

Composição química e avaliação das atividades antioxidante e anticolinesterásica do óleo dos frutos de *Ouratea fieldingiana* (Gargner) Engl.

Chemical composition and evaluation of antioxidant and anticholinesterase activities of oil from the fruits of *Ouratea fieldingiana* (Gargner) Engl.

Composición química y evaluación de la actividad antioxidante y anticolinesterasa del aceite de los frutos de *Ouratea fieldingiana* (Gargner) Engl.

Recebido: 03/08/2021 | Revisado: 13/08/2021 | Aceito: 16/08/2021 | Publicado: 17/08/2021

Lucas Soares Frota

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5583-5193>
Universidade Estadual do Ceará, Brasil
E-mail: lucassfrota@gmail.com

Francisco Flavio Sousa Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2754-5521>
Universidade Estadual do Ceará, Brasil
E-mail: flaviolopez@gmail.com

Daniela Ribeiro Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0746-2211>
Universidade Estadual do Ceará, Brasil
E-mail: alves.danielaribeiro@gmail.com

Leonardo Soares Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1199-0401>
Universidade Estadual do Ceará, Brasil
E-mail: leosoaresfreitas25@gmail.com

Gabriela Marinho Gonçalves Franco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8380-1273>
Universidade Estadual do Ceará, Brasil
E-mail: babifranco4@gmail.com

Selene Maia de Moraes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2766-3790>
Universidade Estadual do Ceará, Brasil
E-mail: selenemaiademoraes@gmail.com

Resumo

A planta medicinal *Ouratea fieldingiana* conhecida popularmente como batiputá, é comumente encontrada na região litorânea do ceará, pertencente à família Ochnaceae e com característica arbórea ou arbustiva, de seu fruto pode ser extraído um óleo que é usado na culinária e na medicina tradicional como anti-inflamatório. Este trabalho objetivou caracterizar o óleo de batiputá e a fração polar deste óleo, como também quantificar os fenóis totais, avaliar sua capacidade antioxidante e anticolinesterásica. Do óleo artesanal de batiputá obtido por morador rural na cidade de Trairi-CE, foi separado por decantação com metanol e hexano a sua fração polar. Os principais ácidos graxos do óleo foram identificados por CG-EM no óleo de batiputá foram os ácidos palmítico (24,55%), linoleico (20,02%) e oleico (30,81%). A fração polar do óleo foi caracterizados em CLAE-DAD, sendo constituído pela flavona apigenina e seu dímero amentoflavona. A fração polar apresentou uma boa quantidade de fenóis totais, com 138,78 mg/EAG por grama da fração, além de uma ótima capacidade antioxidante com CI_{50} de 5,66 e 4,42 para inibir os radicais DPPH* e ABTS*+, respectivamente. A fração ainda possui uma capacidade quase três vezes maior de inibir a acetilcolinesterase, precisando de 12,58 $\mu\text{g/mL}$ da fração, quanto o óleo precisa de 36,66 $\mu\text{g/mL}$ para seu efeito inibitório. Esses resultados mostram que a fração polar do óleo de batiputá possui um forte potencial de ser um antioxidante comercial e seu efeito anticolinesterásico poderá nortear outros estudos para melhor entender seu efeito frente as doenças neurodegenerativas. **Palavras-chave:** Ochnaceae; Óleo fixo; Fenóis; Antioxidante; Acetilcolinesterase.

Abstract

The medicinal plant *Ouratea fieldingiana* popularly known as batiputá, is commonly found in the coastal region of Ceará, belonging to the Ochnaceae family and with arboreal or shrubby characteristics, an oil can be extracted from its fruit that is used in cooking and in traditional medicine as an anti-inflammatory. This work aimed to characterize the batiputá oil and the polar fraction of this oil, as well as to quantify the total phenols, evaluate its antioxidant and anticholinesterase capacity. From the artisanal batiputá oil obtained by a rural resident in the city of Trairi-CE, its polar

fraction was separated by decantation with methanol and hexane. The main fatty acids of the oil were identified by GC-MS in the batiputá oil were palmitic (24.55%), linoleic (20.02%) and oleic (30.81%) acids. The polar fraction of the oil was characterized in HPLC-DAD, being constituted by the flavone apigenin and its amentoflavone dimer. The polar fraction presented a good amount of total phenols, with 138.78 mg/EAG per gram of the fraction, in addition to an excellent antioxidant capacity with IC₅₀ of 5.66 and 4.42 to inhibit DPPH* and ABTS*⁺ radicals, respectively. The fraction still has an almost three times greater capacity to inhibit acetylcholinesterase, needing 12.58 µg/mL of the fraction, while the oil needs 36.66 µg/mL for its inhibitory effect. These results show that the polar fraction of batiputá oil has a strong potential to be a commercial antioxidant and its anticholinesterase effect may guide further studies to better understand its effect against neurodegenerative diseases.

