

## Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas

MORAIS, S.M.<sup>1</sup>; LIMA, K.S.B.<sup>2</sup>; SIQUEIRA, S.M.C.<sup>1</sup>; CAVALCANTI, E.S.B.<sup>1</sup>; SOUZA, M.S.T.<sup>1</sup>; MENEZES, J.E.S.A.<sup>3</sup>; TREVISAN, M.T.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Química, Universidade Estadual do Ceará, Campus do Itaperi, Avenida Paranjana, 1700, Fortaleza-CE, CEP: 60740-000. <sup>2</sup>Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Avenida do Contorno, s/n, Pici, Fortaleza-CE, CEP: 60455-970. <sup>3</sup>Curso de Licenciatura em Química/Faculdade de Educação de Itapipoca, FACEDI-UECE, Av. Monsenhor Tabosa S/N, , Itapipoca-CE, CEP: 62500-000. selene@uece.br

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a correlação entre o conteúdo de fenóis de extratos de 18 plantas medicinais comuns nas Farmácias Vivas com a atividade sequestradora do radical livre DPPH e com a inibição da enzima acetilcolinesterase. Maiores conteúdos de fenóis totais foram encontrados nas plantas: *Eugenia uniflora*, *Lippia alba*, *Lippia microphylla*, *Mentha x villosa*, *Ocimum gratissimum* e *Ocimum selloi*. As espécies que apresentaram maior atividade antioxidante, semelhante a quercetina, foram: *Spondias mombim*, *Malphigia glabra*, *L. alba* e *Croton zehntneri*. As plantas *Cecropia pachystachia*, *L. alba*, *L. microphylla*, *M. glabra*, *O. gratissimum* e *Plectranthus ornatus* mostraram maiores halos de inibição da enzima acetilcolinesterase. Combinando as duas ações, as plantas mais ativas foram a *M. glabra* e a *L. alba* e somente a segunda correlaciona-se diretamente com o maior teor de fenóis totais. Através deste estudo, *M. glabra* e *L. alba* foram consideradas as plantas mais promissoras para estudos subsequentes a fim de encontrar novos compostos com ação potencial contra a doença de Alzheimer.

**Palavras-chave:** farmácias vivas, acetilcolinesterase, antiradical, doença de Alzheimer

**ABSTRACT: Correlation between the anti-radical, anti-acetylcholinesterase activities and phenolic content of some extracts of live herbal pharmacies in the Northeast of Brazil.** The purpose of this study was to evaluate the phenolic content of 18 medicinal plant extracts of "Live Pharmacies" and correlate them with their free radical scavenging activity and inhibition of the acetylcholinesterase enzyme. Higher amounts of phenolic compounds were found in the following plants: *Eugenia uniflora*, *Lippia alba*, *Lippia microphylla*, *Mentha x villosa*, *Ocimum gatissimum*, and *Ocimum selloi*. The species that showed higher anti-radical activity were *Croton zehntneri*, *Lippia alba*, *Malphigia glabra*, and *Spondias mombim*, similar to quercetin. The plants *Cecropia pachystachia*, *L. alba*, *L. microphylla*, *M. glabra*, *O. gratissimum*, and *Plectranthus ornatus* showed larger inhibition zones of the acetylcholinesterase enzyme. By correlating the two actions *L. alba* and *M. glabra* are common as more active to both tests and only *L. alba* correlates directly with the phenolic content. Through this study, *L. alba* and *M. glabra* are considered the most promising plants for further studies to find new compounds with potential action against Alzheimer's disease.

**Key words:** live pharmacies, acetylcholinesterase, anti-radical, Alzheimer's disease

### INTRODUÇÃO

O Nordeste Brasileiro apresenta enorme variedade de plantas e muitas para uso terapêutico, destacando-se as plantas utilizadas no programa farmácias vivas, criado pelo Prof. Francisco José de Abreu Matos (1998) da Universidade Federal do Ceará.

Nas plantas, a síntese de metabólitos

secundários antioxidantes que absorvem na faixa de 300 - 400 nm é significativamente aumentada por radiação UV fornecendo, portanto, maior proteção contra oxidantes prejudiciais gerados termicamente ou pela luz. Além disso, embora plantas medicinais sejam raramente utilizadas como antioxidantes em medicina tradicional, suas características

terapêuticas poderiam ser sustentadas em parte, pela sua capacidade sequestradora de radicais livres.

Acredita-se que as doenças como câncer, enfisema, cirrose, artrites, diabetes, inflamações, envelhecimento precoce e as neurodegenerativas crônicas como aterosclerose, mal de Parkinson e doença de Alzheimer estejam relacionadas com os radicais livres (Sorg, 2004). Por essa razão, terapias antioxidantes e dietas ricas ou enriquecidas com antioxidantes parecem prevenir ou pelo menos atenuar a deterioração orgânica por um excessivo estresse oxidativo (Guerra, 2001). Os antioxidantes mais comuns estão presentes nos alimentos da nossa dieta como a vitamina C, vitamina E, selênio e carotenóides.

