



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA
Rodovia Sul Goiana, km 01, Zona Rural – Rio Verde - GO
CEP: 75.901-970. Fones: (64) 3620-5643. Fax: (64) 3620-5640

Bioprospecção dos extratos hexânicos de *Aspidosperma subincanum* (Guatambu) e suas bioatividades

Doutorando: Hindenburg Cruvinel Guimarães da Costa
Orientadora: Dr^a Cassia Cristina Fernandes
Coorientadora: Dr^a Cibele Silva Minafra
Coorientador: Dr Mayker Lázaro Dantas

RIO VERDE – GO
Julho – 2026



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – IF GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA
Rodovia Sul Goiana, km 01, Zona Rural – Rio Verde - GO
CEP: 75.901-970. Fones: (64) 3620-5643. Fax: (64) 3620-5640

Bioprospecção dos extratos hexânicos de *Aspidosperma subincanum* (Guatambu) e suas bioatividades

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação Agroquímica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM AGROQUÍMICA - Área de concentração Agroquímica.

RIO VERDE – GO
Julho – 2026

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF
Goiano - SIBi**

C957 Cruvinel Guimarães da Costa, Hindenburg
Bioprospecção dos extratos hexânicos de *Aspidosperma subincanum* (Guatambu) e suas bioatividades / Hindenburg
Cruvinel Guimarães da Costa. Rio Verde 2026.
81f. il.
Orientadora: Prof^ª. Dra. Cassia Cristina Fernandes.
Coorientadora: Prof^ª. Dra. Cibele Silva Minafra.
Tese (Doutor) - Instituto Federal Goiano, curso de 0232034 -
Doutorado em Agroquímica - Rio Verde (Campus Rio Verde).
1. *Xanthomonas citri*. 2. acetilcolinesterase. 3. Docking
molecular. 4. metabólitos secundários. I. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

☒ Tese (doutorado)

☐ Dissertação (mestrado)

☐ Monografia (especialização)

☐ TCC (graduação)

☐ Artigo científico

☐ Capítulo de livro

☐ Livro

☐ Trabalho apresentado em evento

☐ Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Hindenburg Cruvinel Guimarães da Costa

Matrícula:

2023202320340009

Título do trabalho:

Bioprospecção dos extratos hexânicos de *Aspidosperma subcanum* (Guatambu) e suas bioatividades

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: ☒ Não ☐ Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 28 / 08 / 2026

O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☒ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☒ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

gov.br

Documento assinado digitalmente

CIBELE SILVA MINAFRA

Data: 03/08/2026 16:54:17-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

gov.br

Documento assinado digitalmente

HINDENBURG CRUVINEL GUIMARAES DA COSTA

Data: 28/07/2026 14:19:47-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Local

28 / 07 / 2026

Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Documento assinado digitalmente

MAYKER LAZARO DANTAS MIRANDA

Data: 31/07/2026 16:37:24-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

gov.br

Documento assinado digitalmente

CASSIA CRISTINA FERNANDES ALVES

Data: 28/07/2026 17:45:50-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Declaração nº 70/2026 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO

ATA Nº/01

BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE TESE

Aos vinte e cinco dias do mês de junho do ano de dois mil e vinte e seis, às 14h00min (quatorze horas), reuniram-se os componentes da banca examinadora em sessão pública realizada no Auditório da Diretoria Geral do Campus Rio Verde, para procederem a avaliação da defesa de Tese, intitulada "Bioprospecção dos extratos hexânicos de *Aspidosperma subincanum* (Guatambu) e suas bioatividades", em nível de doutorado, de autoria de **HINDENBURG CRUVINEL GUIMARÃES DA COSTA**, discente do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A sessão foi aberta pela presidente da Banca Examinadora, Prof.^a Dr.^a Cassia Cristina Fernandes, que fez a apresentação formal dos membros da Banca. A palavra, a seguir, foi concedida ao autor para, em 40 min., proceder à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu o examinado, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se a avaliação da defesa. Tendo-se em vista as normas que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, e procedidas às correções recomendadas, a Tese foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de DOUTOR(A) NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA, na área de concentração em Agroquímica, pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega na secretaria do PPGAq da versão definitiva da Tese, com as devidas correções. Assim sendo, a defesa perderá a validade se não cumprida essa condição, em até 60 (sessenta) dias da sua ocorrência. Foram publicados artigos científicos oriundos da pesquisa realizada. Cumpridas as formalidades da pauta, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de Tese de Doutorado, e para constar, foi lavrada a presente Ata, que, após lida e achada conforme, será assinada eletronicamente pelos membros da Banca Examinadora.

Membros da Banca Examinadora

Nome	Instituição	Situação no Programa
Cassia Cristina Fernandes	IF Goiano - Campus Rio Verde	Presidente
Elizabeth Aparecida Josefi da Silva	UniRV	Membro externo
Walnir Gomes Ferreira Júnior	IF Sul de Minas	Membro externo
Ferdinando Agostinho	UniRV	Membro externo

Documento assinado eletronicamente por:

- **Cassia Cristina Fernandes Alves**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO , em 30/06/2026 14:34:27.
- **Elizabeth Aparecida Josefi da Silva**, Elizabeth Aparecida Josefi da Silva - Professor Avaliador de Banca - Fesurv - Universidade de Rio Verde (01815216000178), em 01/07/2026 11:06:31.
- **Walnir Gomes Ferreira Júnior**, Walnir Gomes Ferreira Júnior - Professor Avaliador de Banca - If Sul de Minas Gerais (1) , em 01/07/2026 11:47:44.
- **FERDINANDO AGOSTINHO**, FERDINANDO AGOSTINHO - Professor Avaliador de Banca - Fesurv - Universidade de Rio Verde (01815216000178), em 01/07/2026 12:47:06.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 25/06/2026. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 834664

Código de Autenticação: d2b2f934d9



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, 01, Zona Rural, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3624-1000

Agradecimentos

Primeiramente antes de tudo e de todos, eu dou graças ao meu Deus, meu criador, meu Senhor e salvador na pessoa maravilhosa, salvífica e redentora do Senhor Jesus Cristo.

Também agradeço pessoas maravilhosas que apareceram na minha jornada durante minha escalada na vida acadêmica. Aos meus pais Sebastião Pereira da Costa e Neuza Cruvinel Guimarães da Costa, pela criação e dedicação aos meus estudos desde o maternal, ginásio e uma graduação muito difícil com restrições financeiras e emocionais, mas sempre presentes numa época de muitas limitações. A minha “família pequenina” formada pela minha Mulher Erika e minha Bebel que muitas vezes ficaram sem minha presença devido aos estudos. Agradeço muito a minha equipe do Laboratório Hormonal que seguraram a “barra” quando eu tinha que me ausentar para as aulas e trabalhos envolvidos no doutorado, muito obrigado mesmo.

Agradeço de forma muito carinhosa e verdadeira a professora Cibele Minafra, pela amizade e sem sombra de dúvidas ser a maior responsável pela minha jornada nesta magnífica instituição que é o IF Goiano campus de Rio Verde. Também tenho uma dívida de agradecimento eterno a uma pessoa maravilhosa, inteligente, sábia, educada, gentil, verdadeira, que é a professora Cassia Cristina, minha orientadora, que sempre está presente em todas as minhas dúvidas e necessidades. E outro profissional que tenho gratidão especial, professor fantástico e de humildade sem igual, o professor Mayker Lazaro Dantas, que me abriu o horizonte nas publicações de artigos e capítulos da tese.

Agradeço também de forma especial a cada professor de cada disciplina que eu frequentei, muito importante no meu aprendizado de uma área um pouco diferente da minha, professores(as) como Suzana Marcionílio, Carlos Frederico, Raphaela Gabri, Mariana Egea, Polyana Fernandes, Cristiane Cazal, Paula Sperotto, Pablo Gontijo, Ana Carolina, Frederico Antônio, Rafael Marques.

E por fim, mas não em último, quero agradecer pessoas importantíssimas, especiais, que surgiram como verdadeiros apoiadores nessa jornada. A minha querida amiga e colega de profissão Gleiciane, que me apresentou o Jaciel, que se tornou grande amigo, pessoa importantíssima no meu doutorado. Agradeço muito a Pâmella que eu sempre

pedia socorro e orientação sobre a parte pedagógica e institucional, pessoa fantástica. E a todos os meus colegas que convivi ao longo desses anos, eu agradeço na pessoa da Weslane, que sempre esteve presente nas minhas tiradas de dúvida e escrita... ao colega farmacêutico Cleiton Almeida da Silva, meu ex-aluno do curso de farmácia da UNIRV que foi um verdadeiro “mateiro” ajudando-me na busca do Guatambu nas matas das fazendas de Aparecida do Rio Doce. Agradeço um por um...muito obrigado a todos.

Bibliografia do autor

Hindenburg Cruvinel Guimarães da Costa, filho de Sebastião Pereira da Costa e Neuza Cruvinel Guimarães da Costa, nascido em Rio Verde GO no dia 13 de maio de 1969, casado com Erika Bernardes Palazzo Ribeiro Cruvinel e pai de Gabriella R. Cruvinel Guimarães da Costa. Graduiu-se em Farmácia Bioquímica na Universidade de Ribeirão Preto no dia 13 de agosto de 1993, especializou em Microbiologia e Imunologia na Universidade de São Paulo (USP), em 1994 e em Citopatologia na UniMauá em 1995. Ingressou no programa de pós-graduação em Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em Araraquara, nível de mestrado em 2001. É professor adjunto 3 da Universidade de Rio Verde (UNIRV), na disciplina de Microbiologia e Bioquímica Clínica deste 1998. Ingressou no programa de Pós-graduação em Agroquímica, nível Doutorado, no Instituto Federal Goiano campus de Rio Verde GO, sob orientação da Professora Doutora Cassia Cristina Fernandes e coorientação do Professor Doutor Mayker Lazaro Dantas.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Cerrado	3
2.2. Apocynaceae	3
2.3. Gênero <i>Aspidosperma</i>	4
2.4. <i>Aspidosperma subincanum</i>	5
2.5. Terpenos	6
2.6. Extrato vegetal	6
2.7. Bioprospecção.....	8
2.8. Utilização de plantas na medicina popular.....	9
2.9. <i>Xanthomonas citri</i>	9
2.10. Enzimas	11
2.10.1. Colinesterase	11
2.10.2. Elastase	12
2.10.3. α -amilase.....	13
2.11. <i>Docking</i> molecular	14
3. REFERÊNCIAS	16
4. OBJETIVOS	27
4.1. Geral	27
4.2. Específicos	27
CAPÍTULO I <i>Aspidosperma subincanum</i> (Guatambu): potencial fitoterápico e aplicações na medicina tradicional	28
1. Introdução.....	30
2. Materiais e métodos	31
2.1. Importância do guatambu na cultura popular no tratamento de doenças.....	32
2.2. Principais desafios para um novo produto natural de origem vegetal chegar ao mercado	32
2.3. Bioprospecção do Guatambu	34
2.3.1. Composição química	36
2.4. Toxicidade	37

3. Discussão	38
4. Conclusão	39
5. Referências	40
CAPÍTULO II Extratos de <i>n</i> -hexano ricos em sesquiterpenos de <i>Aspidosperma subincanum</i> Mart.: atividade <i>anti-Xanthomonas citri</i> , inibição da acetilcolinesterase e <i>insights</i> sobre acoplamento molecular	
1. Introdução.....	47
2. Materiais e métodos	48
2.1. Material vegetal.....	48
2.2. Preparação dos extratos <i>n</i> -hexânicos	48
2.3. Identificação química dos extratos <i>n</i> -hexânicos (EH-FG e EH-CG)	49
2.4. Ensaio anti- <i>Xanthomonas citri</i>	49
2.5. Atividade inibidora de enzimas	50
2.5.1. Ensaio de inibição da colinesterase	51
2.5.2. Ensaio de inibição da elastase	51
2.5.3. Ensaio de inibição α -amilase	51
2.6. Atividade citotóxica	52
2.7. Análise de acoplamento molecular	52
3. Resultados e discussão	57
4. Conclusão	60
5. Referências	61
5. CONCLUSÃO GERAL	65

RESUMO

COSTA, H.C.G. **Bioprospecção dos extratos hexânicos de *Aspidosperma subincanum* (Guatambu) e suas bioatividades**. 2026. Apresentado ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, como parte das exigências da Pós-Graduação – Doutorado em Agroquímica.

A biodiversidade do Cerrado brasileiro representa importante fonte de metabólitos secundários com potencial aplicação farmacêutica e agroindustrial, destacando-se espécies da família Apocynaceae, como a *Aspidosperma subincanum*, tradicionalmente utilizada na medicina popular. Nesse contexto, objetivou-se bioprospectar os extratos hexânicos das folhas e cascas de *A. subincanum*, avaliando a composição química e atividades biológicas. Os extratos foram obtidos por maceração usando hexano como solvente e caracterizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), permitindo identificar os compostos voláteis, principalmente sesquiterpenos. Os extratos foram submetidos a ensaios biológicos para a avaliação da atividade antibacteriana frente a bactéria *Xanthomonas citri*, além da capacidade de inibição das enzimas acetilcolinesterase, elastase e α -amilase. Adicionalmente foi realizada a análise de *docking* molecular para investigar as interações entre os compostos identificados e os alvos biológicos. Os resultados demonstraram atividade antibacteriana e potencial inibitório enzimático relevante, indicando a presença de metabolitos bioativos com possível aplicação no controle de fitopatógenos e no desenvolvimento de agentes terapêuticos voltados a doenças neurodegenerativas e metabólicas. As análises moleculares reforçaram a afinidade dos compostos identificados com os alvos estudados. Os extratos hexânicos de *A. subincanum* apresenta potencial biotecnológico evidenciando a relevância da flora do Cerrado como fonte de produtos naturais bioativos.

Palavras-chave: *Xanthomonas citri*; acetilcolinesterase; *Docking* molecular; metabólitos secundários.

ABSTRACT

COSTA, H.C.G. **Bioprospecting of hexane extracts from *Aspidosperma subincanum* (Guatambu) and their bioactivities.** 2026. Submitted to the Goiano Federal Institute – Rio Verde Campus – GO, as part of the requirements for the Doctor of Philosophy (Ph.D.) in Agrochemistry.

The biodiversity of the Brazilian Cerrado represents an important source of secondary metabolites with potential pharmaceutical and agro-industrial applications, particularly species of the Apocynaceae family, such as *Aspidosperma subincanum*, which is traditionally used in folk medicine. In this context, the objective was to bioprospect hexane extracts from the leaves and bark of *A. subincanum*, evaluating their chemical composition and biological activities. The extracts were obtained by maceration using hexane as a solvent and characterized by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), allowing the identification of volatile compounds, mainly sesquiterpenes. The extracts were subjected to biological assays to evaluate their antibacterial activity against the bacterium *Xanthomonas citri*, as well as their ability to inhibit the enzymes acetylcholinesterase, elastase, and α -amylase. In addition, molecular docking analysis was performed to investigate the interactions between the identified compounds and biological targets. The results demonstrated antibacterial activity and significant enzymatic inhibitory potential, indicating the presence of bioactive metabolites with possible applications in plant pathogens control and in the development of therapeutic agents for neurodegenerative and metabolic diseases. The molecular analyses reinforced the affinity of the identified compounds for studied targets. The hexane extracts of *A. subincanum* exhibit biotechnological potential, highlighting the relevance of the Cerrado flora as a source of bioactive natural products.

Keywords: *Xanthomonas citri*, acetylcholinesterase, molecular docking, secondary metabolites.

1. INTRODUÇÃO

A prospecção de compostos bioativos a partir de recursos naturais permanece como uma abordagem estratégica para a inovação nas áreas farmacêutica e agrícola, especialmente diante dos desafios impostos pela resistência microbiana e pela necessidade de alternativas mais sustentáveis. Apesar dos avanços da química sintética, os produtos naturais continuam desempenhando papel central na descoberta de novos compostos químicos, em função da elevada diversidade estrutural e da capacidade de interagir com múltiplos alvos biológicos (Newman; Cragg, 2020; Atanasov *et al.*, 2021).

Nesse contexto, a biodiversidade brasileira configura-se como uma fonte relevante de metabólitos especiais ainda pouco explorados. A família Apocynaceae destaca-se entre as espécies de interesse por causa da diversidade de compostos que produz, muitos dos quais associados a diferentes atividades biológicas. Nesse cenário, *Aspidosperma subincanum* Mart., espécie nativa do Cerrado, apresenta relevância etnobotânica e potencial fitoquímico que ainda requer investigação mais aprofundada. Estudos com o gênero *Aspidosperma* têm se concentrado predominantemente em alcaloides indólicos; entretanto, frações apolares obtidas com solventes não polares, como o hexano, podem concentrar metabólitos lipofílicos, incluindo terpenos, que são associados a atividades antimicrobianas e à modulação de sistemas enzimáticos (Muhammad *et al.*, 2026; Riyadi *et al.*, 2023).

A caracterização química dessas frações por técnicas analíticas, como a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), tem sido amplamente empregada na identificação de compostos voláteis e na correlação entre composição química e atividade biológica. Essa abordagem possibilita uma análise mais abrangente do potencial químico de extratos vegetais, contribuindo para a identificação de substâncias com interesse biotecnológico. No âmbito biomédico, a doença de Alzheimer caracteriza-se por um processo neurodegenerativo progressivo associado à disfunção das vias colinérgicas e à redução dos níveis de acetilcolina (ACh), neurotransmissor essencial para funções cognitivas como memória e atenção. A acetilcolinesterase (AChE), responsável pela hidrólise da ACh na fenda sináptica, constitui um alvo terapêutico consolidado, sendo sua inibição uma estratégia eficaz para aumentar a disponibilidade do neurotransmissor e promover melhora ou estabilização das funções cognitivas (Colovic *et al.*, 2013; Shaikh *et al.*, 2014).

No contexto agrícola, destaca-se a bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, agente etiológico do cancro cítrico, doença que acarreta prejuízos significativos à produção de citrus. Esse fitopatógeno Gram-negativo provoca lesões características em folhas e frutos, comprometendo a produtividade e a qualidade das culturas. As limitações dos métodos de controle atualmente empregados evidenciam a necessidade de novos agentes antibacterianos, preferencialmente de origem natural (Shahbaz *et al.*, 2022; Timilsina *et al.*, 2020). Embora evidências indiquem que espécies do gênero *Aspidosperma* apresentam metabólitos com diferentes atividades biológicas, ainda são limitadas as investigações que abordam, de forma integrada, a composição química e o potencial biológico de suas frações apolares. Nesse sentido, a exploração dessas frações pode contribuir para a identificação de novas moléculas com potencial aplicação tanto na modulação de alvos enzimáticos quanto no controle de fitopatógenos.

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo bioprospectar os extratos hexânicos das folhas e da casca do caule de *Aspidosperma subincanum*, com ênfase na caracterização de seus constituintes voláteis por CG-EM e na avaliação de seu potencial biológico.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Cerrado

O Cerrado é a maior savana neotropical, ocupando uma área de aproximadamente 2 milhões de km², sendo o segundo maior bioma brasileiro (Colli *et al.*, 2020; Sano *et al.*, 2019). Apresentando clima sazonal tropical (chuvas no verão, inverno seco, tendo precipitação entre 1300 e 2300 mm/ano), relevo com planaltos e uma importante bacia hidrográfica (Araguaia-Tocantins) (Colli *et al.*, 2020).

A composição florística varia com a fertilidade do solo, disponibilidade hídrica, textura, pH e clima, tanto para árvores quanto para arbustos e plantas herbáceas (Bueno *et al.*, 2018; Amaral *et al.*, 2022; Lira-Martins *et al.*, 2022). Essas plantas adaptaram ao solo oligotrófico, seco e com alumínio elevado; para mitigar esses estresses as árvores usam estratégias de sobrevivência como raízes profundas, cascas espessas, folhas coriáceas ricas em compostos fenólicos e taninos, além da capacidade de acumular alumínio (Furley, Ratter 1988; Novaes *et al.*, 2013; Lira-Martins *et al.*, 2022).