Keywords: Ochnaceae; Fixed oil; Phenols; Antioxidant; Acetylcholinesterase.

Resumen

La planta medicinal *Ouratea fieldingiana* popularmente conocida como batiputá, se encuentra comúnmente en la región costera de Ceará, perteneciente a la familia Ochnaceae y con características arbóreas o arbustivas, se puede extraer de su fruto un aceite que se utiliza en la cocina y en la medicina tradicional como antiinflamatorio. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar el aceite de batiputá y la fracción polar de este aceite, así como cuantificar los fenoles totales, evaluar su capacidad antioxidante y anticolinesterasa. A partir del aceite de batiputá artesanal obtenido por un vecino rural de la ciudad de Trairi-CE, se separó su fracción polar por decantación con metanol y hexano. Los principales ácidos grasos del aceite que se identificaron por GC-MS en el aceite de batiputá fueron los ácidos palmítico (24,55%), linoleico (20,02%) y oleico (30,81%). La fracción polar del aceite se caracterizó en HPLC-DAD, estando constituida por la flavona apigenina y su dímero de amentoflavona. La fracción polar presentó una buena cantidad de fenoles totales, con 138,78 mg/EAG por gramo de la fracción, además de una excelente capacidad antioxidante con IC₅₀ de 5,66 y 4,42 para inhibir radicales DPPH* y ABTS*⁺, respectivamente. La fracción todavía tiene una capacidad casi tres veces mayor para inhibir la acetilcolinesterasa, necesitando 12,58 µg/mL de la fracción, mientras que el aceite necesita 36,66 µg/mL para su efecto inhibitorio. Estos resultados muestran que la fracción polar del aceite de batiputá tiene un fuerte potencial para ser un antioxidante comercial y su efecto anticolinesterasa puede orientar más estudios para comprender mejor su efecto contra las enfermedades neurodegenerativas.

Palabras clave: Ochnaceae; Aceite fijo; Fenoles; Antioxidante; Acetilcolinesterasa.

1. Introdução

A biodiversidade pode ser compreendida pelo papel evolutivo, ecológico ou como recurso biológico. Em meio esta biodiversidade, estão as plantas medicinais, que são utilizadas como remédios caseiros, sendo considerado a matéria-prima para fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos (Firmo et al., 2011). O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos, por isso seu uso é tão antigo quanto a espécie humana (Maciel et al., 2002). No Brasil, por exemplo, através do conhecimento tradicional dos povos indígenas, onde o uso de plantas medicinais é muito difundido devido à falta de assistência médica convencional (Volpato et al., 2002), a dificuldade que a medicina tradicional tem para ter acesso a tribos que muitas vezes se encontraram em estado de isolamento pode ser uma das prerrogativas para a falta de assistência à saúde dos indígenas (Hökerberg, Duchiate, & Barcellos, 2001). Infelizmente, a maior parte dos fitoterápicos que são utilizados atualmente por automedicação não tem o seu perfil tóxico bem conhecido, da mesma forma que a utilização inadequada de um produto, mesmo com baixa toxicidade, pode induzir problemas de saúde desde que existam outros fatores de risco, tais como problemas hepáticos, cardíacos e outros (Silveira et al., 2008).

