



**Poder Executivo  
Ministério da Educação  
Universidade Federal do Amazonas  
Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia**



**AVALIAÇÃO PROTETORA DA *Himatanthus sucuuba* [(Spruce ex Müll.  
Arg. - Woodson (Apocynaceae)] FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR  
PARAQUAT  
EM *Drosophila melanogaster*.**

**MÁRCIA PINHEIRO DA SILVA**

MANAUS – AM

2023

**MÁRCIA PINHEIRO DA SILVA**

**AVALIAÇÃO PROTETORA DA *Himatanthus sucuuba* [(Spruce ex Müll. Arg. - Woodson (Apocynaceae)] FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR PARAQUAT EM *Drosophila melanogaster*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPBIOTEC) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em cumprimento às exigências para obtenção de título de mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof<sup>fa</sup> Dra. Rosany Piccolotto Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Anderson de Oliveira Souza

Coorientadora: Prof<sup>fa</sup> Dra. Klenicy Kasumy de Lima Yamaguchi

MANAUS – AM

2023

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586a Silva, Márcia Pinheiro da  
Avaliação protetora da *Himatanthus sucuba* [(Spruce ex Müll. Arg. -Woodson (Apocynaceae)] frente à toxicidade induzida por paraquat em *Drosophila melanogaster*. / Márcia Pinheiro da Silva . 2023  
86 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Rosany Piccolotto Carvalho  
Coorientador: Anderson de Oliveira Souza  
Coorientadora: Klenicy Kasumy de Lima Yamaguchi  
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. *Himatanthus sucuba*. 2. estresse oxidativo. 3. proteção. 4. *Drosophila melanogaster* . I. Carvalho, Rosany Piccolotto. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

**MÁRCIA PINHEIRO DA SILVA**

**AVALIAÇÃO PROTETORA DA *Himatanthus sucuuba* [(Spruce ex Müll. Arg. - Woodson (Apocynaceae)] FRENTE À TOXICIDADE INDUZIDA POR PARAQUAT EM *Drosophila melanogaster*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPBIOTEC) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) em cumprimento às exigências para obtenção de título de mestre em Biotecnologia.

Aprovado em 26 / 10 / 2023

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Rosany Piccolotto Carvalho (Presidente)  
PPGBIOTEC/ UFAM

Prof. Dr. Jefferson Rocha de Andrade Silva (Membro)  
PPGBIOTEC/ UFAM  
Departamento de Química – UFAM

Profa. Dra. Silene Maria Araújo de Lima (Membro)  
ICB/ PPGNC/ UFPA

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos professores, familiares e amigos que contribuíram na minha caminhada acadêmica. Grata!

## **AGRADECIMENTOS**

Nossa! São muitos os agradecimentos para a conclusão da dissertação. Cito alguns:

Primeiramente a Deus, pela concessão da vida e tudo por Ele acrescentado, principalmente pela força e coragem. Até aqui me ajudou o Senhor!

Em segundo lugar, a minha amorosa família nas pessoas de meus pais Maurício Roberto da Silva e Maria Nilda Barrozo Pinheiro, meus irmãos Marcelo Pinheiro da Silva, Murilo Pinheiro da Silva e Marcele Pinheiro da Silva pelo apoio, suporte e incentivo na busca de meus objetivos.

A minha querida orientadora Rosany Piccolotto Carvalho, pela confiança, tranquilidade, pelo suporte científico, experiência, pela amizade e pela disposição à orientação.

Aos meus queridos coorientadores Anderson de Oliveira Souza (UFMT) e Klenicy Kasumy de Lima Yamaguchi (UFAM) pelos conselhos, apoio, e suporte na realização dos experimentos e análise dos dados.

Aos professores parceiros que cederam base científica na elaboração desta dissertação: Anderson Guimarães – UFAM (Laboratório Q-BIOMA), Emerson Lima – UFAM (Laboratório Biophar), Carlos Cleomir – INPA (Laboratório de Produtos Naturais), Michel Chamy – UFAM (Laboratório de Microbiologia), Maria das Neves – UFAM (Laboratório de Pesquisas em Bioquímica Molecular) e Afonso Souza – UFAM (LABCEM).

Aos técnicos em laboratório (UFAM): Abinadabes, Henrique Alves, Elcivan, Carol, Renato Reis, Rômulo, Uatila, Kadmiel Chagas, Deyse, em especial ao Felipe Moura e Magno Nascimento.

Aos meus amigos, Romário Santana, Diana França, Urlania, Rafael Pinto, Lucas, Paz, Cristiana Nunes, Rosimeire, Ester Oliveira, Edilaine, Renato Ribeiro, Gleuciney, Milene, Lucineide, Isadora Araújo, Sarah Flores, Ingrid, Letícia, Aldimara Martins, Márcia Grace, Bruna, Ana Rosa, Maria Eduarda, Andrielle, Jadyellen, Douglas, Estephanie, Daniela Vial Dahmer, Ana Karoline, Brenda, José Dobles, Joab Arouche, Rafael Rodrigues, Lena, Sheila, Zânia Regina, Rayssa Cantisani, Klara,

Neidilê Munhoz, José David, e demais colegas pelo acolhimento, carinho e consideração. Agradeço a todos os envolvidos.

Meus agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pelo auxílio financeiro.

Agradeço principalmente ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – UFAM pela oportunidade. Agradeço ainda a coordenação Rosany Piccolotto e Edmar Vaz de Andrade e as secretárias Jaqueline Maria Macedo e Nubiane dos Santos Pires e a Elzimar Braga.

## RESUMO

*Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson (Apocynaceae), é uma árvore medicinal proveniente da Amazônia conhecida popularmente como sucuuba ou sucuba. Suas cascas desidratadas são comercializadas em feiras e mercados. É utilizada como analgésico, antibacteriano, tratamento de úlceras, antifúngico, anti-helmíntico, antidepressivo, anticancerígeno e imunoregulador. A pesquisa com *H. sucuuba* tem como objetivo analisar a ação protetora do extrato hidroalcoólico das cascas frente a toxicidade do paraquat em *Drosophila melanogaster*, assim como a atividade antioxidante e adquirir o perfil químico do extrato. A fim de estudar as atividades de radicais livres *in vitro* do extrato utilizou-se o método de eliminação de radicais DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), e método de eliminação de radicais ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenztiazonila-6-sulfônico), fez-se os ensaios para fenóis totais e fenólicos totais, tendo como referência o ácido gálico e ácido ascórbico. O perfil fitoquímico foi realizada por meio da Cromatografia de Camada Delgada (CCD), Espectrometria de Massas (EM) e por Prospeção Fitoquímica. Os ensaios biológicos foram realizados no modelo animal *Drosophila melanogaster* frente a toxicidade do agrotóxico paraquat pelos biomarcadores: citrato sintase, acetilcolinesterase, lactato enzimático, proteína carbonilada e obteve-se a avaliação do estresse oxidativo. O extrato SMMHi apresentou 31,981  $\mu\text{g/mL}$  de inibição frente ao radical DPPH e frente ao radical ABTS 49,512  $\mu\text{g/mL}$ . Os teores de fenólicos e flavonoides totais foi de 43,33 mg GAE/g e 44,09 GAE/g. O perfil químico analisado por Cromatografia de Camada Delgada apresentou resultados positivos para taninos, terpenos, fenóis, derivados fenilpropanoides e indicou a atividade antioxidante. A prospecção fitoquímica SMMHi analisada por EM mostrou picos mais intensos sugestivos de plumericina e ácido 4,5 dicafeoilquínico. Os ensaios biológicos apresentaram resultados significativos nos tratamentos realizados contra o envelhecimento e o estresse oxidativo. A planta *Himatanthus sucuuba* indicou potencial terapêutico, frente as injúrias induzidas pelo paraquat em *Drosophila melanogaster*.

**Palavra-chave:** *Himatanthus sucuuba*, estresse oxidativo, proteção, *Drosophila melanogaster*

## ABSTRACT

*Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson (Apocynaceae) is a medicinal tree from the Amazon, popularly known as sucuuba. Its dehydrated bark is sold at fairs and markets. It is used as an analgesic, antibacterial, ulcer treatment, antifungal, anthelmintic, antidepressant, anticancer and immunoregulator. The research with *H. sucuuba* aims to analyze the protective action of the hydroalcoholic extract of the bark against the toxicity of paraquat in *Drosophila melanogaster*, as well as the antioxidant activity and acquire the chemical profile of the extract. In order to study the free radical activities of the extract in vitro, the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging method was used, as well as the ABTS (2,20-azino-bis (3-ethylbenzthiazonyl-6-sulfonic acid) radical scavenging method, and tests were carried out for total phenols and total phenolics, with gallic acid and ascorbic acid as the reference. The phytochemical profile was carried out using Thin Layer Chromatography (TLC), Mass Spectrometry (MS) and Phytochemical Prospecting. Biological tests were carried out on the animal model *Drosophila melanogaster* against the toxicity of the pesticide paraquat using the following biomarkers: citrate synthase, acetylcholinesterase, enzymatic lactate, carbonylated protein and an assessment of oxidative stress. The SMMHi extract showed 31.981  $\mu\text{g/mL}$  inhibition against the DPPH radical and 49.512  $\mu\text{g/mL}$  against the ABTS radical. The total phenolic and flavonoid content was 43.33 mg GAE/g and 44.09 GAE/g. The chemical profile analyzed by thin layer chromatography showed positive results for tannins, terpenes, phenols, phenylpropanoid derivatives and indicated antioxidant activity. SMMHi phytochemical prospecting analyzed by MS showed more intense peaks suggestive of plumericin and 4,5 dicafeoilquinic acid. The biological tests showed significant results in the treatments against aging and oxidative stress. The *Himatanthus sucuuba* plant showed therapeutic potential against paraquat-induced injuries in *Drosophila melanogaster*.

**Keywords:** *Himatanthus sucuuba*, oxidative stress, protection, *Drosophila melanogaster*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 Dicloreto de Paraquat .....                                                                                                                                                                                 | 24 |
| Figura 2 Representação taxonômica da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> e suas respectivas características fenotípicas. Crédito da figura Universidade Federal de Roraima - UFRR, com adaptações .....                | 29 |
| Figura 3 Registros georreferenciados da família Apocynaceae.....                                                                                                                                                     | 30 |
| Figura 4 Registros georreferenciados do Gênero <i>Himatanthus</i> Will ex Roem. & Schult.....                                                                                                                        | 32 |
| Figura 5 Aspectos botânicos da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                                                                                                                                               | 33 |
| Figura 6 Atividades terapêuticas da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> e suas respectivas partes da planta como o látex, folhas e cascas. ....                                                                        | 34 |
| Figura 7 Registros georreferenciados da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                                                                                                                                      | 35 |
| Figura 8 Fluxograma aplicado para a pesquisa com as cascas de <i>H. sucuuba</i> comercial.....                                                                                                                       | 37 |
| Figura 9 Amostras vegetais da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> . (A) Pacote com cascas de <i>sucuuba</i> ; (B) Cascas; (C) Cascas trituradas .....                                                                  | 38 |
| Figura 10 Perfil cromatográfico do extrato hidroalcólico de <i>Himatanthus sucuuba</i> . Placas reveladas com (A) DPPH, (B) UV 254, (C) UV 366, (D) Vanilina sulfúrica, (E) Cloreto férrico, e (F) Anisaldeído ..... | 49 |
| Figura 11 Espectro de massa do extrato das cascas de <i>Himatanthus sucuuba</i> APCI – MS (+) .....                                                                                                                  | 50 |
| Figura 12 Espectro de massa do extrato das cascas de <i>Himatanthus sucuuba</i> APCI – MS (-) .....                                                                                                                  | 50 |
| Figura 13 Fragmentação do pico m/z 291 [M+H] <sup>+</sup> do extrato hidroalcólico das cascas da <i>H. sucuuba</i> referente à plumericina .....                                                                     | 52 |
| Figura 14 Fragmentação do pico 515 [M-H] – do extrato hidroalcólico das cascas de <i>H. sucuuba</i> referente ao ácido 4,5-dicafeoilquínico.....                                                                     | 53 |
| Figura 15 Reações de identificação de taninos gálicos (A), terpenoides (B), fenóis (C), alcaloides (D) .....                                                                                                         | 55 |
| Figura 16 Razão axial nas pupas de <i>D. melanogaster</i> .....                                                                                                                                                      | 58 |
| Figura 17 Concentração do extrato das cascas de <i>H. sucuuba</i> no desenvolvimento de <i>D. melanogaster</i> .....                                                                                                 | 59 |
| Figura 18 Atividade de escalada de <i>D. melanogaster</i> alimentadas com dieta suplementada com <i>H. sucuuba</i> .....                                                                                             | 60 |
| Figura 19 Concentração de lactato no tórax de <i>D. melanogaster</i> alimentados com dieta suplementada com PQ e/ou H, extrato de <i>H. sucuuba</i> .....                                                            | 61 |
| Figura 20 Atividade de AChE em tórax de <i>D. melanogaster</i> alimentados com dieta suplementada com PQ e/ou extrato de <i>H. sucuuba</i> .....                                                                     | 62 |
| Figura 21 Atividade de citrato sintase em tórax de <i>D. melanogaster</i> alimentados com dieta suplementada com PQ e/ou extrato de <i>H. sucuuba</i> .....                                                          | 63 |
| Figura 22 Teor de proteína carbonilada .....                                                                                                                                                                         | 64 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 Doenças relacionadas a contaminações de pesticidas.....                                                                                      | 24 |
| Tabela 2 Vantagens e desvantagens do uso de <i>Drosophila melanogaster</i> como modelo para doenças neurodegenerativas.....                           | 26 |
| Tabela 3 Quantitativo de espécies pertencentes ao gênero <i>Himatanthus</i> . *Espécie sinônima da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> .....            | 32 |
| Tabela 4 Rendimento dos extratos secos e triturados após extração com os seus respectivos solventes .....                                             | 38 |
| Tabela 5 Testes avaliativos dos compostos secundários: antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chaconas, auronas, flavonóis..... | 40 |
| Tabela 6 Testes avaliativos dos compostos secundários: leucoantocianidinas, catequinas (taninos catéquicos) e Flavonas .....                          | 41 |
| Tabela 7 Sistemas de solventes otimizados quanto à polaridade .....                                                                                   | 48 |
| Tabela 8 Substâncias propostas para o extrato hidroalcóolico das cascas de <i>H. sucuuba</i> por Espectrometria de massas.....                        | 51 |
| Tabela 9 Atividade terapêutica da substância plumericina.....                                                                                         | 52 |
| Tabela 10 Atividades terapêuticas da substância 4,5 dicafeoilquínico .....                                                                            | 54 |
| Tabela 11 Análise dos metabólitos do extrato hidroalcóolico de <i>H. sucuuba</i> .....                                                                | 54 |
| Tabela 12 Teor de compostos fenólicos totais e compostos flavonoides totais do extrato das cascas de <i>H. sucuuba</i> .....                          | 56 |
| Tabela 13 Atividade antioxidante quantitativa frente ao radical DPPH e radical ABTS do extrato das cascas da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> .....  | 57 |

## LISTA DE ABREVEATURAS

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DMSO – Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo

DPPH – 1,1-diphenyl-1-2-picrylhydrazyl

FFB - Flora e Funga do Brasil

FeCl<sub>3</sub> – Cloreto férrico (III)

m/z – Razão massa carga

MeOH – Álcool metílico (metanol)

NP/PEG – Polietilenoglicol

APCI – Ionização Química à Pressão Atmosférica (do inglês, Atmospheric Pressure Chemical Ionization)

TLC – Cromatografia em Camada Fina

UV – Radiação ultravioleta

## SUMÁRIO

|                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....                                                                                                            | 17 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA .....                                                                                                 | 18 |
| 2.1 Doenças relacionadas ao estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial .....                                               | 18 |
| 2.1.1 Câncer.....                                                                                                             | 20 |
| 2.1.2 Doenças cardiovasculares.....                                                                                           | 21 |
| 2.1.3 Doença de Alzheimer .....                                                                                               | 21 |
| 2.1.4 Esclerose lateral amiotrófica .....                                                                                     | 22 |
| 2.1.5 Doença de Parkinson .....                                                                                               | 23 |
| 2.2 Paraquat.....                                                                                                             | 23 |
| 2.3 Modelo animal <i>Drosophila melanogaster</i> .....                                                                        | 25 |
| 2.4 Atividades terapêuticas das plantas amazônicas.....                                                                       | 27 |
| 2.5 Plantas que combatem o envelhecimento e o estresse oxidativo .....                                                        | 27 |
| 2.6 A espécie vegetal <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                                                                        | 29 |
| 2.6.1 Taxonomia da espécie <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                                                                   | 29 |
| 2.6.2 Família Apocynaceae.....                                                                                                | 29 |
| 2.6.3 Gênero <i>Himatanthus</i> .....                                                                                         | 31 |
| 2.6.4 <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                                                                                        | 33 |
| 3 OBJETIVOS .....                                                                                                             | 36 |
| 3.1 GERAL .....                                                                                                               | 36 |
| 3.2 ESPECÍFICOS .....                                                                                                         | 36 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS .....                                                                                                   | 37 |
| 4.1 Fluxograma do procedimento experimental.....                                                                              | 37 |
| 4.2 Aquisição do material vegetal.....                                                                                        | 37 |
| 4.3 Preparação dos extratos .....                                                                                             | 38 |
| 4.4 Cromatografia em Camada Delgada (CCD) .....                                                                               | 38 |
| 4.5 Espectrometria de Massas .....                                                                                            | 39 |
| 4.6 Prospecção fitoquímica .....                                                                                              | 39 |
| 4.7 Atividade antioxidante .....                                                                                              | 42 |
| 4.7.1 Ensaio do potencial antioxidante de extratos da casca da planta .....                                                   | 42 |
| 4.7.2 Ensaio do potencial antioxidante de extratos da casca da planta .....                                                   | 43 |
| 4.8 Determinação do teor de Fenóis e flavonoides totais dos extratos das<br>cascas da planta <i>Himatanthus sucuuba</i> ..... | 44 |
| 4.8.1 Fenólicos totais .....                                                                                                  | 44 |

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.8.2 Flavonoides totais .....                                                                                                                                | 44 |
| 4.9 Atividade bioenergética neuronal e muscular de <i>Drosophila melanogaster</i> exposta ao extrato de <i>Himatanthus sucuuba</i> e agrotóxico paraquat..... | 45 |
| 4.9.1 Cultura de <i>Drosophila melanogaster</i> .....                                                                                                         | 45 |
| 4.9.2 Teste de Sobrevivência e Escalada .....                                                                                                                 | 45 |
| 4.9.3 Avaliação do perfil bioenergético.....                                                                                                                  | 46 |
| 4.9.4 Citrato sintase (CS).....                                                                                                                               | 46 |
| 4.9.5 Lactato enzimático .....                                                                                                                                | 46 |
| 4.9.6 Avaliação do estresse oxidativo .....                                                                                                                   | 46 |
| 4.9.6.1 Proteína carbonilada .....                                                                                                                            | 46 |
| 4.9.6.2 Atividade da acetilcolinesterase (AChE).....                                                                                                          | 47 |
| 4.10 Quantificação de proteínas.....                                                                                                                          | 47 |
| 4.11 Análise estatística utilizada para os experimentos com <i>D. melanogaster</i> .....                                                                      | 47 |
| 4.12 Análise Estatística .....                                                                                                                                | 47 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....                                                                                                                               | 48 |
| 5.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD) .....                                                                                                               | 48 |
| 5.1.1 Extrato hidroalcolico .....                                                                                                                             | 48 |
| 5.2 Espectrometria de massas .....                                                                                                                            | 49 |
| 5.2.1 Plumericina.....                                                                                                                                        | 51 |
| 5.2.2 Ácido 4,5-dicafeoilquínico.....                                                                                                                         | 53 |
| 5.3 Prospecção fitoquímica .....                                                                                                                              | 54 |
| 5.4 Determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais das cascas de <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                                                   | 56 |
| 5.5 Atividade antioxidante frente ao radical DPPH, radical ABTS .....                                                                                         | 56 |
| 5.6 Toxicidade do extrato de <i>H. sucuuba</i> no desenvolvimento de <i>Drosophila melanogaster</i> .....                                                     | 57 |
| 5.7 Taxa de sobrevivência de moscas expostas a diferentes concentrações do extrato das cascas de <i>Himatanthus sucuuba</i> .....                             | 58 |
| 5.8 Atividade locomotora (teste de escalada).....                                                                                                             | 59 |
| 5.9 Análises biológicas .....                                                                                                                                 | 60 |
| 5.9.1 Lactato enzimático .....                                                                                                                                | 60 |
| 5.9.2 Atividade de acetilcolinesterase (AChE).....                                                                                                            | 61 |
| 5.9.3 Citrato sintase .....                                                                                                                                   | 62 |
| 5.9.4 Teor de proteína carbonilada .....                                                                                                                      | 63 |
| 6. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                           | 65 |
| 7 REFERÊNCIAS.....                                                                                                                                            | 66 |

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ANEXO 1 – Artigo: Protective effect of Amazonian <i>Himatanthus sucuuba</i> extracts in <i>Drosophila melanogaster</i> exposed to Paraquat ..... | 84 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com Viegas Jr, Bolzani & Barreiro (2006) a convivência e o aprendizado com os mais diferentes grupos étnicos trouxeram valiosas contribuições para o desenvolvimento da pesquisa em produtos naturais, do conhecimento da relação íntima entre a estrutura química de um determinado composto e suas propriedades biológicas e da interrelação animais/insetos-planta (YAGI et al., 2020). Estudos sugerem que compostos extraídos de plantas amazônicas possuem ação terapêutica (YAMAGUCHI, SOUZA, 2020). Dentre as plantas estudadas, a sucuuba (*Himatanthus sucuuba*) possui atividade: analgésica, antibacteriana, antifúngica, anti- helmíntica, combate a leishmaniose, anti-inflamatória, antidepressiva, imunoregulador, citotóxico e genotóxico (SILVA et al., 2021). No entanto, recentes estudos sugerem outros efeitos biológicos, tais como proteção contra infecção por bactérias ou fungos, depressão, estresse oxidativo, citotóxico para células cancerígenas (SILVA et al., 2021). Porém, estudos *in vivo* perante a toxicidade do paraquat e o tratamento dos animais com extratos da planta *Himatanthus sucuuba* ainda não foi devidamente estudada para verificar a ação protetora da planta.

*Drosophila melanogaster* é considerada umas das ferramentas *in vivo* mais eficazes para analisar funções de genes de doenças humanas (BIER, 2005; BOTAS, 2007; DORONKIN; LAWRENCE, 2008). *D. melanogaster*, mosca da fruta, por causa de seu ciclo de vida mais curto, vias de sinalização altamente conservadas e menor redundância funcional provou ser um modelo animal complementar para doenças humanas (MORAN et al., 2013). Quase 75% dos genes humanos associados a doenças são homólogos de *Drosophila*, um modelo ideal para estudar doenças humanas (BIER, 2005; SINGH; IRVINE, 2012; CUTLER et al., 2015).

Este estudo teve como finalidade avaliar o efeito protetor do extrato da *Himatanthus sucuuba* em *Drosophila melanogaster*, mensurando o estresse oxidativo e o perfil bioenergéticos deste modelo animal.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Doenças relacionadas ao estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial**

Os mecanismos de geração de radicais livres ocorrem, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma (KOURY; DONANGELO, 2003). A mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, é a principal fonte geradora de radicais livres (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004). As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) são formadas principalmente por radicais livres (RL), que são moléculas em que o número de elétrons não está pareado na sua órbita externa e pelo peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que não possui elétrons desemparelhados na última camada, mas tem vida longa, sendo extremamente deletério porque participa da reação que produz radicais hidroxilas ( $OH\cdot$ ) (ARAÚJO, 2012).

O estresse oxidativo é um dos principais mecanismo com várias doenças e do envelhecimento. Naturalmente, esse fenômeno aumenta com a idade e afeta vários processos vitais do corpo. Muitos pesticidas (paraquat, rotenona e maneb), causam a formação das Espécies Reativas de Oxigênio EROs, sugerindo a etiologia das doenças degenerativas (SINGH et al., 2004).

As mitocôndrias desempenham os papéis mais proeminentes no metabolismo celular, produzindo ATP através da fosforilação oxidativa e regulando uma variedade de processos fisiológicos. A disfunção mitocondrial é a principal causa de várias doenças metabólicas e neurodegenerativas. As mitocôndrias intactas são críticas para o seu bom funcionamento (WEI, et al., 2020). As mitocôndrias também desempenham um papel importante em muitos outros processos fisiológicos, como a regulação do apoptose, homeostase do  $Ca^{2+}$ , geração de espécies reativas de oxidação e resposta ao estresse do retículo endoplasmático. A disfunção mitocondrial pode afetar qualquer órgão do corpo em qualquer idade e é uma causa primária de doenças metabólicas, relacionadas com o envelhecimento e de doenças neurodegenerativas.

As mitocôndrias intactas estão mecanicamente relacionadas com a função mitocondrial. Assim, a quantificação correta da massa mitocondrial intacta é muito importante para avaliar a função mitocondrial. A citrato sintase (CS), presente em quase todas as células vivas, funciona como uma enzima limitante de velocidade na primeira etapa do ciclo do ácido cítrico (CAI et al., 2020). A enzima citrato sintase está localizada na matriz mitocondrial e, portanto, pode ser usada como um marcador enzimático quantitativo da massa mitocondrial intacta (WEI, et al., 2020). A citrato sintase, uma enzima limitadora da etapa do ciclo tricarboxílico (KREBS, 1970) está localizada na matriz mitocondrial das

células eucarióticas, pelo que pode ser utilizada como um marcador quantitativo da presença de massa mitocondrial intacta (SRERE, 1971).

A lactato desidrogenase (LDH) é um grupo de isoenzimas oxidoredutase que catalisa a reação reversível entre piruvato e lactato (KHAN, et al., 2020). O próprio lactato é um metabólito sem saída, metabolizado apenas pela lactato desidrogenase. A extensão e a direção dessa reação são determinadas pela razão livre  $[NAD^+]/[NADH][H^+]$  do citoplasma com a qual o lactato e o piruvato estão quase em equilíbrio. O piruvato é uma encruzilhada da maioria das principais vias de degradação e síntese, mas está presente em cerca de um décimo da quantidade de lactato. Informações sobre o conteúdo de lactato e de seu parceiro redox piruvato provavelmente fornecerão mais informações sobre o estado metabólico do tecido do que as medições de lactato isoladamente (VEECH, 1991). Devido à posição central do lactato e do seu parceiro redox piruvato, como metabólito terminal da glicólise no citosol e o substrato inicial para o ciclo mitocondrial do ácido tricarboxílico. Nas mitocôndrias, o piruvato impulsiona a produção de ATP por fosforilação oxidativa e múltiplas vias Biosintética que cruzam o ciclo do ácido cítrico (GRAY; TOMPKINS; TAYLOR, 2013).

