

Caracterização fitoquímica e farmacológica de amostras de nó-de-cachorro (*Heteropterys tomentosa*) de diferentes proveniências

Resumo

A *Heteropterys tomentosa* ou *Heteropterys aphrodisiaca* (Malpighiaceae) é uma espécie nativa com ocorrência principalmente no cerrado e conhecida pelos nomes populares de “nó-de-cachorro” ou “Cordão-de-São-Francisco”. As raízes da planta são popularmente utilizadas em forma de garrafadas como tônico, afrodisíaco, para melhora da memória, entre outros usos. O comércio do material botânico de nó-de-cachorro em grandes centros urbanos ocorre principalmente em casas de ervas, lojas de produtos naturais e bancas de raizeiros, sendo encontrada principalmente na forma de pó pulverizado. Neste projeto será feita a comparação do perfil fitoquímico e farmacológico de amostras de nó-de-cachorro obtidas de diversos locais (casas de ervas na região do ABC) com uma amostra autenticada. A presença de contaminantes e possíveis adulterantes nas amostras também será avaliada. Para a avaliação farmacológica, será realizada a extração hidroalcoólica das amostras e os extratos serão submetidos à avaliação da atividade antioxidante pelo teste de sequestro do radical livre DPPH e o efeito sobre as enzimas monoamino oxidase e acetilcolinesterase.

Palavras-chave: *Heteropterys tomentosa*, acetilcolinesterase, monoamino oxidase, controle de qualidade, fitoquímica, ação antioxidante.

1. INTRODUÇÃO

Heteropterys tomentosa A. Juss. (ou *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach.) é uma planta da família Malpighiaceae, nativa dos estados de São Paulo, Goiás e Mato Grosso, encontrada em regiões úmidas do cerrado (Bezerra, 2016; Queiroz, 2011) e conhecida pelos nomes “nó-de-cachorro” ou “Cordão-de-São-Francisco”. A espécie é classificada como uma das 65 espécies psicoativas do Brasil (Marques et al. 2007) e popularmente utilizada com propósitos variados. As raízes são utilizadas na preparação de garrafadas (curtidas em bebida alcoólica) como afrodisíaco e depurativo do sangue, as folhas são empregadas em banhos para o fortalecimento muscular e tratamento de conjuntivite, as raízes utilizadas no preparo de chás por decocção para diabetes, gripe e infecções intestinais, além do uso como tônico (raízes maceradas em água) para a melhora de desempenho em atividades diárias, segundo a revisão feita por Coelho et al. (2011).

Os benefícios do nó-de-cachorro sobre a aprendizagem e memória foram objeto de diversos estudos. Galvão et al. (2002) avaliaram o efeito do tratamento agudo ou repetido do extrato hidroalcoólico de nó-de-cachorro sobre a aprendizagem e memória de ratos jovens e idosos. A administração aguda não produziu benefícios nas tarefas avaliadas, mas o tratamento repetido por sete dias ou mais foi efetivo, sobretudo em atenuar os déficits de aprendizagem e memória em animais idosos. Outro estudo confirmou o efeito positivo sobre a memória de ratos idosos, mas o tratamento com nó de cachorro não reverteu a amnésia induzida por esopolamina em camundongos (Galvão et al., 2011). Mattei et al. (2001) observaram uma forte ação antioxidante do extrato, reduzindo o estresse oxidativo em lipídios em homogenato de cérebro de ratos. De acordo com Mendes e Carlini (2007), as ações antioxidantes e atenuação de distúrbios relacionados ao processo de envelhecimento, de maneira não específica e em doses administradas cronicamente, classificam a *H. tomentosa* como uma potencial planta adaptogênica, a qual aumenta a habilidade do organismo de evitar danos decorrentes de fatores ambientais. No entanto, um estudo que comparou o efeito das folhas, galhos e raízes de nó de cachorro não observou efeitos positivos em testes de estresse e memória (Paula-Freire et al., 2013). Por outro lado, a administração de nó-de-cachorro aumentou a resistência de ratos no teste da natação forçada, o que estaria de acordo com o que é esperado para uma substância adaptógena ou resistógena (Fraga et al., 2017).