As plantas nativas do Cerrado são amplamente utilizadas na medicina popular, e mais de 7.000 espécies de plantas nativas têm sido objetos de pesquisas, principalmente com seus extratos e óleos essenciais apresentando promissoras atividades antifúngicas e antibacteriana (Barreto *et al.*, 2006).

Segundo Ferraro *et al.* (2021), as plantas do Cerrado possuem mecanismos de defesas únicos, adaptações às condições específicas do bioma, como à seca, os incêndios, herbivoria, levando as plantas produzirem compostos bioativos através do metabolismo secundário com propriedades antioxidantes, antidiabéticas, antimicrobianas, anticarcinogênicas e retardadoras de envelhecimento precoce.

Apesar do reconhecimento potencial das plantas do Cerrado, muitas delas carecem de estudos científicos que comprovem a eficácia terapêutica. Um exemplo é a *Aspidosperma subicanun* (Guatambu), conhecida pelo uso na etnofarmacologia devido aos efeitos antimalárico, antileishmaniótico, antihansenico, antidiabético, antidislipêmico, antifúngicos, antioxidantes, em infecções uterinas e várias outras aplicações que ainda não são citadas em artigos e pesquisas “*in vivo*” e que necessitam ser comprovadas (Barreto *et al.*, 2006).

2.2. Apocynaceae

Apocynaceae é uma grande família pertencente as angiospermas (plantas com flores), majoritariamente tropicais, que inclui plantas ornamentais, espécies venenosas e importantes plantas medicinais. A antiga família Asclepiadaceae (asclepiádeas) foi incorporada na família Apocynaceae, tornando o grupo um dos maiores entre as angiospermas.

A família Apocynaceae compreende a cerca de 370-420 gêneros e aproximadamente 5500 espécies, divididas em cinco subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Bhadane *et al.*, 2018; Fishbein *et al.*, 2018; Anand *et al.*, 2020). As formas de vida incluem árvores, arbustos, lianas, suculentas e ervas, geralmente com látex leitoso e folhas simples, inteiras (Bhadane *et al.*, 2018; Fishbein *et al.*, 2018). As flores são tipicamente pentâmeras, com gineceu bicarpelar e, nos grupos mais derivados, estruturas florais complexas como coronas e polínia (agregados de pólen).

Espécies dessa família são usadas na medicina tradicional para tratar distúrbios gastrointestinais, cardiovasculares, inflamatórios e infecciosos, além de alguns tipos de câncer, sustentadas por ricos perfis de alcaloides, terpenoides, flavonoides e glicosídeos cardiotônicos (Bhadane *et al.*, 2018). Plantas como *Rauvolfia serpentina*, *Holarrhena antidysenterica*, *Carissa carandas* e *Tabernaemontana divaricata* são modelos farmacológicos importantes, com atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e citotóxica demonstradas *in vitro* e *in vivo* (Bhadane *et al.*, 2018).

A família é quimicamente rica em alcaloides, terpenoides, glicosídeos e cardenolídeos, fundamentando o uso como medicamentos e alimentos (Bhadane *et al.*, 2018, El Mokni, Iamonic; 2025, Mohammed *et al.*, 2021). Os alcaloides indólicos monoterpênicos de um subconjunto de gêneros produzem medicamentos clinicamente importantes (vincristina, reserpina) entre outros compostos citotóxicos e anti-inflamatórios (Bhadane *et al.*, 2018; Mohammed *et al.*, 2021).

Múltiplas espécies apresentam forte atividade antimicrobiana e modificadora de resistência, com potencial para combater patógenos multirresistentes (Anand *et al.*, 2020). O código de barras de DNA (ITS2, psbA-trnH) fornece identificação confiável, fundamental porque muitas espécies medicinais também são tóxicas (Ya-Na *et al.*, 2020).

2.3. Gênero *Aspidosperma*

O gênero *Aspidosperma* compreende aproximadamente 68 espécies, distribuídas nos ecossistemas caatinga, cerrado e florestas (Amorim *et al.*, 2005). No Brasil, plantas do gênero *Aspidosperma* são conhecidas popularmente como: peroba, guatambu, pau-pereiro, caparanaúba, pequiá, quina, taroba e amargoso; podendo ser encontradas na região Amazônica, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Teixeira *et al.*, 2024, Lorenzi; 1992).

O gênero *Aspidosperma* compreende tipicamente espécies arbóreas tropicais de grande porte, de 2 a 15 metros de altura, com flores e sementes abundantes, copas amplas, folhas alternas espiraladas não agrupadas no ápice dos ramos, e podem apresentar látex abundante, mas não no tronco circular como a maioria das Apocynaceae (Freitas, 2008).

Com distribuição tropical, encontra-se principalmente entre o México e a Argentina, e é popularmente utilizado no tratamento de diversas doenças. Na região amazônica, as cascas das espécies *Aspidosperma* são comumente utilizadas como infusões na medicina popular contra febre e reumatismo por causa da baixa toxicidade e ausência de contraindicações (Carmo Lemos *et al.*, 2023).

Os alcaloides isolados desse gênero possuem atividades biológicas, antitumoral, antituberculose, antimicrobiana, , antiprotozoários (como anti-Trypanosoma), anti-leishmania (Sottomayor *et al.*, 2004; Luca, Laflamme; 2001; Heinrich *et al.*, 2021). Os alcaloides podem ser encontrados em diferentes da planta, tendo ação sobre o sistema nervoso central, sendo muitos deles utilizados como venenos ou alucinógenos (Luca, St Pierre; 2000; Adetunji *et al.*, 2022).

2.4. *Aspidosperma subincanum*

O *Aspidosperma subincanum* é uma espécie arbórea perene conhecida como Guatambu. O porte das árvores de *A. subincanum* pode chegar a 25 metros de altura e 80 cm de DAP (diâmetro à altura do peito) na idade adulta. Porém, foram encontrados indivíduos com 4 metros de altura e 6 cm de DAP (Jesus *et al.*, 2009; Negrelle, *et al.*, 2007). O tronco é reto e cilíndrico, com casca medindo até 10 mm de espessura, a casca externa é marrom-escura e fissurada.

Junior *et al.*, 2019 analisaram o contexto de plantas bioprodutoras de substâncias químicas no seu metabolismo secundário, com relatos de citotoxicidade seletiva *in vitro* e

efeitos anti-inflamatórios que justificam a bioprospecção, o gênero *Aspidosperma*. A família Apocynaceae, é estudada por causa da produção de alcaloides indólicos. Gilbert (1966) estudou 33 espécies de *Aspidosperma* de ocorrência no Brasil, resultando no isolamento de mais de 100 alcaloides indólicos, induzindo a conclusão da predominância desta classe de alcaloides nesse gênero, observando a ocorrência de alcaloides indólicos com grande variedade estrutural como esqueleto beta carbonílico simples, sistemas tríciclicos e anéis pirido-indólicos (Santos *et al.*, 2021).

2.5. Terpenos

O metabolismo secundário, atualmente denominado “metabolismo especializado”, refere-se às rotas biossintéticas que geram compostos como terpenoides, alcaloides, fenilpropanoides e flavonoides. Os metabolitos desempenham funções ecológicas essenciais, como: defesa contra herbivoria e patogênia, atração de polinizadores e comunicação planta-ambiente (Ono, Murata; 2023).

Terpenoides também conhecidos como isoprenoides constituem a maior e mais diversificada classe de metabolitos secundários. São formados pela polimerização de unidades de isopreno (isopentenil pirofosfato (IPP) e dimetilalil pirofosfato (DMAPP)), apresentando ampla distribuição nas espécies da flora brasileira (Bizzo, Rezende; 2022).

Os terpenoides são classificados de acordo com unidades de isoprenos: isoprenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}), como os carotenoides. Em espécies brasileiras, há grande diversidade estrutural, com destaque para lactonas sesquiterpênicas em Asteraceae e triterpenos tipo friedelano e cicloartano em espécies como *Azadirachta indica* (Passos *et al.*, 2019).

Nas plantas os terpenoides são formados através da via do mevalonato (MVA), no citosol, e do 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP), nos plastídios. Essas vias geram IPP e DMAPP, que por ação dos terpenos sintases (TPS), originam a diversidade de terpenoides (Barbosa *et al.*, 2025).

Os terpenoides atuam na defesa das plantas contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores, possuem reconhecida importância farmacológica, cosmética e agroindustrial. No Brasil, a relevância científica e econômica desses compostos é evidenciada pela expansão do setor de óleos essenciais, ricos em mono e sesquiterpenos (Araújo *et al.*, 2021).

Esse grupo de compostos desempenham papéis ecológicos essenciais como aleloquímicos e semioquímicos, influenciando interações planta-ambiente. Na Asteraceae, são abundantes as lactonas sesquiterpênicas com efeitos alelopáticos (Araújo *et al.*, 2021); em Bignoniaceae, compostos do gênero *Fridericia* apresentam potencial farmacológico relevante (Henrique *et al.*, 2024).

2.6. Extrato vegetal

Os extratos vegetais são preparações multicomponentes obtidas pela ação de um solvente e método de extração sobre o material vegetal (folhas, raízes, cascas, sementes, frutos e flores), visando concentrar constituintes solúveis biologicamente ativos (Monagas *et al.*, 2022).

A mesma planta pode gerar extratos muito diferentes, conforme método e solvente, afetando eficácia e segurança (Heinrich *et al.*, 2022). Os extratos vegetais consistem em uma mistura complexa de substâncias com usos promissores, sobretudo na área agrícola no combate a doenças e pragas de difícil controle (Cardoso, Carmello; 2022).

O uso de plantas apresenta algumas desvantagens, principalmente no que tange à escassez de dados relacionados à fitotoxicidade, à persistência do produto no meio ambiente e aos efeitos sobre organismos benéficos. Haja vista que os extratos vegetais possuem muitas substâncias ativas, comprovadamente eficazes que podem ser isoladas e utilizadas como pesticidas ou podem servir como protótipo para síntese química no desenvolvimento de novas classes de pesticidas (Cardoso, Carmello; 2022).

No Brasil, os extratos vegetais são regulamentados de acordo com seu uso. Para aplicações em medicamentos fitoterápicos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é o órgão responsável pela regulamentação, conforme disposto na Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, que trata do registro de medicamentos fitoterápicos industrializados. Já para produtos cosméticos, a regulamentação segue as diretrizes da RDC nº 07, de 10 de fevereiro de 2015. Além disso, o acesso ao patrimônio genético vegetal brasileiro é regulado pela Lei nº 13.123/2015 (Lei da Biodiversidade), que estabelece regras para o uso sustentável da biodiversidade, beneficiamento econômico e repartição de benefícios com comunidades tradicionais (BRASIL, 2015).

2.7. Bioprospecção

O Brasil abriga a maior diversidade de plantas mundial, uma flora extensa e amplamente diversificada (Bieski *et al.*, 2022). Essa biodiversidade possibilita a prospecção de plantas em busca de compostos fitoterápicos, bioherbicida, bioinseticida, antifúngico, antibactericida, oriundos do metabolismo secundário de plantas, fungos e bactérias (Fernandes *et al.*, 2024).

O processo de bioprospecção gera como produto muitas moléculas com possível ação biológica para diferentes doenças. Sendo assim, faz-se necessário métodos capazes de avaliar produtos da bioprospecção de forma rápida e precisa (Marques *et al.*, 2022).

É importante enfatizar a utilização dos recursos naturais com cautela, a fim de não destruir o meio ambiente e ecossistemas, promovendo uso consciente e sustentável, evitando a degradação e biopirataria. A biopirataria refere-se ao ato de levar a biodiversidade de um país para outro sem a autorização (Soares, Gomes; 2017).

A família Apocynaceae é muito bioprospectada por ser fonte de compostos bioativos usados na medicina popular. Diversas substâncias dessa família foram isoladas e usadas em ações terapêuticas (Bhadane *et al.*, 2018). O gênero *Aspidosperma* pode ser encontrado ao longo da América Latina; os aspectos fitoquímicos das espécies de *Aspidosperma* são estudados, sendo os alcaloides indólicos os principais metabólitos secundários encontrados nessas espécies e considerados bons marcadores químicos taxonômicos desse gênero (Almeida *et al.*, 2019).

Através de extratos polares das folhas e caule de *Aspidosperma subincanum* foi possível isolar os compostos apparicina, ramiflorina A e ramiflorina B, H-17- α -ramiflorina A e H-17- α -ramiflorina B, esses compostos demonstram atividade *in vitro* antiparasitária frente à *Leishmania* (L.) *amazonensis* (xx).

Outras classes de produtos naturais foram isoladas de *Aspidosperma*, como flavonoides, saponinas, triterpenos, esteroides e ácidos orgânicos, esses compostos foram isolados de extrato metanólico do caule (Guimarães *et al.*, 2013). Através do fracionamento do extrato das folhas foi possível isolar ácido quinovico 3-O- β -ramnopiranosídeo e o ácido quinovico 3-O- β -fucopiranosídeo (Estrada *et al.*, 2015).

2.8. Utilização de plantas na medicina popular

As plantas têm diversas moléculas biológicas as quais são utilizadas há séculos, a utilização de plantas para fins medicinais ocorre de maneira mundial, aos quais possuem

inúmeros materiais bioativos nas moléculas tornando-se base para desenvolvimento de fármacos além de serem utilizadas em pesquisas de bioprospecção (Lazzarotto-Figueiró *et al.*, 2021). O Brasil destaca-se pela vasta biodiversidade, tendo suma relevância para o desenvolvimento sustentável.

Lazzarotto-Figueiró *et al.*, (2021), enfatiza a utilização do estudo e conhecimento sobre as plantas e a partir de então fazer seu uso de forma sustentável. Plantas constituem elementos naturais de primeira escolha para a prospecção de extratos bioativos seguidos de microrganismos, sendo a segunda maior fonte de estudo para o desenvolvimento de fármacos (Pinheiro *et al.*, 2017).

Os compostos fitoquímicos presentes nas plantas demonstram diversas atividades biológicas. Químicos de produtos naturais preparam extratos, isolam, purificam e caracterizam metabolitos secundários com o objetivo de compreender como os fitoquímicos afetam os sistemas biológicos (Dhiman, Malik, Khatkar; 2018).

A família Apocynaceae é considerada uma das vintes mais importantes de metabolitos secundários, responsáveis por diversas atividades biológicas relevantes para a busca e desenvolvimento de fármacos. Espécies do gênero *Aspidosperma* são tradicionalmente utilizadas no tratamento de malária, leishmaniose, bactericida e inflamação (Pereira *et al.*, 2018).

O guatambu (*Aspidosperma subincanum*) é utilizado na medicina popular para tratamento de diabetes, hipercolesterolemia e doenças digestivas (Oliveira *et al.*, 2009). Dados etnobotânicos relatam que comunidades indígenas utilizam tônico preparado a partir das cascas para estimular o sistema circulatório e geniturinário, melhorar a função respiratória, aliviar espasmos e reduzir a febre (Federlin *et al.*, 2014).

Estudos fitoquímicos de *A. subincanum* revelaram a presença de alcaloides indólicos, substâncias nitrogenadas com potente ação biológica. Compostos isolados do de *A. subincanum*, como a elipticina e seus derivados, demonstraram efeito anticancerígeno em ensaio clínico como fármaco (Pereira *et al.*, 2018).

2.9. *Xanthomonas citri*

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xcc) é a bactéria Gram-negativa causadora do cancro cítrico (forma asiática, canker A), doença quarentenária e altamente contagiosa de citros. A patogênese depende de efetores do sistema de secreção do tipo III (T3SS),

notadamente TALEs da família PthA, que ativam genes de suscetibilidade cítrica como CsLOB1, iniciando hiperplasia e a formação de pústulas erumpentes (Chen *et al.*, 2024).

As lesões começam como pontuações encharcadas, evoluindo para pústulas córticas e erumpentes com halo clorótico; em frutos, a suscetibilidade precoce gera lesões de tamanhos variados na mesma unidade, com rachaduras e queda (Ali *et al.*, 2023). A sintomatologia clássica (pústulas elevadas, centro corticoso, halo amarelado), diferencia *Xcc* de manchas fúngicas comuns, mas pode confundir com lesões por minador; histórico e distribuição ajudam no diagnóstico diferencial (Ali *et al.*, 2023; Behlau, 2016).

Segundo Vieira *et al.* (2021), após penetração via estômatos e microferimentos (inclusive lesões de minador-dos-citros), *Xcc* multiplica-se no parênquima subepidérmico; TALEs (p.ex., PthA4) ativam cascatas (p.ex., *CsLOB1*) que culminam em paliçádico, hiperplasia e rompimento cuticular; vias de carboidratos e sinalização podem induzir a expressão do T3SS. Reguladores pós-transcricionais (CsrA/RsmA) e fatores ECF modulam a virulência (Andrade *et al.*, 2014, Alexandrino *et al.*, 2024).

De acordo com Ali *et al.* (2023); o cancro cítrico afeta a maior parte das espécies e cultivares comerciais, com impactos econômicos relevantes por queda de produtividade, depreciação para mesa e custos de erradicação e controle; não há “cura” de plantas doentes a campo e o manejo depende de exclusão, erradicação, cobre e medidas culturais. E estudos de longo prazo no Brasil demonstraram que, quando programas rigorosos de exclusão e erradicação foram aplicados, a ocorrência caiu a níveis muito baixos, mas medidas menos estritas favoreceram a reemergência regional (Behlau, 2016; Behlau, 2021).

Como manejo, o uso de calda de cobre segue como pilar do controle em áreas endêmicas, com formulações solúveis e insolúveis e ajuste de dose/volume por arquitetura (Behlau *et al.*, 2021). A oportunidade de aplicação é crítica para proteger ferimentos de práticas culturais e a aplicações de cobre entre 24 h antes e até 0,5 h após o ferimento reduziram 92–96% a infecção em estudos brasileiros (Machado *et al.*, 2021).

De acordo com Islam *et al.* (2024); o uso de antibióticos agrícolas (p.ex., estreptomicina) mostrou eficácia em condições específicas, mas envolve restrições regulatórias e risco de resistência; deve ser considerado apenas quando autorizado e dentro de programas integrados. São também usadas medidas não químicas essenciais como o uso de viveiros certificados, barreiras vegetais, manejo do minador, remoção de

focos e plantas sintomáticas, conforme legislação e períodos críticos de suscetibilidade (Behlau, 2021).

2.10. Enzimas

Enzimas são compostos orgânicos de natureza proteica essenciais em todos os seres vivos (Robinson, 2015). As enzimas aceleram respostas químicas rápidas a energia de ativação, com alta especificidade para seus substratos (Robinson, 2015; Ndochinwa *et al.*, 2024). São geralmente proteínas (às vezes cofatores metálicos ou orgânicos) e são classificadas em seis grandes classes: hidrolases, oxidoredutases, transferases, líases, isomerases e ligases (Farhan *et al.*, 2025). Elas coordenam o metabolismo celular em animais, plantas e microrganismos (Robinson, 2015; Ndochinwa *et al.*, 2024).

Como catalizadores as enzimas são necessárias apenas em concentrações muito baixas e aceleram as reações sem serem consumidas durante o processo. A enorme atividade catalítica das enzimas pode ser bem expressa por uma constante, K_{cat} . Essa constante representa o número de moléculas de substrato que podem ser convertidas em produto por uma única molécula de enzima por unidade tempo (Robinson, 2015).

2.10.1. Colinesterase

A colinesterase (ChE) é uma enzima crucial para o funcionamento do sistema nervoso, pois está envolvida na degradação da acetilcolina, um neurotransmissor essencial para a transmissão de impulsos nervosos. A inibição da atividade colinesterásica pode levar à acumulação de acetilcolina nas sinapses, resultando em hiperatividade neuromuscular, paralisia e, em casos extremos morte (Nicareta, 2023).

Os inibidores da colinesterase são compostos químicos que prejudicam a atividade das colinesterases (AChE e butirilcolinesterase (BChE)). Elas reduzem a hidrólise dos neurotransmissores acetilcolina (ACh) (inibidores de acetilcolinesterase) e butirilcolina (inibidores da butirilcolinesterase), aumentando os níveis no corpo (cérebro, sangue e tecido nervoso) (Kummerle, 2021).