A carbonilação de proteínas está associada a uma variedade de doenças metabólicas, síndromes e condições, incluindo envelhecimento, diabetes, doenças cardíacas e neuropatias. A carbonilação da proteína é quimicamente e não enzimática, de modo que os alvos da carbonilação dependem do ambiente oxidativo da célula, abundância e proximidade com EROs. Em células altamente oxidativas, como os macrófagos, as ROS produzidas pelo sistema NADPH oxidase podem levar a quantidades significativas de aldeídos lipídicos que modificam covalentemente enzimas e proteínas endógenas (DRECHSEL; PATEL, 2009). Devido à predominância da carbonilação nas proteínas musculares de contração rápida de ratos, esse tipo de músculo pode sofrer disfunção como resultado da carbonilação. As vias que podem ser afetadas nas fibras glicolíticas de contração rápida incluem a fosforilação oxidativa, o ciclo do ácido cítrico e o metabolismo dos ácidos graxos (CURTIS et al., 2012). Níveis elevados de carbonilação leva à disfunção mitocondrial, e acredita-se que isso desempenhe um papel nos defeitos metabólicos associados ao estresse oxidativo (AKAGAWA, 2021).

A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas (LAZAREVIC-PASTI et al., 2017). Nestas sinapses a ACh atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro. As sinapses colinérgicas estão amplamente distribuídas no sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP), sendo importante para a manutenção de inúmeras funções fisiológicas humanas (WESTFALL; WESTFALL, 2006). Existem vários fármacos que apresentam como alvo as sinapses colinérgicas, podendo agir na enzima AChE, inibindo-a ou reativando-a. Como também, atuar em receptores de ACh como agonistas ou antagonistas. Os agonistas receptores nicotínicos de ACh podem melhorar, enquanto os antagonistas do receptor prejudicam o mecanismo (FERREIRA-VIEIRA et al., 2016). Os fármacos que apresentam como mecanismos de acetilcolinesterásicos ou colinérgicos indiretos. A AChE quando bloqueada é incapaz de hidrolisar a ACh, assim, este neurotransmissor tende a transmissão colinérgica. Os fármacos que bloqueiam a AChE no SNP, como por exemplo a neostigmina, são utilizados na constipação atônica (RACCHI, 2004). Diante da importância da AChE como alvo para moléculas bioativas, a avaliação do potencial que compostos apresentem em inibir ou reativar a AChE tem grande relevância para o desenvolvimento de novos fármacos ou pesticidas (COLOVIC, et al., 2013).

### **2.1.1 Câncer**

Outrora, a pesquisa do câncer foi conduzida quase exclusivamente em sistemas baseados em mamíferos, variando de cultura de tecidos de animais inteiros. Pouco tempo atrás, no entanto, a mosca-da-fruta tem sido cada vez mais usada como modelo animal. Numerosos estudos mostraram que *Drosophila* e humanos têm vias de transdução de sinal altamente conservadas. Por exemplo, a via de sinalização do proto-oncogene Ras foi elucidada pela primeira vez estudando o desenvolvimento de células fotorreceptoras no olho de *Drosophila* a mais de 20 anos (WASSARMAN; THERRIEN; RUBIN, 1995). Dependendo do tipo e natureza do câncer, os mecanismos subjacentes da proliferação anormal são variados e muitas vezes permanecem indefinidos (GEISSLER; ZACH, 2012). Portanto, os potenciais terapêuticos provavelmente dependem de uma compreensão detalhada dos tipos individuais de câncer. Consideravelmente, mecanismo moleculares subjacentes à tumorigênese e metástase pode provavelmente ser sondada com eficiência em *D. melanogaster*, a mosca-da-fruta não é capaz de modelar muitos tipos de tumores que são comuns em humanos, como aqueles relacionados a tecidos específicos (por exemplo, ovário, próstata ou câncer de mama) (PANDEY; NICHOLS,

2011). Porém, contribui para a descoberta de terapias relevantes para cânceres de sangue, como a leucemia, contribui também com pesquisas sobre a evolução clonal, microambiente tumoral, resistência a drogas anticancerígenas e caquexia do câncer (ENOMOTO; SIOW; IGAKI, 2018). No qual alguns estudos experimentais com *D. melanogaster* indicaram plantas com potencial terapêutico anticâncer como a planta *Luehea divaricata* (Malvaceae) conhecida como açoita-cavalo-miúdo (FELÍCIO et al., 2011); a planta *Petroselinum sativum* (Apiaceae) tem o nome popular com salsa, cheiro, salsa- de-cheiro e cheiro-verde (ALAKILLI, 2010).

### **2.1.2 Doenças cardiovasculares**

Com o envelhecimento, o desempenho cardíaco diminui progressivamente e o risco de doença cardíaca, uma das principais causas de mortalidade, aumenta drasticamente. *Drosophila melanogaster* através do seu coração vem determinar a relevância e a utilidade do órgão para desvendar os mecanismos subjacentes ao envelhecimento cardíaco (NISHIMURA; OCORR; BODMER; CARTRY, 2011). Apesar de seu pequeno tamanho, o coração de *Drosophila* também é adequado para a análise de mudanças na expressão gênica em corações de moscas jovens versus velhos. Por exemplo, o declínio dependente da idade no desempenho cardíaco descrito anteriormente é paralelo à diminuição relacionada à idade nos níveis de RNA cardíaco do homólogo de *Drosophila* do KCNQ1 humano, que codifica uma subunidade alfa do canal de potássio e de uma subunidade do canal de potássio sensível ao ATP (KATP) (AKASAKA; OCORR, 2009; OCORR, et al., 2007). Nos seres humanos, o KCNQ1 está envolvido na repolarização miocárdica e alterações na função deste canal estão associadas a um risco aumentado de arritmia e morte súbita cardíaca (JENTSCH, 2000). Nas *Drosophilas* os níveis de expressão cardíaca de KCNQ são reduzidos com a idade, e a deficiência de arritmia relacionada à idade e um aumento da suscetibilidade à disfunção cardíaca induzida por estimulação (OCORR et al., 2007).

### **2.1.3 Doença de Alzheimer**

Um exemplo de doenças neurodegenerativas é a doença de Alzheimer. No qual a Doença de Alzheimer (DA) foi descrita pela primeira vez como “demência pré-nilo” em 1906 pelo psiquiatra alemão Alois Alzheimer. Em 1901, Alzheimer observou uma paciente de 50 anos, que parecia sofrer com perda progressiva das funções cognitivas (compreensão e memória, comportamento imprevisível etc.) (TERRY & DAVIES, 1980). Conforme Terry & Davies (1980), o Dr. Alzheimer relatou características proeminentes

do distúrbio: havia placas senis (SPs), emaranhados neurofibrilares (NETs), bem como atrofia cerebral, assim como muitos mecanismos propostos tentam explicar a patogênese da DA, que é caracterizada por neurodegeneração, perda neuronal e atrofia, particularmente nos lobos temporal e parietal do cérebro.

As principais características patológicas da DA são oligômeros e proteínas amiloides tóxicas extraneuronais, emaranhados neurofibrilares intraneuronais que consistem em tau hiperfosforilada, metabolismo da glicose cerebral diminuído em região específica, disfunção sináptica e disfunção mitocondrial (HEPPNER et al., 2015).

A partir dos estudos moleculares da DA dentro desses 30 anos, muitos tipos de fatores causais, como a proteína precursora de amilóide (APP), presenilin1 e 2 (PSEN1, 2), foram isolados (BENILOVA; KARRAN; STROOPER, 2012). Entre elas, acredita-se que o APP seja uma das moléculas-chave para a formação de DA. A neuroinflamação ocorre quando há dano tecidual causado principalmente por compostos neurotóxicos, o que gera um conjunto de reações dinâmicas e complexas com consequências protetoras e nocivas (PAYÃO et al., 2012).

#### **2.1.4 Esclerose lateral amiotrófica**

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa progressiva caracterizada pela perda de neurônios motores superiores e motores inferiores. Estudos de um modelo de *Drosophila melanogaster* para cada um dos genes da ELA podem contribuir para descobrir o mecanismo fisiopatológico da ELA e encontrar alvos da terapia modificadora da doença (AZUMA et al., 2018; LAYALLE, et al., 2021). A causa da ELA é uma mutação de expansão de repetição hexanucleotídica no gene 72 (c9orf72) do quadro de leitura aberta do cromossomo 9, descoberta pela primeira vez em 2011 (RENTON et al., 2011). Além dos transgenes de repetição pura, que produzem RNA repetido e proteínas de repetição de dipeptídeo (DPRs), modelos somente de RNA e modelos de DPR foram gerados para desvendar as contribuições individuais do RNA e de cada proteína de repetição de dipeptídeo para a toxicidade C9orf72. A tratabilidade genética incomparável, a capacidade de estudar os efeitos dependentes da idade em um contexto de organismo inteiro *in vivo* e o estabelecimento de modelos de comprimento de repetição mais longos tornam a *Drosophila* um modelo poderoso para explorar ainda mais os mecanismos subjacentes aos distúrbios do espectro da ELA (SHARPE, 2021). Dado a ocorrência da inflamação no desenvolvimento da ELA, fez com que pesquisadores tratassem mosca-das-frutas com plantas como *Withania somnifera* (Solanaceae) e *Mucuna pruriens* (Fabaceae), representando uma estratégia

farmacológica valiosa para neutralizar a progressão da doença.

### **2.1.5 Doença de Parkinson**

A ligação entre o estresse oxidativo e a degeneração neuronal dopaminérgica é ainda apoiada pela modelagem dos aspectos motores da Doença de Parkinson em animais com toxinas que causam estresse oxidativo, incluindo 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), rotenona, dicloreto de 1,1'-dimetil-4-4'-bipiridínio (paraquat) e 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (DIAS; JUNN; MOURADIAN, 2013). A Análise de tecidos humanos fornece evidências de que o estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese dos neurônios dopaminérgicos no cérebro com DP (GOOD; OLANOW; PERL, 1992).

## **2.2 Paraquat**

Os pesticidas são amplamente utilizados para proteger a produção de alimentos e atender à demanda global de alimentos, mas também são poluentes ambientais onipresentes, causando efeitos adversos na qualidade da água, na biodiversidade e na saúde humana. Poluição ambiental causada por 92 ingredientes ativos em 168 países (TANG et al., 2021). A necessidade de aumentar a produtividade, a falta de disponibilidade de terras agrícolas e várias outras razões levaram ao uso desenfreado de pesticidas em todo o mundo. Embora o uso de pesticidas tenha fomentado a revolução e aumentado a segurança alimentar e a produtividade, também teve efeitos desastrosos sobre o meio ambiente (GILBERT; EDWIN, 2021).

Existem diferentes maneiras pelas quais os humanos são expostos a pesticidas; essas exposições também diferem em suas intensidades, que somam seus efeitos diferenciais. Trabalhadores envolvidos em indústrias de agrotóxicos, transporte desses produtos químicos perigosos, agricultores, vendedores de frutas e hortaliças e consumidores ficam expostos a diferentes concentrações de agrotóxicos

(TANG, 2021). Tem-se que a exposição a pesticidas esteja ligado a vários distúrbios de saúde (Tabela, 1).

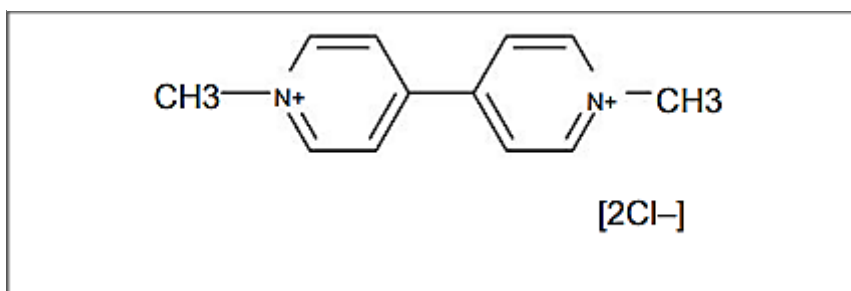
**Tabela 1 Doenças relacionadas a contaminações de pesticidas.**

| Doença                             | Referência                      |
|------------------------------------|---------------------------------|
| Linfoma de Hodgkin                 | LATIFOVIC et al., 2020          |
| Doença de Parkinson                | LI et al., 2021                 |
| Doença de Alzheimer, Câncer        | NUDELMAN, 2019                  |
| Infertilidade de homens e mulheres | ASCHERIO; A SCHWARZSCHILD, 2016 |
| Fibrose pulmonar                   | SHARMA, et al., 2019            |
| Danos genéticos                    | SANDOVAL-INSAUSTI et al., 2021  |
| TDAH                               | CHIANG, MAHALINGAM, FLAWS, 2017 |
| Espectro autista                   | HE et al., 2022                 |
| Doenças nos rins                   | HERNÁNDEZ et al., 2017          |
| Danos no fígado                    | YIN et al., 2021                |
| Malformação de feto                | KALLIORA et al., 2018           |
| Doenças cardíacas                  | YU; MALLAPATY; MILLER, 2018     |
| Alergias                           | SHRESTHA et al., 2019           |

Fonte: A autora (2023).

De acordo com Weidel & Rosso, 1882, o Paraquat (PQ) foi descrito pela primeira vez em 1882, sendo suas propriedades redox foram descobertas em 1993 por Michaelis e Hill (1933). Naquela época, era usado como um indicador de oxidação- redução porque uma doação de elétrons para o íon PQ ( $PQ^{2+}$ ) forma um monocatión de radical livre estável, na ausência de oxigênio molecular ( $O_2$ ), ( $PQ^{\bullet+}$ ) com uma cor violeta ou azul (MICHAELIS & HILL, 1933 (Figura 1).

**Figura 1 Dicloreto de Paraquat**



Fonte: A LOCK & WILKS (2010).

O Paraquat é um íon 1,1-dimetil-4,4-bipiridínio (IUPAC, CAS RN [4685-14-7]),

também conhecido como íon 1,1-dimetil 4, 4-bipiridíldifílio (Figura 1). O Paraquat é geralmente formulado como sal dicloreto (também conhecido como metil viologênio. Os nomes comerciais das formulações de dicloreto de Paraquat incluem Crisquat®, Cyclone®, Dextrone X®, Esgram®, Efoxon®, Goldquat®, Gramoxone®, Herbaxon®, Katalon®, Osaquat®, Super®, Pilarxone®, R-Bix®, Speeder®, Starfire®, Sweep®, Total®, Weedless® (A LOCK; WILKS, 2010). O Paraquat afeta os pulmões, coração, rins, córnea, glândulas suprarrenais, pele, sistema digestivo e sistema nervoso central (WESSELING et al., 2001).

A exposição de longo prazo foi usada para estudar a patogênese de doenças neurodegenerativas (MUFFAT et al., 2008). Nos últimos 5 anos, a ligação entre exposição a pesticidas e DA foi consideravelmente reforçada, enquanto a compreensão básica da neuropatologia associada a pesticidas aumentou (TANG, 2021). Vários estudos revelaram danos oxidativos significativamente altos e sistemas de defesa antioxidante diminuídos em animais tratados com Paraquat, bem como em modelos *in vivo* como a mosca da fruta *Drosophila melanogaster*, um modelo animal da doença de Alzheimer (TSUDA & LIM, 2018; DUAVY et al., 2019; MALTA et al., 2022).

De acordo com McCune & Johns (2002), por meio do conhecimento tradicional sobre plantas e o seu uso medicinal para determinados sintomas e/ ou complicações causadas por doenças, pode-se ter sucesso na seleção de espécies vegetais com atividade antioxidante igual ou próximas a substâncias puras e conhecidas pelas suas propriedades antioxidantes.

### **2.3 Modelo animal *Drosophila melanogaster***

A história do uso de *D. melanogaster* na modernidade ciências biológicas é muito rica, abrangendo mais de 110 anos (MORGAN, 1910). Thomas Hunt Morgan, apelidado de ‘pai’ da *Drosophila*, explorou este organismo para estudar hereditariedade, resultando no Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1933. Anos depois, seu aluno Hermann Muller venceu o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1946 com o estudo do efeito dos raios-x na direção genes e cromossomos usando *Drosophila* como organismo modelo (ROUSH, 1995).

A utilização da mosca-da-fruta DM como modelo para estudo de mecanismos moleculares envolvendo doenças neurológicas e doenças degenerativas como constam na literatura (SUDATI, 2012; BONINI; FORTINI, 2003; FLATT, 2020). Como é o caso do uso da mosca para determinar a eficácia de pesticidas (RICHARDSON et al., 2019). Desta forma pode-se determinar a toxicidade dos pesticidas e a proteção de compostos

orgânicos e inorgânicos de origem natural ou não. (BIER, 2005).

Na tabela 2, consta vantagens e desvantagens do uso de *Drosophila melanogaster* como organismo para a doenças degenerativas (PRÜßING; VOIGT; SCHULZ, 2013). As Características da DM que a torna um modelo alternativo excelente para pesquisas é o seu tamanho reduzido, fácil manipulação, ciclo de vida curto, dimorfismo sexual, e similaridade de genes envolvidos com doenças humanas (PAULA, et al., 2012). Esse organismo tem potencial em descobertas interessantes e relevantes a respeito do câncer, comportamento, imunidade, doenças degenerativas, desenvolvimento, evolução, envelhecimento, alimentos e nutrição (STAATS et al., 2018; REICHERT, 2017; WATANABE; RIDDLE, 2019; PANDEY; NICHOLS, 2011).

**Tabela 2 Vantagens e desvantagens do uso de *Drosophila melanogaster* como modelo para doenças neurodegenerativas.**

| Vantagens                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Desvantagens                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Sem problemas éticos/ sem restrições de acordo com as leis de proteção animal;</li> <li>➤ Fácil e barato de manter em grandes quantidades, tempo e manuseio econômico;</li> <li>➤ A manipulação genética é rápida e barata (3 meses, &lt; \$ 500 por transgene);</li> <li>➤ Abundância de recursos/estoques disponíveis (por exemplo, biblioteca de RNAi de todo o genoma);</li> <li>➤ Tempo de geração curto (~10 dias), vida útil curta (2–3 meses) <ul style="list-style-type: none"> <li>➔ fácil de usar para telas;</li> </ul> </li> <li>➤ Genoma totalmente sequenciado e anotado;</li> <li>➤ Boa conservação das vias básicas de sinalização e processos celulares em geral;</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ A anatomia cerebral, o sistema cardiovascular e os sistemas respiratórios diferem substancialmente dos humanos;</li> <li>➤ Nenhuma medida fácil de comportamento complexo;</li> <li>➤ Apenas medidas básicas de declínio cognitivo;</li> <li>➤ Às vezes, má conservação das proteínas/função da proteína;</li> <li>➤ Manutenção apenas como culturas vivas, nenhuma conservação permanente (por exemplo, estoques congelados) possível;</li> <li>➤ Sistema imunológico menos complexo e adaptativo como nos vertebrados;</li> <li>➤ Os efeitos das drogas no organismo podem diferir fortemente (por exemplo, conversão de pró-toxinas em toxinas no fígado).</li> </ul> |

- Baixa redundância/número reduzido de genes parálogos em comparação com vertebrados;
- Provavelmente melhor organismo multicelular analisado/compreendido;
- Organismo mais complexo comparado a *C. elegans* e levedura;
- Cromossomos balanceadores permitem a manutenção de mutações/trangenes sem genotipagem.

Fonte: PRÜBING; VOIGT; SCHULZ (2013)

## 2.4 Atividades terapêuticas das plantas amazônicas

O uso das plantas medicinais é uma prática milenar, fazendo parte da evolução humana, sendo considerada o primeiro recurso terapêutico da sociedade devido ao seu potencial farmacológico, o que vem impulsionando cada vez mais o mercado farmacêutico ao longo dos anos (ABÍLIO, 2011).

As tradições populares de uso de plantas medicinais, na Amazônia, representam um importante ponto de encontro entre permanências e rupturas culturais, estabelecidas desde os primeiros contatos intertribais e interétnicos e consolidadas no entrecruzamento das principais matrizes presentes no processo de formação do povo brasileiro (RIBEIRO, 1995).

De acordo com Pereira (2021), as plantas medicinais nativas da Amazônia possuem propriedades anti-inflamatórias, antissépticas, cicatrizantes, tratamento para vermes, tratamentos para doenças da pele, diminui a febre, age contra a inflamações, tratam doenças neurodegenerativas, diminuem o colesterol, fortalecem o sistema imunológico, regulam a pressão arterial e os níveis de açúcar no sangue, tratam feridas cutâneas.

## 2.5 Plantas que combatem o envelhecimento e o estresse oxidativo

As plantas medicinais são utilizadas para várias finalidades como: o tratamento da enxaqueca, neuroproteção, efeito ansiolítico, antiansiedade, antidepressivo, sedativo, anticonvulsivo, prevenção e terapia de doenças neurodegenerativas (RAJAPAKSE & DAVENPORT, 2019; AGUIRRE-HERNÁNDEZ et al., 2010; HATTESOHL et al., 2008; GASIOROWSKI, 2011). Um exemplo disso é o açafrão (*Crocus sativus* L.) que desempenha um papel importante contra o estresse oxidativo e a combate ao

envelhecimento. Pesquisas envolvendo o açafão como indicam-no como potente antioxidante na proteção de doenças cardiovascular e cardiotoxicidade induzida por drogas (SU et al., 2021) combate de doenças digestivas (ASHKTORAB et al., 2019), têm propriedades antidepressivas de moléculas isoladas como a crocina (SIDDIQUI et al., 2022), ajuda na melhora da depressão, ansiedade e outros transtornos mentais (SHAFIEE et al., 2018).

De acordo com Giorgetti, Negri & Rodrigues (2007) em seu estudo de revisão, salientaram que do ponto de vista fitoquímico, os constituintes químicos mais recorrentes nas plantas em estudos foram os flavonoides, alcaloides, ácidos fenólicos, taninos e óleos essenciais. Conforme relatado em diversos artigos, essas substâncias exercem atividade no SNC (KHATAMI et al., 2020; MUKHERJEE, 2007).

Flavonoides têm propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (DEVI et al., 2021). Os papéis potenciais dos flavonoides mostram efeitos anticonvulsivos e sedativos, têm o efeito de proteger contra a neurodegeneração do SNC e atividade antidepressiva (DINIZ et al., 2015; FERREYRA; RIUS; CASATI, 2012).

Os triterpenos pentacíclicos também apresentaram atividade no SNC (HUSSAIN et al., 2012; GONZALEZ et al., 2021).

Os alcaloides do tipo matrino exercem um efeito antinocepitivo através de vários mecanismos de ação (YIN; ZHU, 2005), como um aumento na ativação do sistema colinérgico (COSTA et al., 1986; DUSSOR et al., 2004). Os alcaloides possuem, portanto, atividade farmacológica e podem ser relevantes no tratamento de distúrbios cognitivos, incluindo um aumento da função colinérgica no SNC (HOWES; HOUGHTON, 2003).

Os polifenóis protegem os neurônios do estresse oxidativo com efeitos de antioxidantes naturais, assim como as vitaminas E, vitamina C e flavonoides. Os efeitos neuroprotetores foram demonstrados no modelo da doença de Parkinson, modelo da doença de Alzheimer e modelo de AVC (ZHAO, 2009).

Os taninos mostraram um efeito anticonvulsivos (KABUTO, YOKOI, MORI, 1992; ALIYU et al., 2014).

Óleos essenciais podem ser úteis para tratar alguns tipos de problemas mentais e/ou sintomas através de seus efeitos de atuação no SNC (UMEZU, 2013). Com efeito sedativo e anticonvulsionante (FREIRE, MARQUES, COSTA, 2006; MANDEGARY; SHARIFIFAR; ABDAR, 2013).

Produtos naturais extraídos de plantas demonstraram serem inibidores de

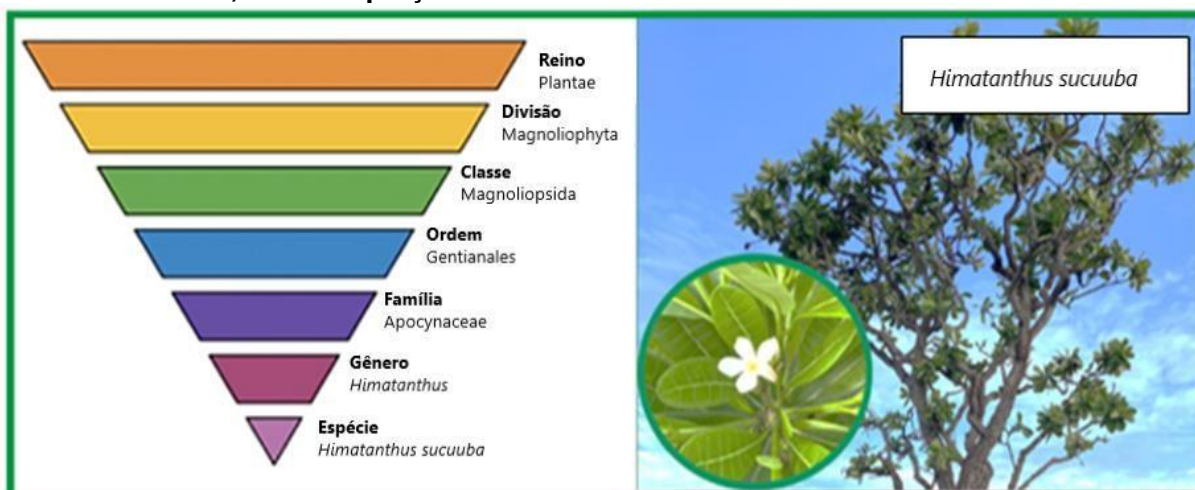
acetilcolinesterase como a Fisostigmina (alcalóide) extraído das sementes de fava-de-calabar (*Physostigma venenosum*), terpenoides como encontrados no óleo essencial de *Salvia lavandulaefolia* Vahl como o 1-8 cineole é um composto aromático aquiral de muitas plantas, e  $\alpha$ -pinene (monoterpeno) constituinte da *S. Lavandulaefolia* Vahl. Inibidores de acetilconesterase como a fisostignina (alcaloide) extraído das sementes de fava-de-calabar (*Physostigma venenosum*) têm seus estudos consolidados a respeito da inibição enzimática (MAMBRO; SOUZA, 2022). Terpenos encontrados no óleo essencial de *Salvia lavandulaefolia* Vahl 1-8 cineole (monoterpeno, éter cíclico), e  $\alpha$ -pineno (monoterpeno, composto químico bicíclico terpeno) (ABEYSINGHE et al., 2020; PORRES-MARTÍNEZ et al., 2014). Tarazerol (triperpenpoide pentacíclico) da *Clitoria ternatea* L. Obtidos das raízes da planta inibe a AChE (MUS et al., 2022). Timosaponina, uma saponina esteriede de *Anemarrhena asphodeloides* Bunge isolados do rizoma (LEE; JUNG; KIM, 2009). A *Pimppinella anisoides* V Brig. Do seu óleo essencial obteve-se três moléculas isoladas como o limoneno (terpeno cíclico insaturado), trans-anetol (fenilpropanoide) e sabineno (monoterpeno bicíclico) que mostraram inibição da AChE (YAGI et al., 2020).

## 2.6 A espécie vegetal *Himatanthus sucuuba*

### 2.6.1 Taxonomia da espécie *Himatanthus sucuuba*

A espécie botânica *Himatanthus sucuuba*, do gênero *Himatanthus*, da família Apocynaceae, é uma planta nativa da região Amazônica. Na Figura 2, conhecimento taxonômico detalhado da planta em estudo.