Vários óleos fixos de plantas apresentam propriedades medicinais. Entre estes estão o óleo de copaíba que é extraído da parte interna do tronco da planta e apresenta propriedades medicinais como anti-inflamatória, anti-edema, antibacteriana e antifúngica e seus principais constituintes são diterpenos e ácidos diterpênicos (Machado et al., 2020). Outro óleo fixo bioativo é o óleo de *Moringa oleifera* Lam. uma planta tropical cultivada inicialmente na Índia e introduzido no Brasil há quase 70 anos, cujos grãos têm aproximadamente 40% de óleo fixo com alto percentual de ácido oleico, e o óleo possui excelente estabilidade oxidativa, devido a presença de δ -tocoferol, auxiliando na preservação durante o processamento e armazenamento, e também tem sido estudada sua ação antioxidante (Araújo et al, 2020). Uma planta bastante utilizada no Nordeste do Brasil é a *Ouratea fieldingiana*, de cujos frutos, pode ser extraído um óleo que é utilizado tanto na culinária, para fritar peixes e carnes, quanto no

combate a gripe, gastrites e dores reumáticas. Da semente pode ser extraído um óleo finíssimo que vem sendo aplicado como emoliente em tumores, cicatrizante, inclusive em queimaduras (Nascimento et al, 2018; Pinto, 2016).

A *Ouratea fieldingiana* é uma espécie arbórea pertencente à família Ochnaceae, conhecida popularmente como batiputá, habitando as áreas tropical e subtropical, constituída por representantes arbóreos, arbustivos e raramente herbáceos (Corrêa et al. 2007). O gênero *Ouratea* é o maior da família Ochnaceae, compreendendo aproximadamente 300 espécies tropicais que aparecem principalmente na América do Sul e na África Tropical. No Brasil ocorrem 120 espécies distribuídas na Amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica (Pinto, 2017). As espécies desse gênero são utilizadas popularmente como tônicas e adstringentes, anti-inflamatória, em doenças da pele e no tratamento de doenças gástricas. Estudos científicos em extratos e frações de plantas desse gênero demonstraram ação vasodilatadora, anti-hipertensiva e antitumoral (Pinto et al., 2016).

As plantas produzem uma grande ordem de componentes orgânicos divididos em primários e secundários. Os primários possuem função plástica, estrutural e de armazenamento de energia, e os secundários exercem a função de adaptação e evolução da planta. Embora os metabólitos secundários possuem diversas funções na planta, sua importância ecológica é também relacionada com o potencial efeito medicinal para os seres humanos (Vizzotto et al., 2010). Dentre os metabólitos secundários, pode-se citar os compostos fenólicos, que podem ser divididos em dois grupos: flavonóides e não-flavonóides. Os flavonóides são conhecidos como polifenólicos, e geralmente ocorrem nas plantas na forma de glicosídeos. Em pesquisas epidemiológicas, o resveratrol, um polifenol que pode ser encontrado principalmente nas sementes de uvas, são associados com a proteção contra as doenças de envelhecimento, devido a sua ação antioxidante (Markus & Morris, 2008).

A produção de radicais livres, que causam danos ao DNA e podem oxidar lipídeos e proteínas, é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena, ou serem proveniente da dieta alimentar e outras fontes. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células. A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química, que desempenham papel importante nessa desativação e o sequestro dos radicais livres (Sousa et al., 2007).

Pacientes com doença de Alzheimer (DA) apresentam baixos níveis de acetilcolina, devido à elevada atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE), sendo indicado para esses pacientes fazer o uso de inibidores de AChE (Jung & Park, 2007; Oh, Houghton, Whang, & Cho, 2004). Esta enfermidade atinge a memória e a capacidade de raciocínio devido a seus efeitos neurodegenerativos, afetando diretamente o sistema colinérgico. Esse sistema é responsável pela contração dos músculos lisos, dilatação dos vasos sanguíneos e regulação da taxa de batimentos cardíacos (Viegas Junior, Bolzani, Furlan, Fraga, & Barreiro, 2004).

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

Se tratando da DA e da importância e estudo para o desenvolvimento de fitoterápicos, temos a galantamina, que é um exemplo claro de tratamento terapêutico utilizando plantas medicinais. A galantamina é um alcaloide isolado de plantas da família Amaryllidaceae, utilizado no tratamento da DA (Viegas Junior et al., 2004).

O óleo das sementes de *Ouratea fieldingiana*, conhecida popularmente por Batiputá é um óleo adocicado e aromático utilizado em conservas e temperos (Suzart, Daniel, Carvalho, & Kaplan, 2007) obtido por decocção, e utilizado como tônico e adstringente, anti-inflamatório, em doenças da pele e no tratamento de doenças gástricas (Gupta, Kumari, Syal, & Singh, 2015; S. M. de Moraes et al., 2017). O óleo dos frutos de *O. fieldingiana* também é usado para dor de reumatismo, em fritura de alimentos e como combustível em lamparinas (Fonteles Filho, Santos, Santos, & Sousa, 2014). O extrato obtido com hexano

de sementes de *O. fieldingiana* apresenta atividades antibacteriana e antifúngica (Marcol, 1988), e seu constituinte o canferol-3-*O*-rutinosídeo revelou potente atividade antinociceptiva (Nascimento et al., 2018).