As ChE possuem atividades catalíticas adicionais (aril acilamidase, semelhante à metalocarboxipeptidase) e participam de processos como diferenciação celular, tumorigênese, adesão celular (Balasubramanian, Bhanumathy, 1993; Kisa *et al.*, 2020). Acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor, agonista colinérgico, sintetizado pela colina acetiltransferase a partir da colina e acetilcoenzima A; sendo sintetizada no interior das

vesículas dos neurônios, principalmente nas terminações axonais (Moraes, 1999; Patrick, 2023).

ACh é inativada por hidrólise pela ação da enzima acetilcolinesterase (AChE), com formação de colina e ácido acético. Os produtos gerados dessa hidrólise são reutilizados para a síntese de acetilcolina e acetilcoenzima (Moraes, 1999).

AChE é uma enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor ACh nas sinapses colinérgicas. Nas sinapses a ACh atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro. As sinapses colinérgicas estão amplamente distribuídas no sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP) (Bruton, Lazo, 2006).

A AChE é uma enzima que apresenta três ramificações, ligadas por pontes de dissulfeto, sendo fixada à membrana celular por colágeno. Cada ramificação dessa unidade enzimática composta por quatro subunidades proteicas, capazes de hidrolisar a ACh (Patrick, 2009).

O desenvolvimento de fármacos concentra-se em inibidores da colinesterase com múltiplos alvos, com propriedades neuroprotetoras ou anti- β -amiloides, e em inibidores seletivos da butirilcolinesterase (BChE) ou da carboxilesterase para minimizar os efeitos colaterais (Makhaeva *et al.*, 2019; Smyrska-Wieleba, Mroczek; 2023).

Produtos naturais continuam sendo rica fonte de novos inibidores da colinesterase (ChE), mas os mecanismos e as relações estrutura-atividade precisam ser bem elucidados, pois os inibidores de colinesterase de ocorrência natural afetam as esterases de maneira reversível (Bukowska *et al.*, 2007; Smyrska-Wieleba, Mroczek; 2023).

2.10.2. Elastase

Elastase é uma serina protease que degrada a elastina, a principal proteína da matriz extracelular que confere elasticidade aos pulmões, vasos sanguíneos e pele. O controle rigoroso da atividade da elastase é essencial; a hiperatividade crônica contribui para doenças inflamatórias, cardiovasculares, oculares e gastrointestinais (Suresh, Vaithilingam; 2025).

Existem múltiplas elastase humanas em diversas classes de proteases (serina, metaloproteinases, cisteína, aspártica), definidas como enzimas capazes de degradar a elastina madura e reticulada (Famutimi, *et al.*, 2022; Robert, Hornebeck, 1989). A elastase de neutrófilos (NE) é armazenada nos grânulos azurófilos dos neutrófilos e

degrada a elastina, colágeno, fibronectina e muitas proteínas imunológicas (Voynow, Shinbashi, 2021; Korkmaz *et al.*, 2010).

A degradação da elastina ao longo da vida e a liberação de elastocinas promovem enfisema/DPOC (doença pulmonar obstrutiva crônica), aterosclerose, síndrome metabólica e câncer (Suresh, Vaithilingam, 2025; Janoff, 1985; Famutimi, *et al.*, 2022). Nas vias aéreas, o excesso de NE leva à hipersecreção de muco, comprometimento da função ciliar, remodelamento das vias aéreas e disfunção imunológica inata na fibrose cística, DPOC e bronquiectasia (Voynow, Shinbashi, 2021; Polverino *et al.*, 2017).

A atividade anormal da elastase e a renovação da elastina contribuem para a degradação macular relacionada à idade e aneurisma da aorta abdominal (Motta *et al.*, 2021). Compostos de origem vegetal e peptídica inibem a elastase (especialmente a elastase de neutrófilos e pancreática) (Motta *et al.*, 2021).

Extratos vegetais ricos em fenóis e flavonoides, como: luteolina, quercetina, hiperosídeo e luteolosídeo possuem ação para inibição da elastase (Lin *et al.*, 2025). Agliconas, glicosídeos, metilados, acetilados, hidroxilados possuem atividade sobre a elastase de neutrófilos (Jakimiuk *et al.*, 2021).

Algumas plantas como, *Garcinia latissima*, *Garcinia tetandra*, *Rubus spp.*, *Sterculia populifolia* e *Eugenia uniflora* demonstram atividades antielastase relevante em concentrações cosméticas (Wenas *et al.*, 2025; Desmiaty *et al.*, 2021).

2.10.3. α -amilase

As amilases são enzimas que catalizam reações em que ocorre a hidrólise de polissacarídeos em moléculas, transformando em glicogênio, amilose e amilopectina, transformando-os em dextrinas maltose e glicose (Zhao *et al.*, 2024). Por ser uma enzima do tipo hidrolase que atua celularmente clivando o glicogênio e amido, os quais são ingeridos usualmente na dieta (Silva *et al.*, 2017).

As hidrolases são proteases, amilases, lipases, pectinases, celulasas e catalases têm função importante não apenas na digestão, mas também ampla aplicação industrial como panificação, fermentação de bebidas, desengomagem e gomagem de tecidos nas indústrias têxteis (Poondla *et al.*, 2016).

Podem ser destacado dois tipos de amilases, as α -amilase e β -amilase, atuando sobre o amido, e derivados de polissacarídeos como o glicogênio. As amilases

diferenciam-se pela maneira que agem hidrolisando carboidratos, a α -amilase hidrolisa a ligação glicosídica α -1,4 (entre duas glicólises) e as β -amilase atuam clivando as ligações glicosídicas α -1,6 (Fernandes *et al.*, 2007).

As α -amilase têm características específicas para sua atividade enzimática, as de origem vegetal tem pH ótimo em meio ácido, por volta de 5, e temperatura de atividade ideal por volta de 40°C. Já a α -amilase animal o pH ótimo é de 6,8 e temperatura ideal por volta de 37°C (Koblitz, 2008).

A enzima α -amilase é produzida principalmente pelas glândulas salivares e pelo pâncreas (Khan *et al.*, 2024). A atividade da α -amilase inicia-se na boca, durante a mastigação, e prossegue no intestino delgado, quando a enzima pancreática atua em ambiente ideal de pH. Essa ação sequencial garante a degradação eficiente do amido presente na alimentação, facilitando a absorção no trato gastrointestinal (Zhao *et al.*, 2024).

Apesar da eficácia dos inibidores sintéticos da α -amilase, como a acarbose, os efeitos colaterais, que incluem desconfortos gastrointestinais, limitam seu uso em pacientes. Dessa forma aumenta o interesse por alternativas naturais que possam oferecer benefícios semelhantes, sem toxicidade e efeitos adversos (Gunny *et al.*, 2025).

2.11. Docking molecular

O *docking* molecular (modelagem molecular) é uma ferramenta essencial para estudar a estrutura tridimensional de um alvo molecular (uma molécula). Os métodos de modelagem molecular ajustam o composto ao alvo, prevendo a estrutura e a energia de ligação do composto; o *docking* molecular pode ser usado para descobrir novos ligantes para um alvo por meio da triagem de grandes bibliotecas virtuais de compostos (Paggi, Pandit, Dror; 2024).

Atualmente, o método de ancoragem molecular são amplamente empregados em pesquisa biológica, descoberta de novos fármacos e outras áreas. O *docking* permite a otimização mais eficiente de ligantes, etapa fundamental na descoberta de moléculas, no qual se parte de um ligante e buscam compostos relacionados com propriedades desejáveis, não apenas uma ligação mais forte, mas também maior eficácia, menor toxicidade e menos efeitos colaterais (Paggi, Pandit, Dror; 2024).

O *docking* molecular é frequentemente usado entre proteínas-alvo e pequenas moléculas, compostos com aproximadamente 100 ou menos átomos (Agrawal *et al.*, 2019). O método de acoplamento molecular é projetado para estimar dois atributos da interação entre um composto químico e um alvo biológico. O primeiro acoplamento prediz a posição de ligação do composto, geometria energeticamente mais favorável do composto quando ligado ao alvo, especificado pela coordenação tridimensional de cada átomo do composto em relação ao alvo (Paggi, Pandit, Dror; 2024).

O segundo acoplamento estima uma energia de ligação associada (ou equivalente, afinidade de ligação), que quantifica a extensão quando o composto é ligado ao alvo em oposição permanecendo no solvente circundante (Wang *et al.*, 2021). O *docking* molecular em programas de descoberta de fármacos baseados em produtos naturais pode ajudar a explicar o uso tradicional e potencialmente identificar novos usos para plantas e prevenir doenças emergentes (Paggi, Pandit, Dror; 2024).

3. REFERÊNCIAS

Agrawal, P., Singh, H., Srivastava, H. K., Singh, S., Kishore, G., Raghava, G. P. Benchmarking of different molecular docking methods for protein-peptide docking. **BMC bioinformatics**, v. 19, n. Suppl 13, p. 426, 2019.

Adetunji, C. O., Oyeyemi, O. T. Antiprotozoal activity of some medicinal plants against entamoeba histolytica, the causative agent of amoebiasis. In: **Medical biotechnology, biopharmaceutics, forensic science and bioinformatics**. CRC Press, 2022. p. 341-358.

Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., Ferreira, I. C. Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. **Food & function**, v. 12, n. 1, p. 14-29, 2021.

Alexandrino, A. V., Barcelos, M. P., Federico, L. B., da Silva, T. G., Cavalca, L. B., de Moraes, C. H. A., Novo-Mansur, M. T. M.

Ali, S., Hameed, A., Muhae-Ud-Din, G., Ikhlaiq, M., Ashfaq, M., Atiq, M., Wang, Y. Citrus canker: a persistent threat to the worldwide citrus industry—an analysis. **Agronomy**, v. 13, n. 4, p. 1112, 2023.

Almeida, V. L., Silva, C. G., Silva, A. F., Campana, P. R. V., Foubert, K., Lopes, J. C. D., Pieters, L. Aspidosperma species: A review of their chemistry and biological activities. **Journal of ethnopharmacology**, v. 231, p. 125-140, 2019.

Amaral, A. G., Bijos, N. R., Moser, P., Munhoz, C. B. R. Spatially structured soil properties and climate explain distribution patterns of herbaceous-shrub species in the Cerrado. **Plant Ecology**, v. 223, n. 1, p. 85-97, 2022.

Amorim, I. L. D., Sampaio, E. V., Araújo, E. D. L. Flora e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea de uma área de caatinga do Seridó, RN, Brasil. **Acta botânica brasílica**, v. 19, p. 615-623, 2005.

Anand, U., Nandy, S., Mundhra, A., Das, N., Pandey, D. K., Dey, A. A review on antimicrobial botanicals, phytochemicals and natural resistance modifying agents from Apocynaceae family: Possible therapeutic approaches against multidrug resistance in pathogenic microorganisms. **Drug Resistance Updates**, v. 51, p. 100695, 2020

Andrade, M. O., Farah, C. S., Wang, N. The post-transcriptional regulator rsmA/csrA activates T3SS by stabilizing the 5' UTR of hrpG, the master regulator of hrp/hrc genes, in *Xanthomonas*. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 2, p.

Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Define as categorias de medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico e estabelece requisitos mínimos para registro/renovação. Brasília: ANVISA, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf.

Anvisa. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira – 2ª edição. Brasília: ANVISA/Farmacopeia Brasileira, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt->

br/assuntos/farmacopeia/formulario-fitoterapico/2023-fffb2-1-er-2-atual-final-versao-com-capa-em-word-25-abr-2023.pdf.

Araújo, C. A., Morgado, C. S., Gomes, A. K. C., Gomes, A. C. C., Simas, N. K. Asteraceae family: A review of its allelopathic potential and the case of *Acmella oleracea* and *Sphagneticola trilobata*. **Rodriguésia**, v. 72, p. e01622020, 2021.

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., Supuran, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature reviews Drug discovery**, v. 20, n. 3, p. 200-216, 2021.

Babenko, L. M., Smirnov, O. E., Romanenko, K. O., Trunova, O. K., Kosakivska, I. V. Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. **Ukr. Biochem. J**, v. 91, n. 3, p. 5-18, 2019.

Balasubramanian, A. S., Bhanumathy, C. D. Noncholinergic functions of cholinesterases. **The FASEB journal**, v. 7, n. 14, p. 1354-1358, 1993.

Barbosa, J. C., Barbieri, H. B., Fill, T. P., Crnkovic, C. M. Avanços em técnicas ômicas na descoberta e no estudo de produtos naturais. **Química Nova**, v. 48, n. 6, p. e-20250190, 2025.

Barreto, B. B., Gomes, F. V., Teixeira, J. B. P. O uso de plantas medicinais por comunidades carentes no município de Juiz de Fora (MG). **XXIX Semana de Biologia e XII Mostra de Produção Científica**, 2006.

Bhadane, B. S., Patil, M. P., Maheshwari, V. L., Patil, R. H. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: A review. **Phytotherapy research**, v. 32, n. 7, p. 1181-1210, 2018.

Behlau, F., Canteros, B. I., Minsavage, G. V., Jones, J. B., Graham, J. H. Molecular characterization of copper resistance genes from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas alfalfae* subsp. *citrumelonis*. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 12, p. 4089-4096, 2011.

Behlau, F., Canteros, B. I., Jones, J. B., Graham, J. H. Copper resistance genes from different xanthomonads and citrus epiphytic bacteria confer resistance to *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 133, n. 4, p. 949-963, 2012.

Behlau, F., Fonseca, A. E., Belasque Jr, J. A comprehensive analysis of the Asiatic citrus canker eradication programme in São Paulo state, Brazil, from 1999 to 2009. **Plant Pathology**, v. 65, n. 8, p. 1390-1399, 2016.

Behlau, F. An overview of citrus canker in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, n. 1, p. 1-12, 2021.

Bhadane, B. S., Patil, M. P., Maheshwari, V. L., Patil, R. H. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: A review. **Phytotherapy research**, v. 32, n. 7, p. 1181-1210, 2018.

- Bieski, I. G. C., dos Santos, J. L. U., de Lima Ferreira, M., Garcia, P. C., Dourado, S. H. A., Januário, A. B., da Silva, J. M. D. S. Potencial econômico e terapêutico dos óleos essenciais mais utilizados no Brasil. **Revista Fitos**, v. 15, n. Supl 1, p. 125-137, 2022.
- Bizzo, H. R., Rezende, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, n. 08, p. 949-958, 2022.
- Brasil. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Regula o acesso ao patrimônio genético e aos conhecimentos tradicionais associados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2015.
- Bruton, L. L., Lazo, J. S. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. In: **Goodman & Gilman: las bases farmacológicas de la terapéutica**. 2006. p. 2017-2017.
- Bueno, M. L., Dexter, K. G., Pennington, R. T., Pontara, V., Neves, D. M., Ratter, J. A. de Oliveira-Filho, A. T. The environmental triangle of the Cerrado Domain: Ecological factors driving shifts in tree species composition between forests and savannas. **Journal of Ecology**, v. 106, n. 5, p. 2109-2120, 2018.
- Bukowska, B., Pieniążek, D., Hutniki, K., Duda, W. ACETYLO-I BUTYRYLOCHOLINOESTERAZA–budowa, funkcje i ich inhibitory. **Curr. Top. Biophys**, v. 30, p. 11-23, 2007.
- Cardoso, J. C., Carmello, C. R. Botanical pesticides as alternatives for more sustainable crops and healthy foods. In: **Pesticides in the natural environment**. Elsevier, 2022. p. 285-315.
- Carmo Lemos, F. M. F., Quintella, L. H. F., Seraphin, F. D. S., Fernandes, I. D. S. L., do Nascimento, G. N. L. Plantas medicinais em residências de uma capital da Amazônia Legal-um olhar da Etnofarmacologia. **Revista Cereus**, v. 15, n. 3, p. 55-62, 2023.
- Chen, X., Zou, H., Zhuo, T., Rou, W., Wu, W., Fan, X. *Xanthomonas citri* subsp. *citri* type III effector PthA4 directs the dynamical expression of a putative citrus carbohydrate-binding protein gene for canker formation. **Elife**, v. 13, p. RP91684, 2024.
- Colli, G. R., Vieira, C. R., Dianese, J. C. Biodiversity and conservation of the Cerrado: recent advances and old challenges. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, n. 5, p. 1465-1475, 2020.
- Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pasti, T. D., Bondzic, A. M., Vasic, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315-335, 2013.
- Desmiaty, Y., Hanafi, M., Saputri, F. C., Elya, B., Rifai, E. A., Syahdi, R. R. Two triterpenoids from *Rubus fraxinifolius* leaves and their tyrosinase and elastase inhibitory activities. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 20452, 2021.
- Dias, D. A., Urban, S., Roessner, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

- Dhiman, P., Malik, N., Khatkar, A. D-QSAR and in-silico studies of natural products and related derivatives as monoamine oxidase inhibitors. **Current neuropharmacology**, v. 16, n. 6, p. 881-900, 2018.
- El Mokni, R., Iamónico, D. Floristic Account of Apocynaceae (Gentianales) in Tunisia: New Additions to National and North African Flora with Nomenclatural Updates and Taxonomic Notes. **Plants**, v. 14, n. 3, p. 318, 2025.
- Estrada, O., González-Guzmán, J. M., Salazar-Bookman, M. M., Cardozo, A., Lucena, E., Alvarado-Castillo, C. P. Hypotensive and bradycardic effects of quinovic acid glycosides from *Aspidosperma fendleri* in spontaneously hypertensive rats. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 2, p. 1934578X1501000216, 2015.
- Famutimi, O. G., Adebisi, V. G., Akinmolu, B. G., Dada, O. V., Adewale, I. O. Trypsin, chymotrypsin and elastase in health and disease. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 126, 2024.
- Farhan, M., Hasani, I. W., Khafaga, D. S., Ragab, W. M., Ahmed Kazi, R. N., Aatif, M., Fahim, Y. A. Enzymes as catalysts in industrial biocatalysis: advances in engineering, applications, and sustainable integration. **Catalysts**, v. 15, n. 9, p. 891, 2025.
- Federlin, J. D., Maes, D., Maes, R. *Aspidosperma subincanum* I. Characterisation, extraction of an uleine-enriched fraction and potential health hazard due to the contaminant ellipticine. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 3, p. 293-297, 2014.
- Fernandes, L. P., Ulhoa, C. J., Asquieri, E. R., Monteiro, V. N. Produção de amilases pelo fungo *Macrophomina phaseolina*. **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 43-51, 2007.
- Fernandes, T. F., Lima, M. M. A., Dutra, R. P., Pereira, A. L. F., Ferreira, A. G. N., Neto, M. S., Fidelis, Q. C. Use of plants from the Lamiaceae family against skin infections: an integrative review. 2024.
- Ference, C. M., Gochez, A. M., Behlau, F., Wang, N., Graham, J. H., Jones, J. B. Recent advances in the understanding of *Xanthomonas citri* ssp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. **Molecular plant pathology**, v. 19, n. 6, p. 1302, 2018.
- Ferraro, A., da Silva, G. S., de Aguiar, C. L., Appezzato-da-Gloria, B. Evaluating belowground bud banks of native species from Cerrado: structural, chemical, and ecological approaches. **Flora**, v. 281, p. 151852, 2021.
- Fishbein, M., Livshultz, T., Straub, S. C., Simões, A. O., Boutte, J., McDonnell, A., Foote, A. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits. **American Journal of Botany**, v. 105, n. 3, p. 495-513, 2018.

Freitas, A. D. D. D. Aspectos tecnológicos e morfoanatômicos de sementes maduras, lântulas e plantas jovens de *Aspidosperma spruceanum* Benth. Ex mull. arg.(Apocynaceae). 2008.

Furley, P. A., Ratter, J. A. Soil resources and plant communities of the central Brazilian cerrado and their development. **Journal of Biogeography**, p. 97-108, 1988.

Gilbert, B. Um estudo fitoquímico do gênero *Aspidosperma*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 38, supl., p. 315–319, 1966.

Guimaraes, H. A., Vieira, I. J., Braz-Filho, R., Crotti, A. E., dos Almeida, V. S., de Paula, R. C. Two novel plumeran indole alkaloids isolated from *Aspidosperma cylindrocarpon* (Apocynaceae). **Helvetica Chimica Acta**, v. 96, n. 9, p. 1793-1800, 2013.