**Figura 2 Representação taxonômica da planta *Himatanthus sucuuba* e suas respectivas características fenotípicas. Crédito da figura Universidade Federal de Roraima - UFRR, com adaptações**



Fonte: UFRR (2023)

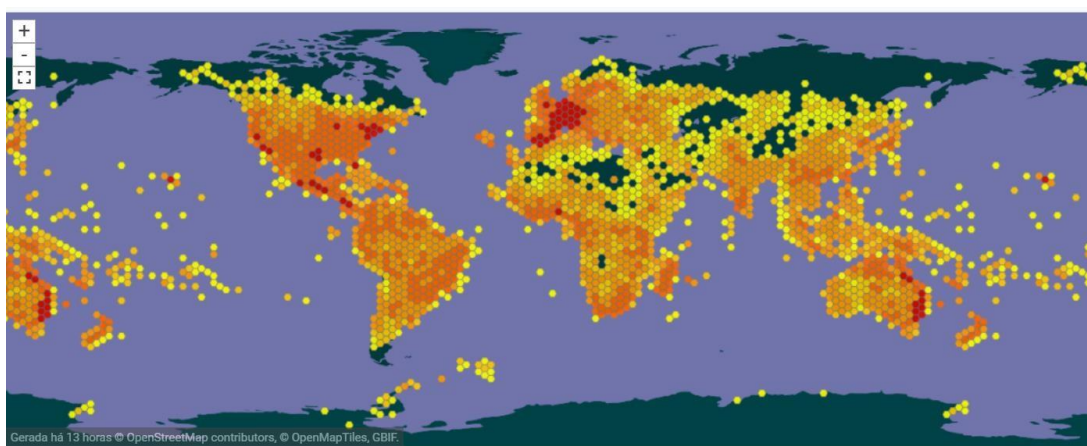
### 2.6.2 Família Apocynaceae

A família *Apocynaceae* compreende cerca de 355 gêneros e 3700 espécies

espalhadas pelo mundo, mas principalmente em áreas tropicais (MORALES, 2005). Dentro desta família, os principais gêneros são *Rauwolfia*, *Catharanthus*, *Allamanda*, *Atrophantus* e *Himatanthus*, que demonstraram ser úteis para ejaculação precoce, infecções do trato urinário, picadas de cobra, diarreia, asma, dor de dente, infecções de pele e cicatrização de feridas, entre outras coisas (BHADANE et al., 2018).

A distribuição geográfica da família Apocynaceae consiste em ocorrência no Brasil, Colômbia, Estados Unidos da América, Austrália, França, México, Espanha, Alemanha, África do Sul, Canadá, Venezuela, Perú, Bolívia, Guiana, Equador, Guiana Francesa, Panamá, Suriname e México (Figura 3) (REFLORA, 2022).

**Figura 3 Registros georreferenciados da família Apocynaceae**



Fonte: GBIF (2021); REFLORA (2022).

A Distribuição geográfica no Brasil consiste na região Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins); Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe); Centro- Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso); Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo); Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina). Ilhas oceânicas ocorrências confirmadas: Fernando de Noronha (GBIF, 2021; REFLORA, 2022).

Os domínios Fitogeográficos estão na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal. Tipo de Vegetação: área antrópica, caatinga (*stricto sensu*), campinarana, campo de altitude, campo de várzea, campo limpo, campo rupestre, carrasco, cerrado (*lato sensu*), floresta ciliar ou galeria, floresta de igapó, floresta de terra firme, floresta de várzea, floresta estacional decidual, floresta estacional perenifólia, floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila (floresta pluvial), floresta ombrófila

mista, manguezal, palmeiral, restinga, savana amazônica, vegetação aquática e vegetação sobre afloramentos rochosos (PLUMEL, 1991; REFLORA, 2022).

### 2.6.3 Gênero *Himatanthus*

*Himatanthus* Wild, ex Schult. (Apocynaceae) é um gênero que compreende cerca de 9 espécies e arbustos, e estão amplamente distribuídos na América Central e América do Sul, particularmente no Brasil (SOARES et al., 2015).

As árvores pertencentes ao gênero *Himatanthus* fazem parte da família *Apocynaceae*. *Himatanthus* é um gênero Neotropical caracterizado por apresentar folhas alternas aglomeradas no ápice dos ramos, coléteres na axila dos pecíolos e na base das brácteas florais, petalóides e decíduas; corola hipocrateriforme, convoluta sinistrorsa; estames adnatos à base do tubo da corola, anteras totalmente férteis e livres da cabeça do estilete, gineceu hemi-sincárpico composto por 2 carpelos, cabeça do estilete cilíndrica com 2 apêndices apicais arredondados, ovário semi-sincárpico composto por 2 carpelos, cabeça do estilete cilíndrica com 2 apêndices apicais arredondados, ovário semi-ífero sem disco nectarífero, e 2 folículos opostos, lenhosos, com sementes de alas concêntricas (REFLORA, 2022). Não é endêmico no Brasil e as ocorrências confirmadas distribuída no país são nas seguintes regiões: região Norte do país (Estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins), região Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe), Região Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) e Região Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e Região Sul (Paraná) (FFB, 2023).

Os domínios fitogeográficos do gênero *Himatanthus* é muito diversificado pode-se encontrar as plantas do gênero na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (REFLORA, 2022). O gênero possui ocorrência geográfica além do Brasil, Colômbia, Venezuela, Perú, Bolívia, Guiana, Equador, Guiana Francesa, Panamá, Suriname e México (GBIF, 2022) (Figura 4).

**Figura 4 Registros georreferenciados do Gênero *Himatanthus* Will ex Roem. & Schult**



Fonte: GBIF (2021).

De acordo com Linhares (2013) o gênero *Himatanthus* Will ex Roem. & Schult. (*Apocynaceae*) apresentou problemas nomenclaturais e com isso houve a revisão do gênero com inclusão e exclusão de algumas espécies e recentemente o gênero possui 9 espécies descritas na tabela abaixo:

**Tabela 3 Quantitativo de espécies pertencentes ao gênero *Himatanthus*. \*Espécie sinônima da planta *Himatanthus sucuuba***

| Espécies do gênero <i>Himatanthus</i> |                                                  |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1                                     | <i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson*   |
| 2                                     | <i>Himatanthus attenuatus</i> (Benth.) Woodson   |
| 3                                     | <i>Himatanthus bracteatus</i> (A. DC.) Woodson   |
| 4                                     | <i>Himatanthus drasticus</i> (Mart.) Plumel      |
| 5                                     | <i>Himatanthus obovatus</i> (Mull Arg.) Woodson  |
| 6                                     | <i>Himatanthus phagedaenicus</i> (Mart.) Woodson |

|   |                                                            |
|---|------------------------------------------------------------|
| 7 | <i>Himatanthus revolutus</i> (Huber) Spina & Kinoshita     |
| 8 | <i>Himatanthus semilunatus</i> Markgr                      |
| 9 | <i>Himatanthus tarapotensis</i> (Schum. Ex Markgr.) Plumel |

Fonte: REFLORA (2022); LINHARES (2013).

Triterpenos, alcaloides, flavonoides e iridoides são compostos químicos mais comuns encontrados nas suas folhas, casca, e látex, e estes têm demonstrado ter propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e anti-helmínticas (BFG, 2015; WOOD et al., 2001; SILVA et al., 2016; SILVA et al., 1998).

#### 2.6.4 *Himatanthus sucuuba*

*Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson, sinônimo *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson é uma árvore tropical que cresce entre 8 a 15 m de altura. As sementes são aladas, brancas, redondas, membranosas de até 7 cm de diâmetro e o caule apresenta 30-40 cm de diâmetro (Figura 5) (REBOUÇAS, 2013). Pertencente à família *Apocynaceae*, é uma árvore de grande porte, nativa da região Amazônica e conhecida popularmente como sucuuba, sucuba, janauba, timporna, subcuba, janaguba ou janajuba (SPINA, 2004; REBOUÇAS et al., 2013).

**Figura 5 Aspectos botânicos da planta *Himatanthus sucuuba***

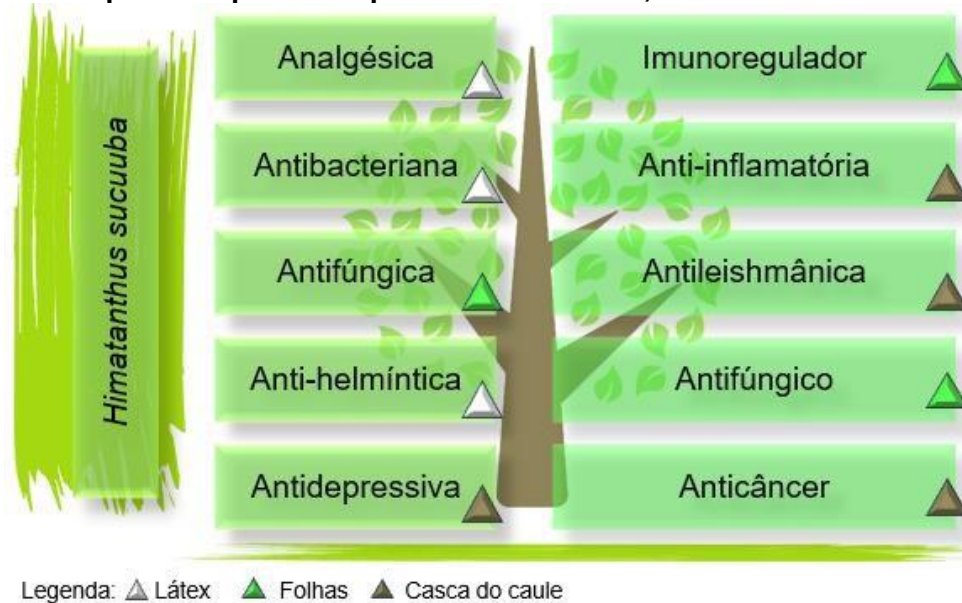


Fonte: SPINA, 2004; REBOUÇAS et al., 2013; LARROSA; DUARTE, 2005; REFLORA, 2022; Imagens: Internet.

Em algumas comunidades da floresta tropical, o látex é usado para tratar diferentes anormalidades da pele como úlceras, picadas de cobra, feridas na pele, dor lombar, febre, gastrite, diabetes, hérnia, herpes, útero, inflamação etc. (HERRERA-CALDERÓN et al.,

2021; CALERO-ARMIJOS et al., 2020). Na figura 6, pode-se observar outras indicações terapêutica da planta *Himatanthus sucuuba*.

**Figura 6 Atividades terapêuticas da planta *Himatanthus sucuuba* e suas respectivas partes da planta como o látex, folhas e cascas.**



Fonte: YAMAGUCHI, SOUZA, 2020; SILVA et al., 2021.

Os compostos que constituem a planta foram elucidados como (1) acetato de lupeol, (2) plumericina, (3) isoplumieirida, (4) lupeol, (5) plumeirida, (6) uleína, (7) ácido vanílico, (8) amarina, (9) cis-poliisopreno, (10) fulvoplumierina (11) isoplumerina, (12) iso-uleína, (13) ácido  $\gamma$ -dihidro-plumbericínico, (14) cinamato de lupeol, (15) cinamato de  $\gamma$ -amarina, (16) allamandicina, (17) biochanina A, (18) dihidrobiochanina A, (19) dalbergioidina, (20) naringerina, (21) ferreirina, (22) dihidrocajanina, (23) pinoresinol lignana, (HERRERA-CALDERÓN et al., 2021; WALTENBERGER et al., 2011; SILVA et al., 2016. SILVA et al., 1998; VALE et al., 2014).

A espécie *H. sucuuba*, distribui-se em países com a Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Panamá, Colômbia, Venezuela, Bolívia, Perú, Equador e Panamá. No Brasil, a ocorrência geográfica pode ser dividida em regiões. Região Norte: Acre, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins, Amapá. Região Nordeste: Bahia, Maranhão, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Sergipe. Região Centro-oeste: Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás. Região Sudeste: Minas Gerais. Região Sul: Paraná (REFLORA, 2022; GBIF, 2022) (Figura 7).

**Figura 7 Registros georreferenciados da planta *Himatanthus sukuuba***



Fonte: GBIF (2021); PLUMEL (1991).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

- Avaliar o efeito protetor do extrato das cascas da *Himatanthus sucuba* (*Sucuuba*) em *Drosophila melanogaster* frente a toxicidade ocasionada pelo paraquat e obter o perfil químico das cascas.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

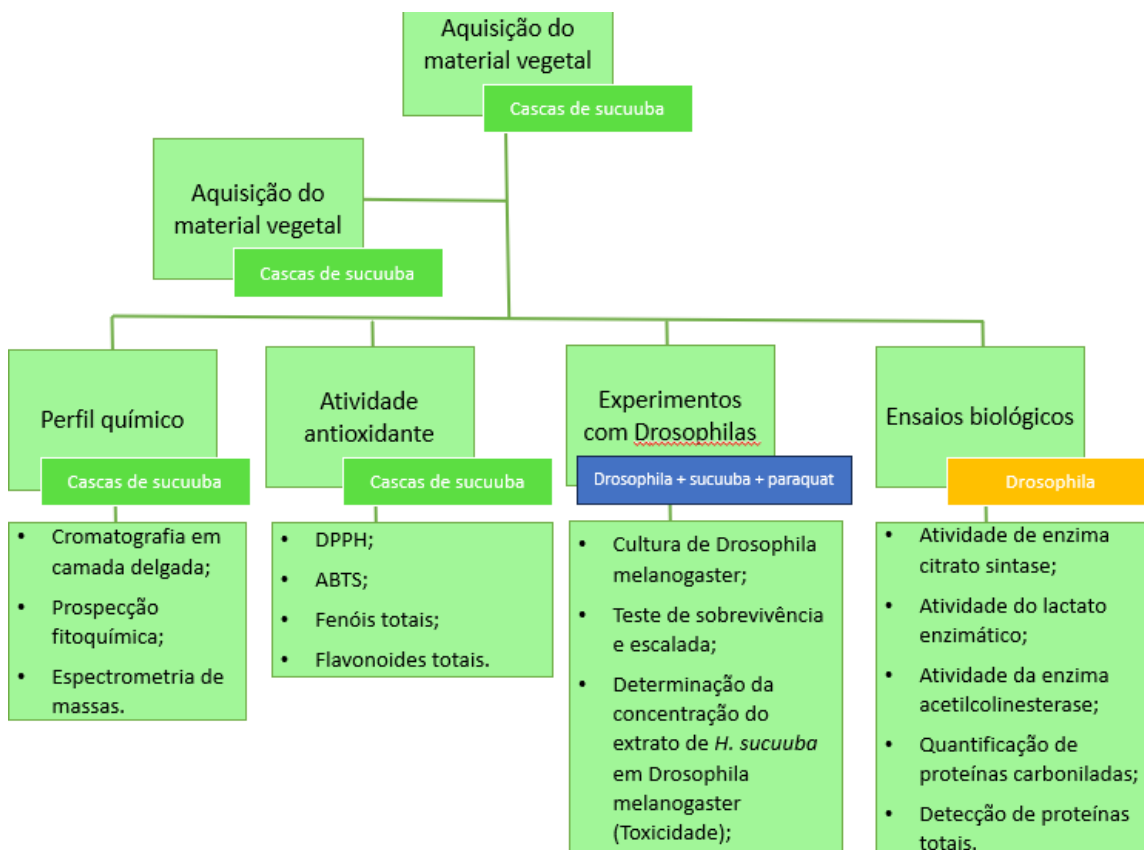
- Produzir extrato hidroalcólico a partir das cascas de *Himatanthus sucuba*;
- Avaliar os compostos metabólicos secundários presentes no extrato das cascas de *Himatanthus sucuba*;
- Verificar as substâncias ativas do extrato das cascas de *Himatanthus sucuba* através de espectrometria de massa;
- Determinar as atividades antioxidante do extrato das cascas de *Himatanthus sucuba*;
- Estabelecer a atividade neuromuscular de *Drosophila melanogaster* a partir da aplicação do extrato das cascas de *Himatanthus sucuba* no tratamento à toxicidade do paraquat, e
- Analisar o perfil bioenergéticos neuromuscular de *Drosophila melanogaster*.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Fluxograma do procedimento experimental

A metodologia adotada para este trabalho encontra-se estruturada, mostrando as etapas da pesquisa pelos métodos químicos e biológicos, descritas no fluxograma apresentado pela Figura 8.

**Figura 8 Fluxograma aplicado para a pesquisa com as cascas de *H. sucuba* comercial**

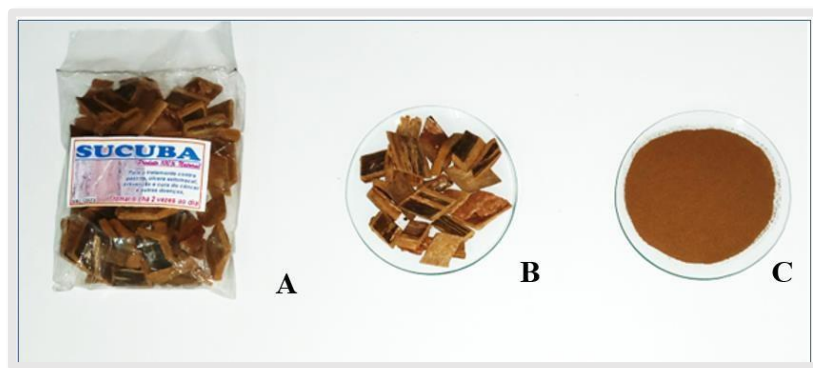


Fonte: A autora (2023)

### 4.2 Aquisição do material vegetal

O material vegetal comercial utilizado na obtenção dos extratos de *H. sucuba* foi adquirido no Mercado Municipal Adolpho Lisboa, conhecido como “Mercadão”, localizado próximo ao Rio Negro, no centro de Manaus na Rua dos Barés, capital do Estado do Amazonas. As cascas obtidas para análise foram tratadas, trituradas e armazenadas em frascos no freezer (Figura 9).

**Figura 9** Amostras vegetais da planta *Himatanthus* sucuba. (A) Pacote com cascas de sucuba; (B) Cascas; (C) Cascas trituradas



Fonte: A autora (2022)

O estudo foi registrado e autorizado no Sistema Nacional de Gerenciamento do Patrimônio Genético Tradicional Associado – SISGEN para acesso ao patrimônio genético com o nº A934F97.

#### 4.3 Preparação dos extratos

Inicialmente foi usado álcool 70%, na proporção de 3 gramas do material vegetal (cascas secas trituradas) para 15 mL do álcool para adquirir o extrato hidroalcolico (SMMHi). O extrato foi adquirido utilizando a lavadora ultrassônica (Eco- Sonics Q 3.0 Q25) por 20 minutos a temperatura de 30°C (triplicata). Após os 20 minutos filtrou-se a solução e acrescentou mais solvente, por fim três ciclos na lavadora ultrassônica foram necessários para obtenção do extrato. O rendimento do extrato SMMHi foi expresso em porcentagem (Tabela 4). Além disso, com o intuito de garantir a conservação do produto, manter-se-á o extrato em pequenas alíquotas refrigeradas.

**Tabela 4** Rendimento dos extratos secos e triturados após extração com os seus respectivos solventes

| Extrato (3g) | Rendimento (%) |
|--------------|----------------|
| SMMHi        | 16 %           |

Fonte: A autora (2022)

#### 4.4 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

O extrato SMMHi foi analisado por cromatografia em camada delgada utilizando-se cromatoplaças de alumínio com gel de sílica SiliaPlate TLC ALuminium Backed TLC (SILICYCLE). As condições de preparo das soluções extrativas, os sistemas de eluição, procedimentos e reveladores foram preparados conforme Wagner & Bladt (1996), as polaridades dos sistemas avaliados sofreram ajustes de acordo com o fator de retenção

(Rf), parâmetro mais importante a ser considerado em CCD. 10 mg de cada amostra foram diluídas em 1 ml de metanol. A amostra diluída foi aplicada em placas (5cm x 5cm) em forma de banda com o auxílio de capilar de vidro com aferição de 10 µL. Verificou-se os seguintes metabólitos secundários: flavonoides, compostos fenólicos, alcaloides, taninos, flavanona, terpenos, taninos e policetídios.

Os sistemas de solventes dos metabólitos ajudaram na revelação dos compostos da amostra. Diante das análises obteve-se o perfil fitoquímico das amostras vegetais da *H. succuba* constituída nas cascas do caule. O sistema utilizado para a amostra foi de acordo com a pesquisa da classe de metabólitos secundários já pesquisados. A análise por CCD foi realizada no laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal do Amazonas – UFAM. Os cromatogramas obtidos foram registrados e as placas cromatográficas foram reveladas com os reveladores químicos: DPPH, FeCl<sub>3</sub>, NP/PEG, vanilina sulfúrica, anisaldeído, sulfato cérico, Dragendorff, os reveladores físicos 254 nm e UV 366 nm foram através do equipamento CAMAG TLC Visualizer.

#### 4.5 Espectrometria de Massas

No LABCEM (Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas) – UFAM, a solução do extrato hidroalcolico (SMMHi) foi preparada em MeOH HPLC. Alíquota (10 µL) da solução estoque foi posteriormente transferida para vials contendo 1mL de MeOH. Por fim, 10 µL da solução diluída (10 ppm) foi analisada por inserção direta no espectrômetro de massas. Equipamento: espectrômetro íon trap LCQ FleetTM da marca Thermo Scientific®. Fonte de ionização APCI, nos modos de ionização positivo e negativo. Programa: Xcalibur 2.0 (Thermo Fisher Scientific, San Jose, EUA).

#### 4.6 Prospecção fitoquímica

As Análises qualitativas de fenóis, taninos, antioaninas, antocianidinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas, leucoantocianidinas, flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis, xantonas, alcalóides, quinonas e cumarinas presentes no extrato hidroalcolico das cascas da planta, no qual realizou-se conforme o protocolo descrito por Matos, 2009.



Teste para fenóis: Tomou-se o tubo número 1 e junte três gotas de solução alcoólica de FeCl<sub>3</sub>. Agitou bem e foi observado qualquer variação de sua cor ou

formação de precipitado abundante, escuro. Comparou-se com um teste em branco, isto é, usando apenas água e cloreto férrico.

- Coloração variável entre azul e o vermelho é indicativo da presença de fenóis, quando o teste “branco” for negativo.
- Precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, a presença de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos).



Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonoides: Tomou-se os tubos de números 2,3 e 4, acidificou um deles a pH 3, alcalinizou-se outro a pH 8,5 e o terceiro tubo a pH 11. Observou-se qualquer mudança da coloração do material.

- Aparecimento de cores diversas indica a presença de vários constituintes, de acordo com a tabela 5.

**Tabela 5 Testes avaliativos dos compostos secundários: antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chaconas, auronas, flavonóis**

| Constituintes                  | Cor do meio           |                            |                           |
|--------------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------|
|                                | Ácido <sup>(3*)</sup> | Alcalino <sup>(8,5*)</sup> | Alcalino <sup>(11*)</sup> |
| Antocianinas e Antocianidinas  | Vermelho              | Lilás                      | Azul-púrpura              |
| Flavonas, Flavonóis e Xantonas | -                     | -                          | Amarelo                   |
| Chaconas e Auronas             | Vermelho              | -                          | Verm. púrpura             |
| Flavonóis                      | -                     | -                          | Verm. laranja             |

**Obs.:** Nas misturas com vários constituintes reativos, a presença de um pode mascarar a cor indicativa da presença de outro. \* pH das soluções.



Testes para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas: Tomou-se os tubos numerados 5 e 6, acidulou-se o primeiro por adição de HCl até pH 1-3 e alcalinizou-se o outro com NaOH até pH 11. Aqueceu-os com auxílio de uma lâmpada de álcool durante 2-3 minutos, cuidadosamente. Observou-se qualquer modificação na cor, por comparação com os tubos correspondentes usados no teste anterior.

- Aparecimento ou intensificação de cor indica a presença de constituintes especificados na tabela 6.

**Tabela 6 Testes avaliativos dos compostos secundários: leucoantocianidinas, catequinas (taninos catéquicos) e Flavonas**

| Constituintes                   | Cor do meio     |                 |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|
|                                 | Ácido (3*)      | Alcalino (8,5*) |
| Leucoantocianidinas             | Vermelha        | -               |
| Catequinas (Taninos catéquicos) | Pardo-amarelada | -               |
| Flavonas                        | -               | Verm. laranja   |

**Obs.:** No caso de presença de ambos, um constituinte pode mascarar a cor indicativa de outro. \* pH das soluções



🔪 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas: Adicionou-se ao tubo de número 7 alguns centigramas de magnésio granulado ou em fita e 0,5 mL de HCl concentrado. Aguardou-se o término de reação indicada pelo fim da efervescência e observe, por comparação mudança na cor da mistura da reação nos tubos 5 e 7 (acidificados).

- Aparecimento ou intensificação de cor vermelha é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis, e/ ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.



🔪 Teste para confirmação de catequinas: Umedeceu-se bem a madeira de um palito de fósforo no extrato hidroalcolico. Fez-se evaporar o solvente e reumedeceu-se uma face do palito com HCl concentrado, com auxílio de um bastão de vidro. Aqueceu-se o palito por 2-3 minutos ao calor de uma chama de álcool, evitando que ele fique tostado. Observou-se se houve aparecimento de coloração no lado acidulado do palito.

- Cor vermelha ou pardo-avermelhada confirma a presença de catequinas indicada no teste de catequina.

**NOTA EXPLICATIVA:** No caso de extratos escuros, as modificações de cor nestes testes não podem ser bem observadas. Aplique os mesmos testes, portanto, no extrato diluído com etanol ou parcialmente descorado pelo carvão ativo.



🔪 Teste para saponinas: Tomou-se 2 mL da solução do extrato hidroalcolico e agitou-se fortemente, por dois a três minutos e observou-se a formação de espuma.

- Espuma persistente e abundante (colarinho) indica a presença de saponina (heterósides saponínicos).

 Teste para alcaloides: Tomou-se 2 tubos com 2 mL do extrato cada e adicionou-se 1 mL do reagente Dragendorff e no outro tubo 1 mL do reagente de Mayer. Observe a formação do precipitado característico.

- Precipitado floculoso, pesado em pelo menos dois tubos é indicativo de alcaloides. *Obs.*: Os alcaloides que precipitam facilmente com reagentes de Hager podem ser separados sob a forma de picratos, a partir de extrato aquoso ácido.

 Teste para quinonas: Separe 5 mL de solução etérea em um tubo de ensaio. Adicionou-se ao tubo 2 mL de solução 6 mol/L de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , agitou-se bem a mistura e deixou-se separar as duas fases. Observou-se o aparecimento de coloração na fase aquosa.

- Cor vermelha na camada aquosa alcalina indica a presença de quinona, especialmente antraquinonas hidroxiladas na solução e seus heterosídeos no extrato hidroalcólico.

 Teste para presença da cumarina: Gotejou-se a amostra no papel filtro e em seguida, aplicou-se uma gota de solução de hidróxido de potássio (10%). A mudança de coloração, indicaria a presença de compostos fenólicos.

## 4.7 Atividade antioxidante

### 4.7.1 Ensaio do potencial antioxidante de extratos da casca da planta

#### *Himatanthus sucuuba* através do sequestro do DPPH<sup>•</sup> em microplaca de Elisa

Investigação do potencial antioxidante do extrato através do sequestro do DPPH em microplacas de 96 poços. Na solução DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) sobre a atividade antioxidante foi feito de acordo com Peixoto et al., 2018. O ensaio de sequestro de radicais livres de DPPH foi realizado a fim de avaliar a capacidade de sequestro do extrato de casca de *H. sucuuba* pela redução de DPPH. Preparou-se a solução DPPH, com 1mg de DPPH em 12 mL de metanol (CLAE), e após foi pipetado 270  $\mu\text{L}$  do reagente DPPH, (100  $\mu\text{M}$ ) e misturados com 30  $\mu\text{L}$  retirados das soluções de cada extrato microdiluídas (diluído em MeOH grau CLAE – concentração 1 mg/ml). As microdiluições (100-0,78  $\mu\text{g/mL}$ ), foram realizados em 100  $\mu\text{L}$  de DMSO em seguida incubadas e mantidas sob reação por 30 minutos, sob proteção da luz, foram utilizados metanol (grau CLAE), como branco e a solução de DPPH, como controle negativo. A reação colorimétrica foi ocasionada pela oxirredução, onde o radical DPPH, que apresenta coloração violeta é reduzido, alterando a coloração da

mistura para amarelo. A leitura da absorbância foi realizada no comprimento e onda de 515 nm em leitor de microplacas. Os valores das absorbâncias foram convertidos em porcentagem da capacidade de sequestro (%CS<sub>DPPH</sub>), determinada pela seguinte equação:

$$\%CS_{DPPH} = 100 - \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \times 100$$

Onde, %CS<sub>DPPH</sub> é percentagem de estabilização, Abs<sub>controle</sub> é a absorbância inicial da solução e Abs<sub>amostra</sub> é a absorbância da mistura reacional em 30 minutos (DPPH + amostra).