Observa-se nas últimas décadas o crescimento da investigação científica nessa área, envolvendo o efeito de extratos brutos, de frações purificadas ou de componentes isolados, destacando-se compostos fenólicos que, em muitos estudos, têm demonstrado essa atividade (Skerget et al., 2005).

A doença de Alzheimer está associada com “déficits” dos diversos neurotransmissores cerebrais, como a acetilcolina, a noradrenalina e a serotonina (Bryne, 1998). O tratamento sintomático da doença de Alzheimer envolve primariamente a restauração da função colinérgica. Sugere-se, portanto, que uma elevação no nível da acetilcolina poderia ser útil para melhorar um dos sinais da doença, a deficiência de aprendizagem (Bierer et al., 1995). Atualmente os inibidores da enzima acetilcolinesterase demonstram a maior eficiência no tratamento clínico na doença de Alzheimer.

Algumas drogas provenientes de produtos naturais, especialmente de plantas, são eficazes no tratamento de várias doenças, como exemplo, a doença de Alzheimer (DA). O medicamento considerado mais efetivo no tratamento da DA é a galantamina, um alcalóide inibidor da enzima acetilcolinesterase (AChE), composto isolado de plantas da família Amaryllidaceae, que se mostrou um inibidor da AChE de longa ação, sendo seletivo, reversível e competitivo, cujos efeitos terapêuticos permanecem mesmo após o término do tratamento (López et al., 2002). O alcaloide isolado de *Eucharis grandiflora* (Amaryllidaceae), a sanguinina (9-O-desmetilgalantamina), mostrou-se 10 vezes mais ativo que a própria galantamina em ensaios *in vitro* (Viegas Júnior et al., 2004).

Alguns alcaloides triterpênicos foram isolados de *Buxus hircana*, como a homomoenodaramina e a moenodaramina, os quais se mostraram promissores inibidores de AChE (Ur-Rahman & Choudhary, 1999). Desta mesma família, *Buxus papillosa* forneceu outros três alcaloides esteroidais

inibidores seletivos de AChE: cicloprotobuxina, ciclovirobuxina e ciclomicrofilina (Ur-Rahman et al., 2001). Um estudo com extratos de diferentes plantas brasileiras apresentou excelentes resultados para as espécies *Amburana cearensis*, *Lippia sidoides*, *Paullinia cupana*, *Plathymiscium floribundum* e *Solanum asperum* (Trevisan & Macedo, 2003). Ampla revisão de literatura, realizada por Barbosa-Filho et al., (2006), apresentou seleção de 309 plantas pertencentes a 92 famílias botânicas, onde vários extratos revelaram relevante atividade contra a enzima acetilcolinesterase.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antiradical livre, o teor de compostos fenólicos e a inibição da enzima acetilcolinesterase de extratos das 18 plantas medicinais mais comuns no Horto de plantas medicinais Francisco José de Abreu Matos da Universidade Federal do Ceará, pertencentes ao programa farmácias vivas. Foi feito um levantamento bibliográfico sobre os tipos de compostos presentes nestas plantas que estão mostrados na Tabela 1, para tentar correlacionar com as atividades determinadas neste estudo.

## MATERIAL E MÉTODO

### Material vegetal e preparação dos extratos

As partes aéreas das 18 espécies de plantas medicinais estudadas foram coletadas em 16 de janeiro de 2006 no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará, e estão depositadas no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará sob os números de exsicata mostrados na Tabela 2. O material obtido foi previamente selecionado, seco em estufa a 60 °C, pesado e submetido à maceração com etanol 95% por 7 dias. Após este período foi feita a filtração e a concentração do extrato, destilando todo o solvente da solução em evaporador rotativo sob pressão reduzida.

### Avaliação da atividade anticolinesterásica *in vitro*

A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi realizada através do método de Ellman et al. (1961), adaptado para cromatografia em camada delgada por Rhee et al. (2001). O método é colorimétrico, utilizado de forma qualitativa e tem como princípio, a medida da razão de produção de tiocolina, quando o substrato acetilcolina é hidrolisado pela enzima acetilcolinesterase (AChE). Esta reação é acompanhada pela reação do tiol ácido 5,5'-Ditiobis(2-nitrobenzóico) (DTNB) para produzir o ânion 5-tio-2-nitrobenzoato de cor amarela que é

