproximados ao relatado na literatura (84,57 ± 1,06 mg GAE/g), para o extrato etanólico da folha da P. biglobosa, obtido após extração sequencial (hexano, acetate de etila e etanol) (Ibrahim et al., 2013). Entretanto para o teor de flavonoides, essa equivalência não se mantém, tendo o LEE (25,64 ± 0,91 mg RE/g) um teor 100% superior ao LEM (11,85 ± 0,69 mg RE/g).

O teor de fenóis totais dos extratos da semente foi menor que 4,00 mg GAE/g. Ghasemzadeh et al. (2018) quantificaram o teor de fenóis e flavonoides totais para os extratos da semente da espécie *P. speciosa* e apesar da superioridade do teor de fenóis totais (14,9 ± 2,03 mg GAE/g) em relação aos extratos da semente da *P. platycephala*, os teores de

flavonoides (12,4 ± 3,51 mg RE/g) da *P. speciosa* ficou aquém do SEE (20,86 ± 2,25) da *P. platycephala*.

A *P. platycephala* é descrita como uma espécie com elevado percentual de compostos fenólicos, que normalmente são diretamente associados ao potencial antioxidante (CHUN et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2020). A análise da atividade antioxidante dos extratos, segundo classificação adotada por Melo et al. (2010), indica que os LEM e LEE da *P. platycephala* possuem alto potencial, uma vez que, não ultrapassam o limite de três vezes o coeficiente do controle positivo, neste caso a rutina (IC_{50} = 15,77 ± 0,08 µg/mL), além disso, o potencial antioxidante do LME (IC_{50} = 30.19 ± 0.75 µg/mL) é estatisticamente superior ao do LEE (IC_{50} = 40.62 ± 0.6 µg/mL). Dluya et al. (2017) detectaram um IC_{50} = 45.72 µg/mL, para a atividade de eliminação de radical (DPPH•) de extratos metanólicos da espécie *P. biglobosa*, que ao ser comparado ao potencial antioxidante do LME (IC_{50} = 30.19 ± 0.75 µg/mL) indica superioridade antioxidante do extrato metanólico da *P. platycephala*.

Os SEH, SEM, SEE e o LEH não atingiram 50% de dose-resposta neste teste, indicando ser baixa a atividade antioxidante dos mesmos. Farias et al. (2013) confirmam a dificuldade de quantificar o potencial antioxidante do extrato da semente desta espécie. Para os extratos hexânicos (LEH, SEH), justifica-se a baixa atividade antioxidante devido há pouca afinidade dos compostos fenólicos com solventes apolares.

Toxicidade

Em relação à toxicidade, na Tabela 10 estão definidas as IC_{50} e a relação de toxicidade de cada extrato da *P. platycephala*.

Tabela 10. Concentrações letais de 50% (IC_{50}) dos extratos de *P. platycephala* pelo teste com *Artemia salina*. (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM - extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente).

Extrato	**IC_{50}** (µg/ml)	**Toxicidade** *Artemia salina*
LEH	*	não tóxica
LEM	825,60 ± 0,01	baixa
LEE	2987,00 ± 0,01	não tóxica
SEH	*	não tóxica
SEM	598,30 ± 0,01	baixa
SEE	326,80 ± 0,01	moderada

* IC_{50} não estabelecida até concentração 4.000 µg/mL.

Verificou-se que são atóxicos os LEH e SEH, com IC_{50} > 4.000 µg/mL e o LEE com IC_{50} = 2.987,00 ± 0,01 µg/mL. Destaca-se que a extração sequencial na semente, favoreceu a obtenção de alguns compostos, que acarretaram ao SEE uma toxicidade moderada, ou seja, 100

< IC_{50} < 500 µg/mL. Figueiredo (2014) relatou a não toxicidade dos extratos da folha da *P. platycephala* (IC_{50} > 1000 µg/mL).

Em testes *in vivo* em camundongos, Fernandes et al. (2010) afirmaram que os extratos etanólicos da folha da *P. platycephala* não apresentaram toxicidade aguda (1000 mg/kg) e tão pouco citotoxicidade em eritrócitos de ratos (100µg/mL).

Saleh et al. (2021) ratifica esses resultados, afirmando que a toxicidade aguda em peixes, está dentro da faixa de 500–5000 mg/kg de peso corporal, e em ratos o IC_{50} > 5000 mg/kg (BUILDERS, 2012), sugerindo que os extratos da semente do gênero *Parkia* não são potencialmente perigosos, por apresentarem moderada ou baixa toxicidade.

Atividade anticolinesterásica

Com os extratos caracterizados quimicamente e as suas toxicidades estabelecidas, podemos fortalecer os potenciais das atividades biológicas da *P. platycephala*, destacando neste estudo a avaliação inibitória da acetilcolinesterase demonstrada na Figura 15.

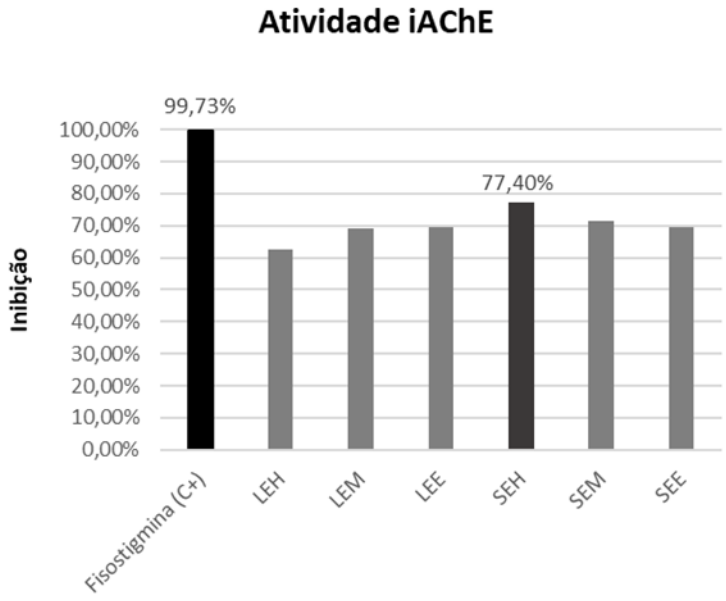


Figura 15. Percentual de inibição da acetilcolinesterase dos extratos da *P. platycephala* (LEH – extrato hexânico da folha; LEM – extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SEH – extrato hexânico da semente; SEM – extrato metanolico da semente; SEE – extrato etanolico da semente).

É relatado que, somente extratos com valores de iAChE igual ou superior a 50%, possuem potencial êxito no fracionamento e isolamento dos princípios ativos capazes de inibir a enzima acetilcolinesterase (TREVISAN e MACEDO, 2003). Nesse caso, conforme apresentado na Figura 10, todos os extratos analisados neste estudo apresentaram essa característica de percentual de inibição, com ênfase ao SEH que obteve maior percentual de

inibição (77,40%). Estudos anteriores com extratos etanólico da semente da *P. platycephala* e aquoso da P. biglobosa, este último desengordurado, confirmam a iAChE > 50% (ADEMILUYI, 2018; FARIAS et al., 2013).

Na Tabela 11 estão relatadas todas as concentrações letais de 50% dos extratos da *P. platycephala.*

Tabela 11. Concentrações letais de 50% (IC_{50}) dos extratos de *P. platycephala* para inibição da acetilcolinesterase (LEH - extrato hexânico da folha; LEM - extrato metanolico da folha; LEE - extrato etanólico da folha; SHE - extrato hexânico da semente; SEM - extrato metanolico da semente; SEE - extrato etanolico da semente) e da Fisostigmina (controle positivo).

Extrato	IC_{50} (µg/mL)
Fisostigmina	$1,15 \pm 0,05^{a}$
LEH	$15,68 \pm 0,4^{d}$
LEM	$13,02 \pm 0,29^{c}$
LEE	$12,87 \pm 0,1^{c}$
SEH	$9,85 \pm 0,76^{b}$
SEM	$12,14 \pm 0,12^{c}$
SEE	$12,90 \pm 0,14^{c}$

Valores seguidos pela mesma letra indicam semelhanças significativas na mesma coluna (p <0,05, ANOVA seguido por teste de Tukey).

Segundo a Tabela 11, utilizando-se como controle positivo a fisostigmina (IC_{50} = 1.15 ± 0,05 µg/mL), o extrato SEH da *P. platycephala*, foi o que apresentou melhor atividade iAChE, (IC_{50}= 9,85 ± 0,76 µg/mL). Destaca-se que os LEM, LEE, SEE, SEM tiveram atividade de iAChE significativamente semelhante. Esses dados são os primeiros relatos quantitativos da espécie *P. platycephala* de potencial de inibição dessa enzima.

Neste estudo pode-se relacionar a inibição da acetilcolinesterase dos extratos da *P. platycephala* com o composto pirogalol que, segundo Sarikaya (2015), exibe potente atividade iAChE (IC_{50} = 10,2 µM), e com o ácido palmítico com moderado poder inibidor da AChE (IC_{50} = 33,9 µM ou 8,69 µg/mL) (FANG et al., 2010).

Ayaz et al. (2017) detectaram em estudos *in vitro* e *in vivo* que o composto β-sitosterol apresenta forte iAChe (IC_{50} = 55 µg/ml) com dupla eficiência nos testes, inibindo a enzima acetilcolinesterase e eliminando espécies reativas. A presença do β-sitosterol evita o estresse oxidativo induzido pela glicose oxidase e a peroxidação lipídica, apresentando elevado potencial contra doenças neurodegenerativas como a DA (SHI et al., 2013). A inibição da acetilcolinesterase também foi verificada em estudos utilizando estigmasterol (GADE de al., 2017).

Em estudos recentes, foi confirmado o efeito iAChe de um isômero do ácido linoleico, reduzindo três vezes a atividade da enzima acetilcolina (CIGLIANO, et al., 2019). Nesse

contexto, testes com uma nanoplataforma com esse mesmo isômero, sugeriram um sistema de entrega ativamente direcionado ao sistema nervoso central, com sofisticado potencial para reduzir os sintomas da DA (AGWA et al., 2020).

O composto oleamida, é um agente quimiopreventivo contra a DA, possui atividade protetiva contra a perda de memória induzida por escopolamina e também pela regulação da atividade microglial (ANO et al., 2015; HEO et al., 2003).

No SEM o efeito iAChE pode estar relacionado à presença do derivado de triacontano. Dalai et al. (2014) relataram inibição da AChE, IC_{50} = 45.88 ± 1.94 µg/mL, após testes com óleo de canela, o qual apresentou em sua composição o composto triacontano.

Evidencia-se também que os flavonoides, presente nos LEM, LEE, SEM e SEE, possuem atividades neuro e nefroprotetivas (ATHIRA et al., 2016; XICOTA et al., 2017). Justifica-se o potencial de iAChE dos flavonoides devido à presença e posição do grupo hidroxila (OH) no anel A e anel B, e também devido à insaturação do anel C (KHAN et al., 2018).

Assim como verificado neste estudo, Morais et al. (2013) afirmaram não ter relação direta entre a atividade antioxidante e a inibição da acetilcolinesterase, entretanto existe uma dependência dessas atividades em função de seus padrões estruturais (KARMAKAR et al., 2019).

Segundo Santos et al. (2018) que realizaram um levantamento sobre espécies de plantas e a iAChE, há limitações relevantes nos estudos realizados na última década, que cinge as atividades antioxidante e a escassez de estudos toxicológicos. Este estudo trouxe a preocupação em minimizar essa limitação e confirma relatos que, extratos com elevado poder de iAChE, IC_{50} < 20 µg/ml (SANTOS et al., 2018) não precisam apresentar elevada toxicidade (HUQ et al., 2014; NWIDU et al., 2017).

Percebe-se assim, ser importante a continuidade dos estudos com esses extratos, visto que, possui notável potencial de inibição da acetilcolinesterase e que são escassos os estudos desta espécie.

6.4. CONCLUSÃO

Este estudo fornece a primeira evidência sobre a inibição da acetilcolinesterase da folha e semente da *P. platycephala*. A extração sequencial com polaridade crescente auxiliou na otimização da obtenção dos compostos dos extratos e foi eficaz em relação à análise de toxicidade e inibição de acetilcolinesterase. Esses dados indicam potencial uso terapêutico dessa planta em condições médicas relacionadas à doença de Alzheimer.

6.5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPESQ) e à Universidade Federal do Tocantins pelo incentivo financeiro recebido. Esta publicação recebeu apoio final do Edital n EDITAL 38/2020 da Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPESQ) da Universidade Federal do Tocantins.

6.5. REFERÊNCIAS

Ademiluyi AO (2018). Local condiments from fermented tropical legume seeds modulate activities of critical enzymes relevant to cardiovascular diseases and endothelial function. Food Science & Nutrition, 6(3):602–608.

Agwa MM, Abdelmonsif DA, Khattab SN, Sabra S (2020) Self- assembled lactoferrin-conjugated linoleic acid micelles as an orally active targeted nanoplatform for Alzheimer's disease. International Journal of Biological Macromolecules, 162:246-261.

Amorim ELC, Castro VTNA, Melo JG, Corrêa AJA, Peixoto-Sobrinho TJS (2012). Standard operating procedures (SOP) for the spectrophotometric determination of phenolic compounds contained in plant samples. InTech, 1:47–66.

Ano Y, Ozawa M, Kutsukake T, Sugiyama S, Uchida K, Yoshida A, Nakayama H (2015). Preventive effects of a fermented dairy product against Alzheimer's disease and identification of a novel oleamide with enhanced microglial phagocytosis and anti-inflammatory activity. Plos One, 10(3):e0118512.

Araújo MJ, Miranda HH, Marques CAT, Batista L, Carvalho FJV, Jácome DLS, Edvan RL, Silva TPD, Bezerra LR, Lima AGVO, Oliveira RL (2019). Effect of replacing ground corn with *Parkia platycephala* pod meal on the performance of lactating Anglo-Nubian goats. Animal Feed Science and Technology, 258:114313.

Athira K, Madhana RM, Lahkar M (2016). Flavonoids, the emerging dietary supplement against cisplatin-induced nephrotoxicity. Chemic-Biological Interactions, 248:18–20.

Ayaz M, Junaid M, Ullah F, Subhan F, Sadiq A, Khan, MA, Ahmad, W, Shah MR, Imran M, Ahmad S (2015). Perfil químico comparativo, inibições de colinesterase e propriedades anti-radicais de óleos essenciais de Polygonum hydropiper L: Um estudo preliminar anti-Alzheimer. Lipids In Health Dis. 14 (1), 141.

Ayaz M, Junaid M, Ullah F, Subhan F, Sadiq A, Ali G, Ovais M, Shahid M, Ahmad A, Wadood A, El-Shazly M, Ahmad N, Ahmad S (2017). Anti-Alzheimer's Studies on β-Sitosterol Isolated from *Polygonum hydropiper* L. Frontiers in pharmacology, 8:697.

Bari A U, Santiago MQ, Osterne VJS, Pinto-Junior VR, Pereira LP, Silva-Filho JC, Debray H, Rocha BAM, Delatorre P, Teixeira CS, Neto CC, Assreuy AMS, Nascimento KS, Cavada BS (2016). Lectins from *Parkia biglobosa* and *Parkia platycephala*: A comparative study of structure and biological effects. International Journal of Biological Macromolecules, 92:194–201.

Beulah GG, Soris PT, Mohan VR (2018). GC-MS Determination of Bioactive Compounds of Dendrophthoe falcata (L.F) Ettingsh: An Epiphytic Plant. International Journal of Health Sciences & Research, 8(11).