Apesar do evidente potencial terapêutico, o “nó-de-cachorro” ainda não é utilizado na preparação de medicamentos fitoterápicos, sendo comercializado em ervanários, feiras livres e mercados populares. O material botânico comercializado nestes locais é fornecido por empresas especializadas na obtenção e comércio atacado de materiais botânicos e também por raizeiros, que são figuras com prestígio em sua região para consulta de indicação, obtenção, preparo e comercialização de plantas medicinais (Santos et al., 2013). Vale mencionar que não existe regulamentação para a venda de materiais brutos (não processados) obtidos por raizeiros e mateiros, podendo ocorrer a venda de diferentes espécies com o mesmo nome popular. Mesmo no comércio realizado por empresas especializadas, é comum a falta de identificação apropriada das espécies e controle da presença de marcadores e princípios ativos. Tais fatos contribuem para que seja comum a comercialização de materiais que divergem da espécie mencionada, ou ainda a presença de adulterantes e a ocorrência de contaminação nas etapas de manipulação (Braz et al., 2015). Em consonância a isso, Marques et al. (1996) realizaram um controle farmacognóstico com materiais obtidos de atacadistas e ambulantes na cidade de São Paulo vendidos como nó-de-cachorro e verificou que tratavam-se de rizomas de *Vernonia cognata* Less., espécie com potencial de toxicidade. Em oposição à *Vernonia*, segundo Fraga et al. (2017), a *Heteropterys tomentosa* não exibe toxicidade aguda ou subcrônica em ratos, sendo segura em doses até 400 mg/kg. Apesar disso, há artigos que observaram toxicidade quando o extrato hidroetanólico de *H. tomentosa* foi incubado em culturas celulares na concentração de 1000 µg/mL (Bezerra et al, 2007; Bezerra et al. 2016).

Por isso, faz-se necessário uma ampla caracterização química. Marques et al (2007) detectaram, em extratos aquosos de raízes da planta, dihidro flavonoides astilbina, neoastilbina e isoastilbina. Flavonoides são um grupo de substâncias bem distribuídas nos filios vegetais, com efeitos antimicrobianos, antivirais, antineoplásicos, anti inflamatórios e, principalmente, antioxidantes bem descritos na literatura (Machado, 2008). Bezerra et al. (2016) documentaram a presença de flavonoides, taninos e saponinas em extratos hidroalcoólicos da planta, sendo os ácidos fenólicos os principais constituintes. Fraga et al. (2017), utilizando o método de cromatografia líquida de alta performance, confirmaram a presença de flavonoides, sendo a taxifolina o principal componente. Paula-Freire et al. (2013) demonstraram que basicamente os mesmos componentes estão presentes em diferentes partes das plantas, mas em diferentes proporções.

O uso de agentes antioxidantes é uma medida profilática para diversas doenças, uma vez que o estresse oxidativo está diretamente relacionado ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, assim como a neuroinflamação e a morte neuronal, como por exemplo na doença de Alzheimer e na doença de Parkinson (Matthew et al., 2019). No caso da doença de Alzheimer, a maioria dos fármacos atualmente têm como estratégia a inibição da acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável pela degradação da acetilcolina (Monczor, 2005; DEF 2015), procurando-se, desta forma, manter o neurotransmissor por um maior período na fenda sináptica - método denominado terapia colinérgica - o qual trata os sintomas da doença, mas não a causa (Araújo et al. 2016). Já no caso da doença de Parkinson, além do uso do precursor L-DOPA, é comum o uso de agentes inibidores da enzima monoaminoxidase B, envolvida na deaminação da dopamina (Lin, 2003), processo que inativa o neurotransmissor. Por consequência, há um aumento no nível basal de dopamina na via dopaminérgica nigroestriatal (Stafford, 2007). Esse processo também resulta em efeitos neuroprotetores, uma vez que a atividade da MAO-B aumenta de acordo com a idade do indivíduo e as espécies reativas de oxigênio geradas como subproduto da renovação da amina causam danos neuronais (Lin, 2003; Stafford, 2007).

Considerando a necessidade de monitorar e avaliar a autenticidade e qualidade dos materiais vegetais comercializados na região do ABC, pretendemos adquirir amostras vendidas como nó-de-cachorro em diferentes locais e comparar o perfil fitoquímico com uma amostra autenticada, além de avaliar se há adulterantes ou contaminantes presentes nas amostras. Além disso, visto que há diversos estudos a respeito da atividade inibitória de extratos vegetais sobre a AChE (Mukherjee et al., 2007; Mendes et al. 2012) e sobre a MAO-B (Lin, 2003; Stafford, 2007), pretendemos investigar a ação do extrato de *H. tomentosa* sobre essas enzimas, o que poderia indicar o seu potencial neuroprotetor na doença de Alzheimer e na doença de Parkinson.