**TABELA 1.** Plantas estudadas com nome popular e tipos de compostos presentes.

Planta	Nome popular	Tipos de compostos presentes
<i>Alternanthera brasiliana</i> (L.) Kuntz	Anador, penicilina terramicina, Sempre viva	Flavonol-glicosídeos (Brochado et al., 2003)
<i>Bredemeyera floribunda</i> Willd	Pau caixão	Xantonas (Silveira et al., 1995)
<i>Capraria biflora</i> L.	Chá-de-calçada	orto-quinona biflorina (Sousa et al., 2004)
<i>Cassia alata</i> L.	Canafístula	Glicosídeos antracênicos, triterpenoides, Flavonoides (Bahorun et al., 2005)
<i>Cecropia pachystachia</i> Trec.	Torém	Flavonoides (Lorenzi & Matos, 2002)
<i>Croton zehntneri</i> Pax et Hoff.	Canela de cunhã	Monoterpenoides, sesquiterpenoides e aril-propanoides (Morais et al., 2006)
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitanga	Monoterpenoides, sesquiterpenoides, cianidinas, flavonoides e taninos (Oliveira et al., 2006; Griffis et al., 2009)
<i>Lippia alba</i> (Mill) Brown	Erva cidreira	Monoterpenoides e sesquiterpenoides (Rao et al., 2000) Iridóides (Barbosa et al., 2006)
<i>Lippia microphylla</i> Cham	Alecrim-de-tabuleiro	Monoterpenoides (Costa et al., 2005)
<i>Malpighia glabra</i> L.	Acerola	Antocianinas, Vitamina C (Lorenzi & Matos, 2002)
<i>Marsypianthes chamaedrys</i> (Vahl) Kuntze	Betônica brava	Triterpenoides (Menezes et al., 1999)
<i>Mentha x villosa</i> Huds	Menta	Monoterpenoides oxigenados (Craveiro et al., 2007)
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Alfavaca	Monoterpenoides, sesquiterpenoides, fenil-propanoides (Sousa et al., 2004)
<i>Ocimum selloi</i> Benth	Alfavaca	Aril-propanoides (Moraes et al., 2002)
<i>Phyllanthus amarus</i> Sohum et Thorn	Quebra-pedra	Lignanas (Kassuya et al., 2006)
<i>Plectranthus ornatus</i> Cold	Falso Boldo	Diterpenoides (Rijo et al., 2002), Monoterpenoides (Albuquerque et al., 2007)
<i>Punica granatum</i> L.	Romã	Taninos elágicos e alcaloides (Sousa et al., 2004)
<i>Spondias mombin</i> Jacq	Cajá	Sesquiterpenoides e taninos hidrolisáveis (Sousa et al., 2004)

**TABELA 2.** Número de exsicatas das espécies estudadas.

Espécies	nº de exsicata	Espécies	nº de exsicata
<i>A. brasiliana</i>	10039	<i>M. glabra</i>	35446
<i>B. floribunda</i>	15844	<i>M. chamaedrys</i>	39715
<i>C. biflora</i>	30848	<i>M. villosa</i>	16544
<i>C. alata</i>	12900	<i>O. gratissimum</i>	15012
<i>C. pachystachia</i>	26357	<i>O. selloi</i>	17611
<i>C. zehntneri</i>	2743	<i>P. amarus</i>	31592
<i>E. uniflora</i>	10840	<i>P. ornatos</i>	40080
<i>L. alba</i>	39590	<i>P. granatum</i>	14761
<i>L. microphylla</i>	8474	<i>S. mombin</i>	18437

visualizada em CCD.

Este bioensaio consiste na aplicação das amostras em CCD, seguida da pulverização da placa com o reagente de Ellman (DTNB) e solução de iodeto de acetilcolina (ATCI) em tampão apropriado. Em seguida, pulveriza-se a

placa com a enzima AChE (3 U mL<sup>-1</sup>). O método de Ellman é procedimento fidedigno para atividade da acetilcolinesterase e pode ser rotineiramente empregado para avaliar a atividade inibitória de constituintes químicos. Para a realização deste ensaio foram preparadas as seguintes soluções: (A)

50 mM Tris/HCl pH 8 (solução tampão); (B) 50 mM Tris/HCl pH 8, contendo 0,1% de albumina sérica bovina (BSA) (solução tampão); (C) 1 mM de ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB ou reagente de Ellman) e (D) 1 mM de iodeto de acetilcolina (ATCI). A enzima AChE (C-3389 Sigma) previamente liofilizada foi dissolvida na solução tampão (A) para fazer uma solução estoque de 1000 U/mL. Para se fazer a diluição da enzima utilizou-se a solução tampão (B).