Builders M (2012). Toxicity studies of the extracts of *Parkia biglobosa* Stem Bark in Rats. British Journal of Pharmaceutical Research, 2(1):1–16.

Cavada BS, Bari AU, Pinto-Junior VR, Lossio CF, Silva MTL, Souza LAG, Oliveira MV, Souza-Filho CHD, Correia SEG, Vital APMS, Lima LD, Osterne VJS, Nascimento KS (2020). Purification and partial characterization of a new lectin from *Parkia panurensis* Benth. ex H.C. Hopkins seeds (Leguminosae family; Mimosoideae subfamily) and evaluation of its biological effects. International Journal of Biological Macromolecules, 145:845-855.

Chanu KV, Leishangthem GD, Srivastava SK, Thakuria D, Kataria M, Telang, AG (2018). Phytochemical analysis and evaluation of anticancer activity of *Parkia javanica* seeds. The Pharma Innovation Journal 7(5):305–311.

Chaves SR, Santos RR, Silva ALG (2020). Reproductive biology of *Parkia platycephala* Benth (leguminosae, caesalpinioideae, clado mimosoide) / Biologia reprodutiva de *Parkia platycephala* Benth (leguminosae, caesalpinioideae. Brazilian Journal of Development, 6(10):79442-79458.

Cheok CY, Salman HAK, Sulaiman R (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. Food Research International, 59(1):16-40.

Chhikara N, Devi HR, Jaglan S, Sharma P, Gupta P, Panghal A (2018). Bioactive compounds, food applications and health benefits of *Parkia speciosa* (stinky beans): A review. Agriculture & Food Security, 7(1):1–9.

Chun SS, Vattem DA, Lin YT, Shetty K (2005). Phenolic antioxidants from cloral oregano (Origanum vulgare) with antimicrobial activity against Helicobacter pylori. Process Biochemistry, 40(2):809-816.

Cigliano L, Spagnuolo MS, Boscaino F, Ferrandino I, Monaco A, Capriello T, Cocca E, Iannotta L, Treppiccione L, Luongo D, Maurano F, Rossi M, Bergamo P. Dietary supplementation with fish oil or conjugated linoleic acid relieves depression markers in mice by modulation of the Nrf2 pathway. Molecular Nutrition & Food Research, 63(21):e1900243.

Costa BA, De Oliveira JM, Sales PA, Lira SRDS, Silva SMDS, Costa LM, Muratori M, Costa AP (2013). Systemic and reproductive toxicity induced by *Parkia platycephala* ethanolic extract in female Wistar rats. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 23(6):920–926.

Dalai MK, Bhadra S, Chaudhary SK, Chanda J, Bandyopadhyay A, Mukherje PK (2014). Anticholinesterase activity of Cinnamomum zeylanicum L. leaf extract. TANG [HUMANITAS MEDICINE], 4(2):11.1-11.6.

Decker AL, Duncan K (2020). Acetylcholine and the complex interdependence of memory and attention. Current Opinion in Behavioral Sciences, 32(1):21–28.

Devakumar J, Keerthana V, Sudha SS (2017). Identification of Bioactive Compounds by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Syzygium Jambos (L.) Collected from

Western Ghats Region Coimbatore, Tamil Nadu. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 10(1):364-369.

Dinda B, Mohanta BC, Debnath S, Ghosh B, Arima S, Sato N, Harigaya Y (2009). Iridoid glucosides from leaves and stem barks of *Parkia javanica*. The Journal of Asian Natural Products Research, 11(36):229–235.

Dluya T, Daniel D, Yusuf U (2017). *In vitro* Antioxidant Activity and Phytochemical Evaluation of Five Medicinal Plants Extract. The Pharmaceutical and Chemical Journal, 4(5):73-82.

Duric K, Kovac-Besovic E, Niksic H, Sofic E (2013). Antibacterial activity of methanolic extracts, decoction and isolated triterpene products from different parts of birch, Betula pendula, Roth. Journal of Plant Studies, 2(2):61–70.

Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, 7(2):88-90.

Fang Z, Jeong SY, Jung HA, Choi JS, Min BS, Woo MH (2010). Anticholinesterase and Antioxidant Constituents from Gloiopeltis furcata. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 58(9):1236-1239.

Fang J, Wang L, Wu T, Yang C, Gao L, Cai H, Liu J, Fang S, Chen Y, Tan W, Wang Q (2017). Network pharmacology-based study on the mechanism of action for herbal medicines in Alzheimer treatment. Journal of Ethnopharmacology, 196:281–292.

Farias DF, Souza TM, Viana MP, Soares BM, Cunha AP, Vasconcelos IM, Ricardo NMPS, Ferreira PMP, Melo VMM, Carvalho AFU (2013). Antibacterial, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities of Plant Seed Extracts from Brazilian Semiarid Region. BioMed Research International, 2013:510736.

Feng J, YI X, Huang W, Wang Y, HE X (2018). Novel triterpenoids and glycosides from durian exert pronounced anti-inflammatory activities. Food Food Chemistry, 241:215–221.

Fernandes HB, Silva FV, Passos FFB, Bezerra RDS, Chaves MH, Oliveira FA, Oliveira RCM (2010). Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. Biological Research, 43(1):451-57.

Figueiredo BNS (2014). Análise fitoquímica, potencial anti-helmíntico e ensaio toxicológico em *Artemia salina* de plantas presentes no ecótono amazônia e cerrado: *Leucaena leucocephala*, *Parkia platycephala* e *Senna alata*. [Dissertação]. Araguaína: Universidade Federal do Tocantins.

Figueiredo BNS, Sato MO, Moura LTS, Mariano SMB, Alvim TC, Soares IM, Kawai S, Ascêncio SD, Santos HD, Paiva JA, Sato M, Maruo VM (2020). Preliminary Report on the Effect of Savanna Plants *Leucaena leucocephala*, *Parkia platycephala* and *Senna alata* against Eggs and Immature Stages of Trichostrongylid Nematodes *In Vitro*. Pathogens, 9(12):986.

Gade S, Rajamanikyam M, Vadlapudi V, Nukala KM, Aluvala R, Giddigari CS, Karanam NJ, Barua NC, Pandey R, Upadhyayula VSV, Sripadi P, Amanchy R, Upadhyayula SM (2017). Acetylcholinesterase inhibitory activity of stigmasterol & hexacosanol is responsible for

larvicidal and repellent properties of Chromolaena odorata. Biochimica et Biophysica Acta General Subjects, 1861(3):541-550.

Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Bukhori MFM, Rahmat MH, Rahmat A (2018). Assessment and comparison of phytochemical constituents and biological activities of bitter bean (*Parkia speciosa* Hassk.) collected from different locations in Malaysia. Chemistry Central Journal, 12:12.

Gnansounou S, Iskandar S, Abou L, Robin M, Giorgio C, Dahouenon E, Piccerelle P, Sonhounhlou D (2019). GC-MS screening and evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of ethanolic leaves and stem barks extracts from Dialium guineense Willd, *Parkia biglobosa* (Jacq.) R. Br. ex Benth. and Tamarindus indica L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(1):295-301.

Heinrich, M (2010). Galanthamine from Galanthus and other Amaryllidaceae–chemistry and biology based on traditional use, The Alkaloids: Chemistry and Biology.Elsevier Acedamic Press, 157–165.

Heo H-J, Park Y-J, Suh Y-M, Choi S-J, Kim M-J, Cho H-Y, Chang Y-J, Hong B, Kim H-K, Kim E, Kim C-J, Kim B-G, Shin D-H (2003). Effects of oleamide on choline acetyltransferase and cognitive activities. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 67(6):1284–1291.

Huq AKM, Jamal JA, Stanslas J (2014). Ethnobotanical, Phytochemical, Pharmacological, and Toxicological Aspects of Persicaria hydropiper (L.) Delarbre. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014:782830.

Ibrahim MA, Koorbanally N, Islam MS (2013). *In Vitro* Anti-Oxidative Activities of The Various Parts of *Parkia Biglobosa* And GC-MS Analysis of Extracts With High Activity. African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines, 10(5):283-291.

Karmakar A, Ambure P, Mallick T, Sreeparna DAS, Kunal R, Begum NA (2019). Exploration of synthetic antioxidant flavonoid analogs as acetylcholinesterase inhibitors: an approach towards finding their quantitative structure–activity relationship. Medicinal Chemistry Research, 28:723–741.

Khan H, Marya, Amin S, Kamal MA, Patel, S (2018). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. Biomedicine & Pharmacotherapy, 101:860-870.

Kuppusamy A, Arumugam M, George S (2017). Combining in silico and *in vitro* approaches to evaluate the acetylcholinesterase inhibitory profile of some commercially available flavonoids in the management of Alzheimer's disease. International Journal of Biological Macromolecules, 95:199–203.

LORENZI, H (2020). Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 8ed. São Paulo: Instituto Plantarum.

Luchnikova NA, Grishko VV, Ivshina IB (2020). Biotransformation of Oleanane and Ursane Triterpenic Acids. Molecules, 25(23):5526.

Matos FJA (2009). Introdução à Fitoquímica Experimental. 3ed. Fortaleza: UFC. Fortaleza.

Melo JG, Araújo TAS, Castro VTNA, Cabral DLV, Rodrigues MD, Nascimento SC, Amorim ELC, Albuquerque UP (2010). Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. Molecules, 15(12):8534-8542.

Meyer BN, Ferrigini RN, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichol DE, Mclaughlin JL (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Med 45:31–35.

Mohiuddin YG, Nathar VN, Aziz WN, Gaikwad NB (2018). Investigations on important secondary metabolites from aerial parts of *Artemisia absinthium* L. using GC-MS. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(1): 820-827.

Morais SM, Lima KSB, Siqueira SMC, Cavalcanti ESB, Souza MST, Menezes JESA, Trevisan MTS (2013). Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 15(4):575-582.

Mota WM, Barros ML, Cunha PEL, Santana MVA, Stevam CS, Leopoldo PTG, Fernandes RPM (2012). Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 14(4):624-628.

Murray AP, Faraonia MB, Castro MJ, Alza NP, Cavallaro V (2013). Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's Disease Therapy. Current Neuropharmacology, 11(4):388-413.

Nguta JM, Mbaria JM, Gakuya D, Gathumbi PK (2011). Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). Pharmacologyonline, 2:458-78.
Nwidu LL, Elmorsy E, Thornton J, Wijamunige B, Wijesekara A, Tarbox R, Warren A, Carter WG (2017). Anti-acetylcholinesterase activity and antioxidant properties of extracts and fractions of *Carpolobia lutea*. Pharmaceutical Biology, 55(1):1875-1883.

Oliveira LV, Anjos CJF, Confessor M, Vilar DA, Vilar MSA 2017. Fitoterapia como alternativa ao retardamento do alzheimer. Available at: http://www.editorarealize.com.br/artigo/visualizar/2933.

Olowokere JA, Onen AI, Odineze MC, B'aga ID, Akoji JN (2018). Extraction and Characterization of Oil from African Locust Bean (*Parkia biglobosa*) Seed. Asian Journal of Applied Chemistry Research, 2(2):1-11.

Patel SS, Raghuwanshi R, Masood M, Acharya A, Jain SK (2018). Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity. Reviews in the Neurosciences, 2018, 29(5):491-529.

Peixoto-Sobrinho TJS, Silva CHTP, Nascimento JE, Monteiro JM, Albuquerque UP, Amorim ELC (2008). Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de Bauhinia cheilantha (Bongard) Steudel. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 44(4):683–689.

Peixoto-Sobrinho TJDS, Castro VTNA, Saraiva AM, Almeida DM, Tavares EA, Amorim ELC (2011). Phenolic content and antioxidant capacity of four Cnidoscolus species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil. African Journal of. Pharmacy and Pharmacology, 5(20):2310–2316.

Prasad S, Kalra N, Shukla Y (2007). Hepatoprotective effects of lupeol and mango pulp extract of carcinogen induced alteration in Swiss albino mice. Molecular Nutrition & Food Research, 51(3):352-359.

Quansah L, Mahunu GK, Tahir HE, Mariod AA (2019). *Parkia biglobosa*: Phytochemical Constituents, Bioactive Compounds, Traditional and Medicinal Uses. In Mariod A. (eds) Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products. Springer International Publishing, 1:271–284.

Rhee IK, Van de Meent M, Ingkaninan K, Verpoorte R (2001). Screening For Acetylcholinesterase Inhibitors From Amaryllidaceae Using Silica Gel Thin-Layer Chromatography In Combination With Bioactivity Staining. Journal of Chromatography A, 915(1-2):217-223.

Saleh MSM, Jalil J, Zainalabidin S, Asmadi AY, Mustafa NH, Kamisah Y (2021). Genus *Parkia*: Phytochemical, Medicinal Uses, and Pharmacological Properties. International Journal of Molecular Sciences, 22(2):618.

Santos TC, Gomes TM, Pinto BAS, Camara AL, Paes AMA (2018). Naturally Occurring Acetylcholinesterase Inhibitors and Their Potential Use for Alzheimer's Disease Therapy. Frontiers in Pharmacology, 9:1192.

Sangodare RSA, Okibe PO, Mohammed M, Jajere MU, Abubakar A, Aribido OS, Bala S, Danmallam AA, Ali EO, Onuora O, Ukwueje N, Kolo MT (2017). Chemical Investigation Of *Parkia biglobosa* Fruit Hull Using GC-MS. American Journal of Research Communication, 5(2):59-65.

Saraiva LCF, Maia WMN, Leal FR, Maia Filho ALM, Feitosa CM (2018). Triagem fitoquímica das folhas de Moringa oleífera. Boletim Informativo Geum, 9(2):12-19.

Sá-Santos MM, da Silva FMP, da Silva JFM, Pimenta RS (2018). Phytochemistry and antibacterial activity of aqueous and hydroalcoholic extracts of three medicinal plants against food pathogens. Acta Scientiarum Biological Sciences, 40:1–6.

Sarikaya SBO (2015). Acethylcholinesterase inhibitory potential and antioxidant properties of pyrogallol, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 30(5):761-766.

Shahidah AA, Farouq AA, Magashi MA, Sokoto AM (2019). Comparative Amino Acid and Volatile Flavor Profile of Dawadawa Produced from the Seeds of *P. biglobosa, G. max* and *H. sabdariffa*. Journal of Advances in Microbiology, 14(3):1-13.

Shaikh S, Dhavan P, Ramana MMV, Jadhav BL (2021). Design, synthesis and evaluation of new chromone-derived aminophosphonates as potential acetylcholinesterase inhibitor. Molecular Diversity, 25:811-825.

Shan J, Xuan Y, Zhang Q, Zhu C, Liu Z, Zhang S (2016). Ursolic acid synergistically enhances the therapeutic effects of oxaliplatin in colorectal cancer. Protein & Cell, 7(8):571–585.

Sharma, K (2019). Cholinesterase inhibitors as Alzheimer’s therapeutics (review). Molecular Medicine Reports, 20(2):1479–1487.

Shi C, Wu F, Zhu X, Xu J (2013). Incorporation of β-sitosterol into the membrane increases resistance to oxidative stress and lipid peroxidation via estrogen receptor-mediated PI3K/GSK3β signaling. Biochimica et Biophysica Acta, 1830(3):2538-2544.

Silva RRS, Silva CR, SantosVF, Barbosa CRS, Muniz DF, Santos ALE, Santos MHC, Rocha BAM, Batista KLR, Costa-Júnior LM, Coutinho HDM, Teixeira CS (2019). *Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of Haemonchus contortus. Microbial Pathogenesis, 135:103629.

Simões CMO, Schenkel EP, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (2017). Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre, RS: Artmed.

Smith PF, Ogundele A, Forrest A, Wilton J, Salzwedel K, DOTO J, Allaway GP, Martin DE (2007). Antimicrob. Agents Chemother, 51:3574.