Gunny, A. A. N., Subramanian, P., Mahmod, S. S., Al-Rajabi, M. M., Ahmad, A. A., Abu Bakar, A. R. Mechanism of inhibition of alpha-amylase by caffeic acid using in-vitro and in-silico techniques. **Natural Product Research**, v. 39, n. 24, p. 7023-7027, 2025.

Heinrich, M., Mah, J., Amirkia, V. Alkaloids used as medicines: Structural phytochemistry meets biodiversity—An update and forward look. **Molecules**, v. 26, n. 7, p. 1836, 2021.

Heinrich, M., Jalil, B., Abdel-Tawab, M., Echeverria, J., Kulić, Ž., McGaw, L. J., Wang, J. B. Best practice in the chemical characterisation of extracts used in pharmacological and toxicological research—the ConPhyMP—guidelines. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 953205, 2022.

Henrique, C. Y., Alves, O. J., Silva, M. L. E., Cunha, W. R., Januario, A. H., Pauletti, P. M. O gênero *Fridericia* (Bignoniaceae): Composição química e potencial biológico. **Química Nova**, v. 47, n. 1, p. e-20230088, 2024.

Islam, T., Haque, M. A., Barai, H. R., Istiaq, A., Kim, J. J. Antibiotic resistance in plant pathogenic bacteria: recent data and environmental impact of unchecked use and the potential of biocontrol agents as an eco-friendly alternative. **Plants**, v. 13, n. 8, p. 1135, 2024.

Jakimiuk, K., Gesek, J., Atanasov, A. G., Tomczyk, M. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 36, n. 1, p. 1016-1028, 2021.

Janoff, A. Elastase in tissue injury. **Annual review of medicine**, v. 36, p. 207-216, 1985.

Jesus, N. Z. T. D., Lima, J. C. D. S., Silva, R. M. D., Espinosa, M. M., Martins, D. T. D. O. Levantamento etnobotânico de plantas popularmente utilizadas como antiúlcera e antiinflamatórias pela comunidade de Pirizal, Nossa Senhora do Livramento-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 130-139, 2009.

Junior, A. B. A., Pontes, B. B., Gioia, L. N., Rangel, V. Fisiopatologia e tratamentos atualmente disponíveis para dislipidemia. **Epitaya E-books**, v. 1, n. 41, p. 32-56, 2023.

Khan, S., Iqbal, S., Rahim, F., Shah, M., Hussain, R., Alrbyawi, H., Farouk, A. E. New biologically hybrid pharmacophore thiazolidinone-based indole derivatives: synthesis, in vitro alpha-amylase and alpha-glucosidase along with molecular docking investigations. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6564, 2022.

Kummerle, A. E. Butirilcolinesterase-BuChE: Um potencial alvo para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da Doença de Alzheimer. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, 2021.

Lazzarotto-Figueiró, J., Capelezzo, A. P., Schindler, M. S. Z., Fossá, J. F. C., Albeny-Simões, D., Zanatta, L., Dal Magro, J. Antioxidant activity, antibacterial and inhibitory effect of intestinal disaccharidases of extracts obtained from *Eugenia uniflora* L. Seeds. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 291-300, 2020

Lin, L., Yao, H., Fu, J., Zhang, W., Li, Y., Wang, Y., Guan, Y. Elastase inhibition by natural flavonoids: mechanistic insights and potential therapeutic applications. **Frontiers in Nutrition**, v. 12, p. 1693869, 2025.

Lira-Martins, D., Nascimento, DL, Abrahão, A., de Britto Costa, P., D'Angioli, AM, Valezio, E., Oliveira, RS. Propriedades do solo e processos geomórficos influenciam a composição, estrutura e função da vegetação no Domínio Cerrado. **Plant and Soil** , v. 476, n. 1, p. 549-588, 2022.

Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 1992.

Luca, V., Laflamme, P. The expanding universe of alkaloid biosynthesis. **Current opinion in plant biology**, v. 4, n. 3, p. 225-233, 2001.

Luca, V., St Pierre, B. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. **Trends in plant science**, v. 5, n. 4, p. 168-173, 2000.

Kısa, D., Korkmaz, N., Taslimi, P., Tuzun, B., Tekin, Ş., Karadag, A., Şen, F. Bioactivity and molecular docking studies of some nickel complexes: New analogues for the treatment of Alzheimer, glaucoma and epileptic diseases. **Bioorganic chemistry**, v. 101, p. 104066, 2020.

Koblitz, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000.

Korkmaz, B., Horwitz, M. S., Jenne, D. E., Gauthier, F. Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. **Pharmacological reviews**, v. 62, n. 4, p. 726-759, 2010.

Machado, F. J., Marin, T. G. D. S., Canôas, F., da Silva Junior, G. J., Behlau, F. Timing of copper sprays to protect mechanical wounds against infection by *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, causal agent of citrus canker. **European Journal of Plant Pathology**, v. 160, n. 3, p. 683-692, 2021.

Makhaeva, G. F., Rudakova, E. V., Kovaleva, N. V., Lushchekina, S. V., Boltneva, N. P., Proshin, A. N., Saloutin, V. I. holinesterase and carboxylesterase inhibitors as pharmacological agents. **Russian Chemical Bulletin**, v. 68, n. 5, p. 967-984, 2019.

Marques, L. G. A., Neto, J. D. B. V., Sales, S. L. A., da Silva Costa, P. M., de Jesus Guimarães, C., Manso, M. P., do Ó Pessoa, C. O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas. **Revista Fitos**, v. 16, n. Supl. 2, p. 293-314, 2022.

Marucci, G., Buccioni, M., Dal Ben, D., Lambertucci, C., Volpini, R., Amenta, F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. **Neuropharmacology**, v. 190, p. 108352, 2021.

Mohammed, A. E., Abdul-Hameed, Z. H., Alotaibi, M. O., Bawakid, N. O., Sobahi, T. R., Abdel-Lateff, A., Alarif, W. M. Chemical diversity and bioactivities of monoterpene indole alkaloids (MIAs) from six Apocynaceae genera. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 488, 2021.

Monagas, M., Brendler, T., Brinckmann, J., Dentali, S., Gafner, S., Giancaspro, G., Marles, R. Understanding plant to extract ratios in botanical extracts. **Frontiers in pharmacology**, v. 13, p. 981978, 2022.

Moraes, A. C. L. Intoxicações por Organofosforados e Carbamatos. **Rio de Janeiro: Fiocruz**, 1999.

Motta, J. P., Rolland, C., Edir, A., Florence, A. C., Sagnat, D., Bonnart, C., Deraison, C. Epithelial production of elastase is increased in inflammatory bowel disease and causes mucosal inflammation. **Mucosal immunology**, v. 14, n. 3, p. 667-678, 2021.

Muhammad, S. N. H., Ismail, T. S. T., Fauzi, A. N. Exploring Terpenoids as Dual-Action Agents in Diabetes and Cancer: A Review of Their Anti-Hyperglycemic, Anti-Glycolytic Actions, and Combination Therapy Potential. **Phytotherapy Research**, 2026.

Naqvi, S. A. H., Wang, J., Malik, M. T., Umar, U. U. D., Hasnain, A., Sohail, M. A., Datta, R. Citrus canker—Distribution, taxonomy, epidemiology, disease cycle, pathogen biology, detection, and management: A critical review and future research agenda. **Agronomy**, v. 12, n. 5, p. 1075, 2022.

Ndochinwa, O. G., Wang, Q. Y., Amadi, O. C., Nwagu, T. N., Nnamchi, C. I., Okeke, E. S., Moneke, A. N. Current status and emerging frontiers in enzyme engineering: An industrial perspective. **Heliyon**, v. 10, n. 11, 2024.

Negrelle, R. R. B., Tomazzoni, M. I., Ceccon, M. F., Valente, T. P. Estudo etnobotânico junto à Unidade Saúde da Família Nossa Senhora dos Navegantes: subsídios para o estabelecimento de programa de fitoterápicos na Rede Básica de Saúde do Município de Cascavel (Paraná). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 3, p. 6-22, 2007.

Newman, D. J., Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

Nicareta, L. C. Avaliação da inibição colinesterásica por deltametrina em diferentes tecidos de *Ancistrus Multispinnis*. **Ets Scientia-Revista Interdisciplinar**, v. 1, n. 1, p. 38-47, 2023.

Novaes, P., Molinillo, J. M., Varela, R. M., Macias, F. A. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry reviews**, v. 12, n. 4, p. 839-855, 2013.

Oliveira, A. J. B., Koike, L., Reis, F. D. A. M., Eguchi, S. Y., Endo, E. H., Nakamura, C. V., Filho, B. P. D. Preliminary studies on the antibacterial activity of crude extracts and alkaloids from species of *Aspidosperma*. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 11, p. 1085-1089, 2009.

Ono, E., Murata, J. Exploring the evolvability of plant specialized metabolism: uniqueness out of uniformity and uniqueness behind uniformity. **Plant and Cell Physiology**, v. 64, n. 12, p. 1449-1465, 2023.

Passos, M. S., de Carvalho Junior, A. R., Boeno, S. I., das Virgens, L. D. L. G., Calixto, S. D., Ventura, T. L. B., Curcino Vieira, I. J. Terpenoids isolated from *Azadirachta indica* roots and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 1, p. 40-45, 2019.

Patrick, G. L. **An introduction to medicinal chemistry**. Oxford university press, 2023.

Robert, L., Hornebeck, W. Role of elastin and elastases in atherogenesis. **Modern Aspects of the Pathogenesis of Atherosclerosis**, v. 82, p. 133-139, 1989.

Paggi, J. M., Pandit, A., Dror, R. O. The art and science of molecular docking. **Annual review of biochemistry**, v. 93, n. 1, p. 389-410, 2024.

Pereira Rocha, M., Rodrigues Valadares Campana, P., de Oliveira Scoaris, D., de Almeida, V. L., Dias Lopes, J. C., Fonseca Silva, A., Gontijo Silva, C. Biological activities of extracts from *Aspidosperma subincanum* Mart. and in silico prediction for inhibition of acetylcholinesterase. **Phytotherapy research**, v. 32, n. 10, p. 2021-2033, 2018.

Pinheiro, E. A., Pina, J. R., Feitosa, A. O., Carvalho, J. M., Borges, F. C., Marinho, P. S., Marinho, A. M. Bioprospecting of antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi from *Bauhinia guianensis*. **Revista Argentina de microbiologia**, v. 49, n. 1, p. 3-6, 2017.

Polverino, E., Rosales-Mayor, E., Dale, G. E., Dembowsky, K., Torres, A. The role of neutrophil elastase inhibitors in lung diseases. **Chest**, v. 152, n. 2, p. 249-262, 2017.

Poondla, V., Yannam, S. K., Gummadi, S. N., Subramanyam, R., Obulam, V. S. R. Enhanced production of pectinase by *Saccharomyces cerevisiae* isolate using fruit and

agro-industrial wastes: its application in fruit and fiber processing. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 6, p. 40-50, 2016.

Riyadi, S. A., Naini, A. A., Supratman, U. Sesquiterpenoids from meliaceae family and their biological activities. **Molecules**, v. 28, n. 12, p. 4874, 2023.

Robinson, P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications. **Essays in biochemistry**, v. 59, p. 1, 2015.

Saini, N., Anmol, A., Kumar, S., Wani, A. W., Bakshi, M., Dhiman, Z. Exploring phenolic compounds as natural stress alleviators in plants-a comprehensive review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 133, p. 102383, 2024.

Sano, E. E., Rodrigues, A. A., Martins, E. S., Bettiol, G. M., Bustamante, M. M., Bezerra, A. S., Bolfe, E. L. Cerrado ecoregions: A spatial framework to assess and prioritize Brazilian savanna environmental diversity for conservation. **Journal of environmental management**, v. 232, p. 818-828, 2019.

Santos, S. R., Rangel, E. T., Lima, J. C. S., Silva, R. M., Lopes, L., Noldin, V. F., Martins, D. T. O. Toxicological and phytochemical studies of *Aspidosperma subincanum* Mart. stem bark (Guatambu). **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n. 12, p. 836-839, 2009.

Shahbaz, E., Ali, M., Shafiq, M., Atiq, M., Hussain, M., Balal, R. M., Shahid, M. A. Citrus canker pathogen, its mechanism of infection, eradication, and impacts. **Plants**, v. 12, n. 1, p. 123, 2022.

Shahidi, F., Varatharajan, V., Oh, W. Y., Peng, H. J. F. B. Phenolic compounds in agri-food by-products, their bioavailability and health effects. **Food Bioact**, v. 5, n. 1, p. 57-119, 2019.

Shahidi, F., Yeo, J. Bioactivities of phenolics by focusing on suppression of chronic diseases: A review. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 6, p. 1573, 2018.

Shaikh, S., Verma, A., Siddiqui, S., S Ahmad, S., MD Rizvi, S., Shakil, S., A Kamal, M. Current acetylcholinesterase-inhibitors: a neuroinformatics perspective. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)**, v. 13, n. 3, p. 391-401, 2014.

Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., Zheng, B. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. **Molecules**, v. 24, n. 13, p. 2452, 2019.

Silva, L. D. F., Carvalho, S. A., Florêncio Filho, D., Alves, M. F., Silva, N. L. T., Gomes, J. R., Santos, K. S. Produção de amilase por fungo filamentoso endofítico em fermentação submersa. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, p. 49-53, 2017.

Sharma, K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics. **Molecular medicine reports**, v. 20, n. 2, p. 1479-1487, 2019.

Smyrska-Wieleba, N., Mroczek, T. Natural inhibitors of cholinesterases: chemistry, structure–activity and methods of their analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2722, 2023.

Soares, I. J., Gomes, M. F. Propriedade intelectual, biodiversidade e biopirataria: a preservação do patrimônio genético ambiental brasileiro requer regulação eficaz. **Revista de Biodireito e Direito dos Animais**, v. 3, n. 2, p. 38-56, 2017.

Sottomayor, M., Lopes Cardoso, I., Pereira, L. G., Ros Barceló, A. Peroxidase and the biosynthesis of terpenoid indole alkaloids in the medicinal plant *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, n. 1, p. 159-171, 2004.

Suresh, A., Vaithilingam, M. Mohanasrinivasan. Microbial proteases as emerging anti-inflammatory therapeutics: a comprehensive review. **Archives of Microbiology**, v. 207, n. 9, p. 229, 2025.

Teixeira, C. A. D. S., Castello, A. C. D., Pereira, A. S. D. S., Farinaccio, M. A. Estudos em *Aspidosperma Mart. & Zucc.*(Apocynaceae): Integrando morfologia e filogenia. **Hoehnea**, v. 51, p. e812023, 2024.

Timilsina, S., Potnis, N., Newberry, E. A., Liyanapathirana, P., Iruegas-Bocardo, F., White, F. F., Jones, J. B. *Xanthomonas* diversity, virulence and plant–pathogen interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 8, p. 415-427, 2020.

Vieira, P. S., Bonfim, I. M., Araujo, E. A., Melo, R. R., Lima, A. R., Fessel, M. R., Murakami, M. T. Xyloglucan processing machinery in *Xanthomonas* pathogens and its role in the transcriptional activation of virulence factors. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 4049, 2021.

Voynow, J. A., Shinbashi, M. Neutrophil elastase and chronic lung disease. **Biomolecules**, v. 11, n. 8, p. 1065, 2021.

Vuolo, M. M., Lima, V. S., Junior, M. R. M. Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In: **Bioactive compounds**. Woodhead Publishing, 2019. p. 33-50.

Wang, C., Chen, L., Lu, Y., Liu, J., Zhao, R., Sun, Y., Cuina, W. pH-Dependent complexation between β -lactoglobulin and lycopene: Multi-spectroscopy, molecular docking and dynamic simulation study. **Food Chemistry**, v. 362, p. 130230, 2021.

Wang, Z., Li, S., Ge, S., Lin, S. Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 68, n. 11, p. 3330-3343, 2020.

Waseem, M., Majeed, Y., Nadeem, T., Naqvi, L. H., Khalid, M. A., Sajjad, M. M., Lorenzo, J. M. Conventional and advanced extraction methods of some bioactive

compounds with health benefits of food and plant waste: A comprehensive review. **Food Frontiers**, v. 4, n. 4, p. 1681-1701, 2023.

Wenas, D. M., Elya, B., Sutriyo, S., Setiawan, H., Othman, R., Nur, S., Setyaningsih, E. P. In Vitro and In Silico Evaluation of the Anti-Aging Potential of *Eugenia uniflora* UAE Extracts. **Molecules**, v. 30, n. 15, p. 3168, 2025.

Ya-Na, L. V., Chun-Yong, Y. A. N. G., Lin-Chun, S. H. I., An-Shun, X. U., Xue-Lan, L. I., Hai-Tao, L. I. Identification of medicinal plants within the Apocynaceae family using ITS2 and psbA-trnH barcodes. **Chinese journal of natural medicines**, v. 18, n. 8, p. 594-605, 2020.

Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., Aksenova, M. A. Polyphenols in plants: structure, biosynthesis, abiotic stress regulation, and practical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 18, p. 13874, 2023.

Zhao, L., Gao, F., Zheng, C., Sun, X. The impact of optimal glycemic control on tuberculosis treatment outcomes in patients with diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. **JMIR public health and surveillance**, v. 10, p. e53948, 2024.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

Objetivou-se bioprospectar os extratos hexânicos da entrecasca e folhas de *Aspidosperma subincanum* (Guatambu), avaliar a composição química e suas bioatividades.

4.2. Específicos

- Preparar extrato hexânico das folhas de *Aspidosperma subincanum*;
- Preparar extrato hexânico da entrecasca de *Aspidosperma subincanum*;
- Determinar a composição química dos compostos voláteis presente nos extratos hexânicos por meio da Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM);
- Avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* dos extratos hexânicos das folhas (EH-FG) e entrecasca de *Aspidosperma subincanum* (EH-CG) frente à *Xanthomonas citri*.
- Determinar a atividade inibidora de enzimas acetilcolinesterase do EH-FG e do EH-CG.
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* com diferentes linhas de células humanas;
- Realizar análise por *Docking* molecular.

Capítulo I: *Aspidosperma subincanum* (Guatambu): potencial fitoterápico e aplicações na medicina tradicional

Aspidosperma subincanum (Guatambú): phytotherapeutic potential and applications in traditional medicine

Disponível: DOI: 10.54033/cadpedv22n9-431

Artigo aceito: 21 de julho de 2025

Artigo publicado na revista: Revista Caderno Pedagógico

RESUMO

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e apresenta uma das maiores biodiversidades do mundo. Dentre suas espécies nativas, destaca-se a *Aspidosperma subincanum* (Guatambu), amplamente utilizada na medicina tradicional para o tratamento de diversas enfermidades, como malária, leishmaniose, diabetes e dislipidemias. Essa planta é rica em alcaloides indólicos, como aspidospermina, uleína, aspidocarpina, eliptina, olivacina, isorhamnetina e quebrachamina, os quais possuem propriedades farmacológicas comprovadas, incluindo atividades antiparasitárias, antioxidantes e hipolipemiantes. Este estudo tem como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre a bioprospecção do *A. subincanum*, abordando os usos tradicionais, composição química, toxicidade, potencial terapêutico e os desafios para a inserção no mercado como fitoterápico. Os resultados indicam que a planta apresenta baixo índice de toxicidade e elevada atividade farmacológica, reforçando o potencial como alternativa terapêutica promissora. Contudo, há necessidade de mais estudos clínicos e regulamentações que viabilizem o uso seguro e padronizado.

Palavras-chave: Plantas Medicinais. Cerrado. Fitoterapia. Etnofarmacologia. *Aspidosperma*.

ABSTRACT

The Cerrado is the second largest biome in Brazil and one of the richest in biodiversity worldwide. Among its native species, *Aspidosperma subincanum* (Guatambú) stands out for its traditional use in the treatment of various diseases, such as malaria, leishmaniasis, diabetes, and dyslipidemias. This plant is rich in indole alkaloids such as aspidospermine, uleine, aspidocarpine, ellipticine, olivacine, isorhamnetin, and quebrachamine, which exhibit proven pharmacological activities, including antiparasitic, antioxidant, and lipid-lowering effects. This study aims to review the literature regarding the bioprospecting of *A. subincanum*, addressing its traditional uses, chemical composition, toxicity, therapeutic potential, and challenges related to its development as a phytotherapeutic agent. The findings indicate that the plant has low toxicity and high pharmacological potential, supporting its use as a promising natural therapeutic. However, further clinical studies and regulatory frameworks are necessary to ensure its safe and standardized application.