2. OBJETIVOS E METAS

Esse trabalho objetiva caracterizar os compostos fitoquímicos presentes em diferentes amostras de *Heteropterys tomentosa*, bem como avaliar a presença de contaminantes e adulterantes. Também é objetivo deste estudo avaliar a capacidade antioxidante das diferentes amostras e avaliar seus efeitos sobre a atividade das enzimas

acetilcolinesterase e monoaminoxidase, a fim de investigar seu potencial fitoterápico para distúrbios do sistema nervoso.

3. METODOLOGIA

3.1. Drogas

Amostras de nó-de-cachorro serão obtidas a partir de casas de ervas e raizeiros nos municípios de Santo André, São Bernardo do Campo, São Paulo e Andradina. Para comparação, será utilizada uma amostra previamente coletada em Corguinho (MS) e previamente identificada. Dado que os materiais botânicos serão provenientes de coletas anteriores ou obtidos do comércio, não será necessário solicitar autorizações ao IBAMA; entretanto o projeto será cadastrado no SiSGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado. Serão empregados sais e reagentes de grau analítico.

3.2. Prospecção fitoquímica

Para realização da prospecção fitoquímica, as amostras terão seu perfil cromatográfico avaliado através de CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência). Para definição da classe de metabólitos secundários acumulados, as amostras serão também analisadas por RMN (ressonância magnética nuclear) de ^1H e ^{13}C e por EM (espectrometria de massas).

Os extratos das amostras serão inicialmente submetidos a um processo de partição solvente-solvente, seguido da análise por RMN e EM para avaliação do perfil químico. As fases selecionadas serão submetidas a fracionamento cromatográfico em gel de sílica sob pressão ou em Sephadex LH-20. A partir daí, poderão ser utilizados métodos usuais de separação em sílica de fase normal, em fase reversa, CCDP (cromatografia em camada delgada preparativa) e CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência).

Após o isolamento das substâncias em elevado grau de pureza, as estruturas serão identificadas/elucidadas com base nas análises dos espectros de RMN e EM seguido da comparação com dados descritos na literatura.

3.3. Avaliação farmacognóstica

As amostras serão submetidas às análises macro e microscópicas visando à caracterização sensorial e avaliação da presença de matéria estranha, seguindo as recomendações farmacopeicas (FB6). (Farmacopeia Brasileira, 2019). Os testes microquímicos foram realizados com as amostras conservadas em etanol 70%, sendo utilizado lugol para detecção de grãos de amido, cloreto férrico a 10% para polifenóis, Sudan IV glicerinado para substâncias lipídicas, cloreto de zinco iodado para celulose e lignina, e solução de ácido sulfúrico (5-10%) para identificação da composição dos cristais de cálcio (Marques et al., 2007).

3.4. Avaliação da atividade antioxidante – sequestro do DPPH

Este método é baseado na redução de uma solução etanólica de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) que ocorre na presença de uma substância antioxidante que é doadora de íons hidrogênio. O antioxidante bloqueia o radical livre interceptando o processo de oxidação através da doação de íons hidrogênio, formando produtos estáveis, os quais não iniciam ou propagam oxidações posteriores.

O ensaio será realizado em microplaca, monitorando-se no comprimento de onda de 517 nm a quantidade de DPPH (coloração azulada) que não sofreu o processo de redução, o que corresponde inversamente à atividade antioxidante da substância analisada (Martins et al., 2018). Na microplaca será inicialmente pipetado, em triplicata, 20 µL de diferentes concentrações das amostras solubilizadas em etanol e em seguida 180 µL de solução DPPH 50 µg/mL (concentração ajustada para uma absorbância entre 0,9 e 1,0). Como branco será empregada uma solução etanólica sem a adição de DPPH.