#### **4.7.2 Ensaio do potencial antioxidante de extratos da casca da planta *Himatanthus sucuba* através do sequestro do ABTS<sup>••</sup> em microplaca de Elisa**

De acordo com os autores Torres et al., (2017); Santos et al., (2022), o ensaio de atividade antioxidante envolveu a eliminação do radical cátion ABTS<sup>••</sup> que foi adaptado para ser realizado em microplacas de 96 poços, gerado a partir da oxidação de 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS).

A solução ABTS<sup>••</sup> foi preparada utilizando 5 mg de ABTS e 6 mg de Persulfato de potássio e diluída em 5 mL de água destilada. As amostras foram preparadas com 1mg de cada extrato em 2 mL de DMSO totalizando 8 amostras para análise. A solução ABTS<sup>••</sup> foi ajustada 0,7 0nm ± 0,05nm em espectrofotômetro a 754 nm. Utilizou-se 270 µL do reagente (100 µM) e adicionou-se 30 µL de extrato (diluído em MeOH grau CLAE – concentração 1mg/mL) no poço microdiluídas em 100 µL de DMSO. As microdiluições (100 a 0,78 µg/mL). A determinação da porcentagem de ABTS foram realizadas em triplicatas, em seguida encubadas e mantidas sob reação por 20 minutos, sob proteção da luz, foram utilizados metanol (grau CLAE), como branco e a solução de ABTS, como controle negativo. Após incubação a 30°C, a absorbância foi lida a 734 nm em um espectrofotômetro (Kasuaki UV-VIS) e comparada com uma curva de padrão ácido gálico. A absorbância da reação foi mensurada a 734 nm a atividade de eliminação do radical ABTS foi calculada de acordo com a capacidade do sequestro expressadas com porcentagem (%CS<sub>ABTS</sub>), conforme a fórmula abaixo:

$$\%CS_{ABTS} = 100 - \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \times 100$$

Onde, %CS<sub>ABTS</sub> é percentagem de estabilização, Abs<sub>controle</sub> é a absorbância inicial da solução e Abs<sub>amostra</sub> é a absorbância da mistura reacional em 20 minutos (ABTS + amostra).

#### **4.8 Determinação do teor de Fenóis e flavonoides totais dos extratos das cascas da planta *Himatanthus sucuba***

##### **4.8.1 Fenólicos totais**

Os compostos fenólicos incluem mais de oito mil estruturas químicas que podem ser classificados pelo número e arranjo de seus átomos de carbono, sendo divididos em pelo menos dez grupos, a saber: fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, isocumarinas, naftoquinonas, xantonas, estilbenes, antraquinonas, flavonoides e ligninas (CROZIER, et al., 2009). O método mais utilizado é o Folin Ciocalteu para fenólicos para fenólicos presentes em vegetais, padronizada por Singleton e colaboradores (1999).

Pesou-se 1 mg de extrato vegetal e/ ou padrão (ácido gálico). Adicionou-se 50 µL de FOLIN diluído (1:10). Preparou-se respectivos brancos: água destilada + extrato vegetal (ou padrão) + carbonato. Incubação por 8 minutos. Adicionou-se 4,5 mL de carbonato de sódio (0,4%). Aguardar 2 horas, incubando no escuro (ler 30 minutos e 1 hora). Ler absorbância em 740 nm. Cálculo da absorbância deve ser feito através de regra de três:

$$\text{Absorbância do padrão} = 100\%$$

$$\text{Absorbância da amostra} = x$$

##### **4.8.2 Flavonoides totais**

A determinação de flavonoides totais foi realizada, segundo metodologia utilizada por Chang e colaboradores (2002).

Primeiramente, o extrato foi diluído em etanol na concentração de 1mg/mL. Em seguida, foi adicionado 30 µL de cada extrato e/ ou padrão de quercetina (diluída em etanol 80% na concentração de 0,1 mg/mL) e 90 µL de etanol 95% em cada cavidade de microplaca (colocar para leitura). Logo após, foi adicionado 6 µL de cloreto de alumínio a 10% e 6 µL de acetato de potássio 1M, ambos diluídos em água destilada. Para finalizar, adicionou-se mais 168 µL de água destilada. E para o branco, foram utilizados 30 µL de extrato e/ ou padrão quercetina e 270 µL de etanol. A placa então, foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente e, em seguida, foi feita a

determinação da absorbância da leitura no comprimento de onda de 405 nm, em leitor ELISA. O ensaio foi realizado em triplicata.

Os resultados foram obtidos utilizando-se, primeiramente, a diferença das absorbâncias das amostras e do padrão pela absorbância dos respectivos brancos. Logo após, foi calculada a determinação da concentração de flavonoides:

$$\text{Determinação de flavonóides: } \frac{\text{Diferença extrato}}{\text{Média da diferença do padrão}} \times 10$$

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e apresentados em tabela.

#### **4.9 Atividade bioenergética neuronal e muscular de *Drosophila melanogaster* exposta ao extrato de *Himatanthus sucuuba* e agrotóxico paraquat**

##### **4.9.1 Cultura de *Drosophila melanogaster***

Os estoques de *Drosophila melanogaster* linhagem selvagem Canton-S foram mantidos em ambiente climatizado a 25  $\pm$  1°C com 70-80% de umidade e fotoperíodo de 12/12hs. A alimentação para *D. melanogaster* foi composta de meio enriquecido de farinha de milho (6,5%), levedura (6,5%), ágar (1%) e metil-p-hidroxibenzoato (3%) (DEPETRIS-CHAUVIN et al., 2017). Para os experimentos, os animais serão alimentados em 4 grupos: (a) Grupo Controle (CTRL), contendo a alimentação padrão para *D. melanogaster*; (b) Alimentação padrão suplementada com extratos de *H. sucuuba*; (c) Alimentação padrão com 200  $\mu$ g/mL de Paraquat (PQ) (SOUZA et al., 2019); e (d) Alimentação padrão contendo extratos de *H. sucuuba* e 200  $\mu$ g/mL de PQ.

##### **4.9.2 Teste de Sobrevivência e Escalada**

Para o teste de sobrevivência, cada tubo contendo as condições de alimentação como descrito no item 4.9.1, juntamente com os animais foram monitorados por 30 dias até os animais morrerem. Por outro lado, a atividade de escalada será mensurada como descrita por Benzer (1967), usando um experimento de contracorrente (INAGAKI et al., 2009). Os resultados serão obtidos mediante o índice de fototaxia (ZIEGLER et al., 2015).

#### **4.9.3 Avaliação do perfil bioenergético**

A formação de ATP via respiração celular está diretamente relacionada com a atividade metabólica desempenhada pela mitocôndria (CHISTIAKOV et al., 2014). Para mensurar o perfil bioenergético (tórax) frente as condições descritas no item 4.9.1, os ensaios foram realizados espectrofotometricamente e os resultados normalizados pela concentração de proteínas da amostra (SPINAZZI et al., 2012; BRADFORD, 1976).

#### **4.9.4 Citrato sintase (CS)**

A enzima citrato sintase (CS) catalisa a condensação de acetil coenzima A (acetil-CoA) e oxaloacetato em citrato e coenzima A com grupo tiol (CoA-SH), a primeira etapa do Ciclo de Krebs (SHEPHERD & GARLAND (1969). Para o ensaio, utilizou-se 10 µg de proteína em tampão Tris-HCl 0,1 M contendo 0,3 mM Acetil-CoA, 0,1 mM Ácido 5',5'-Dithiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) e 0,10 % Triton X-100. Os ensaios foram mensurados espectrofotometricamente (SRERE, 1969).

#### **4.9.5 Lactato enzimático**

Quinze tórax (dissecados e armazenados a -20°C em inibidor de protease) foram macerados e homogeneizados em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,4. O homogeneizado foi centrifugado a 10000xg por 10 min a 4°C e o sobrenadante coletado. O conteúdo de lactato foi medido pelo método da lactato oxidase. A reação (5 min) foi iniciada adicionando 10 µL de amostra a 0,2 mL de tampão de ensaio, de acordo com as instruções do fabricante (Labtest, Brasil, cat. nº 138-1/50). A absorbância foi monitorada espectrofotometricamente a 550 nm usando um Espectrofotômetro Varian Modelo Cary 50MPR (Varian Ltd., Melbourne, Austrália). Cada amostra foi processada em quintuplicata e os valores de absorbância foram expressos em mg/dL de lactato por quantidade total de proteína na amostra.

#### **4.9.6 Avaliação do estresse oxidativo**

##### **4.9.6.1 Proteína carbonilada**

O conteúdo de proteína carbonilada frente as condições descritas no item 4.9.1 foi baseado na incubação da amostra (0,5 mg de proteína) em 2,4-dinitrofenil hidrazina por 1h, posteriormente, a proteína será precipitada em ácido tricloroacético (TCA) (20%), o pellet lavado duas vezes em acetona e dissolvido em tampão Tris-HCl 2 mM (pH 7,4, contendo 2% de SDS). A absorbância resultante de tal condição será

verificada em 370 nm, a qual expressará nmoles de carbonila / mg de proteína (WOLFF, 1994).

#### **4.9.6.2 Atividade da acetilcolinesterase (AChE)**

Para a realização de tal experimento, após dissecar as amostras em PBS suplementada com glicose, será feito a quantificação da concentração proteica e a atividade de acetilcolinesterase determinada espectrofotometricamente (ELLMAN et al., 1961).

#### **4.10 Quantificação de proteínas**

A concentração de proteínas foi determinada pelo ensaio de Bradford, utilizando albumina do soro bovino (BSA) como padrão (0,05 – 0,5 mg/mL) (BRADFORD, 1976).

#### **4.11 Análise estatística utilizada para os experimentos com *D. melanogaster***

Os dados apresentados serão as médias  $\pm$  S.E.M. N médias no número de *Drosophila melanogaster* por grupo usado em cada experimento. As análises estatísticas serão realizadas utilizando One-way ANOVA para múltiplas comparações, tendo como suporte o software GraphPad Prism 7 (San Diego, CA, USA). Os resultados serão considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$  (\* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ ) e ns para  $P > 0,05$ .

#### **4.12 Análise Estatística**

Os dados estatísticos gerados correspondem à média de três repetições ( $n=3$ )  $\pm$  desvio padrão da média adotando análise de variância (ANOVA). Todas as análises foram realizadas usando o programa GraphPad Prism (San Diego, CA, USA), versão 9.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para os perfis em CCD das cascas de *H. sucubus*, foram testadas diferentes fases móveis até o devido sistema (Tabela 7), que apresentou separação dos componentes. As cromatoplasmas obtiveram suas revelações em diferentes reagentes apropriados que produzem cor característica em cada tipo de substância, auxiliando em uma melhor determinação das classes das substâncias contidas no extrato.

**Tabela 7 Sistemas de solventes otimizados quanto à polaridade**

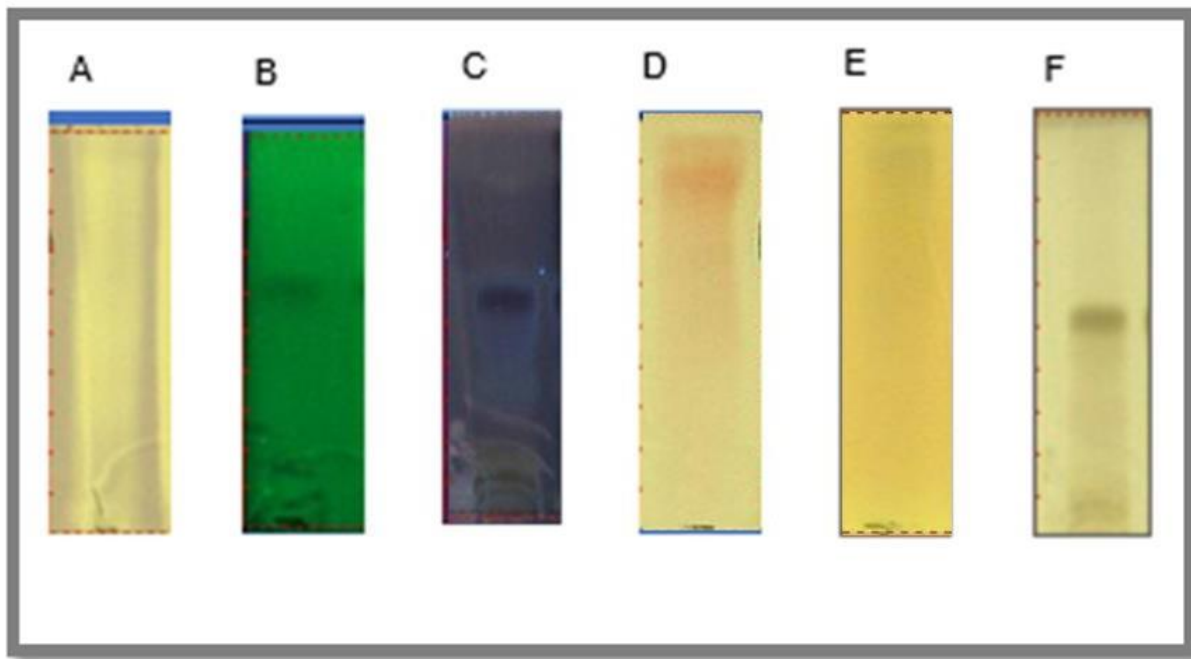
| Extrato       | Sistema de solventes otimizados (Eluições)             |
|---------------|--------------------------------------------------------|
| Hidroalcólico | AcOEt – HCOOH – AcOH – H <sub>2</sub> O (100:11:11:26) |

AcOEt = Acetato de etila; HCOOH = Ácido fórmico; AcOH = Ácido acético; Hex = Hexano; H<sub>2</sub>O = Água.  
Fonte: A autora (2022).

#### 5.1.1 Extrato hidroalcólico

O extrato hidroalcólico foi aplicado na placa cromatográfica. Fase móvel: acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético, hexano, água (100:11:11:26). A amostra hidroalcólica revelada com o revelador DPPH sugere-se a atividade antioxidante do extrato SMMHi (Figura 10A). Após exposição da placa do extrato hidroalcólico luz ultravioleta (UV – 254 nm) observou-se R<sub>f</sub> com o valor de 0,64. A cor visualizada pelo olho humano é por conter substâncias cromóforas (sistemas conjugados), pois absorvem radiação UV e tornam-se fluorescentes (indicativo de ligações insaturadas conjugadas ou pares de elétrons livres) (Figura 10 B). A luz UV 366 nm apresentou correspondência significativa (Figura 10 C). A revelação química com vanilina sulfúrica apresentou resultados significativos para taninos condensados (Figura 10 D) (WAGNER; BLADT,1996). O teste com a reação com cloreto férrico, indicativo de fenóis e compostos enolizáveis (Figura 10 E), no extrato revelado com o anisaldeído observou-se R<sub>f</sub> no valor de 0,54, cromatograma observado na luz visível (ALEXANDRE; ROCHA, 2017). O extrato SMMHi indicou a possível presença de terpenos ou esteroides devido a formação de bandas neste revelador (Figura 10 F) (WAGNER; BLADT,1996).

Figura 10 Perfil cromatográfico do extrato hidroalcólico de *Himatanthus sucuuba*. Placas reveladas com (A) DPPH, (B) UV 254, (C) UV 366, (D) Vanilina sulfúrica, (E) Cloreto férrico, e (F) Anisaldeído

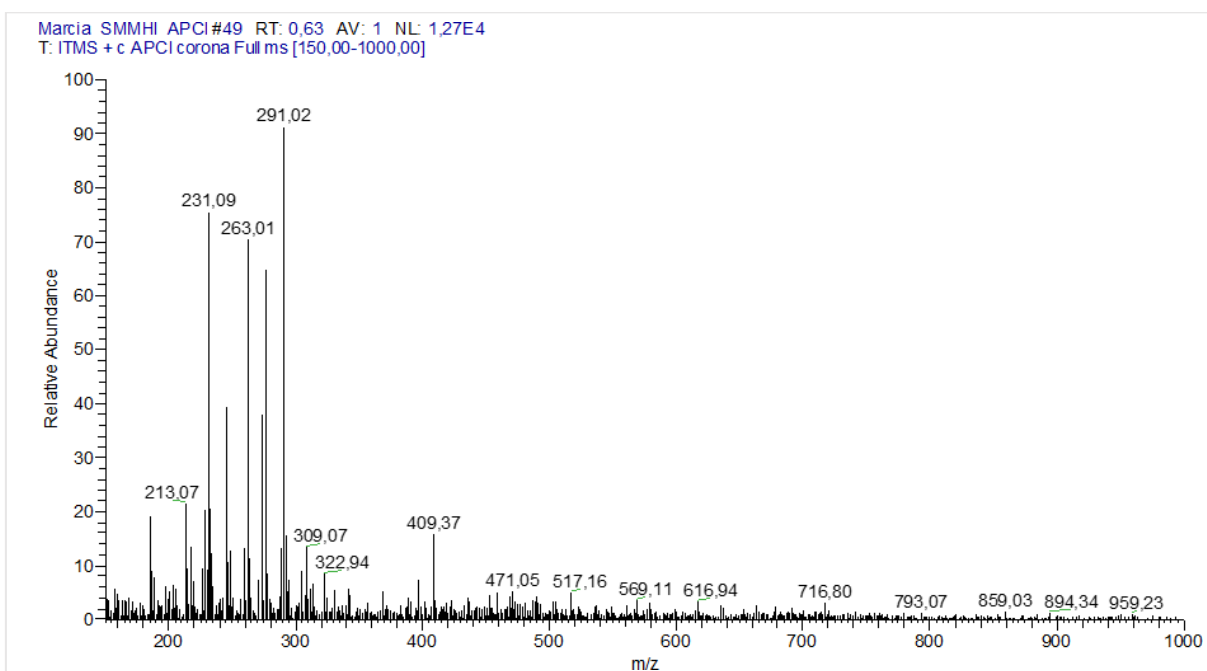


Fonte: A autora (2022).

## 5.2 Espectrometria de massas

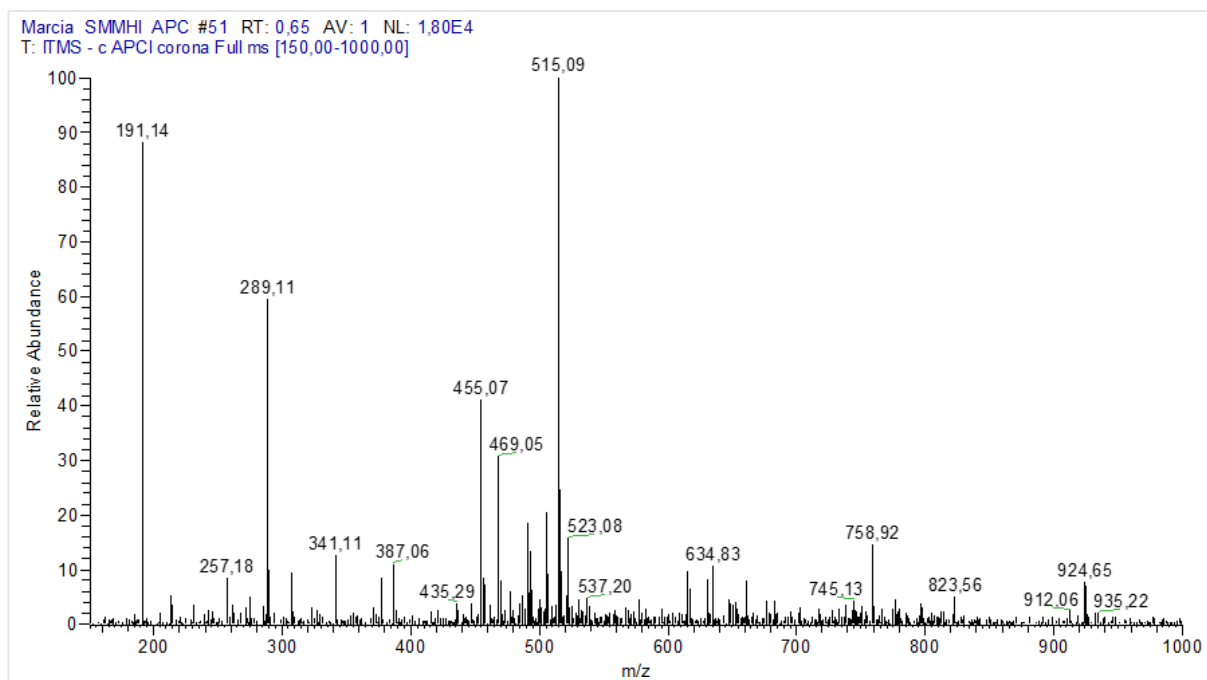
O extrato hidroalcólico das cascas de *Himatanthus sucuuba* (SMMHi) foi analisado por espectrometria de massas e os dados obtidos foram utilizados para sugerir o perfil químico e as possíveis substâncias presentes nas cascas. Duas varreduras completas foram obtidas APCI-MS (+) (Figura 11) e APCI-MS (-) (Figura 12). Conforme a literatura foi possível sugerir 2 compostos com peso molecular relacionado e a fragmentação das substâncias (Tabela 8). Apesar dos espectros de massa do extrato hidroalcólico das cascas da sucuba apresentarem outros íons majoritários, não foram sugeridas, pois não houve correspondência com dados da literatura. Contudo, pode-se obter 2 substâncias: uma lactona terpênica (plumericina) e 1 ácido clorogênico (ácido 4,5-dicafeoilquínico).

**Figura 11** Espectro de massa do extrato das cascas de *Himatanthus sucuuba* APCI – MS (+)



Fonte: A autora (2023).

**Figura 12** Espectro de massa do extrato das cascas de *Himatanthus sucuuba* APCI – MS (-)



Fonte: A autora (2023).

**Tabela 8 Substâncias propostas para o extrato hidroalcólico das cascas de *H. sucuuba* por Espectrometria de massas**

| Substância Química<br>FM                                    | MM<br>(g/mol) | m/z<br>Dalton | Fragmentação<br>m/z<br>Dalton | Modo | Intensidade |
|-------------------------------------------------------------|---------------|---------------|-------------------------------|------|-------------|
| <b>Plumericina</b><br><chem>C15H14O6</chem>                 | 290,27        | 291           | 230, 258                      | +    | 98%         |
| <b>Ácido 4,5-dicafeoilquínico</b><br><chem>C25H24O12</chem> | 516,45 g/mol  | 515           | 353, 162                      | -    | 100%        |

Legenda: FM = Fórmula molecular, MM: massa molecular, m/z= massa/carga. Fonte: A autora (2023).

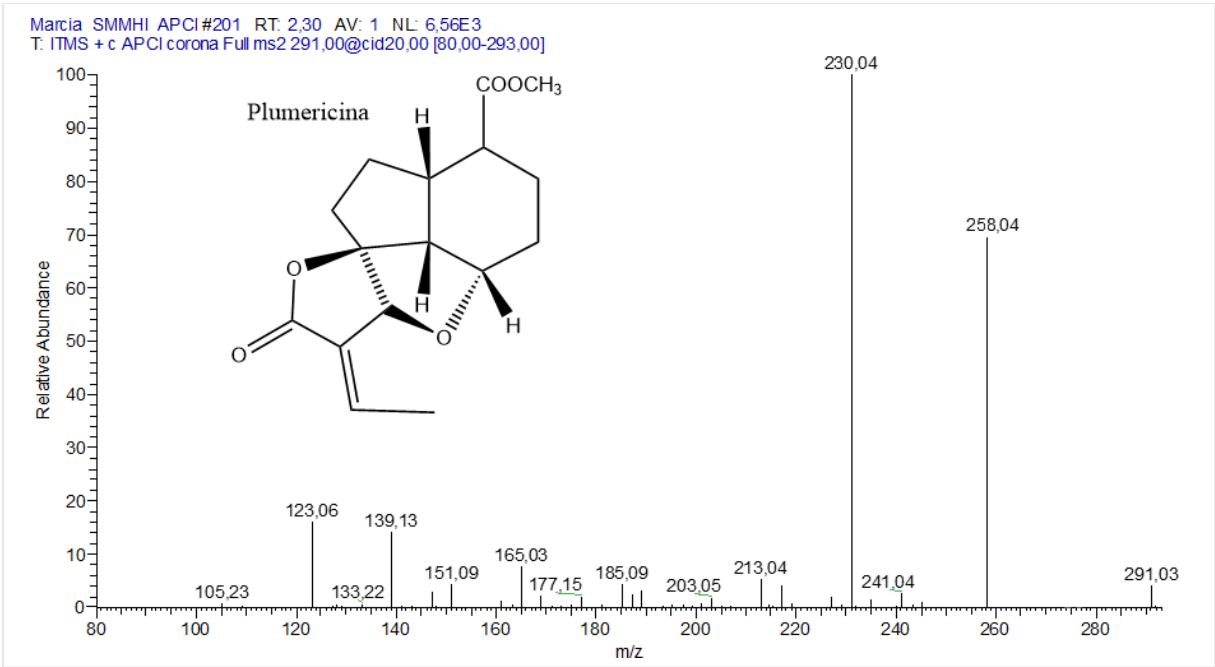
Os picos observados da fragmentação da plumericina corresponde com a literatura 230, 258 Daltons (POPOV; HADJIEVA, 1983). Assim, como o pico majoritário de 291 Daltons. No ácido 4,5-dicafeoilquínico o pico majoritário 515 e seus fragmentos 353 e 162 Daltons correspondem com a literatura (GRUNENVALDT et al., 2020).

Até o momento, as substâncias como o ácido 4,5-dicafeoilquínico e o ácido quínico não foram indicados ser um constituinte da espécie *Himatanthus sucuuba*. No entanto, o ácido 4,5-dicafeoilquínico foi isolado das espécies vegetais, *Hedera helix* (TRUTE; NAHRSTEDT, 1997), *Ainsliaea fragrans* (WANG; LIU, 2007), e *Tussilago farfara* (WU et al., 2015). A plumericina foi encontrada em muitas plantas medicinais, inclusive no gênero *Himatanthus* Wild, nas espécies *Himatanthus tarapotensis* (GUERRA et al., 2022), *Himatanthus sucuuba* (ABDEL-KADER et al., 1997), *Himatanthus fallax* (CASTILHO et al., 2007), *Himatanthus drasticus* (ABDEL-KADER et al., 1997), *Himatanthus bracteatus* (FIGUEIREDO et al., 2017), *Himatanthus phagedaenicus* (VELOSO; NAGEM; OLIVEIRA, 1999). Outras espécies do gênero *Himatanthus* Wild ainda não passaram por uma prospecção fitoquímica preliminar dos constituintes fitoquímicos.