Keywords: Medicinal Plants. Cerrado. Phytotherapy. Ethnopharmacology. *Aspidosperma*.

1. Introdução

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil, com aproximadamente 204 milhões de hectares. Desde a década de 1970, tem se consolidado como um dos pilares da agricultura nacional, sendo relevante no comércio mundial de alimentos e estratégico para a segurança alimentar, tanto em âmbito nacional quanto global (Salatino; Faria Salatino, 2023; Ribeiro *et al.*, 2008). Ocupa a cerca de 23,3% do território brasileiro e 11% da América do Sul (2.045.000 km²), sendo uma das savanas mais biodiversas do planeta (Barreto; Gomes; Teixeira, 2006).

Trata-se de um bioma heterogêneo, composto por 11 ecorregiões com distintas condições edafoclimáticas e geomorfológicas. O volume médio de precipitação anual varia entre 650 mm e 2.550 mm, com uma estação chuvosa predominante entre setembro e março. A distribuição pluviométrica é desigual, com aumento da Caatinga em direção à Amazônia. A temperatura média anual oscila entre 15,6°C e 28,1°C, influenciada pela latitude (Sano, 1998).

O clima influencia diretamente a distribuição da flora, que varia amplamente no território do Cerrado. As fisionomias vegetais, classificadas conforme a estrutura das plantas, variam de campos abertos a florestas densas, determinadas por fatores como topografia, fertilidade do solo, disponibilidade hídrica e ocorrência de fogo (Felfili *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2010).

A vegetação do Cerrado, independentemente da tipologia, interage fortemente com as comunidades humanas. Essa relação é objeto de estudo da etnofarmacologia, ciência que, em conjunto com a etnobotânica, busca identificar e validar o uso de plantas medicinais com potenciais agentes biologicamente ativos (Matos, 1989).

Nesse contexto, diversas plantas nativas do Cerrado são utilizadas pela medicina tradicional. Estima-se que mais de 7.000 espécies tenham sido alvo de pesquisas, especialmente quanto aos extratos e óleos essenciais, demonstram atividades antimicrobianas promissoras (Barreto; Gomes; Teixeira, 2006; Monteles; Pinheiro, 2007; Barbosa Júnior *et al.*, 2007).

As espécies vegetais do Cerrado desenvolveram mecanismos de defesa adaptativos frente a condições ambientais adversas, como seca, incêndios e herbivoria. Essas adaptações favorecem a produção de metabólitos secundários com propriedades

antioxidantes, antidiabéticas, antilipêmicas, antimicrobianas e antienvhecimento (Pereira *et al.*, 2005). Tais características tornam essas plantas atrativas para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Apesar do reconhecido potencial farmacológico, muitas espécies carecem de comprovação científica quanto à eficácia terapêutica. Um exemplo é *A. subincanum* (Guatambu), amplamente utilizada por populações tradicionais e indígenas como antimalárico, antileishmaniótico, antidiabético, antihipolipemiante, antifúngico e antioxidante (Rocha *et al.*, 2018). No entanto, vários desses usos ainda não foram validados por estudos *in vivo*.

Dessa forma, este breve estudo de revisão tem como objetivo realizar uma análise de bioprospecção sobre o *A. subincanum*, investigando na literatura as características botânicas, composição química, usos tradicionais, potencial terapêutico e a legislação brasileira que regula o cultivo e aproveitamento na fitoterapia.

2. Material e Métodos

Este trabalho caracteriza-se como uma pesquisa qualitativa, de natureza exploratória e descritiva, baseada em uma revisão bibliográfica acerca da bioprospecção da espécie *A. subincanum* Mart. (Guatambu) e seu potencial fitoterápico. O objetivo foi reunir, analisar e sintetizar o conhecimento disponível sobre a composição química, usos tradicionais, atividades farmacológicas e desafios regulatórios associados à planta.

A busca por informações foi realizada entre janeiro e abril de 2025, por meio das seguintes bases de dados eletrônicas: Google Acadêmico, Scielo, PubMed, ScienceDirect e Periódicos CAPES. Foram utilizados descritores em português, inglês e espanhol, incluindo: “*Aspidosperma subincanum*”, “Guatambu”, “bioprospecção”, “plantas medicinais do Cerrado”, “atividade hipolipemiante”, “alcaloides indólicos”, “etnofarmacologia” e “fitoterapia”.

Foram incluídos estudos publicados entre 2000 e 2024, que abordassem direta ou indiretamente aspectos químicos, farmacológicos, toxicológicos ou etnobotânicos da espécie em questão. Os critérios de inclusão compreenderam: artigos científicos, dissertações, teses, capítulos de livros e documentos técnicos com acesso ao texto completo e com relevância temática comprovada. Foram excluídos trabalhos repetidos,

publicações sem revisão por pares, resumos expandidos sem dados experimentais e fontes sem embasamento científico.

Após a seleção, os dados foram organizados e analisados de forma qualitativa, permitindo a construção de uma visão integrada sobre o potencial terapêutico da espécie *A. subincanum* no contexto da medicina tradicional e das ciências químico-biológicas.

2.1. Importância do guatambu na cultura popular no tratamento de doenças

A pesquisa de novas substâncias oriundas de plantas, necessitam da junção de algumas áreas essenciais, como a fitoquímica, que trabalha com a purificação, o isolamento e a caracterização de princípios ativos, a farmacologia, que estuda os efeitos farmacológicos de extratos e dos constituintes químicos isolados, e a etnobotânica, que busca informações a partir do conhecimento de diferentes povos e etnias (Albuquerque, Hanazaki; 2005).

Das plantas do cerrado, o *A. subincanum* (Guatambu), tem sido citado, como uma das plantas mais usadas no costume e uso popular para tratar de feridas de leishmaniose, malária, diabetes e colesterol alto. Por outro lado, em experimentos científicos, esta planta foi usada em modelos experimentais em camundongos que foram tratados com Triton WR 1339, um detergente não iônico, conhecido como tyloxapol, muito usado para induzir hiperlipidemia, reduzindo níveis séricos de triglicérides e colesterol em até 41% (da Silva *et al.*, 2005; Silva, 2009).

2.2. Principais desafios para um novo produto natural de origem vegetal chegar ao mercado

Os avanços tecnológicos, bioinformática, metabolismo especializado em plantas e biologia sintética apresentam oportunidades através das quais as propriedades medicinais das plantas são descobertas, utilizadas e expandidas para o desenvolvimento de novos medicamentos inspirados em ervas (Li *et al.*, 2012).

Os produtos naturais derivados de plantas ainda representam uma fonte valiosa para a descoberta de medicamentos, motivados pelos desafios globais de saúde pública, como a COVID-19, o VIH/SIDA, a malária, a hipertensão, a diabetes e o cancro (Herrera-Arellano *et al.*, 2004). Estudos recentes destacaram a importância farmacológica de plantas pouco exploradas do Cerrado (Neto, 1987; Neto, 2006; Guarim Neto, Moraes, 2003; Jesus *et al.*, 2009). Infelizmente, existe discrepância entre o número de publicações

científicas sobre plantas por cientistas brasileiros e o desenvolvimento de novos agentes fitoterápicos e sublinha a necessidade de políticas públicas focadas na inovação (Jesus *et al.*, 2009).

As frutas oriundas de plantas nativas do Cerrado são cada vez mais valorizadas no mercado mundial como alimentos funcionais e nutracêuticos pelo alto valor nutricional e características sensoriais atrativas (Jorge *et al.*, 1998). Na agricultura, muitas espécies de plantas do Cerrado crescem espontaneamente com incrível adaptabilidade, sobrevivendo em solos com pouca fertilidade natural e que carecem de aditivos químicos (Silva, Fernandes-Bulhão, Santos, 2007). Além disso, os frutos do Cerrado podem ser empregados em múltiplas aplicações alimentares, e seus resíduos do processamento industrial são ricos em compostos bioativos que possuem muitas propriedades funcionais (Jorge *et al.*, 1998).

Quadro 1. Principais desafios para um novo produto natural de origem vegetal chegar ao mercado.

1. A identificação botânica exige um especialista, sendo cada vez mais raro hoje em dia.
2. A disponibilidade de produtos naturais é baixa e os testes farmacológicos consomem muito material.
3. A coleta de espécies silvestres é difícil, uma vez que os biomas vegetais podem desaparecer rapidamente sob pressão antrópica.
4. A composição química de uma planta varia de acordo com fatores ambientais, como temperatura, disponibilidade de água, radiação UV, nutrientes do solo, altitude e composição atmosférica, limitando a janela de tempo para coleta.
5. Em produtos naturais derivados de plantas, a transformação e degradação de compostos podem ocorrer durante os processos de extração e isolamento, dificultando a padronização dos procedimentos.
6. Devido à complexidade das misturas moleculares, menos produtos ou compostos químicos são isolados.
7. A falta de conhecimento sobre o cultivo agrícola de determinadas espécies silvestres torna o artesanato silvestre a única alternativa, tornando o processo de coleta muito demorado e pode resultar em problemas ecológicos e risco de extinção de espécies.
8. Regulamentações de proteção muito rigorosas em alguns países dificultam a bioprospecção de novos produtos naturais derivados de plantas.
9. O desenvolvimento de métodos de síntese total ou derivatização para obter moléculas semelhantes a produtos naturais é complexo, uma vez que as estruturas químicas dos produtos naturais contêm frequentemente numerosos substituintes de oxigênio e centros quirais

10. Incompatibilidade de produtos naturais com plataformas estabelecidas de triagem de alto rendimento (HTS); os compostos de teste não devem decompor-se ou precipitar e não devem interferir com os reagentes do ensaio nem apresentar efeitos inespecíficos; os produtos naturais muitas vezes não cumprem esses requisitos.
11. Determinar o mecanismo molecular preciso de ação dos produtos naturais é um desafio.
12. Muitas vezes ocorrem dificuldades durante os ensaios clínicos, uma vez que a atividade terapêutica dos extratos vegetais é geralmente baseada na ação sinérgica e simultânea de muitos produtos químicos.
13. O interesse das empresas farmacêuticas em produtos naturais (que não sejam modificados sinteticamente) é limitado devido a controvérsias relativas à patenteabilidade.

Fonte: Ribeiro *et al.*, 2008; Rodrigues, Carvalho, 2001.

2.3. Bioprospecção do Guatambu

O Guatambu de acordo com o Sistema de classificação baseado no The Angiosperm Phylogeny Group (APG), 2009, a posição taxonômica de *A. subincanum* obedece a uma hierarquia taxonomica de divisão – Angiospermae; Ordem – Gentianales; Família – Apocynaceae; Gênero – *Aspidosperma*. Recebendo nomes vulgares diferentes de acordo com a região da federação brasileira. Na Bahia – pereira; no Ceará – piquiá; no Espírito Santo – piquiá-amarelo; em Goiás – Guatambu e pereiro; em Mato Grosso – pereiro e pereiro-branco.

Na etimologia, o nome genérico *Aspidosperma* descreve a morfologia da semente, que se encontra rodeada por larga asa circular. O termo é formado pela aglutinação de *aspido* (escudo), e *sperma* (semente). Que significa “semente protegida por escudo” (Jesus *et al.*, 2009). Já a espécie “*subincanum*”, significa folhas brancas acinzentadas na face inferior (Marçal *et al.*, 2003).

O *A. subincanum* é uma espécie arbórea de padrão foliar sempre verde. As árvores maiores atingem dimensões próximas a 25 metros de altura e 80 cm de DAP (diâmetro medido a altura do peito), na idade adulta. Contudo foram encontrados indivíduos com 4 m de altura e 6 cm de diâmetro de DAP (Jesus *et al.*, 2009; Negrelle *et al.*, 2007). O tronco é reto e cilíndrico, as cascas medem até 10 mm de espessura sendo a casca externa de cor castanho-escura e fendilhada (Figura 1). A coleta de amostras do *Aspidosperma* pode ser realizada em qualquer época do ano, porém a floração é observada entre os meses de julho e agosto.



Figura 1: Casca e entrecasca de *Aspidosperma subincanum*; e folhas de *Aspidosperma subincanum*.

Fonte: *Aspidosperma subincanum* Mart. - Espécime DC Zappi 3270 ID:1108719 © RBG Kew <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/Imagem> de William Milliken

O Código Florestal brasileiro, Lei nº 12.651/2012, trata da proteção e recuperação da floresta brasileira, incluindo a espécie *A. subincanum*, com várias implicações. O código define a importância da Mata Ciliar (ambientes fluviais ou ripários), e a *A. subincanum* é recomendada para restauração, e áreas de preservação permanente (APPs). O código Florestal brasileiro também aborda a necessidade de recuperar áreas degradadas e a proteção de espécies nativas, como a *subincanum*, em áreas de ocorrência e em outras áreas consideradas estratégicas (Novo Código Florestal, 2017).

O Guatambu apresenta vários produtos e utilizações, como na apicultura e as flores são melíferas, a madeira é muito explorada na confecção de moveis finos e cabos para ferramentas e na área medicinal, pois contribuem para a informação sobre plantas medicinais brasileiras (Cicero *et al.*, 2004). Estudos conduzidos na Universidade de Brasília (Negrelle *et al.*, 2007; Noldin, 2005) confirmam que essa espécie pode ser usada como matéria-prima na preparação de fitoterápicos no tratamento do diabetes e da hipercolesterolemia. No interior de Goiás, a população rural usa a infusão ou o chá das flores, sementes e das cascas do tronco dessa espécie para controlar o diabetes e as taxas do colesterol ruim (Silva *et al.*, 2010).

O gênero *Aspidosperma* é composto por 43 espécies de distribuição tropical, encontradas principalmente entre o México e a Argentina sendo popularmente utilizado para tratar malária e sintomas de febre (Cicero *et al.*, 2004; Clayton, Stock, 2006). Especificamente, na região amazônica as cascas de espécies do gênero *Aspidosperma* são comumente utilizadas como infusões na medicina popular contra reumatismo não sendo descrito quadros de intoxicação ou contraindicações (Lima, 2021).

O *A. subincanum* tem dois princípios ativos formados a partir de frações do n-hexano e diclorometano da casca do caule, identificados como ácido graxo insaturado e um alcaloide tetrahidropiridínico, conhecido como guatambuína (Coutinho *et al.*, 2013).

Na farmacologia, a administração oral de doses até 300 mg/Kg de extrato etéreo alcóolico (EEA), não conduziu a qualquer sinal de toxicidade ou alteração do comportamento geral em camundongos. No entanto, doses de 500 a 2500 mg/Kg foram seguidas por sinais e sintomas típicos de efeitos estimulantes do sistema nervoso central como piloereção, tremores, convulsões, cianose e morte. Em que a DL_{50} (dose letal em 50% da população), encontrada é de 1129 mg/Kg (Alves *et al.*, 2021; Coutinho *et al.*, 2013; OCDE, 2000).

2.3.1. Composição química

Aproximadamente 250 alcaloides indólicos foram isolados de *Aspidosperma* spp. Como a oleína, 2-metiltetrahidroelipticina, diidroolivacina e 2 metiltetrahidroolivacina (Renia *et al.*, 2011). Vários compostos isolados como a aspidospermina, um alcaloide indólico tem sido apresentado como poderosos antiparasitários, que tem sido apresentado com propriedades inibidoras dos *P. falciparum* *in vitro* (IC_{50} = 3,2–8,7 μ M) (Reina *et al.*, 2011).

Estas espécies são conhecidas por serem muito ricas em alcaloides indólicos como aspidospermina e quebrachamina. Os alcaloides são uma das mais diversas classes de metabólitos secundários encontrados nos organismos vivos, a cerca de 12.000 substâncias, incluindo alcaloides indólicos (25% de todos os alcaloides) (Silva *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2007). Vários anti-inflamatórios utilizados na terapia possuem a estrutura química básica de anéis aromáticos contendo nitrogênio (Consolini, Migliori, 2005).

A oleína e os extratos contendo oleína também têm recebido atenção como agentes antiparasitários. Foi patenteado um extrato vegetal contendo oleína como medicamento preventivo para o tratamento de doenças infecciosas, especialmente a malária (Silva *et al.*, 2010).

Outros alcaloides indólicos como a aspidocarpina, elipticina e olivacina isolados da casca de *Aspidosperma* spp, respectivamente, exibiram atividade antiplasmodial *in vitro* significativa contra a cepa K1 de *P. falciparum* (Mesquita *et al.*, 2005; Mesquita *et*

al., 2007; Mitaine-Offer *et al.*, 2002). Além disso, a elipticina e a olivacina exibiram baixa citotoxicidade e alta atividade antimalárica *in vivo* em camundongos infectados por *Plasmodium berghei* em doses diárias de 50-100 mg/kg/dia no teste supressivo de 4 dias (Mesquita *et al.*, 2007; Mitaine Offer *et al.*, 2002).

Embora o gênero *Aspidosperma* seja conhecido por ser rico em alcaloides indólicos, neste estudo o flavonoide isorhamnetina, um flavonol aglicona foi isolada em três espécies de *Aspidosperma*, as quais são escritas como possuidoras de atividade antioxidante, capacidade citoprotetora e benéficos efeitos cardiovasculares (Coutinho *et al.*, 2013). Equivalente a um dos principais mecanismos de ações de fármacos já renomados, usados no tratamento de pacientes dislipêmicos, como por exemplo as estatinas, que agem diminuindo a inflamação das placas de ateroma, como antioxidantes e citoprotetores diminuindo os efeitos cardiovasculares (Goodman, Gilman; 1978).

Devido as características químicas já definidas, os métodos de identificação usados são a cromatografia de coluna, cromatografia em camada delgada comparativa, cromatografia em camada delgada preparativa, métodos espectroscópicos como a RMN, IV, UV, espectroscopia de massa e análise estrutural por difração de raios X (Henrique, 2007).

2.4.Toxicidade

As espécies do gênero *Aspidosperma* estão cada vez mais conhecidas pelos efeitos medicinais, decorrente da baixa toxicidade e até então, a ausência de contraindicações (Alves *et al.*, 2021; Coutinho *et al.*, 2013). Para avaliar a citotoxicidade dos extratos e frações vegetais, foram utilizadas linhagem celular de hepatoma humano (HepG2) e linhagem celular de rim de macaco (BGM) utilizando células cultivadas (Ansah, Khan, Gooderham, 2005). A citotoxicidade também foi testada usando células mononucleares normais do sangue periférico (PBMC), isoladas de indivíduos saudáveis (McMillian *et al.*, 2002; Ansah, Khan, Gooderham 2005).

A planta não apresentou toxicidade para as linhagens celulares HepG2 e BGM e apresentou valores elevados de LD₅₀ para a maioria dos extratos e frações (Coutinho *et al.*, 2013; OCDE, 1999). Os extratos ácidos e insolúveis foram tóxicos para as células normais. Quando avaliados contra PBMC humanas recém-isoladas, os valores de MLD50 foram menores para a maioria dos extratos e frações testados (Santos *et al.*, 2009).

Em outro estudo de avaliação de toxicidade, extrato etanólico e a fração de alcaloides foram administrados por via oral diariamente a camundongos machos tratados com 1000 mg/kg por 28 dias, e não induziram nenhuma morte ou sintomas tóxicos aos animais, que se comportaram normalmente durante todo o estudo e sobreviveram até o final do experimento (28 dias) (Alves *et al.*, 20221; Coutinho *et al.*, 2013).

Durante o experimento, não foram observadas alterações clínicas significativas, e o ganho de peso também foi semelhante ao dos controles. Também foi observado que não houve alterações nos parâmetros hematológicos dos camundongos. Além disso, não foram observadas alterações significativas nos testes de função renal e hepática (Alves *et al.*, 2021).