Soares IM, Rireiro MF, Costa OJ, Sousa EE, Aguiar AA, Barbosa RS, Alvim TC, Ascêncio SD, Aguiar RWS (2017). Application of a degreasing process and sequential ultrasound-assisted extraction to obtain phenolic compounds and elucidate of the potential antioxidant of Siparuna guianensis Aublet. Journal of Medicinal Plant Research, 11(1):357-66.

Soheili M, Karimian M, Hamidi GhA, Salami M (2021). Alzheimer's disease treatment: The share of herbal medicines. Iran Journal of Basic Medicinal Science, 24:123-135.

Tocantins (2012). Lei nº 2.619, de 9 de agosto de 2012. Define os Símbolos da Natureza do Estado do Tocantins, e adota outras providências. Diário Oficial do Estado do Tocantins. 3691:1.

Trevisan MTS, Macedo FVV (2003). Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. Química Nova, 26(3):301-304.

Xicota L, Rodriguez-Morato J, Dierssen M, La Torre R (2017). Potential Role of (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in the Secondary Prevention of Alzheimer Disease. Current Drug Targets, 18(2):174-195.

7 CAPÍTULO IV

Parkia do Cerrado: bioprospecção fitoquímica, toxicidade e bioatividades *in vitro* dos extratos da casca e flor

Artigo submetido no periódico Anais da Academia Brasileira de Ciências

Resumo

A *Parkia platycephala* é a única espécie do gênero *Parkia*, endêmica do Cerrado brasileiro, e mesmo assim, o fomento à sua bioprospecção é pouco visado. Neste estudo, objetivamos realizar a caracterização fitoquímica, avaliar a toxicidade e as atividades antioxidante e anticolinesterásica dos extratos da casca e flor da *Parkia platycephala*. Foram realizadas extrações sequenciais a quente (Soxhlet), utilizando hexano, metanol e solução hidroetanólica (70%). Após triagem preliminar, os extratos metanólicos e etanólicos foram caracterizados quimicamente por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM) e Cromatografia Líquida com Detector de Arranjo de Diodo (CL-DAD). Foram avaliadas as atividades antioxidante (radical DPPH•) e anticolinesterásica (Ellman) e a toxicidade (*Artemia salina)*. A presença de flavonoides, taninos, esteroides e alcaloides foi detectada na triagem preliminar. A análise por CG-EM indicou a presença de variados compostos, tais como trilinoleina, (*Z*)-9-octadecenamida, 3-O-metil-*d*-glicose e metilsulfinil(metiltio)-methano. Na CL-DAD, destacam-se o ácido elágico, presente apenas nos extratos da flor, e o ácido ferúlico, presente apenas nos extratos da casca. Os extratos da casca predominaram quanto ao potencial antioxidante, sendo que o extrato etanólico (IC_{50}=10,69 ± 0,35 µg. mL^{-1}) superou o padrão rutina (IC_{50}=15,85 ± 0,08µg. mL^{-1}). Todos os extratos apresentaram excelentes potenciais anticolinesterásicos, com ênfase no extrato etanólico da flor (IC_{50}=5,34 ± 0,12 µg. mL^{-1}). Já os extratos metanólicos da casca e o etanólico da flor, apresentaram elevada e moderada toxicidade, fortes indícios de atividade antitumoral. Por acreditarmos na promissora atividade terapêutica da *Parkia platycephala*, se faz importante a continuidade dos estudos para confirmar estes resultados.

Palavras-chave: Anticolinesterase, antioxidante, *Artemia salina*, cromatografia, *Fava de bolota*.

7.1. INTRODUÇÃO

A espécie *Parkia platycephala* (*P. platycephala*), popularmente chamada de fava de bolota ou faveira, pertencente à família Fabaceae, é uma espécie endêmica do Cerrado brasileiro, sendo assim definida como a *Parkia* do Cerrado (Hopkins, 1986). Suas cascas e flores apresentam características de plantas resistentes as adversidades, tais como as espécies do

Cerrado, com casca espessa, suberosa e resistente ao fogo, e floração em pleno período seco, com inflorescências em capítulos esféricos purpúreos, pendendo de longos pedúnculos (Carvalho, 2014).

O gênero *Parkia* possui um acervo de 35 espécies distribuídas pelos neotrópicos, Ásia e África, destas, 12 espécies apresentam estudos medicinais, incluindo a *P. platycephala* (Saleh et al., 2021). Nos relatos literários sobre efeitos gastroprotetivos, anti-inflamatórios e antimicrobianos (Fernandes et al., 2010; Silva et al., 2019) da espécie *P. platycephala*, os estudos referiram-se sempre as folhas e as sementes.

Apesar de haver uma relação direta, entre folhas, sementes, casca e flores, acredita-se que devido as suas especificidades, associadas à diversidade estrutural das substâncias advindas do metabolismo secundário, a anotação e/ou elucidação e quantificação de uma parte, não é capaz de predizer "todo" o conjunto de metabólitos presentes em um sistema biológico (Pilon et al., 2020).

Assim, a bioprospecção fitoquímica traz novas perspectivas de estudos relacionados as bioatividades das espécies, nas quais os metabólitos secundários são os fatores principais. Contudo, alguns parâmetros, tanto de metodologia e solventes utilizados (Santos et al., 2021), quanto edafoclimáticos e ritmo de desenvolvimento da espécie (Marinho et al., 2022) podem levar a variações no que tange as indicações terapêuticas.

Atualmente, não existe qualquer técnica analítica que seja capaz de medir todos os metabólitos em um único experimento (Pilon et al., 2020), por isso, é necessário construir bibliotecas de extratos da biodiversidade (Almeida et al., 2022; Lowell et al., 2015). Nesse sentido, Bajkacz e Adamek (2017) afirmaram que as extrações baseadas em solventes orgânicos ainda constituem a melhor escolha para extração e detecção destes metabólitos, devido a eficiência e compatibilidade com as principais plataformas analíticas, tais como a cromatografia.

Para Mushtaq et al. (2014), quando se faz uma busca indiscriminada de perfis metabólicos, a utilização do solvente metanol ou a mistura metanol-água, é amplamente utilizada , devido a sua menor seletividade, sendo capaz de extrair uma gama de metabólitos tais como açúcares, ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, dentre outros. Outra alternativa, em relação ao perfil de metabólitos é o uso sequencial de solventes com o aumento de polaridade, ocasionando o aumento da concentração de diferentes classes metabólicas (Costa, 2021).

Além da variabilidade de extrações dos metabólitos secundários, tanto os bioensaios de toxicidade, quanto os testes *in vitro* avaliando distintas atividades biológicas, são essenciais para que se conheçam os efeitos dos extratos de uma planta (Moura et al., 2012). Habitualmente, a primeira avaliação de um extrato vegetal é verificar sua capacidade antioxidante, ou seja, o potencial inibidor sobre as espécies reativas, (tais espécies são necessárias nos organismos), mas em excesso, atacam outros compostos estáveis, desencadeando reações oxidativas que são diretamente relacionados a várias enfermidades (Otaegui-Arrazola et al., 2014).

Uma dessas enfermidades é a Doença de Alzheimer (DA), cujo tratamento baseia-se na inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), papel que vem sendo ocupado por compostos naturais (Vecchio et al., 2021). Além disso, pode-se também sugerir a atividade antitumoral dos extratos vegetais a partir da toxicidade positiva destes frente à *Artemia salina*, visando a prospecção de drogas antineoplásicas (Gatto et al., 2020).

Assim, o objetivo deste estudo foi realizar a bioprospecção fitoquímica, determinar as atividades antioxidante e anticolinesterásica e a toxicidade dos extratos da casca e flor da espécie *Parkia platycephala*.

7.2. MATERIAIS E MÉTODOS

7.2.1 Coleta e preparo

As amostras da casca e flor da *Parkia platycephala* foram coletadas no município de Palmas – TO, na Universidade Federal do Tocantins (UFT) - Campus Palmas (10°10’55” S e

48°21’45” W) e foram registradas e incorporadas ao Herbário da UFT sob número HTO 12007 e o projeto encontra-se cadastrado junto ao Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético (SISGEN) sob número A06B860. As amostras passaram pelas etapas de secagem (60 ºC e t = 48 h) e pulverização (moinho de facas) e foram armazenadas em frascos de vidros fechados em ambiente livre de luz.

7.2.2. Extração

As amostras pulverizadas passaram por um processo de desengorduramento seguido de extração sequencial a quente em aparato soxhlet. Inicialmente 10 g de cada amostra foi desengordurada usando o solvente orgânico o hexano (400 mL), durante 5 h de refluxo. Após 12 h de secagem natural em capela de exaustão, cada amostra passou por uma segunda extração utilizando-se o solvente orgânico metanol, durante 5 h de refluxo, obtendo-se assim os extratos metanólicos da casca (BEM) e da flor (FEM). Novamente cada amostra foi seca por 12 h, seguida então para última extração com solução hidroetanólica (70%), obtendo-se os extratos etanólicos da casca (BEE) e da flor (FEE).

6.2.3. Bioprospecção fitoquímica

7.2.3.1 Screening Fitoquímico

A identificação qualitativa das classes de metabolitos secundários foi realizada através de análises baseadas em reações de precipitação e/ou coloração, com reativos específicos para flavonoide, tanino, fitoesterol/terpenoide, quinona, saponina e alcaloide (MATOS, 2009; SARAIVA et al., 2018; SIMÕES et al., 2017).

7.2.3.2 Caracterização química por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM)

Os extratos foram analisados por CG-EM usando um cromatógrafo Shimadzu® modelo QP2020 Ultra equipado com uma coluna ZB-5HT (30 m de comprimento x 0,25 mm de

diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme). As análises foram realizadas nas seguintes condições: aquecimento a 50 °C por 1 min, até atingir 320 °C em 35 min. Temperatura de injeção: 320 °C; Temperatura da interface: 320 °C; gás de arraste (Hélio): 1 mL. min^{-1}; A energia do elétron era de 70 eV e a temperatura da fonte de íons era de 320 °C; modo de digitalização. Foi injetado 1 µL de cada extrato, no qual os constituintes foram identificados por comparação com os espectros de massa da biblioteca NIST 14.

7.2.3.3 Caracterização química por cromatografia líquida com sistema detector de arranjo de diodo (CL-DAD)

A análise seguiu a metodologia descrita por Fernandes et al. (2022), na qual os extratos foram solubilizados em água:metanol (8:2, v:v) e avaliados em uma coluna analítica CL (CL-6AD Shimadzu, Kyoto, Japão) com o auxílio de um sistema detector de arranjao de diodo (DAD) que foi monitorado entre os comprimentos de onda λ = 200-800 nm e a temperatura de 25 ºC. Padrões (Sigma, 98%) de ácido cafeico, ácido elágico, ácido vanílico, ácido sinápico, ácido ferúlico e ácido gálico, rutina, luteolina, apigenina, naringina, kaempferol e quercetina foram usados, preparados em metanol-água na concentração de 1000 $\mu g.mL^{-1}$. Ambos padrões foram facilmente identificados e quantificados com base em seus espectros de absorção na região do UV e no tempo de retenção. Os padrões encontrados nos extratos foram identificados de forma inequívoca por meio da realização de experimentos de coinjeção em que alíquotas dos extratos e padrões foram misturados e diluídos para um volume conhecido e analisados por CL. As curvas de calibração foram determinadas por regressão linear (com 10 intervalos de concentração) usando CL. Os erros padrão médios para as áreas de pico de injeções replicadas (n = 5) foram inferiores a 2%, mostrando assim uma boa repetibilidade da curva de calibração, que obtiveram como coeficientes de determinação (r^2) 0,9994 para ácido caféico ($Y=0.004+ 2.23x10^{-5} X$), ácido elágico ($Y= 0.006 + 2.74x10^{-5} X$), ácido ferúlico ($Y= 0.006+ 1.67x10^{-5} X$) e ácido gálico ($Y=0.007 + 1.41x10^{-5} X$) e r^2 = 0,9996 para naringina ($Y= 0.008 + 2.11x10^{-3} X$) e kaempferol ($Y= 0.003 + (1.98x10^{-3} X$).

6.2.4 Bioatividades in vitro

7.2.4.1 Atividade Antioxidante

A determinação do poder antioxidante seguiu as descrições de Peixoto-Sobrinho et al (2011) e com algumas modificações conforme Fernandes et al. (2021). Os resultados foram expressos pela determinação do IC_{50} (μg. mL^{-1}) dos extratos perante à inibição do radical DPPH• em 50%, utilizando o programa Graphpad Prism 9.

7.2.4.2 Atividade inibidora da Acetilcolinesterase

O potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase (iAChE) foi determinada baseando-se na metodologia descrita por Ellman et al. (1961), a qual utilizou placas de 96 poços e concentração final dos extratos de 0,2 mg. mL^{-1}, para aferição da absorbância a 405 nm (Elisa BIOTEK, modelo ELX 800, software "Gen5 V2.04.11") durante 30 segundos. Posteriormente, incubou-se a enzima acetilcolinesterase (0,25 U. mL^{-1}), aferindo-se a absorbância, em intervalos de 1 em 1 minuto, pelo período de 25 min. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. Utilizou-se a fisostigmina como controle positivo. O IC_{50} foi determinado a partir do programa Graphpad Prism 9, por regressão não linear.

7.2.5. Toxicidade com Artemia salina

A análise de toxicidade foi realizada usando o método com *A. Salina* segundo metodologia de Meyer et al. (1982) com adaptações. Inicialmente preparou-se os ovos de *A. Salina,* para eclosão dos náuplios, após 24 horas de exposição à luz artificial (lâmpada incandescente de 60W), dissolvendo-se 0.1g dos ovos, em 1L de solução salina a 3%, com sal marinho sintético e pH ajustado entre 8 a 9 (com carbonato de sódio 1 M).

Após a eclosão dos náuplios, preparou-se tubos de ensaios, em triplicatas, com 5 mL de solução dos extratos (BEM, BEE, FEM, FEE) diluídos em solução salina de DMSO (1%), em concentrações variadas (4-4000 μg. mL^{-1}) e também tubos contendo apenas solução de DMSO (1%) diluída em solução salina (3%) para o grupo controle, todos com pH ajustado entre 8 e 9.

Adicionou-se 10 náuplios em cada tubo de ensaio. Após um período de 24 horas, foi realizada a contagem do número de náuplios imóveis e determinado o percentual de mortalidade, a partir do qual determinou-se o IC_{50} de cada extrato, a partir do programa Graphpad Prism 9, por regressão não linear. A classificação dos extratos seguiu os critérios estabelecidos por Nguta et al. (2011), que definem extratos com valores de $IC_{50} < 100$ µg. mL^{-1} como altamente tóxicos, $100 < IC_{50} < 500$ µg. mL^{-1}, moderadamente tóxicos, $500 < IC_{50} < 1000$ µg. mL^{-1} , apresentam baixa toxicidade e $IC_{50} > 1000$ µg. mL^{-1} são considerados não tóxicos. O IC_{50} foi determinado a partir do programa Graphpad Prism 9, por regressão não linear.

7.2.6. Análise estatistica

O conteúdo da caracterização química (quintuplicatas), da toxicidade (triplicatas) e das atividades biológicas (triplicatas) são apresentados em média ± desvio padrão (DP) da determinação. Foram utilizados análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$).

7.3. RESULTADOS

7.3.1. Análises fitoquímicas

7.3.1.1. Screening fitoquímico

A análise das classes de metabólitos dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* revelou a presença de flavonoides, taninos, fitoesteróis e/ou triterpenoides em ambos os extratos, entretanto alcaloides foi detectado apenas no BEM (Tabela 12).