### 5.2.1 Plumericina

Na figura 13, podemos observar o espectro de massas m/z 291[M+H]<sup>+</sup> e seus fragmentos m/z 258, 230. Sugerindo a substância iridoide plumericina (POPOV; HANDJIEVA, 1983). A fórmula molecular da plumericina corresponde a C15H14O6 e sua massa molecular é de 290,27 g/mol.

**Figura 13** Fragmentação do pico m/z 291 [M+H]<sup>+</sup> do extrato hidroalcoólico das cascas da *H. sucuba* referente à plumericina



Fonte: A autora (2023).

A plumericina é uma lactona terpênica, um produto natural que é fruto de pesquisas com o intuito de adquirir seu potencial farmacológico. Muitos estudos indicam algumas atividades terapêuticas da substância (Tabela 9).

**Tabela 9** Atividade terapêutica da substância plumericina

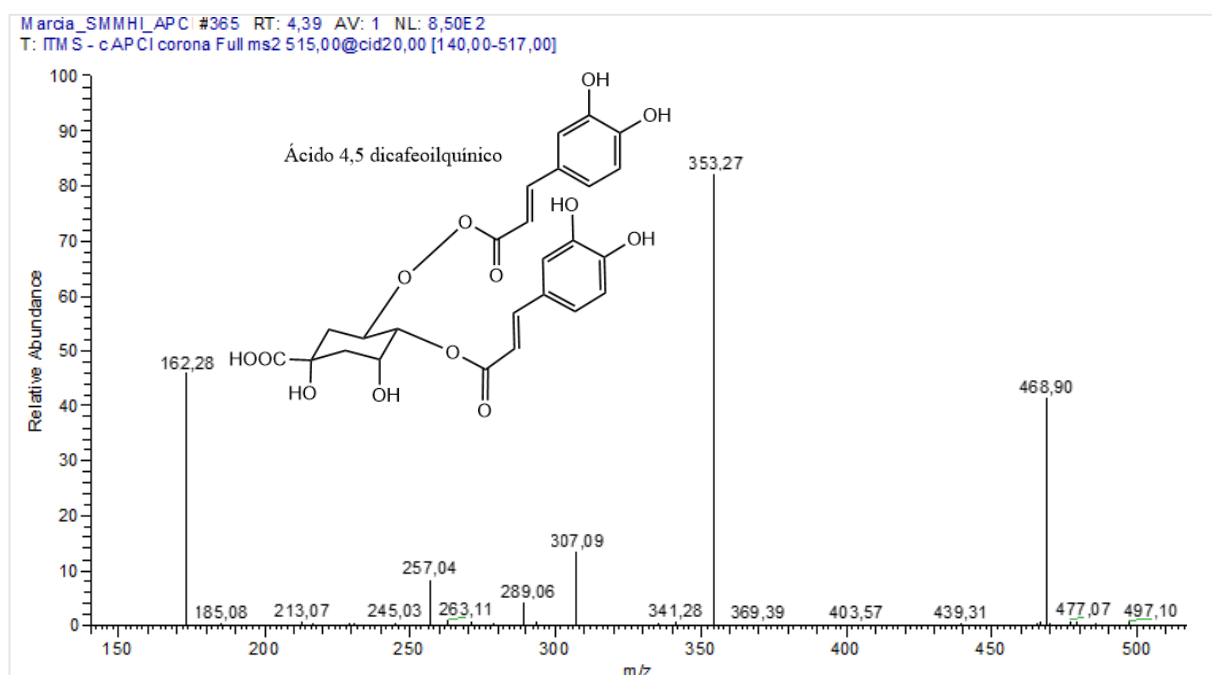
| Atividade terapêutica                                  | Bioensaio                                                                                                                     | Referência               |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Previne a inflamação intestinal e o estresse oxidativo | Células IRC-6<br>Camundongos machos CDI                                                                                       | RAPA et al., 2019        |
| Antimicobacteriana                                     | Cepas de <i>M. tuberculosis</i>                                                                                               | KUMAR et al., 2013       |
| Antifúngica                                            | <i>Candida albicans</i> , <i>C. krusei</i> ,<br><i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> e<br><i>Cryptococcus neoformans</i> | SHARMA et al., 2011      |
| Antibacteriana                                         | <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Bacillus subtilis</i>                                                                       | SAENGSAI et al.,<br>2015 |
| Inflamação intestinal                                  | Células IRC-6<br>Camundongos machos CDI                                                                                       | RAPA et al., 2021        |
| Antifúngica                                            | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>                                                                                         | HARON et al., 2013       |
| Combate o carcinoma cervical                           | Células cancerosas Bu25TK<br>e HeLa                                                                                           | SUN et al., 2016         |

Fonte: A autora (2023).

### 5.2.2 Ácido 4,5-dicafeoilquínico

O íon  $[M + H]^-$  no espectro EPCI-MS (-), foi observado em  $m/z$  515, que corresponde ao ácido 4,5-dicafeoilquínico, um fragmento de íon em  $m/z$  353 atribuído a  $[M - H - 162]^-$ , com a perda de 162 u correspondente ao ácido cafeico e um fragmento em  $m/z$  161  $[M - H - 354]^-$  correspondente à eliminação da fração ácido clorogênico (MERFORT; WENDISCH, 1987; LIMA et al., 2017). Sua fórmula molecular é  $C_{25}H_{24}O_{12}$  e sua massa molecular corresponde a 516,45 g/mol (Figura 14).

**Figura 14** Fragmentação do pico 515 [M-H] – do extrato hidroalcólico das cascas de *H. sucuuba* referente ao ácido 4,5-dicafeoilquínico



Fonte: A autora (2023).

O ácido 4,5-dicafeoilquínico ou 4,5-diCQA pode ser encontrado no chá verde (*Camellia sinensis*), soldado galante (*Galinsoga parviflora*), chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*), arnica (*Arnicae flos*), chá branco (*Camellia sinensis*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), que é amplamente consumido no Brasil e em outros países (MEINHART, et al., 2017). O 4,5-diCQA não consta como substância isolada do gênero *Himatanthus*, no entanto, constitui em espécies da família Apocynaceae como é o caso da espécie *Mandevilla dardanoi* (LINS et al., 2018), espécie *Alstonia boonei* (OKOYE; NWOKOYE; OKOYE, 2022), espécie *Adhatoda vasica* (KUMAR et al., 2011), espécie *Adrographis paniculata* (GAO et al., 2008), e outras semelhantes. Estudos indicam que o ácido 4,5-dicafeoilquínico pode ter potencial terapêutico conforme listagem na tabela abaixo:

**Tabela 10 Atividades terapêuticas da substância 4,5 dicafeoilquínico**

| Atividade terapêutica                                          | Bioensaio            | Referência          |
|----------------------------------------------------------------|----------------------|---------------------|
| Inibição de câncer de próstata                                 | Células LNCaP e PC-3 | LODISE et al., 2019 |
| Anti-inflamatório                                              | Células RAW264.7     | JANG et al., 2021   |
| Alívio da osteoartrite                                         | Ratos Wistar         | JANG et al., 2022   |
| Inibição da $\alpha$ – glicosidase                             | Levedura PTP1B       | CHEN, et al., 2014  |
| Anti - HBV                                                     | Células HepG 2.2.15  | ZHAO et al., 2014   |
| Alívio do estresse oxidativo associado à inflamação intestinal | Células Caco-2       | LIANG; KITTS, 2018  |
| Anti-HIV                                                       | Método DeCIPhR       | HEYMAN et al., 2015 |
| Neuroprotetor                                                  | Ratos Wistar         | DA SILVA, 2017      |

Fonte: A autora (2023).

Tomados em conjunto, as atividades descritas acima do 4,5-diCQA indicam potenciais opções terapêuticas para o uso desta molécula como terapia, bem como terapias combinadas para o manejo clínico de doenças (LODISE et al., 2019).

### 5.3 Prospecção fitoquímica

De acordo com os resultados obtidos pelo rastreio fitoquímico do extrato hidroalcolico da casca da planta *Himatanthus sucuuba* revelaram a presença de fenóis, terpenoides, taninos gálicos; saponinas e antraquinonas não foram detectados (Tabela 11).

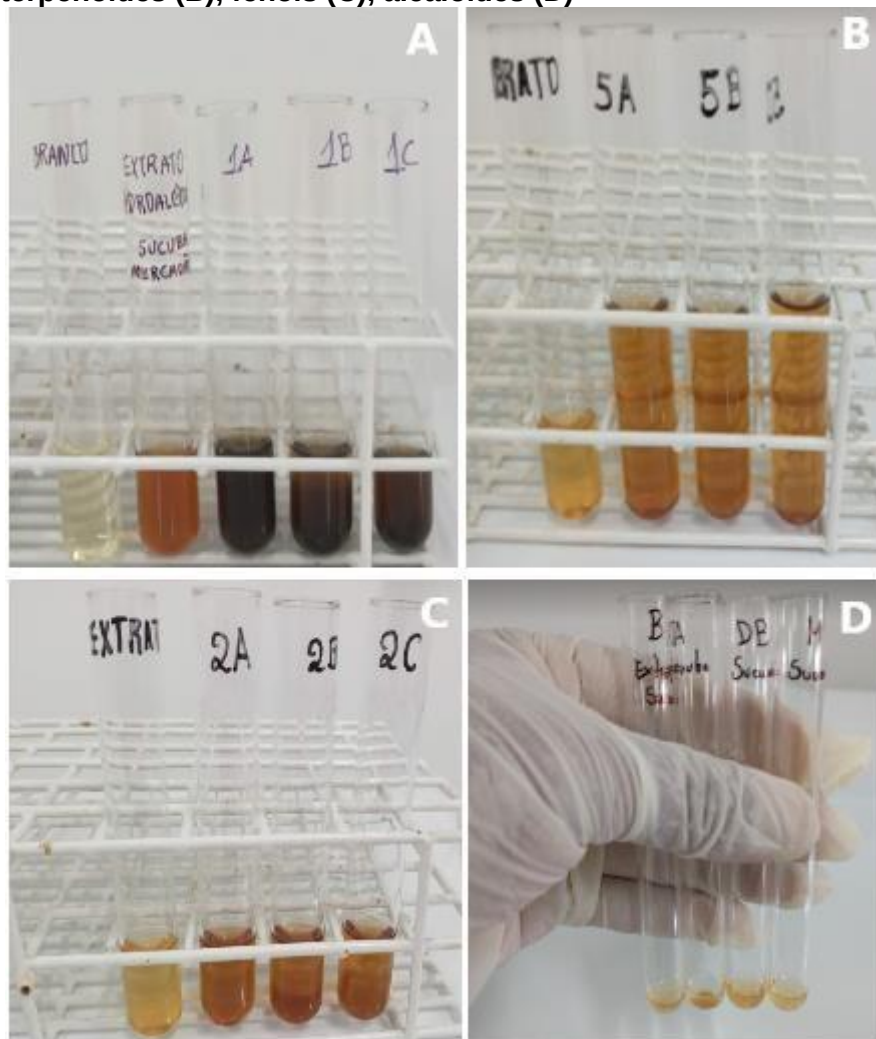
**Tabela 11 Análise dos metabólitos do extrato hidroalcolico de *H. sucuuba***

| Composto fitoquímico | Observação |
|----------------------|------------|
| Saponinas            | -          |
| Fenóis               | +          |
| Taninos              | -          |
| Quinonas             | -          |
| Alcalóides           | +          |
| Antraquinonas        | -          |
| Terpenoides          | +          |
| Taninos gálicos      | +          |

Legenda: (-) não detectado; (+) detectado. Fonte: A autora (2023).

A figura 15, comprova a presença de taninos gálicos na amostra do extrato das cascas de *H. sucuuba* avaliadas, a partir da mudança visual de coloração nos tubos de ensaio.

**Figura 15** Reações de identificação de taninos gálicos (A), terpenoides (B), fenóis (C), alcaloides (D)



Fonte: A autora (2023).

A presença dos metabólitos secundários apresentados pela prospecção fitoquímica da planta *Himatanthus sucuuba* enquadra com a literatura para a presença de alcaloides (VALE et al., 2014; HERRERA-CALDERÓN, 2021), taninos (SANTOS et al., 2013), terpenoides (HERRERA-CALDERÓN, 2021) e taninos gálicos (SANTOS et al., 2013). Alcaloides podem ter efeito farmacológico e terapêutico como antimicrobiano, anti-helmíntico, anti-inflamatório, expectorante, reumatismo, analgésico dentre outras aplicações (MOLOUDIZARGARI et al., 2013). Os taninos hidrolisáveis têm o potencial nutracêutico. Já os galotaninos e elagitaninos apresentam diferentes propriedades

bioquímicas que resultam em vários benefícios para a saúde, por exemplo, antidiabético, antimutagênico, antimicrobiano, todos os taninos são associados a capacidade antioxidante (WALL-MEDRANO, 2015). Os terpenoides possuem uma ampla gama de atividades biológicas e farmacológicas como tratamento na osteoporose (BELLAVIA et al., 2021), efeito antibacteriano, anti- inflamatório, analgésico, ansiolítico e antidepressivo (ARJMAND; HAMBURGUER; DASTAN, 2022; LU et al., 2023). A ingestão de compostos fenólicos em concentrações adequadas pode apresentar efeitos promissores na prevenção de doenças como a obesidade, diabetes, Parkinson, Alzheimer, entre outras (ARAÚJO et al., 2021).

#### 5.4 Determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais das cascas de *Himatanthus sucuuba*

A espécie *Himatanthus sucuuba* em estudos anteriores indicou a presença de compostos fenólicos e flavonoides no látex, nas cascas e nas folhas (REBOUÇAS et al., 2013; HERRERA-CALDERÓN et al., 2021). A análise do extrato hidroalcólico das cascas de *H. sucuuba* indicou teores de fenóis e flavonoides totais (Tabela 12).

**Tabela 12 Teor de compostos fenólicos totais e compostos flavonoides totais do extrato das cascas de *H. sucuuba***

| Análise                      | Teor           |
|------------------------------|----------------|
| Compostos fenólicos totais   | 43,33 mg GAE/g |
| Compostos flavonoides totais | 44,09 mg GAE/g |

Legenda: mg GAE/g: miligramas de ácido gálico equivalentes a gramas de extrato vegetal. Fonte: A autora (2023).

A quantificação dos fenólicos totais (43,33 mg GAE/g de extrato) e o teor de compostos flavonoides totais (44,09 mg GAE/g de extrato), mostrou um conteúdo semelhante em plantas da Amazônia como *Byrsonima japurensis* (59,4 mg GAE/g de extrato), *Calycophyllum spruceanum* (60,2 mg GAE/g de extrato), *Maytenus guyanensis* (58,7 mg GAE/g de extrato) (VARGAS et al., 2016), *Bactris gasipaes* (30 mg GAE/g de extrato) (SANTOS et al., 2015), e semente de *Rourea gardneriana* (54,11 mg GAE/g de extrato) (MONTERO et al., 2018).

#### 5.5 Atividade antioxidante frente ao radical DPPH, radical ABTS

O resultado da atividade antioxidante do extrato das cascas de *Himatanthus sucuuba* foi feita *in vitro* e estão descritos na tabela 13.

**Tabela 13 Atividade antioxidante quantitativa frente ao radical DPPH e radical ABTS do extrato das cascas da planta *Himatanthus sucuuba***

| Teste | Média de inibição (%)      |
|-------|----------------------------|
| DPPH  | 31,981 $\mu\text{g/mL}^1$  |
| ABTS  | 49, 512 $\mu\text{g/mL}^2$ |

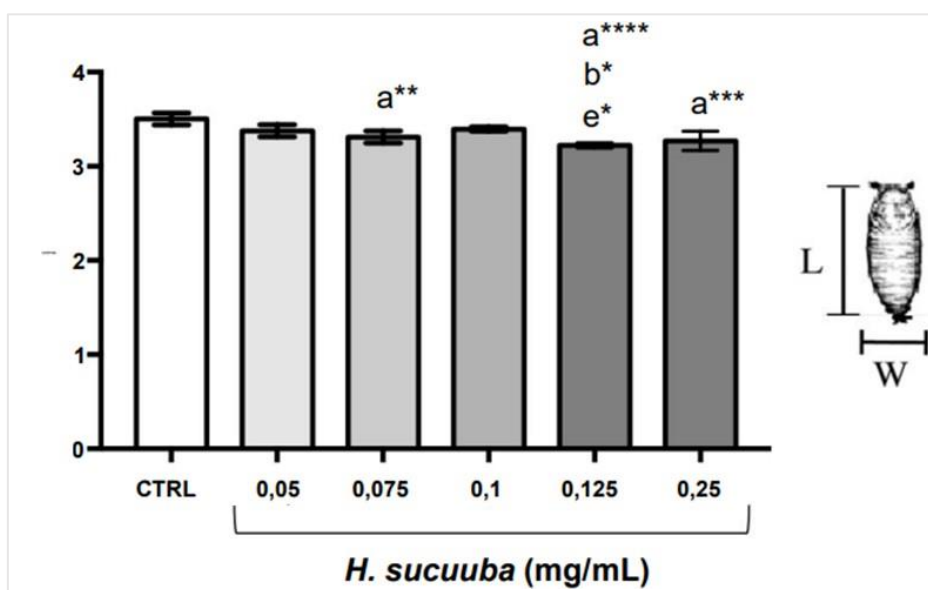
Legenda: 1 Expresso em % de inibição do radical DPPH; 2 Expresso em % de inibição do radical ABTS. Fonte: A autora (2023).

O ensaio ABTS é baseado na geração de um ABTS azul/verde que os antioxidantes podem reduzir, enquanto o ensaio DPPH é formado diminuindo o DPPH/roxo para 1,1-difenil-2-picrilhidrazina/amarelo. Estudos com ensaios DPPH e ABTS com plantas amazônicas como *Byrsonima japurensis* (8,4  $\mu\text{g/mL}$ ), *Calycophyllum spruceanum* (7,5  $\mu\text{g/mL}$  e 5  $\mu\text{g/mL}$ ), *Maytenus guyanensis* (28,4  $\mu\text{g/mL}$  e 8,2  $\mu\text{g/mL}$ ), *Passiflora nitida* (49,9  $\mu\text{g/mL}$  e 38,5  $\mu\text{g/mL}$ ) e *Ptychopetalum olacoides* (29,7  $\mu\text{g/mL}$  e 8,7  $\mu\text{g/mL}$ ) (VARGAS et al., 2016) demonstraram diferentes atividades de eliminação dos compostos naturais dependendo da fonte para metabolismo secundário. Nossos resultados mostraram 31,981  $\mu\text{g/mL}$  para DPPH e 49,512  $\mu\text{g/mL}$  para o ensaio ABTS, um impacto significativo para as cascas de *Himatanthus sucuuba* em comparação com as plantas amazônicas descritas.

### **5.6 Toxicidade do extrato de *H. sucuuba* no desenvolvimento de *Drosophila melanogaster***

Durante o estágio de pupa, o formato do corpo de uma mosca pode ser convenientemente descrito pela proporção axial de sua cutícula (AR, comprimento/largura). Nossos resultados demonstraram proporções referentes às concentrações do extrato de *H. sucuuba* na alimentação de larvas de *D. melanogaster* por cinco dias (Figura 16).

**Figura 16 Razão axial nas pupas de *D. melanogaster***



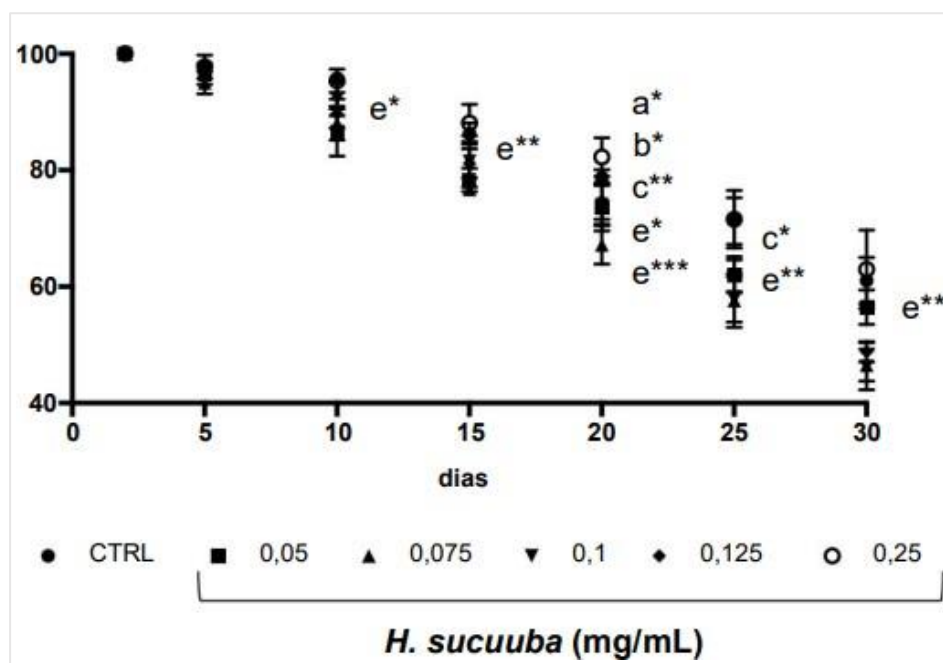
Legenda: o formato do corpo de uma pupa pode ser descrito pelo comprimento(L)/ largura (W). Os valores representaram a média± SEM de cinco experimentos. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \*p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\*\*p<0,0001: a versus CTRL, b versus 0,05 mg/mL, c versus 0,075 mg/mL, d versus 0,1 mg/mL, e versus 0,125 mg/mL. Fonte: A autora (2022).

Nossos resultados revelam os diferentes tratamentos propostos e influenciaram no desenvolvimento larval e formação da cutícula das moscas com valores de concentração do extrato das cascas de *H. sucuuba* com valores acima de 0,1 mg/mL, como o teor de 0,125 mg/mL. Inferiu-se que os resultados apresentados não apresentaram alta toxicidade para as moscas. A dose segura de 0,1 mg/mL do extrato hidroalcolico das cascas de *Himatanthus sucuuba* demonstrou segurança na ação do extrato e seus constituintes.

### **5.7 Taxa de sobrevivência de moscas expostas a diferentes concentrações do extrato das cascas de *Himatanthus sucuuba***

Moscas alimentadas com diferentes concentrações do extrato de *Himatanthus sucuuba* exibiram uma diminuição significativa na sobrevivência até dia 30 do experimento. A capacidade locomotora de dietas de *D. melanogaster* suplementadas com extratos vegetais foi realizada durante 30 dias, mas os dados com efeitos antioxidantes (0,1 mg/mL) foram significativos aos 15 dias (Figura 17).

**Figura 17** Concentração do extrato das cascas de *H. sucuuba* no desenvolvimento de *D. melanogaster*



Os valores representam a média  $\pm$  SEM de cinco experimentos. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,0001$ : a versus CTRL, b versus 0,05 mg/mL, c versus 0,075 mg/mL, d versus 0,1 mg/mL. Fonte: A autora (2022).

Ao investigar o efeito tóxico do extrato das cascas de *H. Sucuuba* pode-se indicar a baixa toxicidade durante a ingestão das concentrações dos extratos. No entanto, à medida que a concentração aumenta, aumenta-se o risco de maior intoxicação pelo consumo do extrato. Moura e colaboradores (2020) avaliaram a citotoxicidade e/ ou a mutagenicidade da planta *Himatanthus drástica* em camundongos que não apresentou sinal de intoxicação com a dose limite de 2.000 mg/kg.

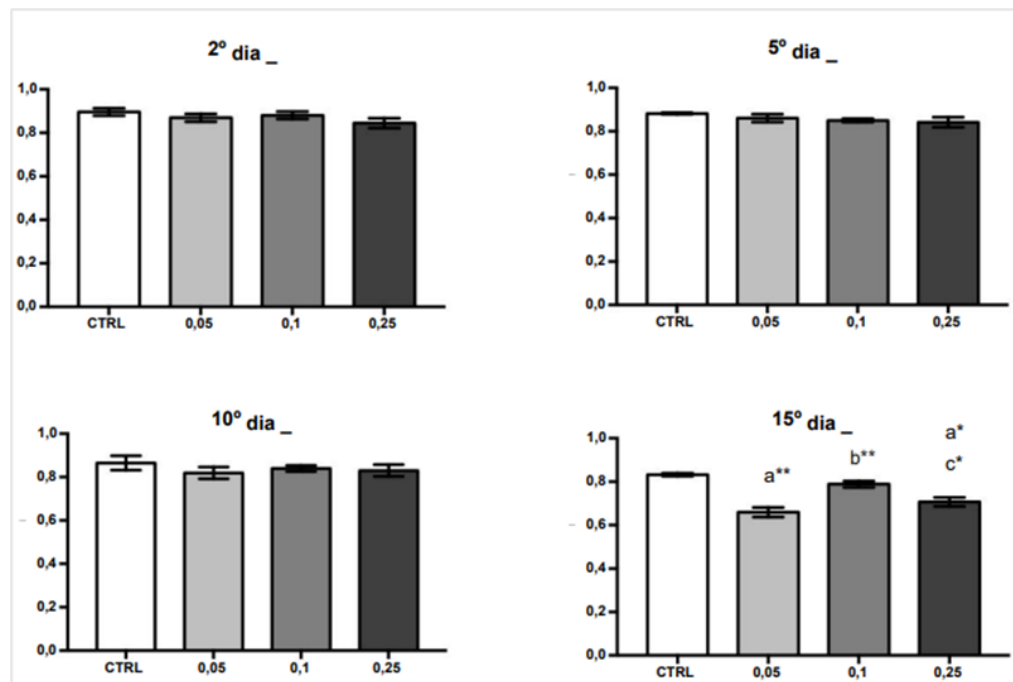
### 5.8 Atividade locomotora (teste de escalada)

O teste de escalada no dia 15 diferiu do controle apresentado diferenças significativas em relação às concentrações de extrato de *H. sucuuba* versus (\* $p > 0,05$ , \*\* $p > 0,01$ ) (Figura 18).

A toxicidade é verificada através da mortalidade e do efeito do extrato no sistema locomotor das moscas. A mortalidade é verificada de acordo com o número de moscas quando estão em contato com diferentes concentrações do extrato, enquanto a deficiência

sob o aparelho locomotor é indicativa de uma possível lesão incapacitante (LUNA et al., 2021).

**Figura 18 Atividade de escalada de *D. melanogaster* alimentadas com dieta suplementada com *H. sucuba***



Legenda: As moscas foram alimentadas com dieta padrão ou dieta padrão suplementada com extrato de *H. sucuba* em diferentes concentrações (0,05 – 0,025 mg/mL). Os valores representaram a média ± SEM de cinco experimentos. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ : a versus CTRL, b versus 0,05 mg/mL. c versus 0,1 mg/mL. Fonte: A autora (2022).

Para mensurar o efeito tóxico dos extratos de *H. sucuba* foram testadas diferentes concentrações (0,05 -0,25 mg/mL) e apenas 0,1 mg/mL apresentou efeito protetor contra o envelhecimento e o estresse oxidativo celular após 15 dias. Posteriormente, a intoxicação por PQ foi usada como modelo de dano celular para análise do efeito de proteção muscular do extrato de *H. sucuba*. A pesquisa com *Drosophila melanogaster* ajuda na relevância terapêutica da exposição de extratos/ isolados de plantas, particularmente na investigação da toxicidade, ou seja, na segurança do uso da planta medicinal (PERVEEN et al., 2021).