Com base nos dois estudos citados, A planta não apresentou toxicidade nem para as linhagens celulares HepG2 e BGM e apresentou valores elevados de MLD₅₀ para a maioria dos extratos e frações, quanto para a população de camundongos que usaram os extratos vegetais, denotando segurança no uso farmacológico (Coutinho *et al.*, 2013).

3. Discussão

Dois aspectos centrais merecem destaque neste estudo. O primeiro diz respeito à grande diversidade vegetal do bioma Cerrado, que oferece vasto leque de espécies com potencial farmacológico. A flora rica e adaptada a condições ambientais extremas fornece matéria-prima com propriedades promissoras para o desenvolvimento de fitoterápicos. Essa riqueza ainda é pouco explorada frente à demanda por novos medicamentos de origem natural (Golan *et al.*, 2009).

O segundo aspecto refere-se à importância do conhecimento popular na identificação e uso terapêutico das plantas medicinais. A tradição oral e os saberes passados entre gerações constituem uma base valiosa para a etnofarmacologia. Populações rurais e indígenas recorrem a essas plantas com frequência, muitas vezes confiando mais nos remédios naturais do que nos fármacos industrializados, considerando-os mais eficazes ou “mais fortes” (Silva, 2009; Dixon *et al.*, 2015).

Nesse sentido, a *A. subincanum* (Guatambú) destaca-se como uma das espécies mais citadas em levantamentos etnobotânicos relacionados ao tratamento de dislipidemias, malária e outras doenças. A validação científica de os efeitos hipolipemiantes, já demonstrada em estudos experimentais com modelos animais, reforça

o valor da sabedoria tradicional e evidencia a relevância de integrar saberes populares e acadêmicos na pesquisa e no desenvolvimento de fitoterápicos (Negrelle *et al.*, 2007).

4. Conclusão

O *A. subincanum* (Guatambú) é uma das espécies mais conhecidas e utilizadas no bioma Cerrado, tanto por comunidades tradicionais quanto por pesquisadores acadêmicos, para o tratamento de diversas enfermidades, como leishmaniose, malária, diabetes e dislipidemias. Seus princípios ativos, como a guatambuína e diversos alcaloides indólicos, já apresentam caracterização fitoquímica definida e foram testados quanto à toxicidade, com resultados favoráveis.

Os dados disponíveis na literatura indicam baixo potencial tóxico e efeitos terapêuticos relevantes, especialmente no controle de lipídios séricos e em atividades antiparasitárias. Tais características tornam essa espécie uma candidata promissora para o desenvolvimento de formulações fitoterápicas seguras e eficazes.

Entretanto, ainda há necessidade de estudos clínicos controlados, bem como avanços nas políticas públicas que favoreçam a pesquisa, regulamentação e comercialização de produtos derivados de plantas medicinais do Cerrado, promovendo o uso sustentável e seguro dessa biodiversidade.

5. Referências

Albuquerque, U. P. D., Hanazaki, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 16, p. 678-689, 2006.

Alves, N. M., Silva, M. A. C., Parente, L. M. L., de Paula, J. R., de Carvalho Cruz, A., Diniz, J. A., da Cunha, L. C. Pharmacognostic assessment and pre-clinical toxicity of ethanolic extract from *Aspidosperma subincanum* Mart. stem bark (Guatambu). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e17510917547-e17510917547, 2021.

Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009.

Ansah, C., Khan, A., Gooderham, N. J. *In vitro* genotoxicity of the West African anti-malarial herbal *Cryptolepis sanguinolenta* and its major alkaloid cryptolepine. **Toxicology**, v. 208, n. 1, p. 141-147, 2005.

Barbosa Júnior, A. M., Santos, P. O., Mélo, D. L. F. M. D., Trindade, R. D. C. Investigação da atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancornia speciosa* GOMES). 2007.

Barreto, B. B., Gomes, F. V., Teixeira, J. B. P. O uso de plantas medicinais por comunidades carentes no município de Juiz de Fora (MG). **XXIX Semana de Biologia e XII Mostra de Produção Científica**, 2006.

Cicero, A. F., Minardi, M., Mirembe, S., Pedro, E., Gaddi, A. Effects of a new low dose soy protein/ β -sitosterol association on plasma lipid levels and oxidation. **European journal of nutrition**, v. 43, p. 319-322, 2004.

Clayton, B. D., Stock, Y. N. Farmacologia na prática de enfermagem. In: **Farmacologia na prática de Enfermagem**. 2006. p. 842-842.

Consolini, A. E., Migliori, G. N. Cardiovascular effects of the South American medicinal plant *Cecropia pachystachya* (ambay) on rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n. 3, p. 417-422, 2005.

Coutinho, J. P., Aguiar, A. C. C., Santos, P. A. D., Lima, J. C., Rocha, M. G. L., Zani, C. L., Krettli, A. U. *Aspidosperma* (Apocynaceae) plant cytotoxicity and activity towards malaria parasites. Part I: *Aspidosperma nitidum* (Benth) used as a remedy to treat fever and malaria in the Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 974-982, 2013.

da SILVA, M. A., Rafacho, B. P. M., Hiruma-Lima, C. A., da Rocha, L. R. M., dos Santos, L. C., Sannomiya, M., Vilegas, W. Leaves Extract on Gastrointestinal Activity in Mice. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n. 8, p. 881-885, 2005.

Dixon, D. L., Donohoe, K. L., Ogbonna, K. C., Barden, S. M. Current drug treatment of hyperlipidemia in older adults. **Drugs & aging**, v. 32, p. 127-138, 2015.

Felfili, J. M., Nogueira, P. E., Silva Júnior, M. C. D., Marimon, B. S., Delitti, W. B. C. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa-MT. **Acta botanica brasílica**, v. 16, p. 103-112, 2002.

Guarim Neto, G., Moraes, R. G. D. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasílica**, v. 17, p. 561-584, 2003.

Golan, D., Tashjian Junior, A. H., Armstrong, E. J., Armstrong, A. W. Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia. In: **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2009. p. xxiv, 952-xxiv, 952.

Goodman, L. S., Gilman, A. As bases farmacológicas da terapêutica. In: **As bases farmacológicas da terapêutica**. 1978. p. 1487-1487.

Henrique, M. C. Estudo sobre a química e atividade biológica das cascas de *Aspidosperma desmanthum* e *A. vargasii* (Apocynaceae). 2007.

Herrera-Arellano, A., Aguilar-Santamaria, L., Garcia-Hernandez, B., Nicasio-Torres, P., Tortoriello, J. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. **Phytomedicine**, v. 11, n. 7-8, p. 561-566, 2004.

Jesus, N. Z. T. D., Lima, J. C. D. S., Silva, R. M. D., Espinosa, M. M., Martins, D. T. D. O. Levantamento etnobotânico de plantas popularmente utilizadas como antiúlcera e antiinflamatórias pela comunidade de Pirizal, Nossa Senhora do Livramento-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 130-139, 2009.

Jorge, P. A. R., Neyra, L. C., Osaki, R. M., Almeida, E. D., Bragagnolo, N. Efeito da berinjela sobre os lípidos plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, p. 87-91, 1998.

Li, A. F., Shen, G. L., Jiao, S. Y., Li, H., Wang, Q. Metabolic detoxification of bakuchiol is mediated by cytochrome P450 enzymes in human liver microsomes. **Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences**, v. 44, n. 3, p. 431-436, 2012.

Lima, M. G. **Influxo causado por alterações do manejo alimentar na sanidade de Serpentes *Crotalus durissus* mantidas no Biotério da universidade Católica Dom Bosco**. 2021.

Marçal, A. C., Perotti, L., Defani, M. A., Viscovini, R. C. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela população de Goioerê-PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 7, n. 1, 2003.

Matos, F. J. D. A. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas medicinais do nordeste do Brasil; volume II. In: **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas medicinais do nordeste do Brasil; volume II**. 1989. p. 144-144.

McMillian, M. K., Li, L., Parker, J. B., Patel, L., Zhong, Z., Gunnett, J. W., Johnson, M. D. An improved resazurin-based cytotoxicity assay for hepatic cells. **Cell biology and toxicology**, v. 18, p. 157-173, 2002.

Mesquita, M. L. D., Desrivot, J., Fournet, A., Paula, J. E. D., Grellier, P., Espindola, L. S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 783-787, 2005.

Mesquita, M. L., Grellier, P., Mambu, L., De Paula, J. E., Espindola, L. S. In vitro antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, p. 165-170, 2007.

Mitaine-Offer, A. C., Sauvain, M., Valentin, A., Callapa, J., Mallié, M., Zèches-Hanrot, M. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma* indole alkaloids. **Phytomedicine**, v. 9, n. 2, p. 142-145, 2002.

Monteles, R., Pinheiro, C. U. B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 7, n. 2, 2007.

Negrelle, R. R. B., Tomazzoni, M. I., Ceccon, M. F., Valente, T. P. Estudo etnobotânico junto à Unidade Saúde da Família Nossa Senhora dos Navegantes: subsídios para o estabelecimento de programa de fitoterápicos na Rede Básica de Saúde do Município de Cascavel (Paraná). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 3, p. 6-22, 2007.

Neto, G. **Plantas utilizadas na medicina popular do Estado de Mato Grosso**. 1987.

Neto, G. G. O saber tradicional pantaneiro: as plantas medicinais e a educação ambiental. **REMEA-Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 17, 2006.

Noldin, V. F. Estudo fitoquímico das folhas e rizomas de *Simaba ferruginea* St. Hil. e avaliação da atividade antiúlcera e antinociceptiva dos extratos e compostos isolados. 2005.

Novo Código Florestal. Lei 12.651 de 25 de maio de 2012. **Presidência da República. Casa Civil. Subchefia para Assuntos Jurídicos**, 2017.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). *OECD Guideline for the testing of chemicals: acute oral toxicity - Up-and-down procedure*. Paris: OECD, 2000. Guideline 425.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD protocol for investigating the efficacy of the Enhanced Test Guideline 407. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris: OECD 1999.

Pereira, C. O., Lima, E. O., Oliveira, R. A. G., Toledo, M. S., Azevedo, A. K. A., Guerra, M. F., Pereira, R. C. Abordagem etnobotânica de plantas medicinais utilizadas em dermatologia na cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 7, n. 3, p. 9-17, 2005.

Pereira, M. D. M., Jácome, R. L. R., Alcântara, A. F. D. C., Alves, R. B. Raslan, D. S. Alcalóides indólicos de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v. 30, pág. 970-983, 2007.

Reina, M., Ruiz-Mesía, W., Ruiz-Mesía, L., Martínez-Díaz, R., González-Coloma, A. Alcalóides indol de *Aspidosperma rigidum* e *A. schultesii* e seus efeitos antiparasitários. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2011, 66, 225 - 234.

Ribeiro, M. N., Vitorino, C. A., Farias, J., Portella, A., Braga, E., Lenza, E. Levantamento florístico e fitossociológico em Cerrado rupestre e Cerrado típico contíguos do parque do bacaba. In: **I Workshop dos Grupos de Pesquisa e da Pós Graduação da Universidade do Estado de Mato Grosso**. 2008.

Rocha, M., Campana, P., De Oliveira Scoaris, D., De Almeida, V., Lopes, J., Silva, A., Pieters, L., Silva, C. Atividades biológicas de extratos de *Aspidosperma subincanum* Mart. e predição *in silico* para inibição da acetilcolinesterase. **Pesquisa em Fitoterapia**. 2018; 32.

Rodrigues, V. E. G., Carvalho, D. D. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande-Minas Gerais. **Ciência e agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.

Salatino, A., Faria Salatino, M. L. Agriculture in the Cerrado: a sleeping giant rose up. **MOJ Food Process Technols**, v. 11, n. 2, p. 111-114, 2023.

Sano, S. M. **Cerrado: ambiente e flora**. Empresa Brasilei, 1998.

Santos, S. R., Rangel, E. T., Lima, J. C. S., Silva, R. M., Lopes, L., Noldin, V. F., Martins, D. T. O. Toxicological and phytochemical studies of *Aspidosperma subincanum* Mart. stem bark (Guatambu). **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n. 12, p. 836-839, 2009.

Silva, E. F., Fernandes-Bulhão, C., dos Santos, T. R. R. Levantamento florístico das lianas lenhosas, arbustos e subarbustos do Cerrado do Parque do Bacaba, Nova Xavantina-MT. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. 948-950, 2007.

Silva, M. A. B. Levantamento etnobotânico e triagem hipolipidêmica de Plantas Medicinais do Cerrado Mato-grossense: Avaliação da Atividade hipolipidêmica da *Simaba ferruginea* St. Hil. e *Vochysia rufa* Mart [Dissertação]. **Cuiabá, 166f. Dissertação**, 2009.

Silva, M. A. B. D., Melo, L. V. L., Ribeiro, R. V., Souza, J. P. M. D., Lima, J. C. S., Martins, D. T. D. O., Silva, R. M. D. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 549-562, 2010.

Capítulo II: Extratos de *n*-hexano ricos em sesquiterpenos de *Aspidosperma subincanum* Mart.: atividade *anti-Xanthomonas citri*, inibição da acetilcolinesterase e *insights* sobre acoplamento molecular

Sesquiterpene-rich *n*-Hexane Extracts from *Aspidosperma subincanum* Mart.: *Anti-Xanthomonas citri* Activity, Acetylcholinesterase Inhibition and Insights into Molecular Docking

Artigo submetido: 01 de dezembro de 2025

Artigo aceito: 10 de maio de 2026

Artigo submetido à revista: Natural Product Research

RESUMO

Embora a *Aspidosperma subincanum* Mart. seja tradicionalmente utilizada no tratamento de distúrbios metabólicos e digestivos, sua fração volátil não polar permanece inexplorada. Este estudo investigou extratos em *n*-hexano de folhas (EH-FG) e da casca do caule (EH-CG), com foco nas atividades antibacterianas e inibidoras de enzimas, com base no uso etnofarmacológico. A análise por CG-MS revelou β -cariofileno e aromadendreno como principais constituintes. O EH-FG apresentou forte atividade contra *Xanthomonas citri* (CIM/CBM = 50 $\mu\text{g/mL}$), enquanto o HE-CG apresentou efeitos moderados (200 $\mu\text{g/mL}$). Ambos os extratos exibiram inibição da acetilcolinesterase ($\text{IC}_{50} \approx 80 \mu\text{g/mL}$) e fraca inibição da α -amilase e da elastase ($\text{IC}_{50} \geq 500 \mu\text{g/mL}$). Ensaios de citotoxicidade em linhagens celulares tumorais humanas (HeLa, MCF-7, U-251MG) e não tumorais (GM07492A) não mostraram efeitos até 250 $\mu\text{g/mL}$. A simulação de acoplamento molecular confirmou interações com a acetilcolinesterase e alvos bacterianos. Esses achados destacam o potencial antibacteriano e modulador da colinesterase dos compostos voláteis de *A. subincanum*.

Palavras-chave: cancro cítrico; inibidores naturais; guatambu; componentes voláteis

ABSTRACT

Although *Aspidosperma subincanum* Mart. is traditionally used for metabolic and digestive disorders, its volatile nonpolar fraction remains unexplored. This study investigated *n*-hexane extracts from leaves (HE-GL) and stem bark (HE-GS), targeting antibacterial and enzyme-inhibitory activities based on ethnopharmacological use. GC-MS analysis revealed β -caryophyllene and aromadendrene as major constituents. HE-GL showed strong activity against *Xanthomonas citri* (MIC/MBC = 50 $\mu\text{g/mL}$), while HE-GS showed moderate effects (200 $\mu\text{g/mL}$). Both extracts exhibited acetylcholinesterase inhibition ($\text{IC}_{50} \approx 80$ $\mu\text{g/mL}$) and weak α -amylase and elastase inhibition ($\text{IC}_{50} \geq 500$ $\mu\text{g/mL}$). Cytotoxicity assays in human tumour (HeLa, MCF-7, U-251MG) and non-tumour (GM07492A) cell lines showed no effects up to 250 $\mu\text{g/mL}$. Molecular docking supported interactions with acetylcholinesterase and bacterial targets. These findings highlight the antibacterial and cholinesterase-modulating potential of *A. subincanum* volatiles.

Keywords: citrus canker; natural inhibitors; guatambu; volatile constituents

1. Introdução

A *Aspidosperma subincanum* Mart. (guatambu) tem sido tradicionalmente utilizada no Brasil para o tratamento da diabetes, da hiperlipidemia e de distúrbios digestivos. Sua casca é empregada por comunidades indígenas na preparação de tônico para os sistemas circulatório, respiratório e geniturinário, bem como para o alívio de espasmos e febre (Rocha *et al.*, 2018; Almeida *et al.*, 2019; Alves *et al.*, 2021). As investigações fitoquímicas são concentradas predominantemente em alcaloides indólicos e outros constituintes polares, como derivados da elipticina, com atividades antimaláricas e antitumorais relatadas que avançaram para ensaios clínicos (Pereira Rocha *et al.*, 2018; Almeida *et al.*, 2019). Uma revisão recente enfatizou ainda mais a espécie como fonte rica em moléculas bioativas (Costa *et al.*, 2025). Em contrapartida, os constituintes voláteis dos extratos não polares ainda não foram caracterizados.

A seleção dos alvos biológicos investigados foi orientada pelos usos medicinais tradicionais da *A. subincanum*. Sua aplicação relatada no tratamento de distúrbios metabólicos justifica a avaliação da inibição da α -amilase, enquanto os potenciais efeitos neuroativos justificam a investigação da inibição da acetilcolinesterase. Além disso, considerando a relevância dos compostos de origem vegetal na proteção de culturas, a atividade antibacteriana contra *Xanthomonas citri*, o agente causador do cancro cítrico, foi avaliada como estratégia para explorar alternativas sustentáveis aos bactericidas sintéticos (Silva *et al.*, 2024). A inibição da elastase também foi incluída pela associação com processos inflamatórios e relacionados ao envelhecimento (Marrelli *et al.*, 2013; Arifah *et al.*, 2025). Essa abordagem direcionada evita uma estratégia de triagem genérica e, em vez disso, estabelece uma ligação clara entre o conhecimento etnofarmacológico e os ensaios biológicos realizados.

Portanto, este estudo teve como objetivo, pela primeira vez, caracterizar os constituintes voláteis de extratos *n*-hexânicos não polares de folhas e casca do caule de *A. subincanum* (Figura 1) e investigar as atividades biológicas *in vitro*, como efeitos antibacterianos contra *Xanthomonas citri*, inibição enzimática (acetilcolinesterase, α -amilase e elastase) e citotoxicidade em linhagens celulares humanas, complementadas por análises de acoplamento molecular. Ao integrar o perfil químico com abordagens experimentais e *in silico*, este estudo amplia o conhecimento fitoquímico e farmacológico desta espécie medicinal do bioma brasileiro denominado Cerrado.

2. Materiais e métodos

2.1. Material vegetal

As folhas e a casca do caule de *A. subincanum* (Guatambu (Figura 1)) foram coletadas no verão, em 10 de fevereiro de 2025, às 14h, em uma fazenda chamada Fazenda Paciência, em Aparecida do Rio Doce, Goiás (GO), Brasil (18°15'08,4" S e 51°08'15,8" W). A espécie foi identificada pela botânica Erika Amaral e um espécime de referência (AS23) foi depositado no Herbário Professor Germano Guarin Neto. O material vegetal fresco foi colocado em sacos plásticos e transportado para o Laboratório de Química de Produtos Naturais do Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde. No laboratório, as folhas e a casca do caule foram limpas e posteriormente secas em estufa com ar forçado a 40°C por 72 h. O acesso ao material botânico foi aprovado pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o código AFECE4F.



Figura 1. *A. subincanum* (Apocynaceae)

Fonte: Costa, H. C. G., 2026

2.2. Preparação dos extratos *n*-hexânicos

A metodologia proposta por Santos *et al.* (2025), com algumas modificações, foi utilizada para a preparação de EH-FG e EH-CG. Folhas secas (100 g) e casca do caule (100 g) foram trituradas e submetidas ao processo de extração com o uso de 400 mL de *n*-hexano à temperatura ambiente. Todo o processo de extração com o solvente durou 15 dias. Posteriormente, foi realizada a filtração para separar o material vegetal

sólido do solvente, que foi recuperado por um evaporador rotativo a baixa pressão. Para garantir a secagem adequada do extrato bruto de hexano, ele foi colocado em um forno a 38°C por 48 h, até peso constante. O EH-FG e o EH-CG foram armazenados em frascos âmbar e mantidos em refrigerador a 4°C até a análise.