Tabela 12. Testes químicos para classe de compostos fitoquímicos de extratos de casca e flor de *P. platycephala* obtidos por extração sequencial (BEM - extrato metanólico da casca; BEE – extrato etanólico da casca; FEM – extrato metanólico da flor; FEE -extrato etanólico da flor).

Metabólito	BEM	BEE	FEM	FEE
Flavonoides	+	+	+	+
Taninos	+	+	+	+
Fitoesteróis / Triterpenoides	+	+	+	+
Quinonas	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-
Alcaloides	+	-	-	-

+ presença: - ausência

7.3.1.2. Perfil de compostos ativos utilizando CG-EM

Na análise de CG-EM, os cromatogramas dos extratos da casca (Figura 16) e da flor (Figura 17) da *P. platycephala*, obtidos por extração sequencial, indicaram por similaridade a presença de 17 compostos. Os compostos que apresentaram maior percentual de área estão apresentados na Tabela 13.

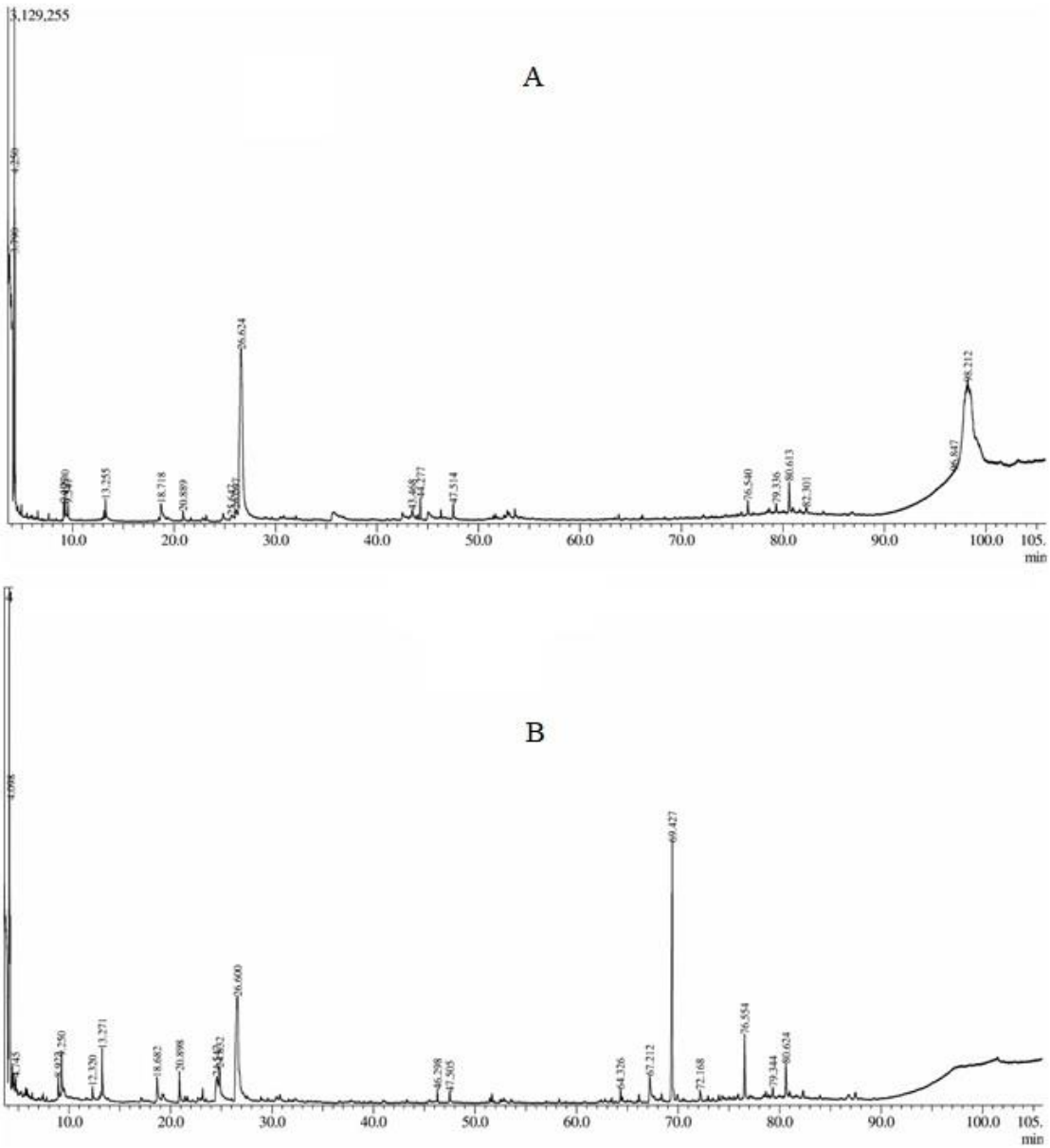


Figura 16. Análise CG-EM: cromatograma dos extratos da casca da *P. platycephala*: (A) BEM – extrato metanólico da casca, (B) BEE – extrato etanólico da casca.

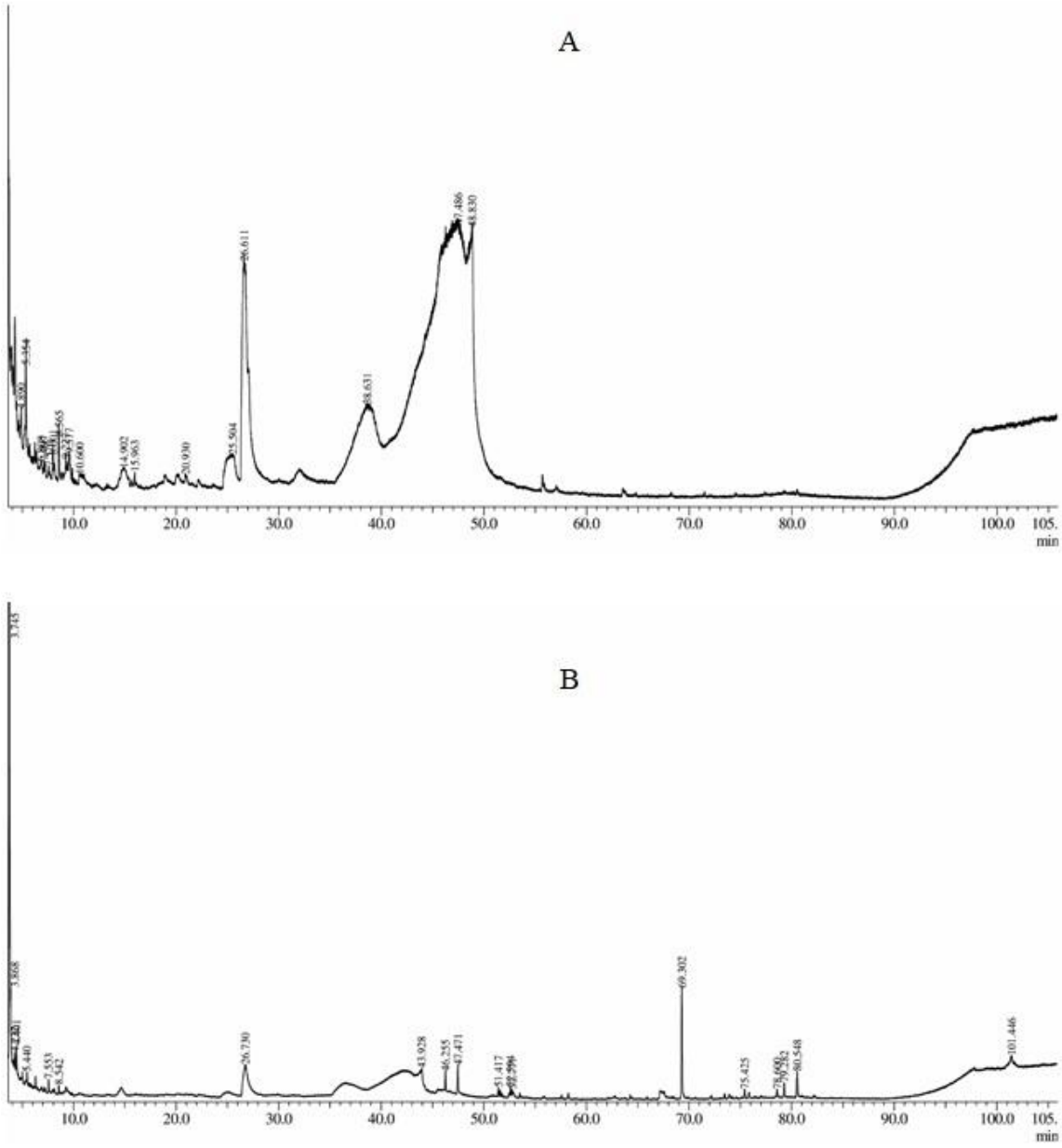


Figura 17. Análise CG-EM: cromatograma dos extratos da flor da *P. platycephala*: (A) FEM – extrato metanólico da flor, (B) FEE – extrato etanólico da flor.

Tabela 13. Constituintes químicos identificados por CG-EM nos extratos da *Parkia platycephala* obtidos porextração sequencial (BEM - extrato metanólico da casca; BEE – extrato etanólico da casca; FEM –extrato metanólico da flor; FEE -extrato etanólico da flor).

		Área pico (%)			
TR (min)	**Composto**	**BEM**	**BEE**	**FEM**	**FEE**
3.745 - 4.250	(metilsulfinil)(metiltio)-metano	12,00	26,41	-	40,53
3.868	ácido acético	-	-	-	3,85
4.232	ácido 2-propenoico	-	-	-	1,21
4.401	acetato de n-propil	-	-	-	2,74
5.440	furfural	-	-	0,77	0,86
18. 682 - 18.718	catechol	1,55	2,05	-	-
26.600 - 26.624	1,2,3-benzenotriol	27,07	22,56	10,05	18,01
38.631	etil α-d-glicopiranosideo	-	-	5,24	-
43.928 - 47.486	3-O-metil-d-glicose	-	-	63,78	1,70
47.471 - 47.514	ácido n-hexadecanoico	0,65	0,68	-	3,09
69.427	(Z)-9-octadecenamida	-	20,02	-	12,02
76.554	octacosanol	-	4,50	-	-
79.282 - 79.336	estigmasterol	0,38	0,64	-	1,68
80.548 - 80.624	y-sitosterol	1,65	2,71	-	3,60
82.301	lupeol	0,41	-	-	-
98.212	trilinoleina	47,20	-	-	-
101.446	E,E,Z-1,3,12-nonadecatrieno-5,14-diol	-	-	-	2,01

TR: tempo de retenção

7.3.1.3. Perfil de compostos ativos usando CL-DAD

A análise por CL-DAD dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* revelou a presença de quatro compostos fenólicos (ácido gálico, ácido elágico, ácido caféico e ácido ferúlico) e dois flavonoides (kaempeferol e naringina) (Tabela 14).

Tabela 14. Compostos ativos idendificados por CL-DAD nos extratos da casca e flor da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial (BEM - extrato metanólico da cascat; BEE –extrato etanólico da casca; FEM – extrato metanólico da lor; FEE - extrato etanólico da flor).

	Concentração (mg. g^{-1})			
Composto	**BEM**	**BEE**	**FEM**	**FEE**
Ácido gálico	$132,4 \pm 0,7^{Bb}$	$81,4 \pm 0,3^{Db}$	$163,6 \pm 1,2^{Aa}$	$90,1 \pm 0,7^{Ca}$
Ácido elágico	-	-	$110,1 \pm 0,8^{Ab}$	$73,4 \pm 0,5^{Bb}$
Ácido caféico	$105,7 \pm 0,8^{Ac}$	$78,7 \pm 0,2^{Bc}$	-	-
Ácido ferúlico	$161,3 \pm 0,7^{Aa}$	$88,8 \pm 0,2^{Ba}$	-	-
Kaempferol	$74,9 \pm 0,4^{Ae}$	$41,2 \pm 0,1^{Ce}$	$64,4 \pm 0,4^{Bd}$	$37,2 \pm 0,1^{Dd}$
Naringina	$84,7 \pm 0,4^{Ad}$	$44,9 \pm 0,1^{Cd}$	$77,1 \pm 0,5^{Bc}$	$41,9 \pm 0,1^{Dc}$

Valores representam a média seguida do desvio padrão (Média ± DP). Letras maiúsculas sobrescritas iguais, indicam semelhanças significativas entre as colunas. Letras minúsculas sobrescritas iguais indicam semelhanças significativas entre as linhas ($p < 0,05$, ANOVA seguido por teste de Tukey).

7.3.1.4. Atividades Antioxidante e Anticolinesterásica

A determinação dos potenciais antioxidante e anticolinesterásico *in vitro* dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* demonstraram que apesar de elevados índices das bioatividades analisadas, há especificidades em relação as partes da planta (Tabela 15).

Tabela 15. Potencial antioxidante e atividade anticolinesterásica dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial (BEM - extrato metanólico da casca; BEE –extrato etanólico da casca; FEM – extrato metanólico da flor; FEE - extrato etanólico da flor; RUT - controle rutina e PHY- controle fisostigmina).

Extrato	DPPH• (IC_{50}) µg. mL^{-1}	iAChE (IC_{50}) µg. mL^{-1}
BEM	$15,83 \pm 0,45^{b}$	$18,82 \pm 0,01^{e}$
BEE	$10,69 \pm 0,35^{a}$	$12,86 \pm 0,21^{d}$
FEM	$24,98 \pm 0,25^{c}$	$9,44 \pm 0,40^{c}$
FEE	$38,67 \pm 0,66^{e}$	$5,34 \pm 0,12^{b}$
RUT	$15,85 \pm 0,08^{b}$	-
PHY	-	$1,15 \pm 0,05^{a}$

Valores representam a média seguida do desvio padrão (Média ± DP). Letras minúsculas sobrescritas diferentes, entre as linhas, indicam não haver semelhanças significativas (p <0,05, ANOVA seguido por teste de Tukey).

7.3.1.5. Toxicidade Artemia salina

Na Tabela 16 estão apresentados os resultados do bioensaio com *A. salina* avaliando-se os extratos da casca e flor da *P. platycephala* obtidos por extração sequencial.

Tabela 16. Toxicidade e concentração inibitória 50% (IC_{50}) dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* frente a *Artemia salina*.

Extrato	IC_{50} (µg. mL^{-1})	Toxicidade
BEM	31,31 ± 4,80	alta
BEE	630,00 ± 0,01	baixa
FEM	597,60 ± 0,01	baixa
FEE	252,50 ± 0,01	moderada

7.4. DISCUSSÃO

Nos resultados encontrados no screening fitoquímico, observou-se a influência da polaridade na extração da casca da *P. platycephala*, cuja detecção de alcaloide foi positiva apenas utilizando-se o solvente metanol (BEM). Em relação à metodologia e a área de coleta, Silva et al. (2010) analisaram extratos etanólicos da casca da *P. platycephala*, obtidos por

extração a quente (banho maria), coletadas no estado do Maranhão (bioma Cerrado), e não detectaram a presença de fitoesterois e/ou triperpenoides e taninos no extrato analisado, resultado divergente deste estudo. Para os extratos da flor, assim como foi detectada a presença de flavonoides, taninos, saponinas e terpenoides neste estudo, há também, relatos destes compostos no extrato metanólico, obtido por extração única a quente (Soxhlet), da espécie *Parkia timoriana* indiana (Ralte et al., 2022). Porém a extração única deste referido estudo também revelou a presença de alcaloides (Ralte et al., 2022). Através desses dados, mais uma vez foi constatado que a geograficidade da planta influencia na produção de metabólitos, e consequentemente pode gerar particularidades culturais sobre seu uso (Castro e Léda, 2021).