A placa com as amostras e DPPH será incubada à temperatura de 25 °C e as leituras serão realizadas a cada minuto, durante um intervalo de 10 min. O decaimento da absorbância das amostras (Abs_{am}) correlacionado ao decaimento da absorbância do controle (Abs_{con}) resulta na porcentagem de sequestro de radicais livres (%SRL), segundo a fórmula: $\%SRL = [(Abs_{con} - Abs_{am}) / Abs_{con}] \times 100$. A curva de %SRL em função da concentração será calculada para cada amostra, determinando-se assim a Concentração Efetiva 50% (CE_{50}).

3.5. Avaliação da inibição da enzima monoaminoxidase *in vitro*

Para a obtenção do pool enzimático, cérebros de ratos serão homogeneizados em tampão Na_2HPO_4/KH_2PO_4 0,15M, pH 7,4, isotônico com 0,13M de sacarose. Os

homogenatos serão primeiramente centrifugados a 1900 G à 4 °C para remoção do material mais denso, lavados uma vez e em seguida o sobrenadante será centrifugado a 11.800 G. O pellet mitocondrial bruto obtido será ressuspensionado em tampão contendo KCl no lugar de sacarose e finalmente ressuspensionado em um volume definido de tampão, em função do volume de pellet final. A concentração de proteína será determinada segundo o método de Bradford (Bradford, 1976) usando albumina de soro bovino como padrão e o material será armazenado a -80°C até o uso.

O ensaio será feito em microtubos utilizando fração proteica (na concentração de 1,0 mg/mL) contendo a enzima MAO em tampão de ensaio. Em seguida, serão pipetadas as amostras em diferentes concentrações, incubado por 10 minutos, e finalmente acrescentado 20 µL do substrato quinuramina (90 µM) seguido de incubação por 30 min a 37°C. A reação será encerrada com a adição de 300 µL de TCA. Os tubos serão então centrifugados por 5min a 16.000g e 4 °C e 800 µL do sobrenadante transferido para outro tubo de ensaio contendo 1 mL de NaOH 1M.

A atividade enzimática será medida pela formação de 4-hidroxiquinolina (4-OH), que será avaliada fluorimetricamente com excitação de 320 e emissão de 460 nm e comparada com curva-padrão de 4-OH (Borba et al., 2022). A porcentagem de inibição de cada concentração da *Heteropterys tomentosa* (em triplicata) será utilizada para cálculo do IC₅₀, utilizando uma média de 3-4 ensaios para cada amostra. Caso seja observado efeito inibitório sobre a MAO, serão feitos novos testes com inibidores seletivos da MAO-A (clorgilina) e MAO-B (selegilina) para verificar se as amostras possuem efeito seletivo ou não.

3.6. Avaliação da inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro*

A inibição da enzima acetilcolinesterase será calculada pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Ellman (1961) com algumas modificações (Martins et al., 2018). Em uma microplaca, serão pipetados em cada poço 10 µL de acetilcolinesterase (1 U/mL) e 160 µL de solução tampão de fosfato de sódio (pH 8,0) contendo o Reagente de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico – DTNB, 0,25 mM) e em seguida 20 µL de diferentes concentrações das amostras, em triplicata. A placa será incubada por 10 minutos em um banho-Maria a 37 °C e em seguida será adicionado 10 µL de iodeto de acetiltiocolina 20 mM (que é hidrolisado de forma similar à acetilcolina). A formação do ânion amarelo 5-tio-2-nitrobenzoato será avaliada

em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412 nm durante 20 minutos na temperatura de 25 °C. O branco será determinado livre da presença da enzima e do extrato para checar a hidrólise não-enzimática do substrato. A CI_{50} , que é definida como a concentração da substância teste requerida para inibir 50% da atividade enzimática será calculada por regressão linear utilizando os resultados de 3 a 4 ensaios.

3.7. Análise estatística

A concentração média efetiva (CE_{50}) e a concentração que inibe 50% da atividade (CI_{50}) serão calculados por meio de regressão linear, utilizando o log das concentrações e as médias de atividade/inibição das concentrações testadas. Os valores obtidos para as mesmas concentrações em amostras diferentes serão comparados por ANOVA, caso se mostrem paramétricos, ou Kruskal-Wallis no caso de dados não paramétricos, seguido de testes a posteriori apropriados. Serão consideradas diferenças estatisticamente significantes quando $P < 0,05$.