Amostras de 5  $\mu$ L dissolvidas em solvente apropriado, na concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup>, foram aplicadas em CCDA (DC-Alufolien, Silicagel 60 F<sub>254</sub>, 0,2 mm de espessura da Merck). Após a evaporação do solvente pulverizou-se o substrato (ATCI, 1 mM em tampão) e o reagente de Ellman (DTNB, 1 mM em tampão 1), aguardou-se a secagem por 3 a 5 minutos e borrifou-se a enzima a uma concentração de 3 U mL<sup>-1</sup>. Decorridos aproximadamente 5 minutos, observou-se o desaparecimento da cor amarela e o aparecimento de halos brancos, cujos diâmetros foram imediatamente medidos. A presença de halos brancos em tornos dos "spots" das amostras é indicativo de que ocorreu a inibição da enzima AChE, responsável pela hidrólise do substrato acetilcolina. Como controle positivo foi usado o carbacol.

#### Avaliação da atividade antiradicalar

O radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) pode aceitar elétrons ou radical hidrogênio para tornar-se uma molécula diamagnética estável. Devido ao elétron ímpar, a solução etanólica do DPPH mostra forte banda de absorção a 515 nm. Tal reatividade tem sido usada para testar tanto a habilidade dos compostos de agirem como sequestradores de radicais livres, quanto à atividade antioxidante de extratos de plantas (Sousa et al., 2007; Mauriutti & Bragagnolo, 2007). A redução do radical DPPH pode ser observada pelo decréscimo na absorbância de 515 nm e desaparecimento de sua cor roxa.

Os extratos tiveram suas atividades testadas pelo monitoramento da absorbância da mistura reacional contendo 3,9 mL de solução metanólica de DPPH a 6,5 x 10<sup>-5</sup> M e 0,1 mL de solução metanólica dos extratos ou do controle positivo (quercetina) nas concentrações de 0,024; 0,075; 0,105 e 0,3 mg mL<sup>-1</sup>. As medidas de absorbância foram determinadas em um espectrofotômetro SPEKOL 1100 no comprimento de onda de 515 nm. O percentual de atividade sequestradora de radicais livres pelas amostras (AS%) dos extratos nas diferentes concentrações foi calculado pela expressão:

$$AS(\%) = \frac{A_{DPPH} - A}{A_{DPPH}} \times 100$$

Onde  $A_{DPPH}$  é a medida da absorbância inicial da solução de DPPH, e  $A$  é a absorbância da mistura reacional (solução metanólica dos extratos nas diferentes concentrações e solução de DPPH) no tempo de 60 minutos. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados obtidos foram analisados no programa estatístico Origin 7.0. Neste programa as regressões lineares dos 18 extratos foram obtidas de acordo com as suas diferentes concentrações em função dos percentuais de atividade sequestradora de radicais (AS%). Na equação da reta:  $y = a + bx$ ,  $y$  representa 50% do sequestro do radical livre DPPH e  $x$  é a concentração da amostra que sequestra 50%, ou seja a concentração eficiente (CE<sub>50</sub>) das amostras analisadas.

#### Determinação do teor de compostos fenólicos nos extratos

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão de referência. A leitura foi realizada a 765 nm em espectrofotômetro Spekol Modelo UV 1100. Os extratos foram diluídos em etanol 70% a uma concentração de 10 g L<sup>-1</sup>. Uma alíquota de 1 mL de amostra diluída foi transferida para um tubo com tampa de rosca e lhe foram adicionados 5 mL do reagente Folin Ciocalteu (Sigma Aldrich Chemical Co.) diluídos em água destilada 1:10. Esses reagentes ficaram em repouso de 3 a 8 min e a eles foram adicionados 4 mL de carbonato de sódio a 8% preparada previamente com antecedência de 12 h. Os tubos foram deixados em repouso por 2 h ao abrigo da luz e, na sequência, feita a leitura da absorbância a 765 nm. Um reagente branco foi conduzido nas mesmas condições. Todas as determinações foram feitas em triplicata. Foi construída uma curva analítica contendo 0,024; 0,075; 0,105 e 0,3 mg mL<sup>-1</sup> de ácido gálico e os resultados expressos em mg EAG.g<sup>-1</sup> dos extratos. EAG: equivalente em ácido gálico (MINUSSI et al., 2003).

#### RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antioxidante, teor de fenóis totais e atividade anti-acetilcolinesterásica estão mostrados na Tabela 3. Avaliando os resultados obtidos no teste de inibição da enzima acetilcolinesterase, observa-se que várias plantas apresentaram resultados positivos como *O. gratissimum*, *P. amarus*, *P. ornatus*, *S. mombin*, *L. microphylla*, *M. glabra*, *L. microphylla*, *L. Alba*, *C. pachystachia*, *C. zehntneri* e *E. uniflora*. Dentre as plantas que apresentaram resultados significativos, merecem destaque as espécies *L. alba* e *P. ornatus*,

as quais apresentaram os maiores valores de halos de inibição (HI) da enzima, 0,8 e 1,0 cm respectivamente, sendo o halo desta última igual ao do controle positivo carbaxol.