As análises qualitativas por CG-EM dos extratos da casca e flor da *P. platycephala* indicaram a presença de estigmasterol, y-sitosterol e lupeol, ratificando a presença de fitoesteróides e/ou triterpenoides, segundo o screening fitoquímico. No extrato FEM (Tabela 13), foi observado elevado percentual do composto 3-O-metil-d-glicose (60%), e também, a presença exclusiva nesse extrato, do etil α-*d*-glicopiranosideo (5,4%). Ainda em relação aos extratos da flor da *P. platycephala,* os compostos: ácido acético, ácido 2-propenoico, acetato de propila e *E,E,Z*-1,3,12-nonadecatriene-5,14-diol foram identificados apenas no FEE. Nos extratos da casca, destacaram-se os compostos trilinoleina (47,2%) e cis-9-octadecenamida (20%) nos BEM e BEE, respectivamente e (methylsulfinyl)(methylthio)-methane e catechol nos dois extratos. O composto octacosanol foi identificado apenas no BEE. Não foram detectados outros estudos de caracterização química por cromatografia gasosa referente à extratos da casca e flor do gênero *Parkia*.

Em relação à analise por CL-PAD, os compostos: ácido gálico, naringina e kaempeferol foram detectados nos quatros extratos da *P. platycephala.* O ácido elágico foi detectado apenas nos extratos da flor (FEM e FEE), enquanto que os ácidos cafeico e ferúlico foram detectados apenas nos extratos da casca (BEM e BEE). Tais características também foram verificadas nos extratos brutos (casca e flor) da *P. platycephala*, obtidos por extração a quente com etanol

(70%) (Fernandes et al., 2022). Estudos com o extrato metanólico da flor de outra espécie de *Parkia, a Parkia roxburghii*, confirmou a presença de ácido gálico e elágico nesse gênero (Dubey et al., 2020). Não foram detectados estudos de caracterização por cromatografia líquida para extratos da casca e flor do gênero *Parkia.*

Destaca-se que os teores majoritários de todos os compostos foram detectados nos extratos metanólicos, sendo ácido gálico (163,6 ± 1,2 mg. g^{-1}) e ácido elágico (110,1 ± 0,8 mg. g^{-1}) no FEM, e os demais compostos, no BEM, especificamente, ácido cafeico (105,7 ± 0,8 mg. g^{-1}), ácido ferúlico (161,3 ± 0,7 mg. g^{-1}), naringina (84,7 ± 0,4 mg. g^{-1}) e kaempferol (74,9 ± 0,4 mg. g^{-1}). Ao compararmos os resultados deste estudo com os dos extratos brutos (extração etanólica 70%) da flor e casca da *P. platycephala* (Fernandes et al., 2022), o extrato da flor, continua apresentando teores majoritários de ácido gálico e ácido elágico, bem como o extrato da casca possui teores majoritários dos demais compostos. Entretanto, percebe-se que, houve influência da metodologia, diretamente nos resultados obtidos, principalmente nos teores dos ácidos fenólicos, com redução de aproximadamente 17%, no ácido gálico, referente ao BEM em comparativo ao extrato bruto (Fernandes et al., 2022).

Analisando a atividade antioxidante da *P. platycephala,* observou-se excelentes potencias dos extratos da casca, tendo o BEE (IC_{50} = 10,69 ± 0,35 µg. mL^{-1}) capacidade inibitória do radical DPPH• superior à ao padrão rutina (IC_{50} = 15,85 ± 0,08 µg. mL^{-1}) e o BEM (IC_{50} =15,83 ± 0,45 µg. mL^{-1}) capacidade significativamente semelhante ao mesmo padrão. Comparando-se os dados aqui apresentados com a extração hidroetanólica 70% (extratos brutos) (Fernandes et al., 2022), observou-se que a metodologia utilizada neste estudo, apresentou melhores índices de inibição do radical DPPH•, em pelo menos um extrato da casca e um da flor. Tala et al. (2013) avaliaram a atividade antioxidante da casca da *Parkia biglobosa* brasileira, a partir do extrato diclorometano-metanólico (1:1, v:v) macerado em temperatura ambiente e de suas frações, aquosas e acetato-etílica. Desses três extratos, a atividade antioxidante da fração aquosa

da casca apresentou o melhor potencial, (IC_{50} = 37,1 ± 0,1 $\mu g \cdot mL^{-1}$), muito aquém dos resultados antioxidantes obtidos neste estudo.

Dubey et al. (2020) analisaram a atividade antioxidante do extrato metanólico da flor da *Parkia roxburghii* indiana, e observaram um valor de IC_{50} = 68,000 ± 0,004 µg. mL^{-1}, enquanto, Ralte et al (2022) obtiveram um valor aproximado, para o extrato metanólico da flor da *Parkia timoriana indiana* (IC_{50} = 70,05 ± 0,07 µg. mL^{-1}). Tais dados, indicam que o potencial antioxidante da flor da *P. platycephala* é superior tanto para o extrato bruto, obtido com solução etanólica 70% (IC_{50} = 35,45 ± 1,36 µg. mL^{-1}) (Fernandes et al., 2022), quanto para extração sequencial (IC_{50} = 24,98 ± 0,25 µg. mL^{-1} e IC_{50} = 38,67 ± ,.66 µg. mL^{-1}, para FEM e FEE, respectivamente).

Destaca-se que essa capacidade antioxidante expressiva da casca da *P. platycephala*, pode ser atribuída a alguns compostos tais como: octacosanol, catecol, trilinoleína, ácido ferúlico e ácido cafeico. O octacosanol é um composto natural, que apresenta vários efeitos biológicos, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antiparkinson (Wang et al., 2010; Oliveira et al., 2012; Zhou et al., 2022). Harrabi et al. (2018) relataram a elevada relação entre o composto natural policosanol (75% octacosanol) e a capacidade antioxidante do radical DPPH•.

Elevada capacidade antioxidante também foi relatada para o composto catecol, e segundo De La Cruz et al. (2015), é justificada pela a presença de grupos hidroxila (3,4-orto) em compostos fenólicos simples. Os autores enfatizaram também que, os testes *in vivo* em roedores utilizando o catecol, apresentaram efeitos neuroprotetores, entretanto, não foi consequência exclusiva da atividade antioxidante deste composto (De La Cruz et a., 2015). Já a trilinoleina é comumente usada na medicina tradicional chinesa, e devido ao seu poder antioxidante, que neutraliza os danos dos radicais livres associados à aterogênese, é associada aos benefícios no tratamento de distúrbios circulatórios (Chan et al., 2002).

Conforme a Tabela 14, dentre os compostos detectados por CL-DAD, o ácido ferúlico foi o composto majoritário nos extratos da casca. A relação entre a presença de ácido ferúlico e elevados potenciais antioxidantes são comuns na literatura (Ayna et al., 2020; Lima et al., 2024; Paiva et al., 2013). Nesse contexto, também há relatos sobre a capacidade antioxidante do ácido cafeico, com efeito principalmente sobre as espécies reativas de nitrogênio (Combet et al., 2010; D'ischia, 2005), as quais contribuem para a etiologia dos distúrbios neurológicos, incluindo acidente vascular cerebral isquêmico e neurodegeneração (Lee et al. 2016).

Diferentemente dos potenciais antioxidantes, os extratos da casca da *P. platycephala*, apresentaram potenciais anticolinesterásicos inferiores aos extratos da flor. Dentre os quatro extratos testados, o FEE foi o que apresentou maior poder de inibição da acetilcolinesterase (IC_{50} = 5,34 ± 0,12 µg. mL^{-1}), seguido do FEM (IC_{50} = 9,44 ± 0,40 µg. mL^{-1}). Observou-se, exclusivamente nesses dois extratos, a presença do ácido elágico, composto que vem apresentando destaque frente à degeneração neuronal colinérgica, resultante da administração sistêmica de compostos lipopolisacarídeos (Dornelles et al., 2020). Outros compostos, que também apresentam efeito inibidor da acetilcolinesterase, são os fitoesteróis, estigmasterol e y-sitosterol (Gade et al., 2017; Karimi et al., 2021; Sanchez-Martínez et al., 2022), ambos presentes tanto no extrato FEE, quanto no BEE e recorrentes nas espécies do gênero *Parkia (*Saleh et al., 2021).

Além dos excelentes potenciais bioativos dos extratos da casca e flor da *P. platycephala*, dois extratos merecem destaque em relação à toxicidade, o BEM (IC_{50} = 31,31 ± 4,80 µg. mL^{-1}) e o FEE (IC_{50} = 252,50 ± 0,01 µg. mL^{-1}), respectivamente classificados, conforme Nguta et al. (2011) como de alta e moderada toxicidade. Esta experiência é uma indicação de potencial atividade antitumoral contra tumores sólidos, uma vez que a concentração capaz de causar letalidade de 50% na *A. salina,* evidencia-se ser dez vezes superior à dose de inibição de células antitumorais (Rosa et al., 2016; Godoi et al, 2011; McLaughlin et al., 1998). Esses resultados indicam que, para o potencial tóxico, a extração sequencial foi favorável para os extratos da

casca, enquanto a extração etanólica (70%) estimulou os extratos da flor (Fernandes et al., 2022). Nounagnon et al. (2017) também detectou elevado potencial tóxico dos extratos etanólicos da casca da *Parkia biglobosa,* tendo concentração letal duas vezes maior que os extratos da folha. Não foram encontrados relatos de testes de toxicidade com extratos da flor das espécies do gênero *Parkia.*

Por fim, sugere-se que os extratos da *P. platycephala* continuem a ser utilizados para estudos mais aprofundados em relação a essas bioatividades.

7.5. CONCLUSÃO

Através da bioprospecção da *Parkia* do Cerrado (*P. platycephala* Benth.) verificou-se elevadas atividades antioxidante dos extratos da casca e atividade anticolinesterásica da flor. Tais atividades podem estar associadas a presença de flavonoides, taninos, esteroides e alcaloides, mais especificadamente, de ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido elágico, ácido ferúlico e ácido cafeico), flavonona (naringina), flavonol (kaempferol) e fitoesteróis (estigmasterol e y-sitosterol). Todos os extratos apresentaram potencial tóxico, o que sugere indicação da presença de compostos com promissora atividade anticarcinogênica. Acredita-se que extratos da *P. platycephala,* devam ser avaliados de forma mais complexa, para isolamento dos princípios ativos e análise de seus efeitos, visando fortalecer sua aplicação nas práticas terapêuticas.

7.6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal de Tocantins (UFT) pelo apoio recebido. Esta publicação recebeu apoio financeiro do edital nº 064/2022 da Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPESQ) da UFT e do edital Nº 01/2019 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Tocantins - FAPT/Governo do Tocantins.

7.7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA AA, LEITE JPV, SIMÃO MVRC & SILVA HRV. 2022. Molecular bioprospecting of plant extracts: Experience report of the BIOPROS/UFV group in the search for antitumor compounds. Rev Fitos 2(Suppl.2): 238-24.

AYNA A, ÖZBOLAT SN & DARENDELIOGLU E. 2020.Quercetin, chrysin, caffeic acid and ferulic acid ameliorate cyclophosphamide-induced toxicities in SH-SY5Y cells. Mol Bio Rep 47(11): 8535-8543.

BAJKACZ S & ADAMEK J. 2017. Evaluation of new natural deep eutectic solvents for the extraction of isoflavones from soy products. Talanta 168(1): 329-335.

CARVALHO PER. 2014. Faveira (*Parkia platycephala*). *In*: Espécies arbóreas brasileiras. Brasília: Embrapa Florestas, 5, p. 265-271.

CASTRO MR & LÉDA PHO. 2021. Normativas sanitárias e a distribuição geográfica na fabricação de fitoterápicos no Brasil. Rev Fitos 15(4): 550-565.

CHAN P, THOMAS GN & TOMLINSON B. 2002. Protective effects of trilinolein extracted from *Panax notoginseng* against cardiovascular disease. Acta Pharmacol Sin 23(12): 1157-62.

COMBET E, MESMARI AE, PRESTON T, CROZIER A & MCCOL KEL. 2010. Dietary phenolic acids and ascorbic acid: Influence on acid-catalyzed nitrosative chemistry in the presence and absence of lipids. Free Radic Biol Med 48(6); 763-71.

DE LA CRUZ JP, RUIZ-MORENO MI, GUERRERO A, LÓPEZ-VILLODRES JA, REYES JJ, ESPARTERO JL, LABAJOS MT & GONZÁLEZ-CORREA J.A. 2015. Role of the catechol group in the antioxidant and neuroprotective effects of virgin olive oil components in rat brain. J Nutr Biochem 26(5): 549-555.

D'ISCHIA M. 2005. Nitrosation and nitration of bioactive molecules: Toward the basis of disease and its prevention. C Rs Chim 8(5): 797-806.

DORNELLES GL, OLIVEIRA J S, ALMEIDA EJR, MELLO C.BE, RODRIGUES BR, SILVA CB, PETRY LS, PILLAT MM, PALMA TV & ANDRADE CM. 2020. Ellagic acid inhibits neuroinfammation and cognitive impairment induced by lipopolysaccharides. Neurochem Res 45: 2456-2473.

DUBEY RK, UPADHYAY G, SINGH V & PANDEY S. 2020. Antioxidant potential and free radical scavenging activity *of Parkia roxburghii*, G. Don, a lesser known leguminous tree from North East India. S Afr J Bot 131: 454-461.

FERNANDES HB, SILVA FV, PASSOS FF, BEZERRA, RD, CHAVES MH, OLIVEIRA FA &MENESES OLIVEIRA RC. 2010. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. Leaves against acute gastric lesion models in rodents. Biol Res 43(4); 451–457.

FERNANDES RMN, RODRIGUES MAM, PANONTIN JF, ALVES DR, MORAIS SM, SOARES IM &SCAPIN E, 2021. J Med Plant Res 15(9); 401-412

FERNANDES RMN, RODRIGUES MAM, CARDOSO CAL, PANONTIN JF, ALVES DR, MORAIS, SM & SCAPIN E. 2022. Phytocomponents, evaluation of anticholinesterase activity and toxicity of hydroethanolic extracts of *Parkia platycephala* Benth. J Braz Chem Soc 33(12): 1414-1422.

GADE S ET AL. 2017. Acetylcholinesterase inhibitory activity of stigmasterol & hexacosanol is responsible for larvicidal and repellent properties of *Chromolaena odorata*. Biochim Biophys Acta 1861(3): 541–550.

GATTO LJ, FABRI NT, SOUZA AM, FONSECA NST, FURUSHO AS, MIGUEL OG, DIAS JFG, ZANIN SMW, MIGUEL MD2020. Chemical composition, phytotoxic potential, biological activities and antioxidant properties of *Myrcia hatschbachii* D. Legrand essential oil. Braz J Pharm Sci 56; e18402.

GRAPHPAD PRISM. 2020. version 9.0.0 for Windows; GraphPad Software Inc., California, USA.

HARRABI S, FERCHICH, A, BACHELI A & FELLAH H. 2018. Policosanol composition, antioxidant and anti-arthritic activities of milk thistle (*Silybium marianum* L.) oil at different seed maturity stages. Lipids Health Dis17: 82.

HOPKINS HCF. 1986. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoidea). Flora Neotrop 43: 1–123.

KARIMI I, YOUSOFVAND N & HUSSEIN BA. 2021. *In vitro* cholinesterase inhibitory action of *Cannabis sativa* L. Cannabaceae and in silico study of its selected phytocompounds. In Silico Pharmacol 9(1); 13.