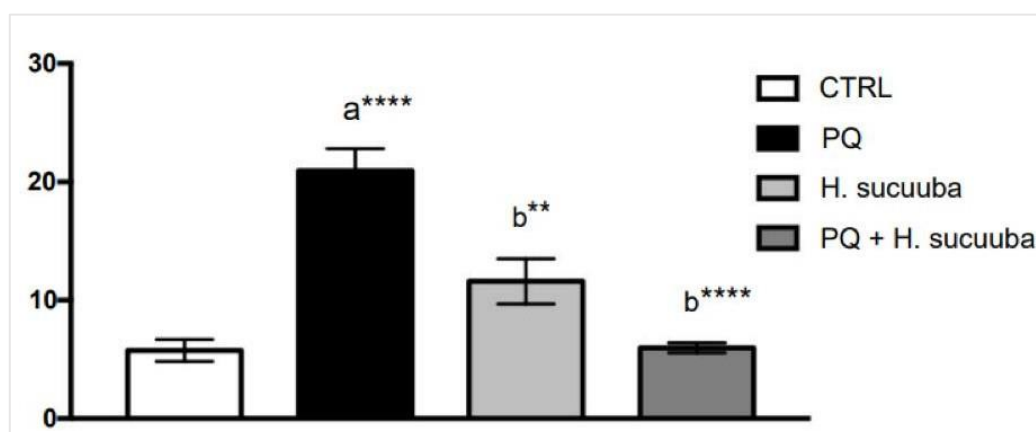
## 5.9 Análises biológicas

As análises para o perfil bioenergético foram mensuradas pelo lactato enzimático e pelo citrato sintase. A avaliação do estresse oxidativo foram mensuradas pela proteína carbonilada, atividade de acetilcolinesterase (AChE), quantificação de proteínas.

### 5.9.1 Lactato enzimático

A suplementação de PQ induziu atividade enzimática de lactato. A enzima lactato é uma enzima chave do metabolismo energético no corpo, catalisando a redução do piruvato a lactato. Seu potencial foi investigado devido à relevância desta enzima e a capacidade de destacar o metabolismo oxidativo neuromuscular que depende do lactato derivado dos neurônios motores onde eles estão mais abundantes no tecido neuromuscular. A exposição ao PQ aumentou a atividade da enzima lactato e o tratamento com extrato da planta *H. sucuba* impediu a mudança (Figura 19).

**Figura 19** Concentração de lactato no tórax de *D. melanogaster* alimentados com dieta suplementada com PQ e/ou H, extrato de *H. sucuba*



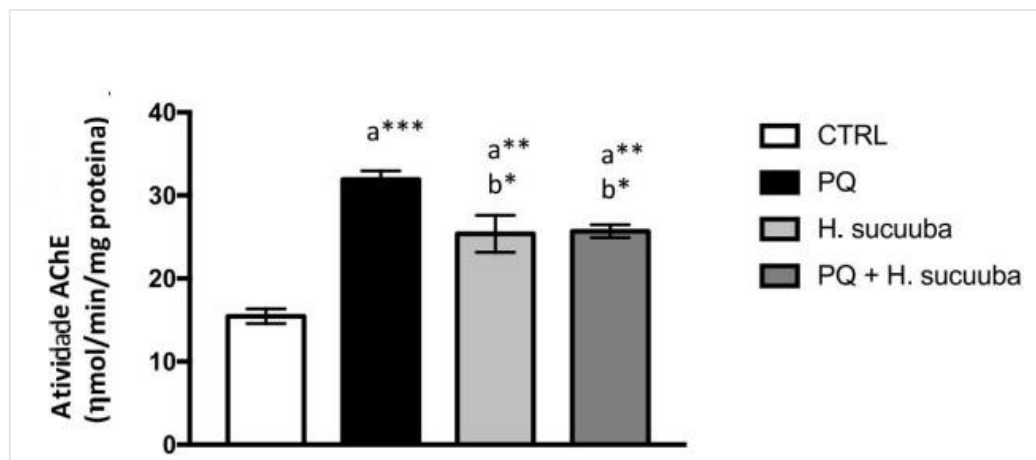
Legenda: Os valores representaram a média ± SEM de cinco experimentos independentes. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \*p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001: a versus CTRL, versus PQ. Fonte: A autora (2022).

Em *Drosophila melanogaster*, as células neuromusculares, metabolizam o lactato, que são secretados e absorvidos pelas células do tecido muscular. Contudo, a glicólise astrocítica remove a glicose do endotélio e gera lactato, destinado ao ciclo do citrato e à cadeia respiratória nas mitocôndrias (VOLKENHOFF et al., 2015). No entanto, níveis elevados de lactato são um biomarcador valioso de degeneração neuromuscular relacionada a disfunção mitocondrial detectada nas doenças que envolvem o envelhecimento (HARRIS et al., 2016; HUSSEINY et al., 2022). Neste estudo, a ingestão de PQ por *D. melanogaster* aumentou significativamente a concentração de lactato no tórax, efeito prevenido pela ingestão do extrato das cascas de *H. sucuba*.

### 5.9.2 Atividade de acetilcolinesterase (AChE)

Os níveis de AChE expostos ao paraquat são elevados. A exposição ao extrato de *H. sucuba* com paraquat restaurou a AChE atividade aos níveis encontrados em moscas no grupo controle. O grupo com extrato de *H. sucuba* também obteve dados significativos em comparação ao grupo controle (Figura 20).

**Figura 20** Atividade de AChE em tórax de *D. melanogaster* alimentados com dieta suplementada com PQ e/ou extrato de *H. sucuba*



Legenda: Os valores representaram a média  $\pm$  SEM de cinco experimentos independentes. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ : a versus CTRL, versus PQ. Fonte: A autora (2022).

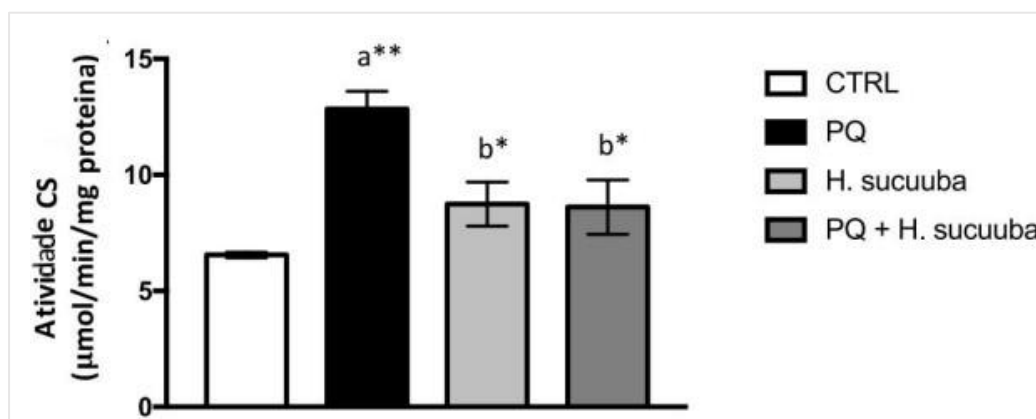
Adicionalmente, nossos resultados mostraram que a exposição ao PQ aumentou a atividade da acetilcolinesterase (AChE), melhorou a hidrólise da acetilcolina e redução da contração muscular nas membranas das células musculares. Dieta suplementada com *H. sucuba* demonstraram efeito protetor na atividade da AChE contra danos causados pela intoxicação por PQ, conforme relato por Carmo et al., (2021).

Produtos naturais extraídos de plantas têm demonstrado ação inibitória da acetilcolinesterase, como a fisostigmina (alcaloide) extraído das sementes de *Physostigma venenosum*, terpenoides encontradas no óleo essencial de *Salvia lavandulaefolia*, tarazerol (triterpenoide pentacíclico) obtido das raízes de *Clitoria ternatea*, bem como timosaponina, um esteroide saponina das raízes de *Anemarrhena asphodeloides* (ABEYSINGHE et al., 2020; YAGI et al., 2020).

### 5.9.3 Citrato sintase

A exposição PQ induziu atividade do citrato sintase (CS), uma enzima do Ciclo de Krebs que pode indicar conteúdo mitocondrial ou melhora em vários tecidos mitocondriais. Porém, moscas alimentadas com *H. sucuba* apresentaram o mesmo efeito fisiológico com animais de controle (Figura 21).

**Figura 21** Atividade de citrato sintase em tórax de *D. melanogaster* alimentados com dieta suplementada com PQ e/ou extrato de *H. sucuba*



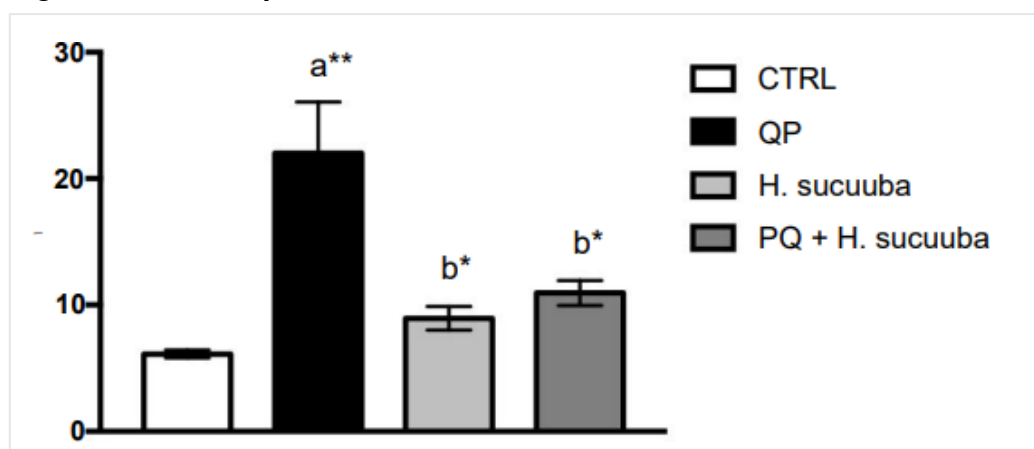
Legenda: Os valores representaram a média  $\pm$  SEM de cinco experimentos independentes. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ : a versus CTRL, versus PQ. Fonte: A autora (2022).

A função normal do metabolismo ilustra a importância do delicado equilíbrio entre processos oxidante e antioxidante. Contudo, compostos naturais ou sintéticos podem induzir estresse oxidativo, um mecanismo clássico de dano celular e disfunção da doença (FROHNET; BEMLOHR, 2013; SCIALO et al., 2020). Nossos resultados mostraram que o PQ melhorou um ciclo redox no tórax de *D. melanogaster* que aumentou a atividade do citrato sintase (CS, uma enzima do Ciclo de Krebs indicativo de conteúdo mitocondrial) como efeito protetor contra o ambiente redox celular da produção de ATP e maior estresse oxidativo (HOSAMANI; BÉLANGER et al., 2011). Em estado restaurado, *H. sucuba* na concentração de 0,1 mg/mL por 15 dias demonstrou um efeito significativo no estresse oxidativo, conforme evidenciado pelos níveis de proteína carbonilada e atividade de CS.

#### 5.9.4 Teor de proteína carbonilada

PQ influenciou um ciclo redox intracelular que melhorou o estresse oxidativo no músculo pela proteína carbonilada dos animais. Além disso, a dieta suplementada com *H. sucuba* foi capaz de bloquear o ciclo redox de EROs pelo PQ (Figura 22).

**Figura 22 Teor de proteína carbonilada**



Legenda: Os valores representaram a média ± SEM de cinco experimentos independentes. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ : a *versus* CTRL, *versus* PQ. Fonte: A autora (2022).

Finalmente, com base neste estudo, propusemos o uso de *D. melanogaster* na triagem inicial de prospectivos amazônicos extratos na proteção neuromuscular, principalmente após a exposição crônica de PQ. Além disso, esses resultados indicam mais pesquisas nos possíveis compostos que podem estar relacionados a esta atividade.

## 6. CONCLUSÕES

A técnica CCD foi eficaz na separação mostrando as bandas indicativas de terpenos, taninos gálicos, fenóis, derivados de fenilpropenoides do extrato das cascas da planta *H. sucuba*.

Este trabalho mostrou a capacidade da atividade antioxidante do extrato das cascas da planta *H. sucuba* (SMMHi). Os teores de compostos fenólicos e flavonoides totais foram relativamente baixos.

As concentrações de paraquat aumentam o risco do desenvolvimento de doenças relacionadas ao envelhecimento e o estresse oxidativo devido ao período de exposição ao agrotóxico prejudicando o organismo, no entanto, o extrato hidroalcólico de *H. sucuba* ajudou no bloqueio da ação do agrotóxico no tecido muscular das moscas.

A pesquisa realizada para a atividade de proteção neuromuscular foi desenvolvida com o extrato SMMHi comprovou a atividade de proteção contra o envelhecimento e o estresse oxidativo.

Estudos futuros devem ser realizado com *Drosophila* ou outros modelos animais, juntamente com *sucuba* para pesquisas de doenças humanas, como diabetes, doenças neurodegenerativas e doenças cardiovasculares.

## 7 REFERÊNCIAS

- A LOCK, Edward; WILKS, Martin F. Paraquat. **Hayes' Handbook Of Pesticide Toxicology**, [S.L.], p. 1771-1827, 2010. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-374367-1.00083-5>.
- ABDEL-KADER, Maged; WISSE, Jan; EVANS, Randy; WERFF, Hendrik Van Der; KINGSTON, David G. I. Bioactive Iridoids and a New Lignan from *Allamanda cathartica* and *Himatanthus fallax* from the Suriname Rainforest. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 60, n. 12, p. 1294-1297, 1 dez. 1997. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/np970253e>.
- ABEYSINGHE, A.A.D.T.; DESHAPRIYA, R.D.u.s.; UDAWATTE, C.. Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. **Life Sciences**, [S.L.], v. 256, p. 117996, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117996>.
- ABÍLIO, G.M.F. **Plantas Medicinais**. 1. ed. João Pessoa: Editora Universitária da UFPB, 2011. Disponível em: <[http://biblioteca.virtual.ufpb.br/files/plantas\\_medicinais\\_14629\\_75221.pdf](http://biblioteca.virtual.ufpb.br/files/plantas_medicinais_14629_75221.pdf)>. Acesso em: 22 maio. 2022.
- AGUIRRE-HERNÁNDEZ, Eva; GONZÁLEZ-TRUJANO, Ma. Eva; MARTÍNEZ, Ana Laura; MORENO, Julia; KITE, Geoffrey; TERRAZAS, Teresa; SOTO-HERNÁNDEZ, Marcos. HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol flavonoids from *Tilia americana* var. *mexicana*. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 127, n. 1, p. 91-97, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.044>.
- AKAGAWA, Mitsugu. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches. **Free Radical Research**, [S.L.], v. 55, n. 4, p. 307-320, 3 abr. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10715762.2020.1851027>.
- AKASAKA, Takeshi; OCORR, Karen. Drug Discovery Through Functional Screening in the *Drosophila* Heart. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 235-249, 2009. Humana Press. [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-232-2\\_18](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-232-2_18).
- ALAKILLI, Saleha Y.M. The protective role of parsley extract against vincristine mutagenicity in *Drosophila melanogaster*. **Saudi Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 51- 55, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2009.12.008>.
- ALEXANDRE, Andrei da Silva; ROCHA, Waldireny Caldas. Perfil cromatográfico por TLC do óleo e dos extratos das folhas e caule de andoriba, *Carapa guianensis* Aubl. **Scientia Amazonia**, v.6, n.2, 117-125, 2017.
- ALIYU, Musa Mumammad; MUSA, Abdullahi Isma'il; KAMAL, Muhammad Ja'afar; MOHAMMED, Magaji Garba. Phytochemical screening and anticonvulsant studies of ethyl acetate fraction of *Globimetula braunii* on laboratory animals. **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 285-289, abr. 2014. Medknow. <http://dx.doi.org/10.12980/apjtb.4.2014c925>.
- ARAÚJO, FÁBIO FERNANDES DE; FARIAS, DAVID DE PAULO; NERI-NUMA, IRAMAIA ANGÉLICA; PASTORE, GLAUCIA MARIA. Polyphenols and their applications: an approach in food chemistry and innovation potential. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 338, p. 127535, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127535>.
- ARAÚJO, THIAGO ANTONIO DE SOUSA. Atividade antioxidante de plantas medicinais da caatinga e mata atlântica: aspectos etnobotânicos e ecológicos. 138f. 2012. Tese (doutorado) – Programa de Pós-graduação em ciências farmacêutica. Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE, 2012.

ARJMAND, Zahra; HAMBURGER, Matthias; DASTAN, Dara. Isolation and purification of terpenoid compounds from *Ferula haussknechtii* and evaluation of their antibacterial effects. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 37, n. 10, p. 1617-1624, 27 jul. 2022. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2022.2103558>.

ASCHERIO, ALBERTO; A SCHWARZSCHILD, MICHAEL. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. **The Lancet Neurology**, [S.L.], v. 15, n. 12, p. 1257-1272, nov. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(16\)30230-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(16)30230-7).

ASHKTORAB, HASSAN; SOLEIMANI, AKBAR; SINGH, GULSHAN; AMR, AMIN; TABTABAEI, SOLMAZ; LATELLA, GIOVANNI; STEIN, ULRIKE; AKHONDZADEH, SHAHIN; SOLANKI, NAIMESH; GONDRÉ-LEWIS, MARJORIE C. Saffron: the golden spice with therapeutic properties on digestive diseases. **Nutrients**, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 943, 26 abr. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11050943>.

AZUMA, YUMIKO; MIZUTA, IKUKO; TOKUDA, TAKAHIKO; MIZUNO, TOSHIKI. Amyotrophic Lateral Sclerosis Model. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], p. 79-95, 2018. Springer Singapore. [http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0\\_6](http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0_6).

**B.F.G. Brazilian Flora Group.** Growing Knowledge: An Overview of Seed Plant Diversity in Brazil. Rodriguésia, 66, 1085-1113. 2015. <https://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201566411>.

BELLAVIA, Daniele; CARADONNA, Fabio; DIMARCO, Eufrosina; COSTA, Viviana; CARINA, Valeria; LUCA, Angela de; RAIMONDI, Lavinia; GENTILE, Carla; ALESSANDRO, Riccardo; FINI, Milena. Terpenoid treatment in osteoporosis: this is where we have come in research. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 32, n. 11, p. 846-861, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2021.07.011>.

BENILOVA, Iryna; KARRAN, Eric; STROOPER, Bart de. The toxic A $\beta$  oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. **Nature Neuroscience**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 349-357, 29 jan. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nn.3028>.

BENZER, Seymour. BEHAVIORAL MUTANTS OF *Drosophila* ISOLATED BY COUNTERCURRENT DISTRIBUTION. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 1112-1119, set. 1967. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.58.3.1112>.

BHADANE, Bhushan S.; PATIL, Mohini P.; MAHESHWARI, Vijay L.; PATIL, Ravindra H.. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: a review. **Phytotherapy Research**, [S.L.], v. 32, n. 7, p. 1181-1210, 25 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.6066>.

BIER, Ethan. *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. **Nat Rev Genet.** 2005 Jan;6(1):9-23. PMID: 15630418. 2005. <https://doi.org/10.1038/nrg1503>.

BONINI, Nancy M.; FORTINI, Mark E. HUMAN NEURODEGENERATIVE DISEASE MODELING USING *DROSOPHILA*. **Annual Review Of Neuroscience**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 627-656, mar. 2003. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.26.041002.131425>.

BOTAS, Juan. *Drosophila* researchers focus on human disease. **Nat Genet.** 2007 May;39(5):589-91. <https://doi.org/10.1038/ng0507-589>. PMID: 17460691.

BRADFORD, Marion M.. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**,

[S.L.], v. 72, n. 1-2, p. 248-254, maio 1976. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

CAI, Zhiduan; DENG, Yulin; YE, Jianheng; ZHUO, Yangjia; LIU, Zezhen; LIANG, Yingke; ZHANG, Hui; ZHU, Xuejin; LUO, Yong; FENG, Yuanfa. Aberrant Expression of Citrate Synthase is Linked to Disease Progression and Clinical Outcome in Prostate Cancer. **Cancer Management And Research**, [S.L.], v. 12, p. 6149-6163, jul. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/cmar.s255817>.

CALERO-ARMIJOS, Lisbeth Lucia; HERRERA-CALDERON, Oscar; ARROYO-ACEVEDO, Jorge Luis; ROJAS-ARMAS, Juan Pedro; HAÑARI-QUISPE, Renán Dilton; FIGUEROA-SALVADOR, Linder. Histopathological evaluation of latex of Bellaco-Caspi, Himatanthus sucuuba (Spruce) Woodson on wound healing effect in BALB/C mice. June-2020, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 1045-1049, 2020. **Veterinary World**. <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2020.1045-1049>.

CARMO, M. K. B., FIGUEIREDO, M. O. V., SOUZA, J. M.; SOUZA, A. O., LIMA, C. A. C. Neuroprotective action of aspirin on Paraquat intoxication in on Drosophila. **Research, Society and Development**, 10(4): e30710414179. 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14179>

CASTILLO, D.; AREVALO, J.; HERRERA, F.; RUIZ, C.; ROJAS, R.; RENGIFO, E.; VAISBERG, A.; LOCK, O.; LEMESRE, J.-L.; GORNITZKA, H. Spirolactone iridoids might be responsible for the antileishmanial activity of a Peruvian traditional remedy made with Himatanthus sucuuba (Apocynaceae). **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 112, n. 2, p. 410-414, jun. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.025>.

CHANG, C.-C.; YANG, M.-H.; WEN, H.-M.; AND CHERN, J.-C. "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods," **Journal of Food and Drug Analysis**: Vol. 10 Iss. 3, Article 3. 2020. <https://dx.doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.

CHEN, Jian; MANGELINCKX, Sven; MA, Li; WANG, Zhengtao; LI, Weilin; KIMPE, Norbert de. Caffeoylquinic acid derivatives isolated from the aerial parts of Gynura divaricata and their yeast  $\alpha$ -glucosidase and PTP1B inhibitory activity. **Fitoterapia**, [S.L.], v. 99, p. 1-6, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2014.08.015>.

CHIANG, C., MAHALINGAM, S. AND FLAWS, J.A. Environmental Contaminants Affecting Fertility and Somatic Health. *Seminars in Reproductive Medicine*, 35, 241-249.2017. <https://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1603569>.

CHISTIakov, Dimitry A.; SOBENIN, Igor A.; REVIN, Victor V.; OREKHOV, Alexander N.; BOBRYshev, Yuri V.. Mitochondrial Aging and Age-Related Dysfunction of Mitochondria. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2014, p. 1-7, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/238463>.

COLOVIC, Mirjana B; KRSTIC, Danijela Z; LAZAREVIC-PASTI, Tamara D; BONDZIC, Aleksandra M; VASIC, Vesna M. Acetylcholinesterase Inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current Neuropharmacology**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 315-335, 1 abr. 2013. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/1570159x11311030006>.

COSTA, Lucio G.; MURPHY, Sheldon D. Cholinergic and opiate involvement in the antinociceptive effect of diisopropylfluorophosphate. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 24, n. 3, p. 733-736, mar. 1986. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90582-4](http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057(86)90582-4).

CROZIER, Alan; JAGANATH, Indu B.; CLIFFORD, Michael N.. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, [S.L.], v. 26, n. 8, p. 1001, 2009. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b802662a>.

CURTIS, Jessica M.; HAHN, Wendy S.; LONG, Eric K.; BURRILL, Joel S.; ARRIAGA, Edgar A. ; BERNLOHR, David A. Protein carbonylation and metabolic control systems. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 23, n. 8, p. 399-406, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2012.05.008>.

CUTLER, Timothy; SARKAR, Ankita; MORAN, Michael; STEFFENSMEIER, Andrew; PULI, Oorvashi Roy; MANCINI, Greg; TARE, Meghana; GOGIA, Neha; SINGH, Amit. Drosophila Eye Model to Study Neuroprotective Role of CREB Binding Protein (CBP) in Alzheimer's Disease. **PLoS One**. 14;10(9):e0137691. Sep 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137691>.

DA SILVA, Carlos Henrique Blum CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE EXTRATO DE Ilex paraguariensis A. St. HILAIRE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE IN VITRO E ANTIPARKINSONIANA IN VIVO / Carlos Henrique Blum da Silva; orientador, Flávio Henrique Reginatto, coorientador, Angela Machado de Campos, 2017. 161 p. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de PósGraduação em Farmácia, Florianópolis, 2017.

DEPETRIS-CHAUVIN, A., GALAGOVSKY, D., CHEVALIER, C. et al. Olfactory detection of a bacterial short-chain fatty acid acts as an orexigenic signal in Drosophila melanogaster larvae. **Sci Rep** 7, 14230 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14589-1>.

DEVI, Shweta; KUMAR, Vijay; SINGH, Sandeep Kumar; DUBEY, Ashish Kant; KIM, Jong-Joo. Flavonoids: potential candidates for the treatment of neurodegenerative disorders. **Biomedicines**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 99, 20 jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines9020099>.

DIAS, Vera; JUNN, Eunsung; MOURADIAN, M. Maral. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. **Journal Of Parkinson'S Disease**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 461-491, 2013. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jpd-130230>.

DINIZ, Tâmara Coimbra; SILVA, Juliane Cabral; LIMA-SARAIVA, Sarah Raquel Gomes de; RIBEIRO, Fernanda Pires Rodrigues de Almeida; PACHECO, Alessandra Gomes Marques; FREITAS, Rivelilson Mendes de; QUINTANS-JôNIOR, Lucindo José; QUINTANS, Jullyana de Souza Siqueira; MENDES, Rosemary Luciane; ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da Silva. The Role of Flavonoids on Oxidative Stress in Epilepsy. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2015, p. 1-9, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/171756>.

DORONKIN, Sergey; LAWRENCE, T. Reiter. "Drosophila orthologues to human disease genes: an update on progress". **Progress in nucleic acid research and molecular biology** vol. 82 (2008): 1-32. 2008. [https://doi.org/10.1016/S0079-6603\(08\)00001-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6603(08)00001-9)

DRECHSEL, Derek A.; PATEL, Manisha. Differential Contribution of the Mitochondrial Respiratory Chain Complexes to Reactive Oxygen Species Production by Redox Cycling Agents Implicated in Parkinsonism. **Toxicological Sciences**, [S.L.], v. 112, n. 2, p. 427-434, 18 set. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfp223>.

DUAVY, Sandra Mara; ECKER, Assis; SALAZAR, Gerson Torres; LORETO, Julia; COSTA, José Galberto Martins Da; VARGAS BARBOSA, Nilda. Pequi enriched diets protect Drosophila melanogaster against paraquat-induced locomotor deficits and oxidative stress. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, 1–14. 2019 <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2019.1642277>

DUSSOR, Gregory O.; HELESIC, Gabriela; HARGREAVES, Kenneth M.; FLORES, Christopher M. Cholinergic modulation of nociceptive responses in vivo and neuropeptide release in vitro at the level of the primary sensory neuron. **Pain**, [S.L.], v. 107, n. 1, p. 22-32, jan. 2004. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2003.09.022>.

ELLMAN, George L.; COURTNEY, K.Diane; ANDRES, Valentino; FEATHERSTONE, Robert M.. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 88-95, jul. 1961. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).

ENOMOTO, Masato; SLOW, Carmen; IGAKI, Tatsushi. Drosophila As a Cancer Model. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], p. 173-194, 2018. Springer Singapore. [http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0\\_10](http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0_10).