2.3. Identificação química dos extratos *n*-hexânicos (EH-FG e EH-CG)

EH-FG e EH-CG foram dissolvidos em éter etílico e analisados por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (CG-FID) e cromatografia gasosa com espectrometria de massa (CG-MS) utilizando os sistemas Shimadzu QP5000 Plus e GCMS2010 Plus (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). A temperatura da coluna no GC-FID foi programada para subir de 60 a 240°C a 3°C/min e foi mantida a 240°C por 5 minutos; o gás transportador foi H₂ a uma vazão de 1,0 mL/min. O equipamento foi configurado para operar no modo de injeção; o volume de injeção foi de 0,1 µL (proporção de divisão de 1:10), enquanto as temperaturas do injetor e do detector foram de 240 e 280°C, respectivamente. As concentrações relativas dos componentes foram obtidas pela normalização das áreas de pico (%). As áreas relativas consistiram na média de análises triplicadas de GC-FID. As condições de GC-MS e a identificação foram relatadas anteriormente (Santos *et al.*, 2025). A identificação dos componentes voláteis dos extratos de *n*-hexano (Tabela 1) foi baseada nos índices de retenção em uma coluna capilar Rtx-5MS (30 m X 0,25 mm; 0,250 µm) nas mesmas condições operacionais utilizadas para CG em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos (C8-C20). As estruturas foram comparadas por computador com Wiley 7, NIST 08 e FFNSC 1.2 e seus padrões de fragmentação foram comparados com dados da literatura (Adams, 2007).

2.4. Ensaio anti-*Xanthomonas citri*

A bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* 1647 (resistente ao cobre) foi cultivada em Ágar Nutriente (NA) ou Caldo Nutriente (NB) e incubada a 28°C por 72 horas. Todas as cepas foram fornecidas pelo Fundo de Defesa do Citrícola (FUNDECITRUS) em Araraquara, SP, Brasil, pelo pesquisador Dr. Franklin Behlau.

A Concentração Inibitória Mínima (CMI) (Tabela 2) é a menor concentração de extratos de *n*-hexano capaz de inibir o crescimento bacteriano. Ela foi determinada pelo método de microdiluição em caldo em placa de cultura de 96 poços. Seguiu-se a metodologia recomendada por Iantas *et al.* (2021), com algumas modificações. As

amostras foram primeiro dissolvidas em DMSO a 5% (Synth, Diadema, SP, Brasil) e depois diluídas em NB para atingir concentrações que variaram de 0,002 a 2,000 µg/mL. O teor final de DMSO foi de 5% (v/v) e essa solução foi usada como controle negativo. Os inóculos foram ajustados para produzir uma concentração celular final de 5×10^5 UFC/mL. Uma solução de DMSO a 5% (v/v) foi preparada e utilizada como controle negativo em todos os ensaios; nessa concentração, o solvente não interferiu no crescimento bacteriano. Os seguintes controles também foram realizados: inóculo (todas as bactérias utilizadas no teste + meio de cultura), para observar a viabilidade das bactérias; caldo, para garantir que o meio de cultura fosse estéril; e amostras, para garantir que essa solução fosse estéril. A estreptomicina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi o controle positivo em concentrações que variaram de 0,0115 a 5,9 µg/mL. As placas foram incubadas em demanda bioquímica de oxigênio (DBO) a 28°C por 72 h. Após a incubação, 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,02% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), utilizada como revelador bacteriano, foi adicionada a cada poço. As placas foram novamente incubadas a 28°C por 12 h (Gonçalves *et al.*, 2025). O crescimento bacteriano foi avaliado visualmente através da observação da mudança de cor na resazurina, em que os poços que ficaram cor-de-rosa indicavam crescimento bacteriano, enquanto os poços que permaneceram azuis indicavam inibição do crescimento (Sarker *et al.*, 2007). Foram realizadas três experiências independentes em triplicata.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) (Tabela 2) é a concentração mais baixa na qual não há crescimento bacteriano. Os valores de CBM dos extratos de hexano foram determinados com o uso de microplacas CMI, após incubação e antes da resazurina, removendo uma alíquota de 10 µL de cada poço e semeando em NA para todas as cepas. O teor final de DMSO (Synth, Diadema, SP, Brasil) foi de 5% (v/v) e essa solução foi utilizada como controle negativo. As placas de ágar foram incubadas em BOD a 28°C por 72 horas para *X. citri*. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

2.5. Atividade inibidora de enzimas

2.5.1. Ensaio de inibição da colinesterase

A atividade inibitória da acetilcolinesterase foi medida pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Ellman *et al.* (1961), conforme relatado

anteriormente, com uma ligeira modificação (Tel *et al.*, 2012). Foi utilizada AChE de enguia elétrica, enquanto o iodeto de acetiltiocolina foi empregado como substrato da reação. DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzoico)) foi utilizado para medir a atividade da colinesterase. Resumidamente, 130 µL de tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 8,0), 10 µL de solução de amostra dissolvida em etanol em diferentes concentrações e 20 µL de solução de AChE em tampão foram misturados e incubados a 25°C por 15 minutos; em seguida, 20 µL de DTNB 0,5 mM foram adicionados à mistura. A reação foi iniciada quando 0,71 mM, 20 µL de iodeto de acetiltiocolina foram adicionados. A hidrólise deste substrato foi monitorada espectrofotometricamente por meio da formação do ânion amarelo 5-tio-2-nitrobenzoato, resultado da reação entre o DTNB e a tiocolina, liberada pela hidrólise enzimática do iodeto de acetiltiocolina, no comprimento de onda de 412 nm, com o uso de um leitor de microplacas de 96 poços.

2.5.2. Ensaio de inibição da elastase

A atividade inibidora da elastase foi avaliada por uma versão ligeiramente modificada de um procedimento original (Mechqoq *et al.*, 2022) que emprega N-succinil-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilida como substrato. A liberação de p-nitroanilina foi monitorada espectrofotometricamente a 405 nm. Na mistura de reação, as concentrações finais do substrato e da elastase foram de 0,4 mM e 0,00225 U/mL, respectivamente. Os valores de IC₅₀ foram determinados por ensaios realizados com várias concentrações na faixa de até 100 µg/mL; água destilada foi o controle negativo. O galato de epigallocatequina (EGCG) foi o controle positivo. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A porcentagem de inibição da elastase foi calculada da seguinte fórmula:

$$Eficiencia (\%) = \left(1 - \frac{absorbância da amostra}{absorbância do controle negativo}\right) \times 100$$

2.5.3. Ensaio de inibição de α-amilase

Foram realizadas experiências com α-amilase pancreática suína a 40°C em tampão fosfato 20 mmol/L, pH 6,9, contendo 6,7 mmol/L de NaCl. Tanto a temperatura como o pH do ensaio estão próximos dos valores ótimos relatados por vários estudos (Anitha Gopal, Muralikrishna, 2009; Van Dyk, Caldwell, 1956). A 40°C, a atividade da α-amilase pancreática suína é apenas 15% superior à encontrada

a 37°C (Van Dyk, Caldwell; 1956). O amido de batata (Sigma-Aldrich) foi utilizado como substrato. O substrato (0,05–1,0 g/100 mL) e um dos três inibidores, acarbose (até 8 µg/mL) e extratos de hexano (até 80 µg/mL) foram misturados. A reação foi iniciada quando a enzima foi adicionada. As atividades específicas da α -amilase pancreática suína foram de 500 unidades/mg de proteína. A quantidade de enzima adicionada a cada sistema de reação foi de 1 unidade de α -amilase. A reação foi deixada em andamento por 5 minutos. Os açúcares redutores produzidos pela hidrólise do amido foram analisados pelo método do ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), cujo padrão é a maltose (Miller, 1959). O grupo aldeído dos açúcares redutores converte o ácido 3,5-dinitrosalicílico em ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, que é a forma reduzida do DNS. A formação do ácido 3-amino-5-nitrosalicílico resulta em alteração na quantidade de luz absorvida no comprimento de onda de 540 nm. A absorbância medida por um espectrofotômetro é diretamente proporcional à quantidade de açúcares redutores. O pH do meio de reação foi testado em todas as situações. Nenhuma alteração foi detectada durante o tempo de incubação.

2.6. Atividade citotóxica

Neste estudo, diferentes linhagens celulares humanas foram utilizadas para avaliar a atividade citotóxica dos extratos: fibroblastos não tumorais (GM07492A), adenocarcinoma cervical (HeLa), adenocarcinoma de mama (MCF-7) e glioblastoma (U-251MG). A citotoxicidade foi avaliada pelo ensaio colorimétrico com resazurina, conforme descrito por Riss *et al.* (2016). Os extratos foram inicialmente dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich) e, em seguida, diluídos em meio completo. Considerando o limite de solubilidade, as concentrações dos extratos variaram de 1,95 a 250 µg/mL. As condições experimentais foram conduzidas, conforme descrito por Silva *et al.* (2025). A análise de regressão não linear foi realizada pelo software GraphPad Prism para determinar a concentração que inibe 50% da viabilidade celular (IC₅₀).

2.7. Análise de acoplamento molecular

Neste estudo, foram selecionados cinco proteínas-alvo para análise de acoplamento molecular, a fim de fundamentar mecanicamente os resultados *in vitro* relativos à atividade antibacteriana e inibidora de enzimas. A acetilcolinesterase foi incluída para esclarecer a base molecular da atividade anticolinesterásica. A α -amilase

e a elastase foram selecionadas porque foram avaliadas experimentalmente por ensaios de inibição enzimática, permitindo a interpretação estrutural de seus padrões de inibição no nível do sítio ativo. Para investigar a base molecular subjacente à atividade antibacteriana, a metionil-tRNA sintetase, uma enzima-chave responsável pela síntese de proteínas bacterianas, foi escolhida como alvo bacteriano essencial. Além disso, uma proteína reguladora associada ao c-di-GMP envolvida na formação de biofilmes foi incorporada para explorar possíveis mecanismos antibiofilme. Essa estratégia de seleção de alvos permite a interpretação estrutural integrada dos resultados biológicos experimentais.

Todas as estruturas cristalográficas de proteínas foram obtidas do RCSB Protein Data Bank. A acetilcolinesterase humana em complexo com donepezil (PDB ID: 4EY7) foi utilizada para investigar as interações anticolinesterásicas. O inibidor cocrystalizado permitiu a identificação precisa da garganta catalítica, e a grade de acoplamento foi centralizada em $x = -14$, $y = -43$ e $z = 27$ para abranger a cavidade do sítio ativo. Para avaliar a inibição enzimática antidiabética, foi empregada a α -amilase pancreática suína complexada com acarbose (PDB ID: 1OSE). O bolso de ligação foi definido de acordo com a posição do ligante nativo e a caixa da grade foi centralizada em $x = 54$, $y = 18$ e $z = 13$ para cobrir totalmente a região de ligação do substrato. A inibição da enzima proteolítica foi avaliada pela estrutura cristalina da elastase pancreática suína em complexo com MDL 101.146 (PDB ID: 1B0E). A conformação ligada ao inibidor orientou a definição da região do sítio ativo e a grade de acoplamento foi centralizada em $x = 6$, $y = 27$ e $z = 23$.

Para explorar os mecanismos antibacterianos, a metionil-tRNA sintetase de *Xanthomonas citri* em complexo com metionina (ID PDB: 6WQ6) foi selecionada como a enzima bacteriana essencial representativa. A cavidade de ligação da metionina foi utilizada para definir a região de acoplamento; as coordenadas da grade foram definidas como $x = -16$, $y = -21$ e $z = 12$. Além disso, o domínio EAL da proteína FimX de *Xanthomonas citri* em complexo com c-di-GMP (ID PDB: 4FOJ) foi incluído para avaliar possível interferência na regulação do biofilme bacteriano. A posição da grade de acoplamento baseou-se no ligante cocrystalizado e foi centralizada em $x = 1$, $y = 23$ e $z = 1$.

Antes do acoplamento, as estruturas das proteínas foram preparadas pelo AutoDock Tools (versão 4.2). As etapas de preparação incluíram a remoção de

moléculas de água cristalográfica, a correção de inconsistências estruturais, a adição de átomos de hidrogênio polares e a atribuição de cargas parciais de Gasteiger. As proteínas processadas foram subsequentemente convertidas para o formato PDBQT. A preparação das estruturas dos ligantes seguiu o protocolo do AutoDock Vina, incluindo a otimização da geometria, preservando as ligações rotativas (Trooot e Olson 2010).

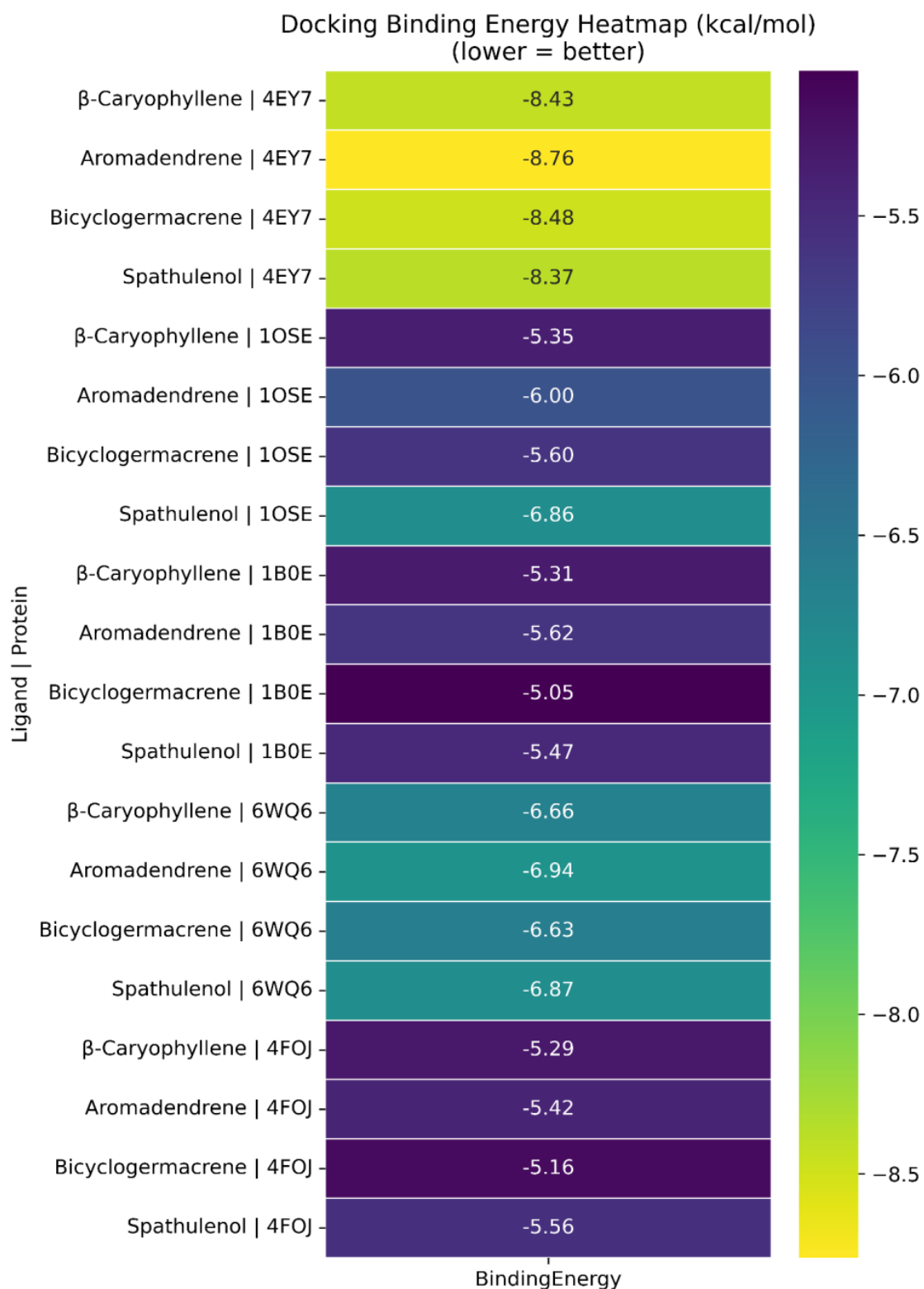


Figura 2. Mapa de calor das energias livres de ligação dos compostos em estudo em várias proteínas-alvo, obtidas a partir de análises de acoplamento molecular.

Fonte: Costa, H. C. G., 2026

Para cada proteína, os complexos que apresentavam as menores energias de ligação foram selecionados para análises de interação tridimensional (3D) e visualização estrutural. O aromadendreno ligado ao 4EY7, o espatulenol ligado ao 1OSE e o aromadendreno ligado ao 1B0E são mostrados na Figura S3 (A–C), enquanto o aromadendreno ligado ao 6WQ6 e o espatulenol ligado ao 4FOJ são mostrados na Figura 4 (A–B). Esses complexos foram selecionados para permitir a avaliação detalhada dos modos de ligação e das principais interações moleculares.

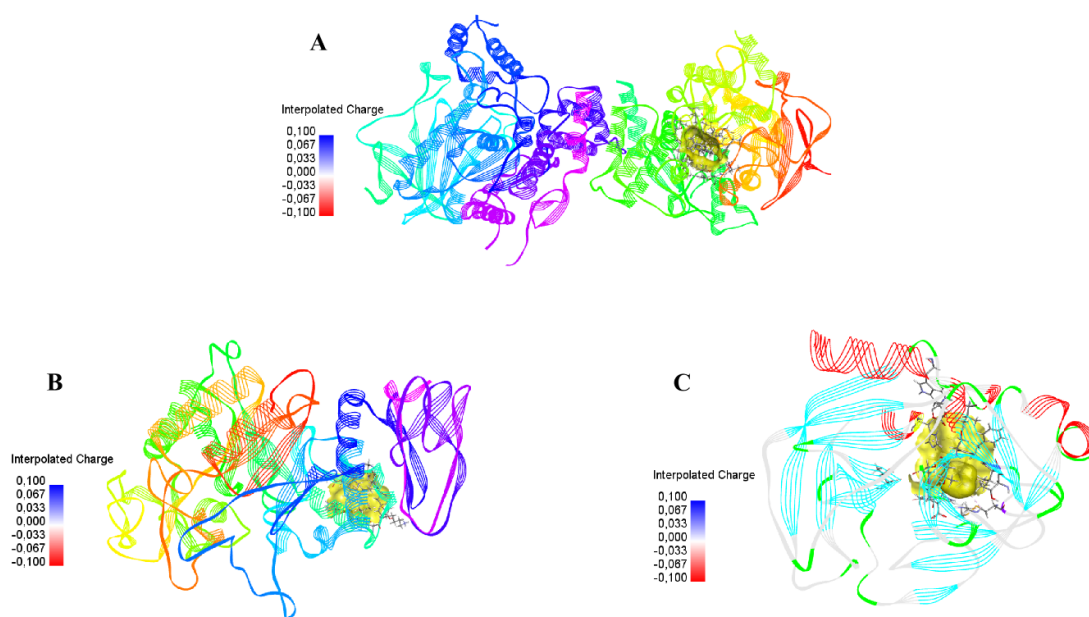


Figura 3. Interações de ligação tridimensionais de (A) aromadendreno com 4EY7, (B) espatulenol com 1OSE e (C) aromadendreno com proteínas 1B0E.