LEE CT, YU LE& WANG J.Y. 2016. Nitroxide antioxidant as a potential strategy to attenuate the oxidative/nitrosative stress induced by hydrogen peroxide plus nitric oxide in cultured neurons. Nitric Oxide 54: 38-50.

LIMA ÂCO ET AL. 2024. Ferulic acid asmajor antioxidant phenolic compound of the *Tetragonisca angustula* honey collected in Vera Cruz – Itaparica Island, Bahia, Brazil. Braz J Biol 84: e253599.

LOWELL AN, SANTORO N, SWANEY SM, MCQUADE, TJ, SCHULTZ PJ., LARSEN MJ & SHERMAN DH.. 2015. Microscale adaptation of *in vitro* transcription/translation for high throughput screening of natural product extract libraries. Chem Biol Drug Des 86(6): 1331-1338.

MARINHO TA, OLIVEIRA MG, MENEZES-FILHO ACP, CASTRO CFS, OLIVEIRA IMM, BORGES LL, MELO-REIS PR, & SILVA-JR NJ. 2022. Phytochemical characterization, and antioxidant and antibacterial activities of the hydroethanolic extract of *Anadenanthera peregrina* stem bark. Braz J Biol82: e234476.

MATOS FJA. 2009. Introdução à Fitoquímica Experimental. 3ed. Fortaleza: UFC. 150 p.

MCLAUGHLIN JL, ROGERS LL, ANDERSON JE. 1998. The use of biological assays to evaluate botanicals. Drug Inf J32: 513-524.

MOURA NS, VASCONCELOS ACM, BERNABÉ BM, TEIXEIRA LJQ & SARAIVA SH. 2012. Ensaios toxicológicos: um estudo sobre a utilização de testes *in vivo* e *in vitro*. Enciclopédia Biosfera, 8(15): 1945-1959.

MUSHTAQ MY, CHOI YH, VERPOORTE R & WILSON EG. 2014. Extraction for Metabolomics: Access to The Metabolome. Fitochem Anal 25(4); 291-306.

NGUTA JM, MBARIA JM, GAKUYA D &GATHUMBI PK. 2011. Biological screening of Kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). Pharmacologyonline 2: 458-478.

OLIVEIRA AM, CONSERVA LM, FERRO JNS, BRITO FA, LEMOS RPL & BARRETO E. 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of octacosanol from the leaves of *Sabicea grisea* var. grisea in mice. Int J Mol Sci13: 1598-1611.

OTAEGUI-ARRAZOLA A, AMIANO P, ELBUSTO A, URDANETA E & MARTÍNEZ-LAGE P. 2014. Diet, cognition, and Alzheimer's disease: food for thought. Eur J Nutr 53;(1); 1-23.

PAIVA LB, GOLDBECK R, SANTOS WD & SQUINA FM. 2013. Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. Braz J Pharmac Sci 49(3):395-411.

PILON AC, SELEGATO DM, FERNANDES RP, BUENO PCP, PINHO DR, CARNEVALE NETO F, FREIRE RT, CASTRO-GAMBOA I, BOLZANI VS & LOPES NP. 2020. Metabolômica de plantas: métodos e desafios. Quim Nova 43(3); 329-354.

RALTE L, KHIANGTE L, THANGJAM NM, THANGJAM NM, KUMAR A, SINGH YT. 2022. GC–MS and molecular docking analyses of phytochemicals from the underutilized plant, *Parkia timoriana* revealed candidate anti-cancerous and anti-inflammatory agents. Sci Rep12: 3395.

ROSA CS ET AL. 2016. Composição química e toxicidade frente **Aedes aegypti** L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. Rev Bras Pl Med 18(1); 19-26.

SALEH MSM, JALIL J, ZAINALABIDIN S, ASMADI AY, MUSTAFA NH &KAMISAH Y. 2021. Genus *Parkia*: Phytochemical, Medicinal Uses, and Pharmacological Properties. Int J Mol Sci 22(2); 618.

SANCHEZ-MARTÍNEZ JD, ALVAREZ-RIVERA G, GALLEGO R, FAGUNDES MB, VALDES A, MENDIOLA JA, IBANEZ E &ALEJANDRO CIFUENTES. 2022. Neuroprotective potential of terpenoid-rich extracts from orange juice by-products obtained by pressurized liquid extraction. Food Chem: X, 13: 100242.

SANTOS MAC, VIANA AFS, SILVA BA, SANTOS AS, ABREU, AS MOREIRA DKT. 2021. Avaliação de diferentes métodos de extração e atividade antioxidante de compostos bioativos do resíduo madeireiro de maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.). Rev Fitos, 15(1); 32-39.

SARAIVA LCF, MAIA WMN, LEAL FR, MAIA FILHO ALM & FEITOSA CM, 2018. Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleífera*. Bol Inf Geum, 9(2); 12-19.

SILVA NLA, MIRANDA FAA &CONCEIÇÃO GM. 2010. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. Sci Plena 6(2); 1-17.

SILVA RRS ET AL. 2019. *Parkia platycephala* lectin enhances the antibiotic activity against multi-resistant bacterial strains and inhibits the development of Haemonchus contortus. Microb Pathog 135; 103629.

SIMÕES CMO, SCHENKEL EP, MELLO JCP, MENTZ LA & PETROVICK PR. 2017. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed. 502 p.

TALA, VRS, SILVA VC, RODRIGUES CM, NKENGFACK AE, CAMPANER DOS SANTOS L & VILEGAS W. 2013. Characterization of proanthocyanidins from *Parkia biglobosa* (Jacq.) G. Don. (Fabaceae) by flow injection analysis — electrospray ionization ion trap tandem mass spectrometry and liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Molecules18: 2803-2820.

VECCHIO I, SORRENTINO L, PAOLETTI A, MARRA R &ARBITRIO M. 2021. The state of the art on acetylcholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease. J Cent Nerv Syst Dis 13: 1–13.

WANG T, LIU YY, WANG X, YANG N, ZHU HB &ZUO PP. 2010. Protective effects of octacosanol on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats via regulation of ProNGF and NGF signaling. Acta Pharmacol Sin 31(7); 765–774.

ZHOU Y, CAO F, LUO F & LIN Q. 2022. Octacosanol and health benefits: Biological functions and mechanisms of action. Food Biosci 47; 101632

.

8 CAPÍTULO V

Efeitos da extração hidroetanolica e sequencial sobre o potencial tóxico dos extratos de diferentes partes da *Parkia platycephala* do cerrado tocantinense

Artigo publicado no periódico Research, Society and Development
DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25936
2022, 11(2): e50611225936

Resumo

Comumente percebe-se o uso de plantas como medicamentos fitoterápicos, entretanto, a linha tênue entre o tratamento e a intoxicação é uma realidade. Este estudo avaliou a toxicidade dos extratos da folha, casca, flor e semente da *Parkia platycephala* através do crescimento radicular da *Allium cepa*. Foram realizadas duas metodologias de extração, uma polar e uma sequencial, ambas usando aparato Soxhlet, obtendo-se extratos brutos (LE, BE, FE, SE), metanolicos (LEM, BEM, FEM, SEM) e etanolicos (LEE, BEE, FEE, SEE) da folha, casca, flor e semente, respectivamente. O potencial tóxico de cada extrato foi avaliado em três concentrações (50, 250, 750 µg/ml), tendo a água mineral como controle negativo. Observou-se que das 36 amostras analisadas, 25% estimularam o crescimento radicular da *A. cepa* nas condições avaliadas e 39% mantiveram as características de crescimento do controle negativo, indicando não toxicidade desses extratos. Os melhores índices de crescimento radicular foram obtidos na casca (2,7) e flor (2,0) pela metodologia sequencial. O extrato bruto da casca não apresentou toxicidade nas concentrações avaliadas. Os extratos da semente, da extração sequencial, apresentaram toxicidade a partir da concentração 250 µg/ml. Na concentração de 750 µg/ml, apenas um extrato não apresentou toxicidade. Diante dos resultados apresentados, acredita-se no potencial uso terapêutico da espécie *P. platycephala* nas concentrações inferiores a 250 µg/ml, no entanto é necessário estudos mais detalhados para confirmação da toxicidade dos extratos da espécie.

Palavras-chave: Intoxicação; Alelopatia; Fava de bolota; *Allium cepa*; Brasil.

8.1. INTRODUÇÃO

Há uma preocupação crescente na pesquisa de plantas medicinais devido à descoberta de novos compostos naturais com potencial farmacológico, entretanto esse potencial pode apresentar risco toxicológico, ocasionando intoxicação nos organismos expostos a tais componentes (Tuttolomondo et al, 2014).

O uso da *Allium cepa* (*A. cepa*) como bioindicador de toxicidade em extratos de plantas, é uma alternativa viável em substituição a testes em animais (Viega et al., 2019), além de possuir elevada sensibilidade e boa correlação com outros sistemas-testes, tal como ensaios em mamíferos (Freires et al., 2017). Através deste teste é possível obter significativos efeitos macromorfológicos em um curto espaço de tempo (Bonciu et al., 2018; Bragantini et al., 2007; Brigido et al., 2016). Tais efeitos, são devido a influência de um corpo sobre o outro, que pode ou não favorecer o desenvolvimento do organismo alvo. Esse fenômeno denominado alelopatia, é uma característica fitotóxica observada em vários biomas (Inderjit et al., 2011).

As plantas do bioma Cerrado por serem capazes de sobreviver em condições edafoclimáticas extremas e intensa competição por nutrientes, têm a produção de compostos bioativos estimulada, o que influencia nas diferentes interações nesse ambiente (Mecina et al., 2014). Todas essas características tornam o Cerrado uma fonte promissora de novos compostos aleloquímicos.

A espécie *Parkia platycephala* (*P. platycephala*), endêmica do Cerrado brasileiro, apresenta potencial anti-helmíntico, gastroprotetor, antinociceptivo e anti-inflamatório, devido à presença de alguns metabólitos ativos (Bari et al., 2016; Figueiredo et al., 2021; Silva et al., 2019). Além desses potenciais farmacológicos, a *P. platycephala* apresenta a capacidade de restringir o desenvolvimento de outras espécies abaixo de sua copa, muito embora o risco toxicológico dos extratos desta espécie, não tenham sido antes averiguados.

Diante disso, esse estudo avaliou o potencial tóxico dos extratos da folha, casca, flor e semente da *P. platycephala* pelo método com *A. cepa*, com fins de nortear o uso terapêutico seguro dessa espécie.

8.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e preparo

A coleta da folha, casca, flor e da semente da *Parkia platycephala* e ocorreu dentro da Universidade Federal do Tocantins - Campus Palmas (10°10’55” S e 48°21’45” W) e a exsicata foi depositada (HTO 12007) no herbário da Universidade Federal do Tocantins, no município de Porto Nacional. Realizou-se também o cadastro junto ao SISGEN sob número A06B860.

As etapas de secagem (estufa, 60 ºC/48h) e pulverização (moinho de facas tipo Willey) foram utilizadas no preparo das amostras, que logo em seguida foram armazenadas em frascos de vidros fechados e em ambiente livre de luz (Anvisa, 2011).

Extração

Duas metodologias extrativas foram analisadas, ambas à quente em sistema fechado por meio do equipamento Soxhlet conforme recomendado por Oliveira et al. (2016) e Soares et al (2017), com modificações. Os extratos brutos foram obtidos por extração polar, utilizando 200 mL da solução hidroetanólica (70%) e 5g da amostra pulverizada, durante 5h de refluxo. Os extratos metanolicos e etanolicos foram obtidos por extração sequencial, com prévio desengorduramento com hexano. Após o desengorduramento, a amostra foi deixada em repouso por 12 h para secagem e em seguida realizada a extração metanólica (200mL/5g) por 5h. Novo período de descanso (12h) foi aguardado para secagem e assim realizada a última extração com a solução hidroetanolica (70%), nas mesmas condições. Assim na extração polar, obtiveram-se os extratos brutos da folha (LE), da casca (BE), da flor (FE) e da semente (SE). Na extração sequencial, os extratos metanolicos da folha (LEM), da casca (BEM), da flor (FEM) e da semente (SEM) e os extratos etanolicos da folha (LEE), da casca (BEE), da flor (FEE) e da semente (SEE).

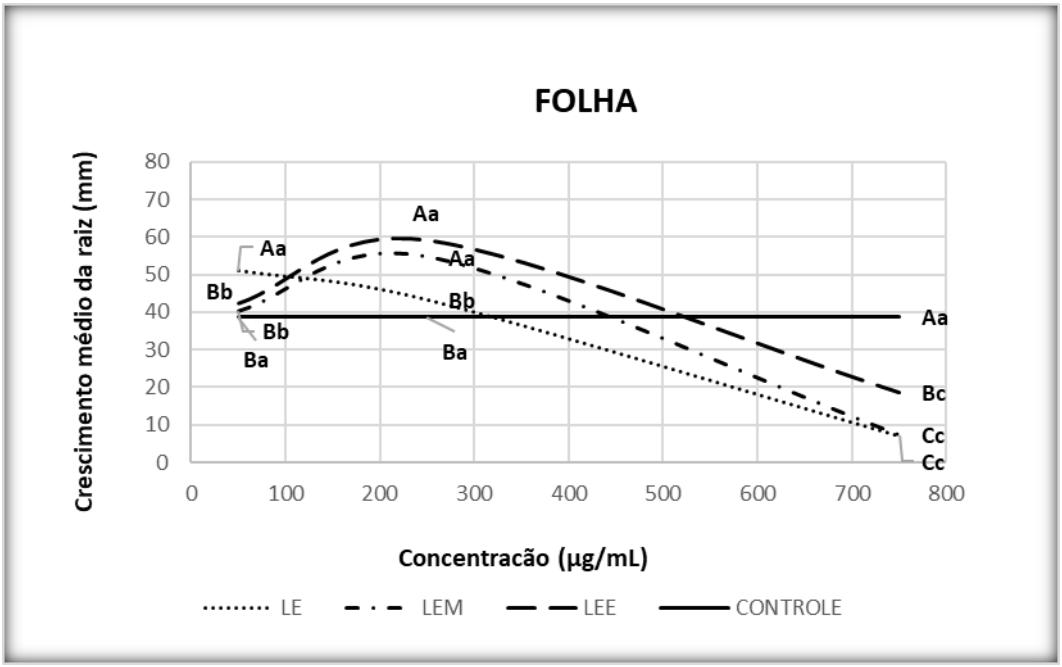
Determinação da Toxicidade

Os experimentos de toxicidade utilizando espécimes de *Allium cepa* (*A. cepa*) foram conduzidos conforme recomendado por Martins et al (2016) com alterações. O delineamento experimental incluiu um delineamento fatorial 3 × 3 (três extratos e três concentrações) para cada parte da planta, além de um tratamento controle (sem extrato). Inicialmente avaliou-se a capacidade de germinação das cebolas. As mesmas foram preparadas retirando-se a casca e quaisquer sinais de raiz. Em seguida colocou-se o fundo da cebola em copos descartáveis (50 mL) contendo água mineral como controle negativo, em temperatura de 25 ºC, atentando-se para que o fundo ficasse submerso no líquido. Após 48h as cebolas foram analisadas e apenas as que tiveram crescimento de raiz e não apresentaram sinais de apodrecimento, foram separadas para a etapa seguinte. As cebolas que estavam aptas para a próxima etapa foram preparadas, retirando-se qualquer raiz presente. Foram preparadas soluções de concentrações variadas (50, 250 e 750 µg/ml). Os extratos foram colocados em triplicata em copos descartáveis (50 mL) e as cebolas foram submersas nos mesmos pelo período de 120 h a 25 ºC. Após o período de germinação as três raízes principais de cada bulbo (para um total de 9 raízes por ensaio) foram medidas com um paquímetro digital em mm. Foi utilizada análise de

variância (ANOVA) para comparar os valores médios obtidos nas análises e os valores p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos pelo teste de Tukey. O Índice de Crescimento Relativo (RGI) foi calculado de acordo com Young et al. (2012). Na análise de RGI, extratos com valores abaixo de 0,8 foram classificados como inibidores do crescimento; valores entre 0,8 e 1,2 não indicaram efeito significativo e valores a partir de 1,2 evidenciaram estímulo do crescimento radicular.