4. Viabilidade

Este projeto de pesquisa seguirá dentro da linha de pesquisa do grupo, sendo que os equipamentos e praticamente todos os materiais já estão disponíveis no laboratório. Será necessário apenas obter o material botânico (de baixo custo) e alguns reagentes, que poderão ser adquiridos através de um projeto de pesquisa a ser submetido ou reserva técnica de bolsas. As partes de análise fitoquímica e farmacognosia serão feitas com colaboradores. Ressalta-se que a candidata já iniciou treinamento de estágio no laboratório, estando apta a iniciar o projeto imediatamente.

5. Cronograma das atividades

O presente projeto terá a duração de 12 meses.

Etapa	Período
1. Obtenção das amostras para o trabalho	Mês 1
2. Preparação dos extratos	Mês 2
3. Avaliação fitoquímica	Meses 3-4
4. Avaliação farmacognóstica (controle de qualidade)	Meses 4-5
5. Avaliação da ação antioxidante	Meses 5-7
6. Inibição sobre a monoaminoxidase	Meses 7-10
7. Inibição sobre a acetilcolinesterase	Meses 8-11
8. Análise dos resultados e elaboração de relatório final	Meses 11-12

Descrição das atividades que serão realizadas pela aluna:

A aluna dedicará em média 8 horas semanais para a realização do projeto, incluindo planejamento e execução dos experimentos, análise de dados e discussão dos resultados.

Também farão parte entre as atividades da aluna as seguintes tarefas:

- Acompanhamento / revisão da literatura científica pertinente;
- Participação de reuniões do grupo de pesquisa e reuniões individuais com o orientador;
- Preparação de resumos e relatórios científicos, sempre que necessário;
- Submissão de resumos e participação de encontros científicos, quando possível;
- entre outros

Espera-se ainda que os dados produzidos sejam suficientes para a preparação de um manuscrito, que deverá ser submetido para revista científica da área com a participação da aluna.

6. Referências bibliográficas

- Araújo, C. R. M.; Santos, V. L. A.; Gonsalves, A. A. Acetylcholinesterase - AChE: a pharmacological interesting enzyme. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818–1834, 2016.
- Bezerra, A. G. Avaliação do efeito dos extratos de *Panax ginseng*, *Turnera diffusa* e *Heteropterys aphrodisiaca* sobre a apoptose de células do sistema nervoso central. Tese (Mestrado). 2007.
- Bezerra, A. G.; Negri, G.; Almeida, J. M. D.; Smaili, S. S.; Carlini, E. A. Phytochemical analysis of hydroethanolic extracts from powdered roots of *Panax ginseng* C. A. Meyer and *Heteropterys tomentosa*. Juss and evaluation of their effects on astrocyte cell death. **Química Nova**, 2016.
- Borba, L. A., Wiltenburg, V. D., Negri, G., Ibe, M. B., dos Santos, L., & Mendes, F. R. In vitro inhibition of acetylcholinesterase and monoamine oxidase by *Syzygium cumini* leaves extract and preliminary assessment in animal models. **South African Journal of Botany** 146: 553-563, 2022

- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 7: 248–254, 1976.
- Braz, P. H.; Melo, T. L.; Brandão, R. S.; Pinto, M. V.; Gonçalves, V. S. Análise microbiológica de preparações medicinais adquiridas em raizeiro na cidade de Sanclerlândia, Goiás. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 8, n. 1, 2015.
- Coelho, M. F. B.; Macedo, M.; Borges, H. B. N.; Spiller, C. Nó de cachorro (*Heteropterys tomentosa* A. Juss): espécie de uso medicinal em Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 475-485, 2011.
- DEF 2015. **Dicionário de especialidades farmacêuticas**. EPUC, 2015.
- Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 6ª ed. Brasília, 2019 (atualizado em março de 2022). ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 609, de 9 de março de 2022 - Atualiza a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, de que trata a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 298, de 12 de agosto de 2019.
- Fraga, G. A.; Balogun, S. O.; Pascqua, E. D.; Oliverira, R. G.; Botelho G.; Pavan, E.; Lima, T. R.; Avila, E. T. P.; Krueger, C. M. A.; Filho, V. C.; Damazo, A. S.; Martins, D. T. O.; Voltarelli, F. A. *Heteropterys tomentosa* A. Juss: Toxicological and adaptogenic effects in experimental models. **Nutrition and Health**, v. 23, n. 4, p. 289–298, dez. 2017.
- Galvão, S. M. P.; Marques, L. C.; Oliveira, M. G. M.; Carlini, E. A. *Heteropterys aphrodisiaca* (extract BST0298): a Brazilian plant that improves memory in aged rats. **J Ethnopharmacol.**, 79:305–311, 2002.
- Galvão, S. M. P.; Mendes, F. R.; Oliveira, M. G. M.; Mattei, R.; Mello, J. C. P.; Júnior, W. A. R. Carlini, E. A. Memory retrieval improvement by *Heteropterys aphrodisiaca* in aging rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 4, dez. 2011.
- Lin, R.D.; Hou W. C.; Yen, K. Y.; Lee, M. H. Inhibition of monoamine oxidase B (MAO-B) by Chinese herbal medicines. **Phytomedicine**, v. 10, n. 8, p. 650–656, jan. 2003.