FELÍCIO, L.P.; SILVA, E.M.; RIBEIRO, V.; MIRANDA, C.T.; VIEIRA, I.L.B.F.; PASSOS, D.C.s.; FERREIRA, A.K.s.; VALE, C.R.; LIMA, D.C.s.; CARVALHO, S. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: smart/wing. **Genetics And Molecular Research**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 16-24, 2011. Genetics and Molecular Research. <http://dx.doi.org/10.4238/vol10-1gmr982>.

FERREIRA-VIEIRA, Talita H.; GUIMARAES, Isabella M.; SILVA, Flavia R.; RIBEIRO, Fabiola M. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. **Current Neuropharmacology**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 101-115, 22 jan. 2016. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/1570159x13666150716165726>.

FERREYRA, María L. Falcone; RIUS, Sebastián P; CASSATI, Paula. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. **Front Plant Sci**. 3:222, 28 Sep. 2012. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2012.00222>.

FFB - **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB82901>>. Acesso em: 02 mai. 2023

FIGUEIREDO, Cristiane; SANTOS, Joice Branco; CASTRO JUNIOR, José; WAKUI, Vinícius; RODRIGUES, João; ARRUDA, Mariana; MONTEIRO, Andrea; MONTEIRO-NETO, Valério; BOMFIM, Maria; KATO, Lucília. *Himatanthus drasticus* Leaves: chemical characterization and evaluation of their antimicrobial, antibiofilm, antiproliferative activities. **Molecules**, [S.L.], v. 22, n. 6, p. 910, 31 maio 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22060910>.

FLATT, Thomas. Life-History Evolution and the Genetics of Fitness Components in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, [S.L.], v. 214, n. 1, p. 3-48, 1 jan. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.119.300160>.

FREIRE, Cristiana M. Murbach; MARQUES, Márcia Ortiz M.; COSTA, Mirtes. Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 105, n. 1-2, p. 161-166, abr. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.013>.

FROHNERT, Brigitte I.; BERNLOHR, David A. Protein Carbonylation, Mitochondrial Dysfunction, and Insulin Resistance. **Advances In Nutrition**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 157-163, mar. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.3945/an.112.003319>.

GAO, Hong; HUANG, Yi-Na; GAO, Bo; LI, Peng; INAGAKI, Chika; KAWABATA, Jun. Inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase by *Adhatoda vasica* Nees. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 108, n. 3, p. 965-972, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.002>.

GASIOROWSKI, Kazimierz; LAMER-ZARAWSKA, Eliza; LESZEK, Jerzy; PARVATHANENI, Kalpana; YENDLURI, Bharat Bhushan; BLACH-OLSZEWSKA, Zofia; ALIEV, Gjumarach.

Flavones from Root of *Scutellaria Baicalensis* Georgi: drugs of the future in neurodegeneration?. **Cns & Neurological Disorders - Drug Targets**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 184-191, 1 mar. 2011. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/187152711794480384>.

**GBIF – Sistema Global de Informação sobre Biodiversidade**. Disponível em: <https://www.gbif.org/pt/what-is-gbif/> Acesso em 23/03/2022.

GEISSLER, Klaus; ZACH, Otto. Pathways involved in Drosophila and human cancer development: the notch, hedgehog, wingless, runt, and trithorax pathway. **Annals Of Hematology**, [S.L.], v. 91, n. 5, p. 645-669, 16 mar. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-012-1435-0>.

GILBERT, Edwin Prem Kumar; EDWIN, Lydia. A Review on Prediction Models for Pesticide Use, Transmission, and Its Impacts. **Reviews Of Environmental Contamination And Toxicology Volume 257**, [S.L.], p. 37-68, 2021. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/398\\_2020\\_64](http://dx.doi.org/10.1007/398_2020_64).

GIORGETTI, Melina; NEGRI, Giuseppina; RODRIGUES, Eliana. Brazilian plants with possible action on the central nervous system—A study of historical sources from the 16th to 19th century. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 109, n. 2, p. 338-347, jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.08.003>.

GONZALEZ, Gabriel; HODOŇ, Jiří; KAZAKOVA, Anna; D'ACUNTO, Cosimo Walter; KAŇOVSKÝ, Petr; URBAN, Milan; STRNAD, Miroslav. Novel pentacyclic triterpenes exhibiting strong neuroprotective activity in SH-SY5Y cells in salsolinol- and glutamate-induced neurodegeneration models. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 213, p. 113168, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113168>.

GOOD, Paul F.; OLANOW, C.W.; PERL, Daniel P. Neuromelanin-containing neurons of the substantia nigra accumulate iron and aluminum in Parkinson's disease: a lamina study. **Brain Research**, [S.L.], v. 593, n. 2, p. 343-346, out. 1992. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91334-b](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(92)91334-b).

GRAY, Lawrence R.; TOMPKINS, Sean C.; TAYLOR, Eric B. Regulation of pyruvate metabolism and human disease. **Cellular And Molecular Life Sciences**, [S.L.], v. 71, n. 14, p. 2577-2604, 21 dez. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-013-1539-2>.

GREEN K, BRAND MD, MURPHY MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*. 2004; 53(Suppl 1): 110-8.

GRUNENVALDT, Renata Lúcia; DEGENHARDT-GOLDBACH, Juliana; BROOKS, Peter, TOMASI, Jéssica De Cássia; HANSEL, Fabrício Augusto; TRAN, Trong; GOMES, Erik N; DESCHAMPS, Cícero. Callus culture as a new approach for the production of high added value compounds in *Ilex paraguariensis*: genotype influence, medium optimization and compounds identification. **An Acad Bras Cienc** 92(3): e20181251. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765202020181251>

GUERRA, Carlos A. Amasifuen; PATEL, Kirti; DELPRETE, Piero G.; SPINA, Andréa P.; GRADOS, Juan; VÁSQUEZ-OCMÍN, Pedro; GADEA, Alice; ROJAS, Rosario; GUZMÁN, Jesús; SAUVAIN, Michel. Patterns of Plumericin Concentration in Leaves of *Himatanthus tarapotensis* (Apocynaceae) and Its Interactions with Herbivory in the Peruvian Amazon. **Plants**, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 1011, 8 abr. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/plants11081011>.

HARON, Farah F.; SIJAM, Kamaruzaman; OMAR, Dzolkhifli; RAHMANI, Mawardi. Bioassay-guided Isolation of Antifungal Plumericin from Allamanda Species (Apocynaceae). **Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 158-162, 15 mar. 2013. Science Alert. <http://dx.doi.org/10.3923/jbs.2013.158.162>.

HARRIS, Richard A.; TINDALE, Lauren; LONE, Asad; SINGH, Olivia; MACAULEY, Shannon L.; STANLEY, Molly; HOLTZMAN, David M.; BARTHA, Robert; CUMMING, Robert C. Aerobic Glycolysis in the Frontal Cortex Correlates with Memory Performance in Wild-Type Mice But Not the APP/PS1 Mouse Model of Cerebral Amyloidosis. **The Journal Of Neuroscience**, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 1871-1878, 10 fev. 2016. Society for Neuroscience. <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.3131-15.2016>.

HATTESOHL, Miguel; FEISTEL, Björn; SIEVERS, Hartwig; LEHNFIELD, Romanus; HEGGER, Mirjam; WINTERHOFF, Hilke. Extracts of Valeriana officinalis L. s.l. show anxiolytic and antidepressant effects but neither sedative nor myorelaxant properties. **Phytomedicine**, [S.L.], v. 15, n. 1-2, p. 2-15, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2007.11.027>.

HE, Xiu; TU, Ying; SONG, Yawen; YANG, Guanghong; YOU, Mingdan. The relationship between pesticide exposure during critical neurodevelopment and autism spectrum disorder: a narrative review. **Environmental Research**, [S.L.], v. 203, p. 111902, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2021.111902>.

HEPPNER, Frank L.; RANSOHOFF, Richard M.; BECHER, Burkhard. Immune attack: the role of inflammation in alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 358-372, 20 maio 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3880>.

HERNÁNDEZ, Antonio F.; GIL, Fernando; LACASAÑA, Marina. Toxicological interactions of pesticide mixtures: an update. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 91, n. 10, p. 3211-3223, 28 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-017-2043-5>.

HERRERA-CALDERÓN, O.; CALERO-ARMIJOS, L.L.; CARDONA-G, W.; HERRERA-R, A.; MORENO, G.; ALGARNI, M.A.; ALQARNI, M.; EL-SABER BATIHA, G. Phytochemical Screening of Himatanthus sucuba (Spruce) Woodson (Apocynaceae) Latex, In Vitro Cytotoxicity and Incision Wound Repair in Mice. *Plants* 2021, 10, 2197. <https://doi.org/10.3390/plants10102197>

HEYMAN, Heino Martin; SENEJOUX, François; SEIBERT, Isabell; KLIMKAIT, Thomas; MAHARAJ, Vinesh Jaichand; MEYER, Jacobus Johannes Marion. Identification of anti-HIV active dicaffeoylquinic- and tricaffeoylquinic acids in Helichrysum populifolium by NMR-based metabolomic guided fractionation. **Fitoterapia**, [S.L.], v. 103, p. 155-164, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2015.03.024>.

HOSAMANI, Ravikumar. ACUTE EXPOSURE OF Drosophila melanogaster TO PARAQUAT CAUSES OXIDATIVE STRESS AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION. **Archives Of Insect Biochemistry And Physiology**, [S.L.], v. 83, n. 1, p. 25-40, 5 abr. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/arch.21094>.

HUSSAIN, Javid; REHMAN, Najeeb Ur; HUSSAIN, Hidayat; AL-HARRASI, Ahmed; ALI, Liaqat; RIZVI, Tania Shamim; AHMAD, Mansoor; MEHJABEEN. Analgesic, anti-inflammatory, and CNS depressant activities of new constituents of Nepeta clarkei. **Fitoterapia**, [S.L.], v. 83, n. 3, p. 593-598, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2012.01.002>.

HUSSEINY, Iman M. El; KHOLY, Samar El; MOHAMED, Amira Z.; MESHRIF, Wesam S.; ELBREENSE, Hanaa. Alterations in biogenic amines levels associated with age-related muscular tissue impairment in Drosophila melanogaster. **Saudi Journal Of Biological**

**Sciences**, [S.L.], v. 29, n. 5, p. 3739-3748, maio 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.006>.

INAGAKI, Hidehiko K; KAMIKOUCHI, Azusa; ITO, Kei. Methods for quantifying simple gravity sensing in *Drosophila melanogaster*. **Nature Protocols**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 20-25, 10 dez. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.196>.

JANG, Goeun; LEE, Seul Ah; HONG, Joon Ho; PARK, Bo-Ram; KIM, Do Kyung; KIM, Chun Sung. Chondroprotective Effects of 4,5-Dicaffeoylquinic Acid in Osteoarthritis through NF- $\kappa$ B Signaling Inhibition. **Antioxidants**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 487, 28 fev. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox11030487>.

JANG, Goeun; LEE, Seulah; HONG, Joonho; PARK, Boram; KIM, Dokyung; KIM, Chunsung. Anti-Inflammatory Effect of 4,5-Dicaffeoylquinic Acid on RAW264.7 Cells and a Rat Model of Inflammation. **Nutrients**, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 3537, 9 out. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu13103537>.

JENTSCH, Thomas J. Neuronal KCNQ potassium channels: physiology and role in disease. **Nature Reviews Neuroscience**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 21-30, out. 2000. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/35036198>.

KABUTO, Hideaki; YOKOI, Isao; MORI, Akitane. Monoamine metabolites, iron induced seizures, and the anticonvulsant effect of tannins. **Neurochemical Research**, [S.L.], v. 17, n. 6, p. 585-590, jun. 1992. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00968787>.

KALLIORA, Charikleia; MAMOULAKIS, Charalampos; VASILOPOULOS, Eleni; STAMATIADIS, George A.; KALAFATI, Lydia; BAROUNI, Roza; KARAKOUSI, Triantafyllia; ABDOLLAHI, Mohammad; TSATSAKIS, Aristidis. Association of pesticide exposure with human congenital abnormalities. **Toxicology And Applied Pharmacology**, [S.L.], v. 346, p. 58-75, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2018.03.025>.

KHAN, Amjad A.; ALLEMAILEM, Khaled S.; ALHUMAYDHI, Fahad A.; GOWDER, Sivakumar J.T.; RAHMANI, Arshad H. The Biochemical and Clinical Perspectives of Lactate Dehydrogenase: an enzyme of active metabolism. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 855-868, 17 jul. 2020. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/1871530320666191230141110>.

KHATAMI, Zakie; HERDLINGER, Sonja; SARKHAIL, Parisa; ZEHL, Martin; KAEHLIG, Hanspeter; SCHUSTER, Daniela; ADHAMI, Hamid-Reza. Isolation and Characterization of Acetylcholinesterase Inhibitors from *Piper longum* and Binding Mode Predictions. **Planta Medica**, [S.L.], v. 86, n. 15, p. 1118-1124, 15 jul. 2020. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/a-1199-7084>.

KOURY, Josely Correa; DONANGELO, Carmen Marino. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 433-441, dez. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732003000400007>.

KREBS, Hans Adolf. Rate control of the tricarboxylic acid cycle. **Advances In Enzyme Regulation**, [S.L.], v. 8, p. 335-353, 1970. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0065-2571\(70\)90028-2](http://dx.doi.org/10.1016/0065-2571(70)90028-2).

KUMAR, Parveen; SINGH, Amit; SHARMA, Umakant; SINGH, Dharmendra; DOBHALL, M.P.; SINGH, Sarman. Anti-mycobacterial activity of plumericin and isoplumericin against MDR *Mycobacterium tuberculosis*. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 332-335, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pupt.2013.01.003>.

KUMAR, Vipin; PRAKASH, Om; KUMAR, Sunil; NARWAL, Smita.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: a natural approach to treat diabetes. **Pharmacognosy Reviews**, [S.L.], v. 5, n. 9, p. 19, 2011. EManuscript Technologies. <http://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.79096>.

LARROSA CRR, DUARTE MR. Contribuição ao estudo anatômico do caule de *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae. **Rev bras farmacogn** [Internet]. 2005Apr;15(2):110–4. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000200007>.

LATIFOVIC, Lidija; FREEMAN, Laura E. Beane; SPINELLI, John J.; PAHWA, Manisha; KACHURI, Linda; BLAIR, Aaron; CANTOR, Kenneth P.; ZAHM, Shelia Hoar; WEISENBURGER, Dennis D.; MCLAUGHLIN, John R. Pesticide use and risk of Hodgkin lymphoma: results from the north american pooled project (napp). **Cancer Causes & Control**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 583-599, 20 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10552-020-01301-4>.

LAYALLE, Sophie; THEY, Laetitia; OURGHANI, Sarah; RAOUL, Cédric; SOUSTELLE, Laurent. Amyotrophic Lateral Sclerosis Genes in *Drosophila melanogaster*. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 904, 18 jan. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22020904>.

LAZAREVIC-PASTI, Tamara; LESKOVAC, Andreja; MOMIC, Tatjana; PETROVIC, Sandra; VASIC, Vesna. Modulators of Acetylcholinesterase Activity: From Alzheimer's Disease to Anti-Cancer Drugs. **Curr Med Chem**. 2017; 24(30):3283-3309. doi: 10.2174/0929867324666170705123509.

LEE, Bomi; JUNG, Kangsik; KIM, Dong-Hyun. Timosaponin AIII, a saponin isolated from *Anemarrhena asphodeloides*, ameliorates learning and memory deficits in mice. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 93, n. 2, p. 121-127, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2009.04.021>.

LI, Raymond; JOSE, Ann; POON, Jessica; ZOU, Cindy; ISTAFANOS, Maria; YAO, Sheldon C. Efficacy of osteopathic manipulative treatment in patients with Parkinson's disease: a narrative review. **Journal Of Osteopathic Medicine**, [S.L.], v. 121, n. 12, p. 891-898, 22 set. 2021. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/jom-2021-0081>.

LIANG, Ningjian; KITTS, David D. Amelioration of Oxidative Stress in Caco-2 Cells Treated with Pro-inflammatory Proteins by Chlorogenic Acid Isomers via Activation of the Nrf2–Keap1– ARE-Signaling Pathway. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 66, n. 42, p. 11008-11017, 27 set. 2018. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03983>.

LIMA, Maíra Souza; BITENCOURT, Mariana Oliveira; FURTADO, Allanny; TORRES-RÊGO, Manoela; SIQUEIRA, Emerson; OLIVEIRA, Ruth; ROCHA, Hugo Oliveira; ROCHA, Keyla Ferreira; SILVA-JÔNIO, Arnóbio; ZUCOLOTO, Silvana. *Aspidosperma pyrifolium* Has Anti-Inflammatory Properties: an experimental study in mice with peritonitis induced by *tityus serrulatus* venom or carrageenan. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 2248, 11 nov. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18112248>.

LINHARES, J.F.P., PINHEIRO, C.U.B., 2013. Caracterização do sistema de extração de látex de janaúba (*Himatanthus* Willd. ExSchult.-Apocynaceae), no Município de Alcântara, Estado do Maranhão, Brasil. *Rev. Pan-Amazônica de Saúde* 4, 23-31.

LINS, Francisca Sabrina.; TAVARES, Josean Fechine; DA SILVA, Marcelo Sobral; DE MELO, José Iranildo; SANTOS, George Luis; SILVA, Joanda Paolla; PEREIRA, Laiane Caline; ABREU, Lucas Silva. Chemical constituents isolated from *Mandevilla dardanoi* (Apocynaceae), in Proceedings of the MOL2NET'18, **Conference on Molecular**,

**Biomed.**, Comput. & Network Science and Engineering, 4th ed., 15 January 2018–20: Basel, Switzerland. 2018. <http://dx.doi.org/10.3390/mol2net-04-05519>.

LODISE, Olivia; PATIL, Ketki; KARSHENBOYM, Igor; PROMBO, Scott; CHUKWUEKE, Chidinma; PAI, S. Balakrishna. Inhibition of Prostate Cancer Cells by 4,5-Dicaffeoylquinic Acid through Cell Cycle Arrest. **Prostate Cancer**, [S.L.], v. 2019, p. 1-8, 23 maio 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/4520645>.

LUNA, E.M.; FREITAS, T.s.; CAMPINA, F.F.; COSTA, M.s.; ROCHA, J.e.; CRUZ, R.P.; SENA JÚNIOR, D.L.; SILVEIRA, Z.s.; MACEDO, N.s.; PINHEIRO, J.C.A.. Evaluation of phytochemical composition, toxicity in *Drosophila melanogaster* and effects on antibiotics modulation of *Plathymenia reticulata* Benth extract. **Toxicology Reports**, [S.L.], v. 8, p. 732-739, 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.03.020>.

MALTA, Serena Mares; BATISTA, Letícia Leandro; SILVA, Heitor Cappato Guerra; FRANCO, Rodrigo Rodrigues; SILVA, Matheus Henrique; RODRIGUES, Tamiris Sabrina; CORREIA, Lucas Ian Veloso; MARTINS, Mário Machado; VENTURINI, Gabriela; ESPINDOLA, Foued Salmen; SILVA, Murilo Vieira da; UEIRA-VIEIRA, Carlos. Identification of bioactive peptides from a Brazilian kefir sample, and their anti-Alzheimer potential in *Drosophila melanogaster*. **Sci Rep** **12**, 11065, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15297-1>

MAMBRO, Luana; SOUZA, Natalia Vasconcelos; SILVA, Wildson Max Barbosa. Atividade de alcaloides inibidores da acetilcolinesterase no tratamento da doença de *Alzheimer*: uma revisão sistemática. **J. Health Biol. Sci.** 10(1):1-10. 2022. <https://10.12662/2317-2317-3206jhbs.v10i1.4196.p1-10.2022>.

MANDEGARY, Ali; SHARIFIFAR, Fariba; ABDAR, Maryam. Anticonvulsant Effect of the Essential Oil and Methanolic Extracts of *Zataria Multiflora* Boiss. **Central Nervous System Agents In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 93-97, 1 out. 2013. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/1871524911313020001>.

MATOS, L. G.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; REZENDE, M. H.; BARA, M. T. F.; SILVEIRA, E. M.; COSTA, E. A.; PAULA, J. R. Estudo farmacognóstico de folhas e raízes da *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, p. 574-584, 2014. [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/13\\_045](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/13_045).

MCCUNE, Letitia M.; JOHNS, Timothy. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the Indigenous Peoples of the North American boreal forest. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 82, n. 2-3, p. 197-205, out. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00180-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00180-0).

MEINHART, Adriana Dillenburg; DAMIN, Fernanda Mateus; CALDEIRÃO, Lucas; SILVEIRA, Tayse Ferreira Ferreira da; TEIXEIRA FILHO, José; GODOY, Helena Teixeira. Chlorogenic acid isomer contents in 100 plants commercialized in Brazil. **Food Research International**, [S.L.], v. 99, p. 522-530, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.017>.

MERFORT, Irmgard; WENDISCH, Detlef. Flavonoidglycoside aus *Arnica montana* und *Arnica chamissonis*. **Planta Medica**, [S.L.], v. 53, n. 05, p. 434-437, out. 1987. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-962766>.

MICHAELIS, Leonor; HILL, Edgar S.. Potentiometric Studies on Semiquinones. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 55, n. 4, p. 1481-1494, abr. 1933. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja01331a027>.

MOLOUDIZARGARI, Milad; MIKAILI, Peyman; AGHAJANSHAKERI, Shahin; ASGHARI, Mohammadhossein; SHAYEGH, Jalal. Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum*

harmala and its main alkaloids. **Pharmacognosy Reviews**, [S.L.], v. 7, n. 14, p. 199, 2013. EManuscript Technologies. <http://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.120524>.

MONTERO, I. F., CHAGAS, E. A., MELO FILHO, A. A., SARAIVA, S. A. M., SANTOS, R. C., CHAGAS, P. C., DUARTE, E. D. R. S. Evaluation of total phenolic compounds and antioxidant activity in Amazon fruit. *Chemical Engineering Transactions*, 64: 649-654, 2018. <https://doi.org/10.3303/CET1864109>.

MORALES, J. Francisco. Estudios en las Apocynaceae neotropicales XIX: la familia Apocynaceae (Apocynoideae, Rauvolfioideae) en Costa Rica. *Darwiniana* [online]. 2005, vol.43, n.1-4 [citado 2022-11-07], pp.90-191. Disponível em: <[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0011-67932005000100011&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0011-67932005000100011&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0011-6793.

MORAN, Michael Thomas; TARE, Meghana; KANGO-SINGH, Madhuri; SINGH, Amit. Homeotic Gene *teashirt (tsh)* has a neuroprotective function in amyloid-beta 42 mediated neurodegeneration. **PLoS One**. 2013 Nov 25;8(11): e80829. PMID: 24282556; PMCID: PMC3840013. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080829>.

MORGAN, Thomas H. "Chromosomes and heredity." *The American Naturalist* 44 (1910): 449–96. <http://www.jstor.org/stable/pdf/2455783.pdf> (Acessado em março 25, 2023).

MOURA, Danielle Feijó de; ROCHA, Tamiris Alves; BARROS, Dayane de Melo; SILVA, Marlllyn Marques da; LIRA, Maria Aparecida da Conceição de; SOUZA, Talita Giselly dos Santos; SILVA, Camila Joyce Alves da; AGUIAR JÚNIOR, Francisco Carlos Amanajás de; CHAGAS, Cristiano Aparecido; SANTOS, Noemia Pereira da Silva. Evaluation of the cytotoxicity, oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity of the latex extracted from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (Apocynaceae). **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 253, p. 112567, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.112567>. MUFFAT, Julien; WALKER, David W; BENZER, Seymour. Human ApoD, an apolipoprotein up-regulated in neurodegenerative diseases, extends in *Drosophila*. **PNAS**. 105 (19) 7088 - 7093. 2008. <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.0800896105>.

MUKHERJEE, Pulok K.; KUMAR, Venkatesan; MAL, Mainak; HOUGHTON, Peter J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. **Phytomedicine**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 289-300, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2007.02.002>.

MUS, Ahmad Asnawi; GOH, Lucky Poh Wah; MARBAWI, Hartinie; GANSAU, Jualang Azlan. The Biosynthesis and Medicinal Properties of Taraxerol. **Biomedicines**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 807, 30 mar. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10040807>.

NISHIMURA, Mayuko; OCORR, Karen; BODMER, Rolf; CARTRY, Jérôme. *Drosophila* as a model to study cardiac aging. **Experimental Gerontology**, [S.L.], v. 46, n. 5, p. 326-330, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2010.11.035>.

NUDELMAN, Kelly N. H.; MCDONALD, Brenna C.; LAHIRI, Debomoy K.; SAYKIN, Andrew J.. Biological Hallmarks of Cancer in Alzheimer's Disease. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 56, n. 10, p. 7173-7187, 16 abr. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-019-1591-5>.

OCORR, Karen; REEVES, Nick L.; WESSELLS, Robert J.; FINK, Martin; CHEN, H.-S. Vincent; AKASAKA, Takeshi; YASUDA, Soichiro; METZGER, Joseph M.; GILES, Wayne; POSAKONY, James W. KCNQ potassium channel mutations cause cardiac arrhythmias in *Drosophila* that mimic the effects of aging. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 104, n. 10, p. 3943-3948, 6 mar. 2007. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0609278104>.

OKOYE, Nkeoma Nkasi; NWOKOYE, Joy Nwando; OKOYE, Chukwuma. *Alstonia boonei* De Wild (Apocynaceae) – A review of its Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities. *Journal of Current Biomedical Research*, 1(4), 95–116. 2022. <https://journals.unizik.edu.ng/index.php/jcbr/article/view/879>

PANDEY, Udai Bhan; NICHOLS, Charles D. Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery. **Pharmacological Reviews**, [S.L.], v. 63, n. 2, p. 411-436, 17 mar. 2011. American Society for Pharmacology & Experimental Therapeutics (ASPET). <http://dx.doi.org/10.1124/pr.110.003293>.

PAULA, M. T.; ZEMOLIN, A. P.; VARGAS, A. P.; GOLOMBIESKI, R. M.; LORETO, E. L. S.; SAIDELLES, A. P.; PICOLATO, R. S.; FLORES, E. M. M.; PEREIRA, A. B.; ROCHA, J. B. T.. Effects of Hg (II) Exposure on MAPK Phosphorylation and Antioxidant System in *D. melanogaster*. **Environmental Toxicology**, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 621-630, 14 jun. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/tox.21788>.

PAYÃO, Spencer Luiz Marques; GONÇALVES, Gisela Moraes; LABIO, Roger William de; Horiguchi, Lie; MIZUMOTO, Igor; RASMUSSEN, Lucas Trevizani; PINHEL, Marcela Augusta de Souza; SOUZA, Dorotéia Rossi Silva; BECHARA, Marcelo Dib; CHEN, Elizabeth. Association of interleukin 1 $\beta$  polymorphisms and haplotypes with Alzheimer's disease. **Journal Of Neuroimmunology**, [S.L.], v. 247, n. 1-2, p. 59-62, jun. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.03.012>.

PERVEEN, S., KUMARI, S., RAJ, H. Efeitos do fluoreto de sódio e do extrato de *Ocimum sanctum* sobre a vida útil e capacidade de escalada de *Drosophila melanogaster*. **JoBAZ** 82, 32. 2021. <https://doi.org/10.1186/s41936-021-00229-8>.

PLUMEL, M. M. Le genre *Himatanthus* (Apocynaceae). Revisión taxonomique: brandea. **Boletim do Herbarium Bradeanu**, v. 5, p. 1-20, 1991.