8.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento radicular de *A. cepa* em resposta ao contato com os extratos da folha da *P. platycephala* está disposto na Figura 18.



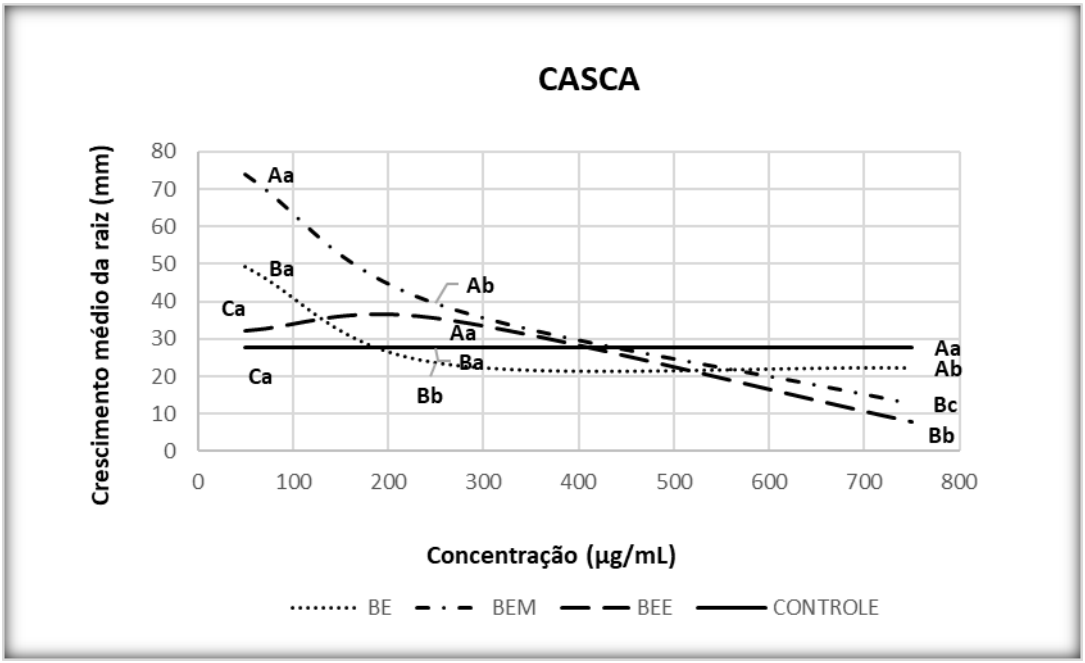
Fonte: Autores (2022)

Figura 18. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da folha da *P. platycephala* (LE – extrato bruto folha; LEM – extrato metanolico folha; LEE – extrato etanolico folha). Letras maiúsculas iguais indicam semelhança significativa na mesma concentração e letras minúsculas em concentrações diferentes (p<0.05, seguido de teste Tukey).

Observou-se nos extratos da folha que as duas metodologias utilizadas apresentaram crescimento radicular da *A. cepa*, embora em concentrações diferentes. Em ambos os extratos obtidos por extração sequencial (LEM, LEE), na concentração de 250 µg/ml, foram detectados os maiores índices de crescimento radicular. Houve diferença significativa nos valores obtidos, tanto em relação a variação de concentração de cada extrato, como em relação as metodologias utilizadas.

Na Figura 19, estão representados os crescimentos radiculares de *A. cepa* em resposta

ao contato com os extratos da casca da *P. platycephala*.

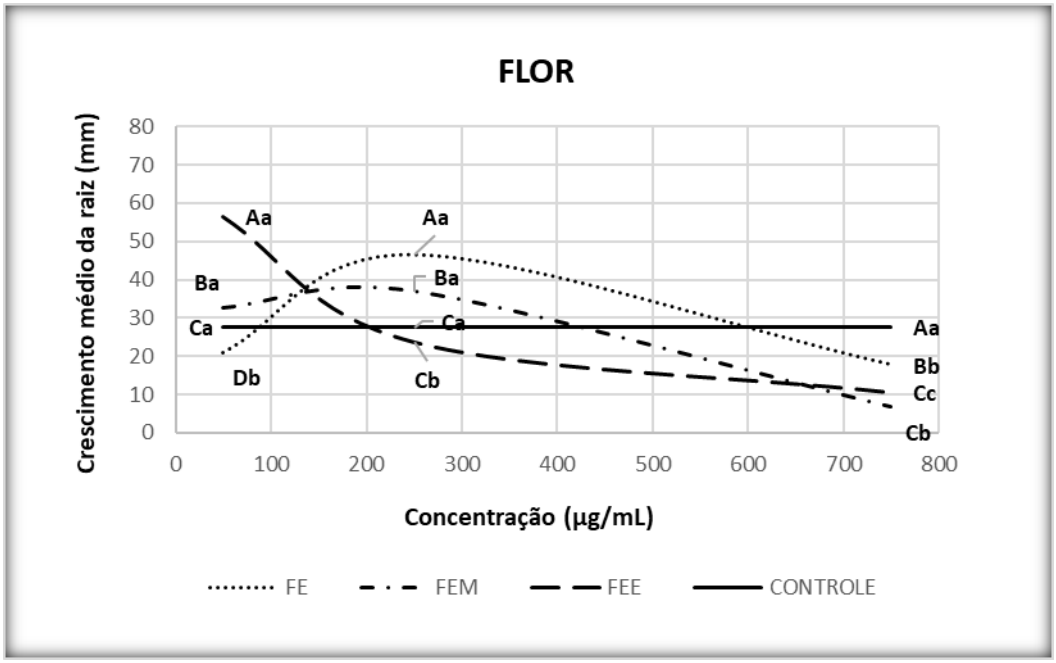


Fonte: Autores (2022)

Figura 19. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da casca da *P. platycephala* (BE – extrato bruto casca; BEM – extrato metanolico casca; BEE – extrato etanolico casca). Letras maiúsculas iguais indicam semelhança significativa na mesma concentração e letras minúsculas em concentrações diferentes ($p<0.05$, seguido de teste Tukey).

Na casca, cada extrato apresentou uma característica peculiar. Na extração sequencial, entre as concentrações de 50-250 µg/ml, houve tanto diminuição (BEM) como estabilidade (BEE) dos índices de crescimento radicular. Já na extração polar, ressalta-se que o BE, a partir da concentração de 250 µg/ml, manteve as condições de crescimento radicular equivalentes as do controle negativo, ou seja, não apresentou dose dependência.

Na Figura 20, estão representados os crescimentos radiculares de *A. cepa* em resposta ao contato com os extratos da flor da *P. platycephala*.

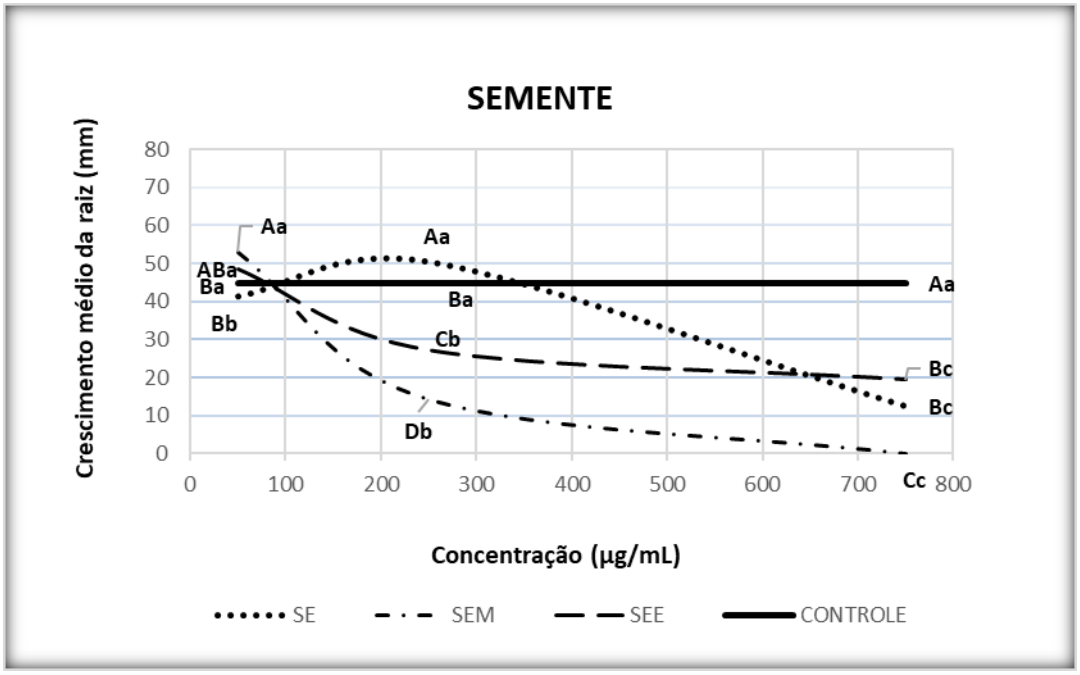


Fonte: Autores (2022)

Figura 20. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da flor da *P. platycephala* (FE – extrato bruto flor; FEM – extrato metanolico flor; FEE – extrato etanolico flor). Letras maiúsculas iguais indicam semelhança significativa na mesma concentração e letras minúsculas em concentrações diferentes ($p<0.05$, seguido de teste Tukey).

Os extratos da flor apresentaram resultados de crescimento radiculares positivos para ambas as metodologias, destacando-se o FEE em 50 µg/ml e o FE em 250 µg/ml. Observou-se, entretanto, que tais extratos apresentam características opostas em relação à dose dependência, entre as concentrações de 50 a 250 µg/ml, enquanto o FEE apresentou diminuição no crescimento radicular, o FE favoreceu o crescimento.

Na Figura 21, estão representados os crescimentos radiculares de *A. cepa* em resposta ao contato com os extratos da semente da *P. platycephala*.



Fonte: Autores (2022)

Figura 21. Crescimento da raiz da *A. cepa* em função da concentração dos extratos da semente da *P. platycephala* (SE – extrato bruto semente; SEM – extrato metanolico semente; SEE – extrato etanolico semente). Letras maiúsculas iguais indicam semelhança significativa na mesma concentração e letras minúsculas em concentrações diferentes ($p<0.05$, seguido de teste Tukey).

Analisando os extratos da semente, houve influência das metodologias de extração no crescimento radicular até a concentração de 250 µg/ml. O extrato obtido por extração polar (SE) respondeu positivamente ao crescimento, enquanto ambos os extratos obtidos por extração sequencial (SEM, SEE) apresentaram resultados negativos de crescimento em relação ao controle negativo.

Na concentração de 750 µg/ml, apenas o BE mostrou o crescimento equivalente ao controle, os demais extratos responderam negativamente ao crescimento radicular.

Diante disso, para a análise de toxicidade dos extratos da folha, casca, flor e semente da *P. platycephala*, fez-se uso do RGI (Tabela 17).

Tabela 17. Índice de crescimento relativo (RGI) observado em extratos de diferentes partes da *P. platycephala*. (LE – extrato bruto folha; LEM – extrato metanolico folha; LEE – extrato etanolico folha; BE – extrato bruto casca; BEM – extrato metanolico casca; BEE- extrato etanolico casca; FE – extrato bruto flor; FEM – extato metanolico flor; FEE – extrato etanolico flor; SE – extrato bruto semente; SEM – extrato metanolico semente; SEE – extrato etanlico semente).

EXTRATO	**RGI**		
	50 (µg/ml)	**250 (µg/ml)**	**750 (µg/ml)**
LE	1,3 [E]	1,1 [NA]	0,2 [I]
LEM	1,0 [NA]	1,4 [E]	0,2 [I]
LEE	1,1 [NA]	1,5 [E]	0,5 [I]
BE	1,8 [E]	0,9 [NA]	0,8 [NA]
BEM	2,7 [E]	1,4 [E]	0,5 [I]
BEE	1,2 [E]	1,3 [E]	0,3 [I]
FE	0,8 [NA]	1,7 [E]	0,6 [I]
FEM	1,2 [E]	1,3 [E]	0,2 [I]
FEE	2,0 [E]	0,9 [NA]	0,4 [I]
SE	0,9 [NA]	1,1 [NA]	0,3 [I]
SEM	1,2 [E]	0,3 [I]	0,0 [I]
SEE	1,1 [NA]	0,6 [I]	0,4 [I]

[E] – estimulo; [NA] – nenhuma alteração; [I] – inibição. Fonte: Autores (2022)

Observou-se que das 36 amostras analisadas, 25% estimularam o crescimento radicular da *A. cepa* nas condições avaliadas e 39% mantiveram as características de crescimento do controle negativo.

Os extratos LEM e LEE, na concentração de 250 µg/ml, estimularam o crescimento radicular da *A. cepa*. O mesmo efeito foi observado para o LEB, entretanto na concentração 50 µg/ml. Isso sugere que entre as concentrações de 250-750 µg/ml, os extratos da folha da *P. platycephala* começam a apresentar algum grau de toxicidade, resultando na inibição do crescimento na última faixa de concentração analisada.

Em relação à casca, os extratos obtidos por extração sequencial estimularam o crescimento radicular da *A. cepa*, destacando-se o BEM, que na concentração de 50 µg/ml, obteve RGI=2,7, o maior índice dentre todos os extratos da planta. Notou-se também, que o extrato obtido pela extração polar (BE) não apresentou toxicidade nas concentrações testadas.

Já para a flor da *P. platycephala*, nas concentrações abaixo de 250 µg/ml, os extratos obtidos por extração sequencial (FEM, FEE) não apresentaram toxicidade, destacando-se o FEE com RGI=2,0 na concentração de 50 µg/ml.

A extração sequencial da semente, gerou resultados diferenciados, pois o SEM e o SEE, foram os únicos extratos que apresentaram toxicidade a partir da concentração de 250 µg/ml.

Na literatura não foram encontrados estudos anteriores sobre a toxicidade da espécie *P. platycephala* ou do gênero *Parkia*, pelo método de crescimento radicular da *A. cepa*.

Há relatos do efeito inibidor da *Parkia biglobosa* (*P. biglobosa*) na germinação de sementes de *Striga gesnerioides* (Itta et al., 2014; Lado et al., 2018), bem como na germinação da *Striga hermonthica* (Magani et al., 2010; Mamudu et al., 2019). Estudos mais recentes com a folha e semente da *P. platycephala*, detectaram toxicidade moderada no extrato etanolico da semente e baixa toxicidade nos extratos metanolicos da folha e semente, pelo método com *Artemia salina* (Fernandes et al., 2021). Também foi detectado elevado potencial tóxico da *P. biglobosa* em *Clarias gariepinus* (Bawa-Allah e kinnuoye, 2019).

Em relação à toxicidade de plantas do Cerrado, alguns estudos analisaram a toxicidade de espécies desse bioma através da atividade alelopática de seus extratos. Almeida et al. (2021) utilizando *A. cepa*, avaliaram a toxicidade do extrato aquoso da folha da *Vernonanthura polyanthes* (assa-peixe) e observaram efeitos tóxicos da espécie em concentrações superiores a 20 mg/ml. Chiavegatto et al. (2017) relataram que os extratos metanolicos do fruto da *Solanum lycocarpum* (lobeira) têm um efeito inibitório sobre o crescimento das raízes tanto da *A. cepa* quanto da *Lactuca sativa*.