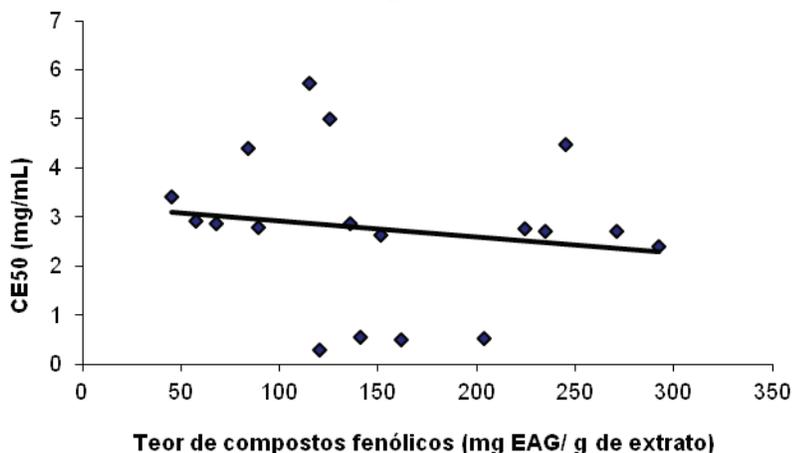
A Tabela 3 mostra também os valores de  $CE_{50}$ , concentração de amostra capaz de sequestrar 50% dos radicais DPPH, determinados para os 18 extratos das plantas e para o controle positivo (quercetina). Foi observado que os extratos de algumas plantas apresentaram atividade

antiradicalar próxima à quercetina, tais como: *C. zehntneri*, *L. alba*, *M. glabra* e *S. mombin*. Alguns estudos têm mostrado que a ingestão de antioxidantes reduz os riscos do aparecimento da doença de Alzheimer (DA) (Engelhart et al., 2002), enquanto a peroxidação lipídica contribui para a progressão da doença, portanto impedir a peroxidação através do uso de antioxidantes pode ser uma terapia alternativa para o tratamento da DA (Montine et al., 2002).

**TABELA 3.** Inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase em cromatografia de camada delgada (CCD), atividade anti-radical ( $CE_{50}$ ) e teor de fenóis totais nos extratos de plantas das Farmácias Vivas.

Plantas	Halos de Inibição (cm)	Teor de compostos fenólicos (mg EAG g <sup>-1</sup> de extrato)	$CE_{50}$ (mg mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
<i>A. brasiliiana</i>	-	115,07	5,73	0,999
<i>B. floribunda</i>	-	125,47	5,00	0,999
<i>C. biflora</i>	-	83,80	4,41	0,995
<i>C. alata</i>	-	-	3,41	0,997
<i>C. pachystachia</i>	0,7	68,13	2,87	0,994
<i>C. zehntneri</i>	0,6	120,27	0,29	0,996
<i>E. uniflora</i>	0,5	271,27	2,70	0,994
<i>L. alba</i>	0,8	203,60	0,54	0,999
<i>L. microphylla</i>	0,7	292,13	2,39	0,957
<i>M. glabra</i>	0,7	141,07	0,56	0,999
<i>M. chamaedrys</i>	-	57,73	2,91	0,970
<i>Mentha x villosa</i>	-	245,27	4,47	0,998
<i>O. gratissimum</i>	0,7	224,40	2,76	0,997
<i>O. selloi</i>	-	234,87	2,70	0,998
<i>P. amarus</i>	0,6	89,00	2,80	0,996
<i>P. ornatus</i>	1,0	151,47	2,63	0,996
<i>P. granatum</i>	-	135,87	2,87	0,994
<i>S. mombin</i>	0,6	161,87	0,51	0,994
Quercetina	-	-	0,23	0,999
Carboxol	1,0	-	-	

(-) Não apresentou atividade. EAG: equivalente em ácido gálico.  $CE_{50}$ , concentração de amostra capaz de sequestrar 50% dos radicais DPPH



**FIGURA 1.** Correlação entre a atividade antioxidante expressa pela  $CE_{50}$  e o teor de fenóis totais de plantas das Farmácias vivas.

Os dados da atividade antioxidante expressa pela  $CE_{50}$  e o teor de fenóis totais de plantas das Farmácias vivas foram colocados como pontos em um gráfico mostrado na Fig.1 para avaliação da correlação linear. Dez plantas demonstraram que a atividade antioxidante correlaciona-se com o teor de fenóis: *L. microphylla*, *E. uniflora*, *O. selloi*, *O. gratissimum*, *P. ornatos*, *P. granatum*, *P. amarus*, *C. pachystachia*, *M. chamaedrys* e *C. alata*. Analisando a Figura 1 ainda, observam-se quatro plantas com muito boa atividade antioxidante ( $CE_{50} < 1$ ), semelhantes a quercetina, a qual não está diretamente relacionada ao teor de fenóis totais: *L. alba*, *S. mombim*, *M. glabra* e *C. zehntneri*.