- Machado, H.; Nagem, T. J.; Peters, V. M.; Fonseca, C. S.; Oliveira, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, 2008.
- Marques L. C, Galvão, S.M.P. Peres P. G., Rebecca M. A., Mello J. C. P. Caracterização farmacognóstica da droga vegetal “nó-de-cachorro” (*Vernonia cognata* Less. Asteraceae). **XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. Florianópolis, Brasil. 1996.
- Marques, L. C.; Pieri, C.; Roman-Junior, W. A.; Cardoso, M. L. C.; Milaneze-Gutierrez, M. A.; Mello, J. C. P. Controle farmacognóstico das raízes de *Heteropteris aphrodisiaca* O. Mach. (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 604–615, dez. 2007.
- Martins. N.O.; Brito, I.M.; Araújo, S.S.O.; Negri, E.; Carlini, E.A.; Mendes, F.R. Antioxidant, anticholinesterase and antifatigue effects of *Trichilia catigua* (catuaba). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2222-9>.
- Mattei, R.; Barros, M. P.; Galvão, S. M. P.; Bechara, E. J. H.; Carlini, E. L. A. *Heteropteris aphrodisiaca* O. Machado : effects of Extract BST 0298 on the oxidative stress of young and old rat brains. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 7, p. 604–607, 21 ago. 2001.
- Matthew, B.; Parambi, D. G. T.; Mathew, G. E.; Udiin, M. S.; Inasu, S. T.; Kim H.; Marathakam, A.; Unnikrishnan, M. K.; Carradori, S. Emerging therapeutic potentials of dual acting MAO and AChE inhibitors in Alzheimer’s and Parkinson’s diseases. **Archiv der Pharmazie**, v. 352, n. 11, p. 1900177, 3 set. 2019.
- Mendes, F. R.; Carlini, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 3, p. 493-500, 2007.
- Mendes, F. R.; Negri, G.; Duarte-Almeida, J. M.; Tabach, R.; Carlini, E. A. The action of plants and their constituents on the central nervous system. In: Cechinel Filho, V. (Org.). **Plant bioactives and drug discovery: principles, practice, and perspectives**. 1ed. New Jerser: John Willey & Sons, Inc, p. 161-204. 2012.

- Monczor, M. - Diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry – Central Nervous System Agents* **5**: 5-13, 2005.
- Mukherjee, P.K.; Kumar, V.; Mal, M.; Houghton, P.J. - Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine* **14**: 289-300, 2007.
- Paula-Freire, L. I. G.; Mendes, F. R.; Molska, G. R., Duarte-Almeida, J. M.; Carlini, E. A. Comparison of the chemical composition and biological effects of the roots, branches and leaves of *Heteropterys tomentosa* A. Juss. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 145, n. 2, p. 647-652, 2013.
- Queiroz, M. F.; Nascimento, A. M.; Schwarz, A. Estudo preliminar in vitro da atividade antiacetilcolinesterásica de extratos etanólicos de plantas: possíveis alternativas no tratamento da doença de Alzheimer. *Revista de Biologia e Farmácia*, v.6, p. 96-106, 2011.
- Santos R. L.; Nobre, M. S. C.; Guimarães, G. P.; Dantas, T. B.; Vieira, K. V. M.; Felismino, D. C.; Dantas, I. C. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 34, n. 2, 2013.
- Stafford, G. I.; Pedersen, P. D.; Jäger, A. K.; Staden, J. V. Monoamine oxidase inhibition by southern African traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*, v. 73, n. 3, p. 384–390, jul. 2007.