Extratos hidroetanolicos da casca de outra espécie do Cerrado, a *Astronium fraxinifolium* (Gonçalo-Alves), também apresentou toxicidade, nos testes com *A. cepa* (Zafred et al., 2016). Segundo Panontin et al. (2021), foi confirmada a toxicidade dos extratos hidroetanolicos da casca e folha da espécie *Hancornia speciosa* (mangabeira), tanto pelo crescimento radicular como pelas células mitóticas da *A. cepa* em concentrações de 500 µg/ml.

Os extratos hexânico e hidroetanolico da folha da espécie *Caryocar coriaceum* (pequizeiro) inibiu o crescimento radicular da *A. cepa* na concentração de 50 µg/ml (Cardoso et al., 2021).

Barbosa et al. (2019) avaliaram a toxicidade da fração e subfrações de diclorometano (DCM) obtidas das folhas de *Smilax brasiliensis* (japecanga) e observaram o efeito tóxico contra a *Lactuca sativa* e *Allium cepa.*

8.4. CONCLUSÃO

Verificou-se que os extratos da folha, casca e flor da *P. platycephala* não apresentaram toxicidade nas concentrações inferiores a 750 µg/ml, entretanto na semente, esse efeito foi detectado a partir da concentração de 250 µg/ml.

As metodologias de extração polar e sequencial, apresentaram influência direta no crescimento radicular da *A. cepa*. Alguns extratos apresentaram inibição do crescimento radicular, ou seja, são extratos alelopáticos, sendo portando potenciais alvos de estudos futuros, como pesticidas de origem natural.

Sugere-se realizar testes *in vivo* para a determinação da citotoxicidade e da toxicidade aguda dos extratos, dando assim prosseguimento aos estudos sobre a *P. platycephala* com fins de ratificar o seu uso seguro como indicação terapêutica.

8.5. REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. (2011). Fundação Oswaldo Cruz (RJ). *Farmacopeia Homeopática Brasileira* (3a ed). Brasília: ANVISA. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/en_US/farmacopeia-homeopatica. Acesso em 28/01/2022.

Almeida, L.M., Prado, A.D.L., Xavier-Silva, K.R., Firmino, M.T., Paula, M.I.M, Gomes, P.N., Paula, J.A.M. & Bailão, E.F.L.C. (2021). Cytotoxic effect of Vernonanthura polyanthes leaves aqueous extracts. Brazilian Journal of Biology, 81(3),575-583. https://doi.org/10.1590/1519-6984.225281

Bagatini, M.D., Silva, A.C.F. & Tedesco, S.B. (2007). Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacogn*osia *(Brazilian Journal of Pharmacognosy), 17*(3),444-7. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000300019

Barbosa, M.A. Fonseca, J.C., Ferraz, V., Castro, A.H.F. & Lima, R.A.R.S. (2019). Phytotoxic and antioxidant effects of dichloromethane fraction of *Smilax Brasiliensis* Sprengel. *Natural Product Research, 35*(10),1676-1681. https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1624955

Bawa-Allah, K.A. & Akinnuoye, B.O. (2019). Acute toxicity and adverse effects of aqueous and ethanol extracts of *Parkia biglobosa* pods on biochemical parameters of Clarias gariepinus. African Journal of Aquatic Science, 44(1), 89-95. https://doi.org/10.2989/16085914.2018.1559794

Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C.S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M.C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D.S., Popescu, A., Romanovsky, A.V., Schiff, S., Ślusarczyk, J., Souza, C.P., Srivastava, A., Sutan, A. & Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay, *Caryologia, 71*(3), 191-209. https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496

Brigido, C.F.C., Paz, M.F.C.J., Alencar, M.V.O.B., Gomes-Júnior, A.L.;,Ferraz, A.B.F., Grivicich, I.. Cavalcante, A.A.C.M. & Picada, J.N. (2016). Toxic effects of aqueous extract of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng on *Allium cepa*. British Journal of Pharmaceutical Research, *10*(3), 1-6. https://doi.org/10.9734/BJPR/2016/23990

Cardoso, F.M., Fernandes, R.M.N., Rodrigues, M.A.M., Panontin, J.F., Scapin, E. (2021). Bioprospecção fitoquímica, atividade antioxidante *in vitro* e toxicidade da folha do *Caryocar coriaceum* do cerrado tocantinense. *Gaia Scentia, 15*(3):89-104. https://doi.org/10.22478/ufpb.1981-1268.2021v15n3.60156

Chiavegatto, R. B., Chaves, A. L. A., Silva, I. C. A., Lima, L. A. R. dos S., & Techio, V. H. (2017). Cytotoxic and genotoxic effects of *Solanum lycocarpum* St.-Hil (Solanaceae) on the cell cycle of *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. Acta Scientiarum. Biological Sciences, 39(2): 201-210. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v39i2.34082

Fernandes, R.M.N., Rodrigues, M.A.M., Panontin, J.F., Alves, D.R., Morais, S.M., Soares, I. M. & Scapin, E. (2021). Chemical investigation, toxic potential and acetylcholinesterase inhibitory effect of *Parkia platycephala* leaf and seed extracts. *Journal of Medicinal Plants Research, 15*(9), 401-412. https://doi.org/10.5897/JMPR2021.7158

Freires, I.A., Sardi, J.C., Castro, R.D. & Rosalen, P.L. (2017). Alternative animal and non-animal models for drug discovery and development: bonus or burden? P*harmaceutical Research, 3*4(4), 681-686. http://dx.doi.org/10.1007/s11095-016-2069-z

Inderjit, Wardle, D.A., Karban, R.. & Callaway, R.M. (2011). The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution, 26*(12), 655–662. https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.08.00

Itta, C.Z., Magani, E.I. & Ahom, R.I. (2014). Effectiveness of *Parkia* (*Parkia biglobosa*) products for the control of *Striga genesrioides* in the southern Guinea savannah. *Journal of Biodiversity and. Environmental Sciences, 5*(3), 36–51.

Lado, A., Sani,F. U., Yahaya,S. U. & Karaye. A. K. (2018). Efficacy of *Parkia biglobosa* fruit powder on the control of *Striga* in cowpea cropping systems in the SudanSavanna, Nigeria. *Heliyon*, 4, e00733.

Magani, E.I., Ibrahim, A. & Ahom, R.I. (2010). Sustainable control of *Striga hermonthica* in maize (*Zea mays* L.) by the use of *Parkia biglobosa* based products and post-emergence Herbicides. Advances in Environmental Biology 4(2), 258–264.

Mamudu, A.Y., Baiyeri, K.P. & Echezona, B.C. (2019). Integrated weed management systems in sorghum based cropping system in Nigeria *Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development*, *11* (3), 20-26.

Martins, R.T.M.C., Borges, A.K.P., Armiato, A.M. & Pimenta, R.S. (2016). Antimicrobial and phytotoxicity activities of aqueous crude extract from the Amazonian ethnomedicinal plant Bellucia grossularioides (L.) Triana. *Journal of Medicinal Plants Research. 10*(10), 130-138. https://doi.org/10.5897/JMPR2015.6007

Mecina, G.F., Santos. V.H.M., Dokkedal, A.L., Saldanha, L.L., Silva, L.P. & Silva, R.M.G.(2014). Phytotoxicity of extracts and fractions of *Ouratea spectabilis* (Mart. ex Engl.) Engl. (Ochnaceae). *South African Journal of Botany, 95*, 174-180. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.10.002

Oliveira, V.B., Zuchetto, M., Oliveira, C.F., Paula, C.S., Duarte, A.F.S., Miguel, M.D., Miguel, O.G. (2016). Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 18*(1), supl. I:230-239.

Panontin, J.F., Neres, R.P., Fernandes, R.M.N., Scapin, E. & Seibert, C.S. (2021).Chemical characterization and toxicological analyses of hydroalcoholic extracts from the stem and leaves of mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) as a guide for the development of green cosmetics. *Journal of Medicinal Plants Research, 15*(8): 366-379. https://doi.org/10.5897/JMPR2021.7099

Santos, K.B.D., Almeida, V.O.D., Weiler, J., & Schneider, I.A.H. (2020). Removal of pollutants from an amd from a coal mine by neutralization/precipitation followed by "*in vivo*" biosorption step with the microalgae Scenedesmus sp. *Minerals*, *10*, 711. https://doi.org/10.3390/min10080711

Soares, .IM., Rireiro, M.F., Costa, O.J., Sousa, E.E., Aguiar, A.A., Barbosa, R.S., Alvim, T.C., Ascêncio, S.D., Aguiar, R.W.S. (2017). Application of a degreasing process and sequential ultrasound-assisted extraction to obtain phenolic compounds and elucidate of the potential antioxidant of Siparuna guianensis Aublet. *Journal of Medicinal Plant Research, 11*(1):357-66.

Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Bonsangue, G., Gargano, M. L., Venturella, G. & La Bella S. (2014).Popular uses of wild plant species for medicinal purposes in the Nebrodi Regional Park (North-Eastern Sicily, Italy). *Journal of Ethnopharmacol*y, *157*: 21-37. https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.08.039

Viega, B.L., Rocha, A.M. & Düsman, E. (2019). Cosmetics with hormonal composition for bioindicators *Artemia salina* L. and *Allium cepa* L. toxic potential. *Environmental Science and Pollution Research 27*(6), 6659-6666. https://doi.org/10.1007/s11356-019-07392-0

Young, B. J., Riera, N. I., Beily, M. E., Bres, P. A., Crespo, D. C. & Ronco, A. E. (2012). Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *76*,182-186. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.09.019

Zafred, R.R.T., Spano, M.A., Martins, G.R., Figueiredo, C.C.M., Ferreira, P.C., Silva, L.P. & Silva, R.M.G. (2016). Pro-oxidant activity and genotoxicity of the astronium fraxinifolium using wing smart and *Allium cepa* Test. *Research Journal of Medicinal Plants, 10*(4), 276-285. https://doi.org/10.3923/rjmp.2016.276.285

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A triagem fitoquímica da espécie *P. platycephala* indicou a presença de flavonoides, taninos, triterpenoides e alcalóides, resultado ratificado pela caracterização química dos extratos da folha, casca, flor e semente dessa espécie.

Quanto à atividade antioxidante, ambas metodologias foram eficientes, tanto na extração sequencial quanto na polar (folha, casca e flor), destacando-se a capacidade antioxidante do extrato etanólico da casca, que demonstrou ser superior a rutina.

Todos os extratos apresentaram poder anticolinesterásico, tendo os extratos bruto da semente e etanólico da flor, os resultados mais relevantes.

Em relação à toxicidade frente à *A. salina*, o extrato metanólico da casca foi o mais tóxico, seguido dos extratos etanólico da flor, etanólico da semente e extrato bruto da casca, que apresentaram moderada toxicidade. Já os dados de toxicidade frente à *A. cepa*, demonstraram que os extratos metanólico e etanólico da semente, foram os mais tóxicos, entretanto é importante ressaltar que o extrato bruto da casca foi o único que não apresentou toxicidade nas concentrações analisadas.

Podemos assim, concluir que, as duas metodologias utilizadas, são eficazes em relação aos testes analisados com os extratos da folha, casca, flor e semente da *P. platycephala*, entretanto a extração sequencial a quente apresentou melhores resultados nos testes antioxidante (BEE), toxicidade (LEE) e anticolinesterásico (FEE), enquanto a extração etanólica (70%) teve destaque na toxicidade e atividade anticolinesterásica (SE).

Com tais resultados, pode-se sugerir estudos mais aprofundados da espécie *P. platycephala* para utilização dos extratos da mesma como pesticida e nos tratamentos anticarcinogênico e também anticolinesterásico da doença de Alzheimer.

ANEXOS

Gmail revistadesafiosuft@gmail.com

Escrever

E-mail

Importante

Enviados

Rascunhos 3

Chat

Nenhuma conversa
Iniciar um chat

Espaços

Ainda não há espaços
Criar ou encontrar um espaço

Meet

[DRIUFT] Decisão editorial

Caixa de entrada

Juliana Cristina Holzbach <juholzbach@uft.edu.br>
para Rachel, Elisandra

Rachel de Moura Nunes Fernandes, Elisandra Scapin,

Foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à revista DESAF
"PLANTAS TÍPICAS DO CERRADO BRASILEIRO USADAS COMO

O artigo foi aceito para publicação.

Ateciosamente,
Juliana Cristina Holzbach
juholzbach@uft.edu.br

DESAFIOS

academicJournals

OPEN ACCESS JOURNALS
http://www.academicjournals.org/JMPR

Journal of Medicinal Plants Research

Acceptance Certificate

Date:	*13-Sep-2021*
Manuscript Number	*JMPR/16.06.21/7158*
Manuscript Title:	*Chemical investigation, toxic potential and acetylcholinesterase inhibitory effect of Parkia platycephala leaf and seed extracts*
Corresponding Author:	*FERNANDES RACHEL DE MOURA NUNES*
Corresponding Author Email	*rachelnunes@uft.edu.br*
Author(s):	*FERNANDES RACHEL DE MOURA NUNES RODRIGUES MARIA ANGELICA MELO PANONTIN JULIANE FARINELLI ALVES DANIELA RIBEIRO MORAIS SELENE MAIA SOARES ILSAMAR MENDES SCAPIN ELISANDRA*
Date Accepted:	*10-Sep-2021*

NOTICE

In the event of general queries relating to this document please email your enquiry to the below address

helpdesk@academicjournals.org

Rachel de Moura Nunes <rachelnunes@mail.uft.edu.br>

Journal of the Brazilian Chemical Society - Decision on Manuscript ID JBCHS-2021-0461.R2

2 mensagens

Paulo Cezar Vieira <onbehalfof@manuscriptcentral.com> 26 de abril de 2022 09:01
Responder a: pc@jbcs.sbq.org.br
Para: rachelnunes@uft.edu.br

26-Apr-2022

Dear Mrs. Fernandes:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Phytocomponents, evaluation of anticholinesterase activity and toxicity of hydroethanolic extracts of Parkia platycephala Benth." in its current form for publication in the Journal of the Brazilian Chemical Society. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

You should receive shortly an e-mail from the JBCS Office (publication@jbcs.sbq.org.br) in order to proceed with the payment of the publication fee.
The proofing production will begin only after the JBCS Office verifies the payment was properly credited. The payment process should take no longer than 3 days (the corresponding author will receive a message).

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Journal of the Brazilian Chemical Society, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Paulo Cezar Vieira
Associate Editor, Journal of the Brazilian Chemical Society
pc@jbcs.sbq.org.br

Entire Scoresheet:

Rachel de Moura Nunes <rachelnunes@mail.uft.edu.br> 26 de abril de 2022 09:06
Para: Elisandra Scapin <elisandrascapin2015@gmail.com>, Elisandra Scapin <scapin@mail.uft.edu.br>

[Texto das mensagens anteriores oculto]

RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

Letter of Acceptance

The manuscript entitled "Efeitos da extração hidroetanolica e sequencial sobre o potencial tóxico dos extratos de diferentes partes da Parkia platycephala do Cerrado tocantinense", submitted on "01/20/2022" was accepted for publication and will be published within 30 days in the Research, Society and Development Journal - ISSN 2525-3409.

The manuscript is authored by:

Rachel de Moura Nunes Fernandes, Tais Souza dos Santos Dias, Marcelo Henrique Toscano da Silva and Elisandra Scapin.

São Paulo, February 02, 2022, Brazil.

Dr. Ricardo Shitsuka
Editor