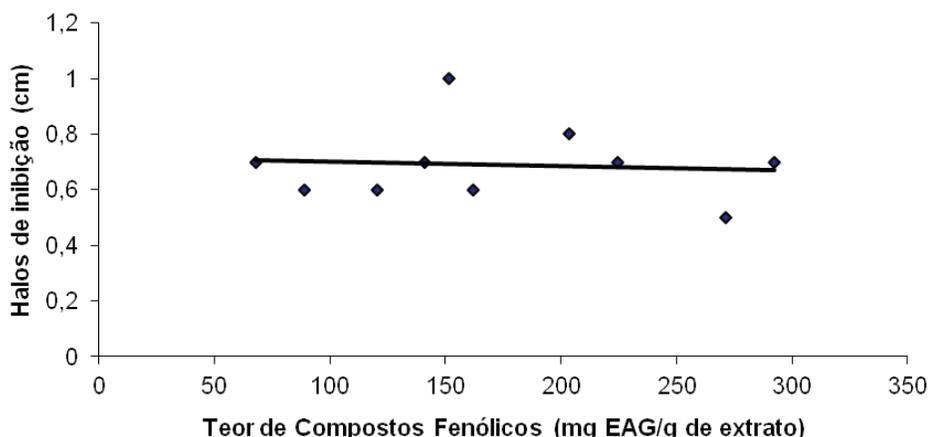
Na correlação da atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase (Figura 2), versus teor de fenóis totais observa-se que quatro plantas apresentaram halos de inibição (HI) = 7 mas que apresentam teores da fenóis variáveis: *L. microphylla*, *O. gratissimum*, *M. glabra*, *C. pachystachia*. Plantas como *L. alba* e *C. zehntneri* apresentam relatos de atividade no sistema nervoso central (SNC) (Zetola et al., 2002; Batatinha et al., 1995), e também há plantas relacionadas à promoção de inteligência, como *P. granatum*, que demonstrou atividade de inibição da AChE semelhante ao controle carbacol segundo Vinutha et al. (2007). Este último resultado não foi confirmado neste estudo, mas corroborou os dados para a planta *L. alba* que demonstrou atividade antioxidante e inibição da enzima. *M. glabra* também apresentou boa ação antioxidante e de inibição da enzima AChE. Esta planta deve seus efeitos aos seus constituintes como antocianinas e vitamina C dotados de atividade antioxidante.

O gráfico da correlação entre o halo de inibição da enzima acetilcolinesterase e a atividade antioxidante expressa pela  $CE_{50}$  das plantas estudadas está mostrado na Figura 3. Analisando

esta figura, observam-se dois grupos de plantas: quatro com maior atividade antioxidante ( $EC_{50}$  de 0,29 a 0,56) e inibição da enzima AChE variando entre 0,6 e 0,8 (*L. alba*, *M. glabra*, *S. mombim* e *C. zehntneri*) e seis com menor atividade antioxidante ( $EC_{50}$  de 2,39 a 2,87) em que o halo de inibição da enzima varia de 0,5 a 1,0 (*E. uniflora*, *P. amarus*, *C. pachystachia*, *O. gratissimum*, *L. microphylla* e *P. ornatos*). Portanto não parece haver uma correlação linear entre estas duas atividades para os extratos das plantas testadas.

O cérebro do doente de Alzheimer é caracterizado por grande estresse oxidativo e inflamatório. Todas as mutações genéticas e os fatores de risco estão associados com a produção alterada do peptídeo b-amilóide (bA), que é o maior constituinte das placas senis, indicativos diagnósticos da doença de Alzheimer. Um componente importante da toxicidade do bA é sua grande habilidade em gerar radicais livres. A precipitação de bA é promovida por íons metálicos como Zn(II), Cu(II), Fe(III) e Al(III). Alguns polifenóis têm demonstrado efeito antiamiloidogênico e desestabilizadores de fibrilas, queladores de Cu(II) ligados a bA, previnem a formação de  $H_2O_2$  e interferem na agregação de bA (Rauk, 2009).

Em conclusão, os extratos de dez das espécies estudadas (~56%) (*C. pachystachia*, *C. zehntneri*, *E. uniflora*, *M. glabra*, *L. alba*, *L. microphylla*, *O. gratissimum*, *P. amarus*, *P. ornatus*, *S. mombim*) mostraram halos de inibição da enzima acetilcolinesterase. Contudo, na combinação desta atividade com a sequestradora de radicais livres, se destacaram os extratos de *S. mombim*, *M. glabra*, *L. alba* e *C. zehntneri*. As plantas *E. uniflora*, *L. alba*, *L. microphylla*, *mentha x villosa*, *O. gratissimum* e *O. selloi* apresentaram maior conteúdo de fenóis totais e correlacionando com a



**FIGURA 2.** Correlação entre o halo de inibição da enzima acetilcolinesterase e o teor de fenóis totais das plantas das Farmácias Vivas.