Fonte: Costa, H. C. G., 2026

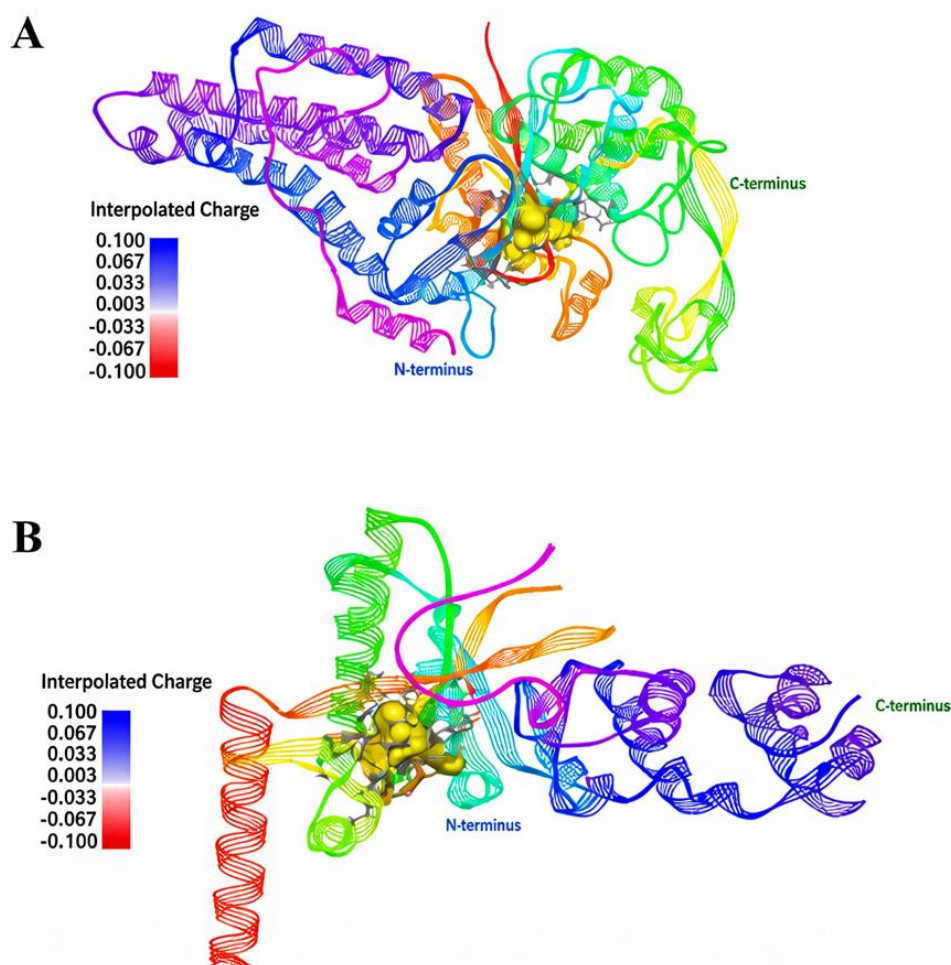


Figura 4: Interações de ligação tridimensionais de (A) aromadendreno com a proteína 6WQ6e (B) espatuleno com a proteína 4FOJ.

Fonte: Costa, H. C. G., 2026.

3. Resultados e discussão

A análise do perfil de compostos voláteis dos extratos de n-hexano revelou diferenças qualitativas e quantitativas entre o EH-FG e o EH-CG. O EH-FG foi caracterizado por β -cariofileno (25,7%), aromadendreno (23,5%) e espatulenol (22,7%), indicando um perfil foliar rico em sesquiterpenos, enquanto o EH-CG apresentou níveis elevados de aromadendreno (35,5%), β -cariofileno (24,4%) e biciclogermacreno (19,7%) (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química dos extratos de hexano de *A. subincanum* (EH-FG e EH-CG).

Constituintes	%AR		IR _{exp}	IR _{lit}
	TR	Folhas		
α -Copaeno	23.52	—	5.8	1373
β -Cariofileno	25.39	24.4	25.7	1415
Aromadendreno	26.30	29.6	35.5	1439
α -Amorfenol	28.16	—	11.8	1480
Germacreno D	28.18	11.7	—	1484
Biciclogermacreno	28.86	10.3	18.5	1498
Espatuleno	31.99	22.7	—	1575
Total		98.7	97.3	

TR = Tempo de retenção; IR_{exp} = Índice de retenção relativo aos n-alcanos (C8–C20) na coluna Rtx-5MS; IR_{lit} = Índice de retenção de Kovats (valores encontrados na literatura – Adams, 2007). %AR = Abundância relativa. Os números em negrito significam que os constituintes voláteis foram considerados constituintes principais dos extratos de hexano das folhas (EH-FG) e da casca do caule (EH-CG) de *A. subincanum* não detectado.

Foram observadas diferenças na distribuição de sesquiterpenos entre os órgãos da planta, com germacreno D foi detectado exclusivamente nas folhas, enquanto o α -amorfenol e altos níveis de aromadendreno caracterizaram o extrato da casca do caule, sugerindo uma biossíntese de terpenoides específica de cada tecido. Essas descobertas ampliam o conhecimento químico sobre *A. subincanum*, que tem sido estudada predominantemente por seus alcaloides indólicos, com informações limitadas sobre constituintes voláteis (Almeida *et al.*, 2019).

Ambos os extratos de *n*-hexano inibiram *X. citri*, com o EH-FG apresentando maior potência (CIM = 50 μ g/mL) do que o EH-CG (CIM = 200 μ g/mL) (Tabela 2). Esses valores situam-se dentro ou abaixo da faixa comumente relatada para extratos vegetais contra *Xanthomonas* spp. (Bajpai *et al.*, 2010). A maior atividade do EH-FG pode estar associada à maior abundância relativa de sesquiterpenos bioativos, como β -cariofileno, aromadendreno e espatuleno, que já haviam sido relatados anteriormente como possuidores de propriedades antibacterianas (Li *et al.*, 2022).

Tabela 2. Atividades anti-*Xanthomonas citri* de EH-FG e EH-CG (os valores de CIM e CMB são expressos em μ g/mL).

Bactéria	EH-FG	EH-CG	Estreptomicina
----------	-------	-------	----------------

<i>Xanthomonas citri</i> 1647	MIC = 50	MIC = 200	MIC = 0.0461
	MBC = 50	MBC = 200	MBC = 0.0461

HE-GF. Extrato n-hexânico das folhas de *A. subincanum*. **HE-GC.** Extrato n-hexânico do caule de *A. subincanum*. Os valores representam os resultados de três experimentos independentes realizados em triplicata ***Controle positivo**

Ambos os extratos também apresentaram inibição da acetilcolinesterase, com valores de IC_{50} de 78,20 $\mu\text{g/mL}$ (EH-FG) e 82,30 $\mu\text{g/mL}$ (EH-CG), comparáveis aos da galantamina ($IC_{50} = 80,45 \mu\text{g/mL}$) (Tabela 3). Em contrapartida, a inibição da α -amilase foi fraca ($IC_{50} = 500 \mu\text{g/mL}$), e a inibição da elastase foi mínima ($IC_{50} = 1950\text{--}2100 \mu\text{g/mL}$), em comparação com a acarbose ($IC_{50} = 1,72 \mu\text{g/mL}$) e o galato de epigallocatequina, respectivamente (Silva *et al.*, 2014; Angelo *et al.*, 2024). Esse perfil de bioatividade indica uma predominância da inibição da colinesterase, que é consistente com a composição rica em sesquiterpenos dos extratos e com a atividade inibitória da AChE relatada para essa classe de compostos (Arya *et al.*, 2021). A inibição limitada da α -amilase sugere que o uso antidiabético tradicional de *A. subincanum* pode estar associado a constituintes mais polares ou não voláteis, tais como alcaloides e compostos fenólicos (Alves *et al.*, 2021).

Tabela 3. Atividade enzima-inibitória de EH-FG e EH-CG (valores de IC_{50} expressos em $\mu\text{g/mL} \pm \text{SD}$)

Enzimas	HE-GF	HE-GC	Galantamina*	Galato de epigallocatequina *	Acarbose*
Acetilcolinesterase	78.20 $\pm$ 0.93	82.30 $\pm$ 0.14	80.45 $\pm$ 0.70	-	-
α -Amilase	500 $\pm$ 2.50	500 $\pm$ 1.14	-	-	1.72 $\pm$ 0.09
Elastase	1950 $\pm$ 4.13	2100 $\pm$ 2.16	-	36.71 $\pm$ 4.13	-

HE-GF. Extrato n-hexânico das folhas de *A. subincanum*. **HE-GC.** Extrato n-hexânico do caule de *A. subincanum*. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata ***Controle positivo**

Os ensaios de citotoxicidade realizados em linhagens celulares tumorais humanas (HeLa, MCF-7, U-251MG) e não tumorais (GM07492A) não revelaram redução significativa na viabilidade celular ($IC_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$). De acordo com a literatura recente, extratos vegetais com valores de $IC_{50} \geq 100 \mu\text{g/mL}$ são geralmente

considerados como apresentando baixa citotoxicidade (Lopes *et al.*, 2025), indicando um perfil de segurança *in vitro* favorável. Além disso, uma vez que a atividade antibacteriana foi observada em concentrações mais baixas, esses achados sugerem que os efeitos biológicos não estão associados à citotoxicidade geral, corroborando com um certo grau de seletividade.

Por outro lado, os perfis de bioatividade do HE-GL e do HE-GS foram predominantemente orientados para a inibição da colinesterase, em concordância com a composição rica em sesquiterpenos e com o potencial inibidor da AChE relatado para essa classe de compostos (Arya *et al.*, 2021). A inibição limitada da α -amilase sugere que o uso antidiabético tradicional de *A. subincanum* pode estar relacionado a constituintes mais polares ou não voláteis, como alcaloides e compostos fenólicos, em vez de sua fração volátil (Alves *et al.*, 2021).

A análise de acoplamento molecular revelou que as afinidades de ligação dos terpenos avaliados variaram dependendo da proteína-alvo. As interações mais fortes foram observadas com a acetilcolinesterase (4EY7), particularmente para o aromadendreno (-8,76 kcal/mol), o biciclogermacrene (-8,48 kcal/mol) e o β -cariofileno (-8,43 kcal/mol), indicando alta estabilidade de ligação. Foram observadas interações moderadas com a metionil-tRNA sintetase (6WQ6), enquanto afinidades mais fracas foram detectadas para a α -amilase (1OSE) e a elastase (1B0E). Esses resultados são consistentes com os achados *in vitro*, apoiando a contribuição dos sesquiterpenos para a inibição da acetilcolinesterase e a atividade antibacteriana, ao mesmo tempo que reforçam seu papel limitado na inibição da α -amilase e da elastase. De modo geral, os resultados *in silico* fornecem suporte mecânico para o perfil de bioatividade seletiva observado.

4. Conclusão

Os extratos de *n*-hexano das folhas e da casca do caule de *A. subincanum* apresentaram um perfil de compostos voláteis rico em sesquiterpenos e um potencial biológico significativo, particularmente por meio da inibição da acetilcolinesterase e da atividade antibacteriana contra *X. citri*. As análises de acoplamento molecular corroboraram os resultados experimentais, uma vez que demonstraram interações de ligação favoráveis dos principais terpenos com alvos enzimáticos e bacterianos. A inibição limitada da α -amilase e da elastase, juntamente com a ausência de

citotoxicidade, sugere um perfil de bioatividade seletivo. Em suma, este estudo fornece o primeiro relatório abrangente sobre a fração volátil não polar de *A. subincanum*. Ele não apenas expande a relevância farmacológica além da conhecida química alcaloide, mas também destaca o potencial como fonte segura de agentes bioativos à base de sesquiterpenos.

5. Referências

- Adams, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (ed. 4.1). **Allured Publ Crop Carol Steam, IL**, 2017.
- Almeida, VL, Silva, CG, Silva, AF, Campana, PRV, Foubert, K., Lopes, JCD, Pieters, L. Espécies de *Aspidosperma*: uma revisão de sua química e atividades biológicas. **Journal of ethnopharmacology** , v. 231, p. 125-140, 2019.
- Alves, N. M., Silva, M. A. C., Parente, L. M. L., de Paula, J. R., de Carvalho Cruz, A., Diniz, J. A., da Cunha, L. C. Pharmacognostic assessment and pre-clinical toxicity of ethanolic extract from *Aspidosperma subincanum* Mart. stem bark (Guatambu). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e17510917547-e17510917547, 2021.
- Angelo, G. L., de Oliveira, I. S., de Albuquerque, B. R., Kagueyama, S. S., Vieira da Silva, T. B., dos Santos Filho, J. R., Corrêa, R. C. G. Jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) pod residue: A source of phenolic compounds as valuable biomolecules. **Plants**, v. 13, n. 22, p. 3207, 2024.
- Anitha Gopal, B., Muralikrishna, G. Porcine pancreatic α -amylase and its isoforms: Purification and kinetic studies. **International Journal of Food Properties**, v. 12, n. 3, p. 571-586, 2009.
- Arifah, N. Z., Helianti, D., Efendi, E. Anti-Elastase Potential *in Vitro* of Koro Komak (*Lablab Purpureus*) Extract as Anti-Aging Protection. **Journal of Social Research**, v. 4, n. 8, p. 1946-1958, 2025.
- Arya, A., Chahal, R., Rao, R., Rahman, M. H., Kaushik, D., Akhtar, M. F., Mittal, V. Acetylcholinesterase inhibitory potential of various sesquiterpene analogues for Alzheimer's disease therapy. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 350, 2021.

- Bajpai, V. K., Dung, N. T., Suh, H. J., Kang, S. C. Antibacterial activity of essential oil and extracts of *Cleistocalyx operculatus* buds against the bacteria of *Xanthomonas* spp. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 11, p. 1341-1349, 2010.
- Costa, H. C. G., Fernandes, C. C., dos Santos, J. G., Pereira, G. C. S., Miranda, M. L. D. *Aspidosperma subincanum* (Guatambú): potencial fitoterápico e aplicações na medicina tradicional. **Caderno Pedagógico**, v. 22, n. 9, p. e18637-e18637, 2025.
- Deveci, E., Tel-Çayan, G., Duru, M. E. Phenolic profile, antioxidant, anticholinesterase, and anti-tyrosinase activities of the various extracts of *Ferula elaeochytris* and *Sideritis stricta*. **International journal of food properties**, v. 21, n. 1, p. 771-783, 2018.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., Featherstone, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
- Gonçalves, D. S., Silva, N. B. S., Mota, L. C. B. M., Duarte, L. C., Tebaldi, N. D., da Costa, P. D. T., Martins, C. H. G. Catecholic chalcones control phytopathogenic bacteria in non-toxic concentrations. **Journal of Applied Microbiology**, v. 136, n. 4, p. lxaf094, 2025.
- Hang-Ying, L., Wen-Qian, Y., Xin-Zhu, Z., Shao, F., Shen, T., Hui-Ying, G., Li-Ming, Z. Antibacterial and Antifungal Sesquiterpenoids: Chemistry, Resource, and Activity. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1271, 2022.
- Iantas, J., Savi, D. C., Schibelbein, R. D. S., Noriler, S. A., Assad, B. M., Dilarri, G., Glienke, C. Endophytes of Brazilian medicinal plants with activity against phytopathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 714750, 2021.
- Li, H. Y., Yang, W. Q., Zhou, X. Z., Shao, F., Shen, T., Guan, H. Y., Zhang, L. M. Antibacterial and antifungal sesquiterpenoids: chemistry, resource, and activity. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, p. 1271, 2022.
- Lopes, A. A., Coppede, J. D. S., Amatto, P. D. P. G., Aragon, D. C., França, S. D. C., Carmona, F., Pereira, A. M. S. Cytotoxic effect of different *Uncaria tomentosa* (cat's claw) extracts, fractions on normal and cancer cells: a systematic review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 16, p. 1584840, 2025.

Marrelli, M., Loizzo, M. R., Nicoletti, M., Menichini, F., Conforti, F. Inhibition of key enzymes linked to obesity by preparations from Mediterranean dietary plants: effects on α -amylase and pancreatic lipase activities. **Plant foods for human nutrition**, v. 68, n. 4, p. 340-346, 2013.

Mechqoq, H., Hourfane, S., El Yaagoubi, M., El Hamdaoui, A., da Silva Almeida, J. R. G., Rocha, J. M., El Aouad, N. Molecular docking, tyrosinase, collagenase, and elastase inhibition activities of argan by-products. **Cosmetics**, v. 9, n. 1, p. 24, 2022.

Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

Pereira Rocha, M., Rodrigues Valadares Campana, P., de Oliveira Scoaris, D., de Almeida, V. L., Dias Lopes, J. C., Fonseca Silva, A., Gontijo Silva, C. Biological activities of extracts from *Aspidosperma subincanum* Mart. and *in silico* prediction for inhibition of acetylcholinesterase. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 10, p. 2021-2033, 2018.

Santos, J. G., Fernandes, C. C., Silva, N. B., Calefi, G. G., Martins, C. H., Volpini, G. A., Miranda, M. L. Volatile compounds of hexane extract from *Pterodon pubescens* Benth seeds and its significant *in vitro* potential against different bacterial strains. **Natural Product Research**, v. 39, n. 5, p. 1428-1433, 2025.

Sarker, S. D., Nahar, L., Kumarasamy, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, n. 4, p. 321-324, 2007.

Silva, S. M., Koehnlein, E. A., Bracht, A., Castoldi, R., de Moraes, G. R., Baesso, M. L., Peralta, R. M. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, v. 56, p. 1-8, 2014.

Silva, I. R., Fernandes, C. C., Gonçalves, D. S., Martins, C. H., Miranda, M. L. Chemical composition and anti-Xanthomonas citri activities of essential oils from *Schinus molle* L. fresh and dry leaves and of its major constituent spathulenol. **Natural Product Research**, v. 38, n. 19, p. 3476-3480, 2024.

Smyrska-Wieleba, N., Mroczek, T. Natural inhibitors of cholinesterases: chemistry, structure–activity and methods of their analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2722, 2023.

Tel, G., Apaydın, M., Duru, M. E., Öztürk, M. Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 3, p. 495-504, 2012.

Van Dyk, J. W., Caldwell, M. L. A Study of the Kinetics of the Hydrolysis of Waxy Maize Starch by Crystalline Pancreatic Amylase from Swine¹. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 14, p. 3345-3350, 1956.

5. CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que os extratos hexânicos das folhas e da entrecasca de *Aspidosperma subincanum* apresentaram composição química rica em sesquiterpenos bioativos, destacando-se β -cariofileno, aromadendreno, espatulenol e biciclogermacreno, compostos associados a importantes atividades farmacológicas e antimicrobianas. Os resultados reforçam a relevância etnofarmacológica da espécie e ampliam o conhecimento científico sobre o potencial biotecnológico de plantas nativas do Cerrado, bioma reconhecido pela elevada biodiversidade e riqueza em metabólitos secundários.

Os extratos demonstraram atividade antibacteriana promissora frente a *Xanthomonas citri*, importante fitopatógeno responsável pelo cancro cítrico, apresentando valores de CIM/CBM de 50 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato das folhas e 200 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato da entrecasca. Esses resultados evidenciam o potencial da espécie como alternativa sustentável para o desenvolvimento de agentes naturais aplicáveis no manejo fitossanitário agrícola.

Em relação às atividades enzimáticas, ambos os extratos apresentaram expressiva inibição da acetilcolinesterase, com valores de IC_{50} de 78,20 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato das folhas e 82,30 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato da entrecasca, resultados comparáveis ao controle galantamina. Por outro lado, a inibição da α -amilase foi considerada baixa, com IC_{50} de aproximadamente 500 $\mu\text{g/mL}$, enquanto a atividade antielastase apresentou efeito discreto, com IC_{50} variando entre 1950 e 2100 $\mu\text{g/mL}$. Esses achados sugerem uma bioatividade seletiva, predominantemente voltada à modulação colinesterásica, possivelmente relacionada à elevada concentração de sesquiterpenos presentes nos extratos.

Os ensaios de citotoxicidade demonstraram ausência de toxicidade significativa em linhagens celulares tumorais e não tumorais humanas até a concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$, indicando um perfil de segurança preliminar favorável. Além disso, as análises de *docking* molecular corroboraram os resultados experimentais, evidenciando interações favoráveis dos principais terpenos com alvos bacterianos e enzimáticos, especialmente com a acetilcolinesterase.

Dessa forma, *Aspidosperma subincanum* destaca-se como uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial aplicação farmacêutica,

agroquímica e biotecnológica. O estudo contribui para a valorização científica da biodiversidade do Cerrado e incentiva futuras pesquisas voltadas ao isolamento de moléculas ativas, estudos *in vivo* e desenvolvimento de produtos naturais sustentáveis.