POPOV, S. SIMEON.; HANDJIEVA, V. NEDYALKA. Mass spectrometry of iridoids. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 2, p. 481-514, 1983. doi: 10.1002/mas.1280020404.

PORRES-MARTÍNEZ, M.; GONZÁLEZ-BURGOS, E.; CARRETERO, M. E.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P. Major selected monoterpenes  $\alpha$ -pinene and 1,8-cineole found in *Salvia lavandulifolia* (Spanish sage) essential oil as regulators of cellular redox balance. **Pharmaceutical Biology**, [S.L.], v. 53, n. 6, p. 921-929, 4 dez. 2014. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2014.950672>.

PRÜßING, K., VOIGT, A. & SCHULZ, JB *Drosophila melanogaster* como um organismo modelo para a doença de Alzheimer. *Mol Neurodegeneration* 8 , 35. 2013. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-35>

RACCHI, M. Acetylcholinesterase inhibitors: novel activities of old molecules. **Pharmacological Research**, [S.L.], v. 50, n. 4, p. 441-451, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2003.12.027>.

RAJAPAKSE, Thilinie; DAVENPORT, William Jephtha. Phytomedicines in the Treatment of Migraine. **Cns Drugs**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 399-415, 9 jan. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40263-018-0597-2>.

RAPA, Shara F.; WALTENBERGER, Birgit; PAOLA, Rosanna di; ADESSO, Simona; SIRACUSA, Rosalba; PERITORE, Alessio F.; D'AMICO, Ramona; AUTORE, Giuseppina; CUZZOCREA, Salvatore; STUPPNER, Hermann. Plumericin prevents intestinal inflammation and oxidative stress in vitro and in vivo. **The Faseb Journal**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 1576-1590, 2 dez. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.201902040r>.

RAPA, Shara Francesca, ROSANNA Di Paola, MARIKA cordaro, ROSALBA Siracusa, RAMONA D'amico, ROBERTA Fusco, GIUSEPPINA Autore, SALVATORE Cuzzocrea, HERMANN Stuppner, AND STEFANIA Marzocco. "Plumericin Protects against Experimental Inflammatory Bowel Disease by Restoring Intestinal Barrier Function and Reducing Apoptosis" **Biomedicines** 9, no. 1: 67. 2021. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9010067>.

REBOUÇAS, S.O. et al. Antiproliferative effect of a traditional remedy, *Himatanthus articulatus* bark, on human cancer cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 926- 992, 2011.

**REFLORA - Herbário Virtual**. Disponível em: <https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/> Acesso em 4/11/2022.

REICHERT, Heinrich. How the humble insect brain became a powerful experimental model system. **Journal Of Comparative Physiology A**, [S.L.], v. 203, n. 11, p. 879-889, 22 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00359-017-1206-4>.

RENTON, Alan E.; MAJOUNIE, Elisa; WAITE, Adrian; SIMÓN-SÁNCHEZ, Javier; ROLLINSON, Sara; GIBBS, J. Raphael; SCHYMICK, Jennifer C.; LAAKSOVIRTA, Hannu; VANĚ SWIETEN, John C.; MYLLYKANGAS, Liisa. A Hexanucleotide Repeat Expansion in C9ORF72 Is the Cause of Chromosome 9p21-Linked ALS-FTD. **Neuron**, [S.L.], v. 72, n. 2, p. 257-268, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.010>.

RIBEIRO, Darcy. O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil São Paulo, Companhia das Letras. 1995.

RICHARDSON, Jason R.; FITSANAKIS, Vanessa; WESTERINK, Remco H. S.; KANTHASAMY, Anumantha G.. Neurotoxicity of pesticides. **Acta Neuropathologica**, [S.L.], v. 138, n. 3, p. 343-362, 13 jun. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00401-019-02033-9>.

ROUSH, Wade. In the Fruit Fly, Cell Death Genes May Come in Pairs. **Science**, [S.L.], v. 269, n. 5225, p. 753-753, 11 ago. 1995. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.7638582>.

SAENGSAI, Jutamas; KONGTUNJANPHUK, Sumonthip; YOSWATTHANA, Nuttawan; KUMMALUE, Tanawan; JIRATCHARIYAKUL, Weena. Antibacterial and Antiproliferative Activities of Plumericin, an Iridoid Isolated from *Momordica charantia* Vine. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2015, p. 1-10, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/823178>.

SANDOVAL-INSASTI, Helena; CHIU, Yu-Han; LEE, Dong Hoon; WANG, Siwen; HART, Jaime E.; MÍNGUEZ-ALARCÓN, Lidia; LADEN, Francine; KORAT, Andres V. Ardisson; BIRMANN, Brenda; ELIASSEN, A. Heather. Intake of fruits and vegetables by pesticide residue status in relation to cancer risk. **Environment International**, [S.L.], v. 156, p. 106744, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2021.106744>.

SANTOS, A. C. B.; SILVA, M. A. P.; SANTOS, M. A. F.; LEITE, T. R. Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de Apocynaceae Juss. Ocorrentes no Brasil Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.15, n.3, p.442-458, 2013.

SANTOS, M. F. G., MAMEDE, R. V. S., RUFINO, M. S. M., BRITO, E. S., ALVES, R. E. Amazonian native palm fruits as sources of antioxidant bioactive compounds. **Antioxidants**, 4(3): 591-602. 2015. <https://doi.org/10.3390/antiox4030591>.

SANTOS, Paula Correia Medeiros dos. Propriedades antioxidante, antimicrobiana e toxicidade do extrato da casca do alho (*Allium sativum* L.). 2022. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

SCIALÒ, Filippo; SRIRAM, Ashwin; STEFANATOS, Rhoda; SPRIGGS, Ruth V.; LOH, Samantha H.y.; MARTINS, L. Miguel; SANZ, Alberto. Mitochondrial complex I derived ROS regulate stress adaptation in *Drosophila melanogaster*. **Redox Biology**, [S.L.], v. 32, p. 101450, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2020.101450>.

SHAFIEE, Mojtaba; AREKHI, Soheil; OMRANZADEH, Alireza; SAHEBKAR, Amirhossein. Saffron in the treatment of depression, anxiety and other mental disorders: current evidence and potential mechanisms of action. **Journal Of Affective Disorders**, [S.L.], v. 227, p. 330- 337, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2017.11.020>.

SHARMA, Deepak; PRAJAPATI, Abhishek M; SHAH, Dhruv M. Review of a Case of Paraquat Poisoning in a Tertiary Care Rural-based ICU. **Indian Journal Of Critical Care Medicine**, [S.L.], v. 23, n. 6, p. 284-286, 2019. Jaypee Brothers Medical Publishing. <http://dx.doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23182>.

SHARMA, Umakant; KUMAR, Parveen; SINGH, Dharmendra; DOBHAL, Mp. Antiparasitic activity of plumericin & isoplumericin isolated from *Plumeria bicolor* against *Leishmania donovani*. **The Indian Journal Of Medical Research**, [S.L.], v. 134, n. 5, p. 709, 2011. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0971-5916.91005>.

SHARPE, Joanne; HARPER, Nikki; GARNER, Duncan; and WEST, Ryan JH Modeling C9orf72-Related Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis in *Drosophila*. **Front. Cell. Neurosci.** 15:770937. 2021. <http://dx.doi.org/10.3389/fncel.2021.770937>

SHEPHERD, D.; GARLAND, P. B.. The kinetic properties of citrate synthase from rat liver mitochondria. **Biochemical Journal**, [S.L.], v. 114, n. 3, p. 597-610, 1 set. 1969. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/bj1140597>.

SHRESTHA, S., KAMEL, F., UMBACH, D. M., FREEMAN, L. E. B., KOUTROS, S., ALAVANJA, M., BLAIR, A., SANDLER, D. P., & CHEN, H. High Pesticide Exposure Events and Olfactory Impairment among U.S. Farmers. **Environmental health perspectives**, 127(1), 17005. 2019. <https://dx.doi.org/10.1289/EHP3713>.

SIDDIQUI, Shahida Anusha; REDHA, Ali Ali; SNOECK, Edgar Remmet; SINGH, Shubhra; SIMAL-GANDARA, Jesus; IBRAHIM, Salam A.; JAFARI, Seid Mahdi. Anti-Depressant Properties of Crocin Molecules in Saffron. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 7, p. 2076, 23 mar. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27072076>.

SILVA Jefferson Rocha A; REZENDE, Claudia M; PINTO, Angelo C; PINHEIRO, Maria LB; CORDEIRO. Milade C; TAMBORINI, Everaldo; YOUNG, Cláudia M; BOLZANI, Vanderlan S. Ésteres triterpênicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. **Quim Nova**. 1998; 21: 702-704. 1998. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421998000600005>.

SILVA, Jefferson Rocha A; REZENDE, Claudia M; PINTO, Angelo C; AMARAL, Ana Claudia F. Cytotoxicity and antibacterial studies of iridoids and phenolic compounds isolated from the latex of *Himatanthus sucuuba*. **African Journal of Biotechnology**. Vol. 9 No.43. 2016. <http://dx.doi.org/10.4314/AJB.V9I43>

SILVA, Milene Barbosa da; SILVA, Márcia Pinheiro da; REIS JÚNIOR, José Dobles Dias dos; LIMA, Carlos Antônio Couto; SOUZA, Anderson de Oliveira. Therapeutics Activities of Amazonian Plant *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson (Apocynaceae): a review. **Journal Of Advances In Biology & Biotechnology**, [S.L.], p. 1-14, 30 mar. 2021. Sciencedomain International. <http://dx.doi.org/10.9734/jabb/2021/v24i230197>.

SINGH, Ravindra Pratap; SHASHWAT, Sharad; Suman, KAPUR. "Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants." **J Indian Acad Clin Med** 5.3. 2004: 218-225.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M.. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Oxidants And Antioxidants Part A**, [S.L.], p. 152-178, 1999. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99017-1).

SOARES, F., FRAGA, A., NEVES, J., ROMERO, N., BANDEIRA, M. Ethnopharmacological and ethnobotanical study of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel (janaguba). **Rev. Bras. Pl. Med.** 17, 900-908. 2015.

SOUZA, Anderson de Oliveira; COUTO-LIMA, Carlos Antônio; CATALÃO, Carlos Henrique Rocha; SANTOS-JÚNIOR, Nilton Nascimento; DOS SANTOS, Júlia Fernanda; DA ROCHA, Maria Jose Alves; ALBERICI, Luciane Carla. Neuroprotective action of Eicosapentaenoic (EPA) and Docosahexaenoic (DHA) acids on Paraquat intoxication in *Drosophila melanogaster*. **NEUROTOXICOLOGY**, v. 70, p. 154-160, 2019.

SPINA, Andrea Pozetti. **Estudos taxonomico, micro-morfológico e filogenetico do genero Himatanthus Willd. ex Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae - Plumerieae)**. 2004. 191p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1597432>. Acesso em: 7 nov. 2023.

SPINAZZI, Marco; CASARIN, Alberto; PERTEGATO, Vanessa; SALVIATI, Leonardo; ANGELINI, Corrado. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. **Nature Protocols**, [S.L.], v. 7, n. 6, p. 1235-1246, 31 maio 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2012.058>.

SRERE, 1969

SRERE, Paul A. An eclectic view of metabolic regulation: control of citrate synthase activity. **Advances In Enzyme Regulation**, [S.L.], v. 9, p. 221-233, jan. 1971. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0065-2571\(71\)80046-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0065-2571(71)80046-8).

SRERE, Paul A. Citrate synthase. **Citric Acid Cycle**, [S.L.], p. 3-11, 1969. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(69\)13005-0](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(69)13005-0).

SRERE, Paul A.; PAVELKA, Susan; DAS, Nema. An unusual citrate synthase from mango fruit. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 44, n. 3, p. 717- 723, ago. 1971. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0006-291x\(71\)80142-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0006-291x(71)80142-0).

STAATS, Stefanie; LÜERSEN, Kai; WAGNER, Anika E.; RIMBACH, Gerald. *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 66, n. 15, p. 3737-3753, 5 abr. 2018. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05900>.

SU, Xin; YUAN, Chao; WANG, Li; CHEN, Runqi; LI, Xiangying; ZHANG, Yijun; LIU, Can; LIU, Xu; LIANG, Wanping; XING, Yanwei. The Beneficial Effects of Saffron Extract on Potential Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2021, p. 1-14, 19 jan. 2021. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2021/6699821>.

SUDATI, Jéssie Haiget. Avaliação do potencial terapêutico da Valeriana officinalis e do disseleneto de difenila frente à toxicidade induzida por rotenona em *Drosophila melanogaster*. 90f. 2012. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria - RS, 2012.

SUN, Jing; WU, Jing; ZHANG, Li; WAN, Qi-Yue; WANG, Li-Ci; LIU, Yao-Yang; WANG, Rong-Mei; SUN, De-Qing. Plumericin inhibits the viability of cervical cancer cells by induction of apoptosis through degradation of DNA structure. **Bangladesh Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 337, 18 mar. 2016. Bangladesh Journals Online (JOL). <http://dx.doi.org/10.3329/bjp.v11i2.24918>.

TANG, Fiona H. M.; LENZEN, Manfred; MCBRATNEY, Alexander; MAGGI, Federico. Risk of pesticide pollution at the global scale. **Nature Geoscience**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 206-210, 29 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>.

TERRY, R. D; DAVIES, P. Dementia of the Alzheimer Type. **Annual Review Of Neuroscience**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 77-95, mar. 1980. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ne.03.030180.000453>.

TORRES, Priscila Bezerra; CHOW, Fungyi; SANTOS, Janaína; SANTOS, Débora. Ensaio do potencial antioxidante de extratos de algas através do sequestro do ABTS•+ em microplaca. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2017. <https://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.10672.87041>

TRUTE, Andreas; NAHRSTEDT, Adolf. Identification and Quantitative Analysis of Phenolic Compounds from the Dry Extract of *Hedera helix*\*. **Planta Medica**, [S.L.], v. 63, n. 02, p. 177-179, abr. 1997. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-957639>.

TSUDA, Leo; LIM, Young-Mi. Alzheimer's Disease Model System Using *Drosophila*. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], p. 25-40, 2018. Springer Singapore. [http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0\\_3](http://dx.doi.org/10.1007/978-981-13-0529-0_3).

UMEZU, Toyoshi. Evaluation of Central Nervous System Acting Effects of Plant-Derived Essential Oils Using Ambulatory Activity in Mice. **Pharmacology & Pharmacy**, [S.L.], v. 04, n. 02, p. 160-170, 2013. Scientific Research Publishing, Inc.. <http://dx.doi.org/10.4236/pp.2013.42023>.

VALE, Valdicley Vieira. Estudo fitoquímico e atividade antiplasmodica em *Plasmodium falciparum* (W2) de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (Apocynaceae). 2014. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém, 2014. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

VARGAS, F. S.; ALMEIDA, P. D. O.; BOLETI, A. P. A.; PEREIRA, M. M.; SOUZA, T. P.; VASCONCELLOS, M. C.; NUNEZ, C. V.; POHLIT, A. M.; LIMA, E. S. (2016). Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1):83. 2016. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1061-9>.

VEECH, Richard L. The metabolism of lactate. **Nmr In Biomedicine**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 53- 58, abr. 1991. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/nbm.1940040204>.

VELOSO, Marcia Paranho; NAGEM, Tanus Jorge; OLIVEIRA, Tânia Toledo de.  $\beta$ -Dihidroplumericinic acid from *Himatanthus phagedaenicus*. **Biochemical Systematics And Ecology**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 669-671, set. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0305-1978\(98\)00125-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0305-1978(98)00125-2).

VIEGAS-JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quím. Nova** 29(2): 326-337. 2006.

VOLKENHOFF, Anne; WEILER, Astrid; LETZEL, Matthias; STEHLING, Martin; KLÄMBT, Christian; SCHIRMEIER, Stefanie. Glial Glycolysis Is Essential for Neuronal Survival in

Drosophila. **Cell Metabolism**, [S.L.], v. 22, n. 3, p. 437-447, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.006>.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis** - A thin layer cromatography atlas. 2.ed. Berlin: Springer, 1996. 384 p.

WALL-MEDRANO, Abraham. TANINOS HIDROLIZABLES; BIOQUÍMICA, ASPECTOS NUTRICIONALES Y ANALÍTICOS Y. **Nutricion Hospitalaria**, [S.L.], n. 1, p. 55-66, 1 jan. 2015. GRUPO AULA MEDICA. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>.

WANG, Yingfeng; LIU, Bo. Preparative isolation and purification of dicaffeoylquinic acids from the *Ainsliaea fragrans* champ by high-speed counter-current chromatography. **Phytochemical Analysis**, [S.L.], v. 18, n. 5, p. 436-440, 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pca.999>.

WASSARMAN, David A.; THERRIEN, Marc; RUBIN, Gerald M. The Ras signaling pathway in Drosophila. **Current Opinion In Genetics & Development**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 44-50, fev. 1995. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0959-437x\(95\)90052-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0959-437x(95)90052-7).

WATANABE, Louis P.; RIDDLE, Nicole C. New opportunities: drosophila as a model system for exercise research. **Journal Of Applied Physiology**, [S.L.], v. 127, n. 2, p. 482-490, 1 ago. 2019. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/japplphysiol.00394.2019>.

WEI, Ping; LIU, Qihong; XUE, Wen; WANG, Jiwu. A Colorimetric Assay of Citrate Synthase Activity in Drosophila Melanogaster. **J Vis Exp**. 2020 Jan 16;(155). <http://dx.doi.org/10.3791/59454>.

WESSELING, C., ARAGÓN, A., CASTILLO, L., CORRIOLS, M., CHAVERRI, F., DE LA CRUZ, E., KEIFER, M., MONGE, P., PARTANEN, T. J., RUEPERT, C., VAN WENDEL DE JOODE, B. Hazardous pesticides in Central America. **International journal of occupational and environmental health**, 7(4), 287-294. 2001. <https://dx.doi.org/10.1179/107735201800339236>.

WESTFALL, T. C.; WESTFALL, D. P. Em Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica, 10a. Ed.; BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L., eds.; Mc Graw Hill, 2006, cap. 6.

WOLFF, Simon P. Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 182-189, 1994. Elsevier. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33021-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33021-2).

WOOD CA, LEE K, VAISBERG AJ, KINGSTON DG, NETO CC, HAMMOND GB. A bioactive spirolactone iridoid and triterpenoids from *Himatanthus sucuuba*. **Chem Pharm Bull**. 2001; 49:1477-1478. <https://dx.doi.org/10.1248/cpb.49.1477>

WU, Qi-Zhen; ZHAO, Dong-Xia; XIANG, Juan; ZHANG, Mian; ZHANG, Chao-Feng; XU, Xiang-Hong. Antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities of four caffeoylquinic acids isolated from *Tussilago farfara*. **Pharmaceutical Biology**, [S.L.], v. 54, n. 7, p. 1117- 1124, 6 out. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2015.1075048>.

YAGI, Sakina; MOHAMMED, Atif B. Abeer; TZANOVA, Tzvetomira; SCHOHN, Hervé; ABDELGADIR, Haider; STEFANUCCI, Azzurra; MOLLICA, Adriano; ZENGİN, Gökhan. Chemical profile, antiproliferative, antioxidant, and enzyme inhibition activities and docking studies of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. and *Cymbopogon nervatus* (Hochst.) Chiov. from Sudan. **J Food Biochem**. 2020 Feb;44(2):e13107. Epub 2019 Dec 6. PMID: 31808956. <http://dx.doi.org/10.1111/jfbc.13107>.

YAMAGUCHI, Klenicy Kazumy Lima; SOUZA, Anderson de Oliveira. Antioxidant, hypoglycemic and neuroprotective activities of extracts from fruits native to the Amazon region:

A review. **Biotechnol J Int.** 2020;24(6):9-31. 2020. <https://dx.doi.org/10.9734/BJI/2020/v24i630119>

YIN, Lin-Lin; ZHU, Xing-Zu. The involvement of central cholinergic system in (+)-matrine-induced antinociception in mice. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 80, n. 3, p. 419-425, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2004.12.008>.

YU, Joyce E.; MALLAPATY, Anu; MILLER, Rachel L. It's not just the food you eat: environmental factors in the development of food allergies. **Environmental Research**, [S.L.], v. 165, p. 118-124, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2018.03.028>.

ZHAO, Baolu. Natural Antioxidants Protect Neurons in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. **Neurochemical Research**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 630-638, 6 jan. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-008-9900-9>.

ZHAO, Yong; GENG, Chang-An; MA, Yun-Bao; HUANG, Xiao-Yan; CHEN, Hao; CAO, Tuan-Wu; HE, Kang; WANG, Hao; ZHANG, Xue-Mei; CHEN, Ji-Jun. UFLC/MS-IT-TOF guided isolation of anti-HBV active chlorogenic acid analogues from *Artemisia capillaris* as a traditional Chinese herb for the treatment of hepatitis. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 156, p. 147-154, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.08.043>.

ZIEGLER, A. B., MÉNAGÉ, C., GRÉGOIRE, S., GARCIA, T., FERVEUR, J. F., BRETILLON, L., & GROSJEAN, Y. Lack of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids Causes Synapse Dysfunction in the *Drosophila* Visual System. **PloS one**, 10(8), e0135353. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135353>

## ANEXO 1 – Artigo: Protective effect of Amazonian *Himatanthus sucuuba* extracts in *Drosophila melanogaster* exposed to Paraquat

HOME / ARCHIVES / VOL. 11 NO. 17 / Agrarian and Biological Sciences

### Protective effect of Amazonian *Himatanthus sucuuba* extracts in *Drosophila melanogaster* exposed to Paraquat

**Márcia Pinheiro da Silva**

University of Amazonas; Federal University of Amazonas

<https://orcid.org/0000-0001-5240-3221>

**Douglas Ramalho Lisboa**

Federal University of Mato Grosso

<https://orcid.org/0000-0002-2114-1748>

**Stephanie Figueiredo Santos**

Federal University of Mato Grosso

<https://orcid.org/0000-0001-8725-5468>

**Cláudia Marlise Balbinotti Andrade**

Federal University of Mato Grosso

<https://orcid.org/0000-0003-2765-3717>

**Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi**

Federal University of Amazonas

<https://orcid.org/0000-0001-7998-410X>

**Rosany Piccolotto Carvalho**

Federal University of Amazonas

<https://orcid.org/0000-0002-1374-6181>

**Anderson de Oliveira Souza**

Federal University of Mato Grosso

<https://orcid.org/0000-0002-3067-380X>

DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i17.38931>

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*; Neuroprotection; Antioxidants; Amazonian plants.

**Research,  
Society and  
Development**

VOLUME 11 | NUMBER 17 | YEAR 2022

ISSN 2525-3409

 PDF

PUBLISHED

23/12/2022

## Abstract

The Amazon rainforest is an essential source of scientific knowledge, so several research groups seek to understand the role of Amazonian compounds in diseases. Among the vast flora, *Himatanthus sucuuba* has a variety of therapeutic purposes and is used for the first time in the neuroprotection induced by Paraquat (PQ) in *Drosophila melanogaster*. In our study, we carried out phytochemical assays with the hydroalcoholic extract of *H. sucuuba*, revealing qualitatively classes of secondary metabolites and quantitatively total phenols (43.33 mg GAE/g extract-1), total flavonoids (44.09 mg GAE/G Extract- 1) and antioxidant activity via DPPH and ABTS. Furthermore, exposure of adult *D. melanogaster* (wild strain, Canton Special) to PQ for 15 days caused increased oxidative stress, as evidenced by elevated levels of protein carbonyls, lactate, and acetylcholinesterase and citrate synthase activities. However, the diet supplemented with *H. sucuuba* (0.1 mg/mL) for 15 days prevented damage from oxidative stress triggered by PQ. Our study aims to demonstrate the protective effect of *H. sucuuba* extract on *D. melanogaster* exposed to PQ. Based on our results, we suggest that extracts from the bark of *H. sucuuba* can prevent or minimize human diseases caused by oxidative stress. Therefore, further studies on the mechanisms involved in such activities will be necessary.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*; Neuroprotection; Antioxidants; Amazonian plants.

## Resumo

A floresta amazônica é uma importante fonte de conhecimento científico, por isso, diversos grupos de pesquisa buscam compreender a atuação de compostos amazônicos nas doenças. Dentre a vasta flora, *Himatanthus sucuuba* apresenta uma variedade de fins terapêuticos, sendo aqui, utilizada pela primeira vez na neuroproteção induzida pelo Paraquat (PQ) em *Drosophila melanogaster*. Em nosso estudo, realizamos ensaios fitoquímicos com o extrato hidro alcoólico de *H. sucuuba* revelando qualitativamente classes de metabólitos secundários e quantitativamente fenóis totais (43,33 mg EAG/g extrato-1 ), flavonoides totais (44,09 mg EAG/G Extrato- 1 ) e atividade antioxidante via DPPH e ABTS. Ainda, a exposição *D. melanogaster* adultas (linhagem selvagem, Canton Special) ao PQ por 15 dias causou elevado estresse oxidativo, como evidenciado pelos elevados níveis de proteínas carboniladas, lactato e atividades de acetilcolinesterase e citrato sintase. Entretanto, a dieta suplementada com *H. sucuuba* (0.1 mg/mL) por 15 dias impediu os danos do estresse oxidativo desencadeados pelo PQ. O nosso estudo visa demonstrar o efeito protetor do extrato de *H. sucuuba* em *D. melanogaster* exposta ao PQ. Baseados em nossos resultados, sugerimos que os extratos provenientes das cascas de *H. sucuuba* podem prevenir ou minimizar doenças humanas causadas pelo estresse oxidativo, para tanto, demais estudos relacionados aos mecanismos envolvidos em tal ação serão necessários.

**Palavras-chave:** *Drosophila melanogaster*; Neuroproteção; Antioxidantes; Plantas amazônicas.

## Resumen

La selva amazónica es un importante manantial de conocimientos científicos, por eso diversos grupos de investigación buscan comprender la acción de los compuestos amazónicos sobre las enfermedades. Entre la extensa flora, el *Himatanthus sucuuba* tiene una variedad de efectos terapéuticos y, en este caso, se utilizó por primera vez en la neuroprotección inducida por el Paraquat (PQ) en *Drosophila melanogaster*. En este estudio, se realizaron ensayos fitoquímicos con el extracto hidroalcohólico de *H. sucuuba* mostrando cualitativamente las clases de metabolitos secundarios y cuantitativamente los fenoles totales (43,33 mg EAG/g Extracto-1), los flavonoides totales (44,09 mg EAG/G Extracto-1) y la actividad antioxidante por DPPH y ABTS. Por otra parte, la exposición de adultos de *D. melanogaster* (cepa salvaje, Canton Special) frente al PQ por 15 días, causó un alto estrés oxidativo, como muestran los niveles elevados de proteínas carboniladas, el lactato y actividades de acetilcolinesterasa y por el citrato sintasa. Además, una dieta suplementada con el extracto de *H. sucuuba* (0,1 mg/mL) por 15 días evitó los daños por el estrés oxidativo provocado por el PQ. Nuestro estudio es demostrar el efecto protector del extracto de *H. sucuuba* en *D. melanogaster* sometida al PQ. De acuerdo nuestros resultados, sugerimos que los extractos de la cáscara de *H. sucuuba* podrán prevenir o minimizar las enfermedades del ser humano causadas por el estrés oxidativo.

**Palabras clave:** *Drosophila melanogaster*; Neuroprotección; Antioxidantes; Plantas de la Amazonia.