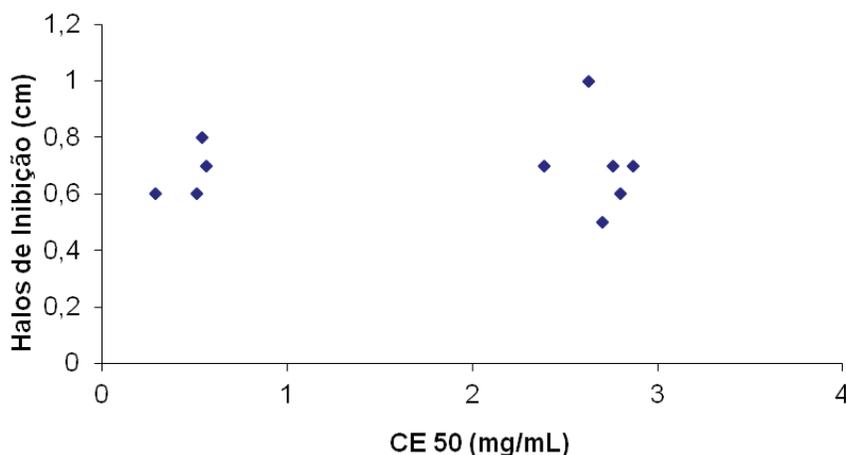


FIGURA 3. Gráfico relacionando os halos de inibição da enzima acetilcolinesterase e a atividade antioxidante expressa pela  $CE_{50}$  dos extratos das plantas das Farmácias Vivas.

atividade contra a acetilcolinesterase, ressaltam-se as plantas *E. uniflora*, *L. alba*, *L. microphylla*, *Ocimum gratissimum* e *S. mombim*. Comparando os dois grupos de plantas com boa ação antioxidante e maior conteúdo de fenóis totais, *L. alba* resalta-se e possivelmente a sua atividade anticolinesterase pode se correlacionar com a atividade antioxidante consequente de seu alto conteúdo de fenóis totais. Devido a existência de compostos não fenólicos com ação antioxidante, pode-se então selecionar através destes estudo as plantas *L. alba* e *M. glabra* como potenciais fontes de compostos para serem utilizadas no tratamento da doença de Alzheimer, devido à sua ação relevante contra a enzima acetilcolinesterase e inibidora de radicais livres.

Barbosa Filho et al. (2006) relataram a existência de 260 compostos químicos que demonstram ação de inibição da enzima acetilcolinesterase. Os compostos testados pertencem à classe dos alcaloides (139), monoterpenoides (27), cumarinas (18), triterpenoides (17), flavonoides (14), benzenoides (13), diterpenoides (8), heterociclos oxigenados (5), sesquiterpenoides (5), estilbenos (3), lignanas (2), compostos sulfurados (2), policíclicos (1), quinoides (1), benzoxazinona (1), carotenoides (1) e alicíclicos (1), sendo os alcaloides a classe majoritária com atividade anticolinesterásica. *Lippia alba*, apontada neste estudo com uma das mais ativas contra AChE, apresenta como componentes principais os monoterpenos neral e geranial em alguns quimiotipos e em outros carvona e limoneno (TAVARES, E.S. et al. 2005). Carvona e limoneno revelaram ação fumigante, toxicidade de contato sobre insetos e efeitos inibidores da atividade da acetilcolinesterase (SAMIR et al, 2009). Portanto constituintes monoterpenoides de *L. alba* podem

estar contribuindo para a sua ação inibitória de AChE.

O estudo químico relatado para as plantas estudadas revelou a presença de alcaloides, flavonoides, xantonas, taninos, lignanas, monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides e arilpropanoides (Tabela 1). Portanto, um estudo químico destas espécies, bioguiado pela ação antiacetilcolinesterásica, deverá contribuir para aumentar o número de compostos químicos ativos pertencentes a estas classes de metabólitos secundários, os quais poderão ser potenciais candidatos para o tratamento da Doença de Alzheimer.

#### AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao CNPq e a FUNCAP pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIA

- ALBUQUERQUE, R.L. et al. Chemical composition and antioxidant activity of *Plectranthus grandis* and *P. ornatus* essential oils from north-eastern Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v.22, p.24-6, 2007.
- BAHORUN, T.; NEERGHEEN, V.S.; ARUOMA, O.I. Phytochemical constituents of *Cassia fistula*. **African Journal of Biotechnology**, v.4, p.1530-40, 2005.
- BARBOSA, F.G. et al. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Lippia alba*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.34, n.11, p.819-21, 2006.
- BARBOSA FILHO, J.M. et al. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.258-85, 2006.
- BATATINHA, M. J. M. Croton zehntneri: possible central nervous system effects of the essential oil in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.45, n.1, p. 53-57, 1995.

- BIERER, L.M. Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. **Journal of Neurochemistry**, v.64, p.749-60, 1995.
- BROCHADO, C.O. et al. Flavonol robinobiosides and rutinosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on lymphocyte proliferation *in vitro*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.14, p.449-51, 2003.
- BRYNE, G.J.A. Treatment of cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Australian Journal of Hospital Pharmacy**, v.28, p.261-6 1998.
- COSTA, S.M.O. et al. Constituents of the essential oil of *Lippia microphylla* Cham. from northeast Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v.17, p.378-9, 2005.
- CRAVEIRO, A.A. et al. Natural product chemistry in North-Eastern Brazil. ciba foundation symposium 185 - **Ethnobotany and the Search for New Drugs**, p.95-105, 2007.
- ELLMAN, G.L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7, p.88-95, 1961.
- ENGELHART, M.J. et al. Dietary Intake of Antioxidants and Risk of Alzheimer Disease. **JAMA**, v.287, n.24, p.3223-3229, 2002.
- GRIFFIS, Jr. et. al. *Eugenia uniflora* &ndash: a nutritious, easy-to-grow fruit for the tropics. **ISHS Acta Horticulturae**, v.806, p.277-84, 2009.
- GUERRA, E.J.I. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. **Medicina Interna**, v.18, p.326-35, 2001.
- KASSUYA, C.A.L. et al. Antiinflammatory and antiallodynic actions of the lignan niranthin isolated from *Phyllanthus amarus*: evidence for interaction with platelet activating factor receptor. **European Journal of Pharmacology**, v.546, n.1-3, p.182-8, 2006.
- LORENZI, H.; Matos, J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**. 512p, 2002.
- MARIUTTI, L.R.B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae - Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, n.2, p.96-103, 2007.
- MATOS, F.J.A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3. ed. Fortaleza: EUFC. 220p, 1998.
- MENEZES, F.S. et al. Molluscicidal constituents of *Marsypianthes chamaedrys*. **Phytotherapy Research**, v.13, n.5, p.433-5, 1999.
- MINUSSI, R. C. et al. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. **Food Chemistry**, Oxon, v. 82, n. 3, p.409-416, 2003.
- MONTINE, K.S. et al. Immunohistochemical detection of 4-hydroxy-2-nonenal adducts in Alzheimer's disease is associated with inheritance of APOE4. **American Journal of Pathology**, v.150, p.437-43, 2002.
- MORAES, L.A.S. et al. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.74, n.1, p.183-6, 2002.
- MORAIS, S.M. et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v.29, p.907-10, 2006.
- OLIVEIRA, A.L. et al. Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v.99, n.1, p.1-5, 2006.
- RAO, G.P. et al. Studies on chemical constituents and antifungal activity of leaf essential oil of *Lippia alba* (Mill). **Indian Journal of Chemical Technology**, v.7, n.6, p.332-5, 2000.
- RAUK, A. The chemistry of Alzheimer's disease. **Chemistry Society Reviews**, v.38, p.2698-2715, 2009.
- RHEE, I.K. et al. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amarillidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography**, v.915, p.217-23, 2001.
- RIJO, P. et al. Neoclerodane and labdane diterpenoids from *Plectranthus ornatus*. **Journal of Natural Products**, v.65, p.1387-90, 2002.
- SAMIR, A. M. et al. Fumigant and Contact Toxicities of Monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 5, p. 518-525, 2009.
- SILVEIRA, E.R. et al. Penta-oxygenated xanthenes from *Bredfemeyera floribunda*. **Phytochemistry**, v.39, p.1433-6, 1995.
- SKERGET, M. et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.89, p.191-8, 2005.
- SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or biological reality? **Comptes Rendus Biologies**, v.327, p.649-62, 2004.
- SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, p.351-5, 2007.
- SOUSA, M.P. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**, Fortaleza: UFC. 445p, 2004.
- TAVARES, E.S. et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Rev. bras. farmacogn.** 2005, vol.15, n.1, pp. 1-5.
- TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v.26, p.301-4, 2003.
- UR-RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M.I. Recent studies on bioactive natural products. **Pure and Applied Chemistry**, v.71, p.1079-81, 1999.
- UR-RAHMAN, A. et al. **Acetyl and butyrylcholinesterase-inhibiting triterpenoid alkaloids from *Buxus papillosa***. **Phytochemistry**, v.58, p.963-8, 2001.
- VIEGAS Jr., C. et al. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do mal de Alzheimer. **Química Nova**, v.27, n.4, p.655-60, 2004.
- VINUTHA, B. et al. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.2, p.359-363, 2007.
- ZÉTOLA, M. et al. CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* -Verbenaceae (Brazilian *false melissa*). **Journal of Ethnopharmacology**, v.82, n.2-3, p. 207-215, 2002.