Devido ao largo uso do óleo de *O. fieldingiana*, com poucos estudos científicos, o objetivo deste trabalho é caracterizar seus constituintes químicos e avaliar sua atividade antioxidante e anticolinesterásica, que estão associados aos problemas inflamatórios para os quais a planta é utilizada e obter informações que confirmem o seu potencial medicinal.

2. Metodologia

2.1 Obtenção do óleo e da fração polar

O óleo foi comprado em uma comunidade do município de Trairi-CE, onde foi obtido por fervura das sementes durante 24 horas.

Para a obtenção da fração polar do óleo, 100 mL deste foi colocado em um funil de decantação junto com uma mistura contendo 50% hexano, 40% metanol e 10% água. Ao passar 24 horas em decantação, duas fases se formaram, a do hexano contendo a fração lipídica e a de metanol-água contendo os compostos polares. A fração polar foi separada e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo e a água restante foi retirada em banho-maria.

2.2 Processo de transmetilação

Para a análise dos ácidos graxos, 500 mg de lipídios são transmetilados com uma mistura de 5 mL de hexano e 5 mL de solução de KOH 0,1M em metanol em um tubo de ensaio em banho-maria a 50°C, durante 1h. Após este tempo 5 mL de hexano e HCl 5% (15 mL) são adicionados a solução e transferida esta mistura para um funil de separação, onde a fase hexânica contendo os ésteres metílicos, é separada e seca com Na₂SO₄ anidro (Morais; Vieira, 2018).

2.3 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

A análise química dos constituintes transmetilados foi realizada com um instrumento Shimadzu QP-2010 Ultra empregando as seguintes condições: coluna: Rtx-5MS (Crossbond 5%, difenil / 95% dimetilpolisiloxano) com 30m x 0,25 mm x 0,25 µm df; carriergas: He (24,9 mL/min, em modo de velocidade linear constante); a temperatura do injetor era 250°C, em modo split (1: 100), e a temperatura do detector era 250°C. A temperatura da coluna foi programada para 140°C por 10 min, depois 140–250°C a 7°C/min por 10min e a 250°C por 10 min; espectro de massa: impacto de elétrons 70 eV. A amostra foi injetada em volume de 1µL. Os compostos foram identificados por seus tempos de retenção relativos em GC a compostos conhecidos e por comparação de seus espectros de massa com aqueles presentes no banco de dados do computador (NIST) e publicados na literatura (Adams, 2017)

2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com o detector de matriz de diodos (DAD)

A fração polar do óleo (FPO) foi submetida à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) para identificação dos compostos fenólicos, para isso, uma solução metanólica da fração com concentração de 20 µL mL⁻¹ foi injetada no equipamento. Para tanto, Os padrões analíticos apigenina e amentoflavona foram adquiridos na Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Os solventes usados para a extração foram de grau analítico (Vetec®), nas análises os solventes utilizados foram de grau HPLC (J.T. BAKER®). A água foi purificada com um sistema Milli-Q (UV Direct3). Todas as amostras e soluções preparadas para análises por CLAE foram filtradas em membrana de náilon de 0,45 µm e filtro de membrana de 0,22 µm (Millipore), respectivamente, antes do uso. Todas as análises foram realizadas em triplicado.

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) foi realizada com um sistema Shimadzu Prominence Auto Sampler (SIL-20A) (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com bombas alternativas Shimadzu LC-20AD conectadas a um

degaseificador DGU 20A5 com um CBM 20A integrador, detector de matriz de diodos SPD-M20A e software LC Solution 1.22 SP1. As análises cromatográficas foram realizadas em uma coluna de fase reversa Shim-pack (CLC) ODS GOLD (4,6x250mm, 5µm). As fases móveis C e D foram acetonitrila e água Milli-Q acidificada a pH 2,8 com ácido fosfórico, correspondentemente, gradiente de solvente foi usado como a seguir: 0-15 min, uma eluição isocrática com C:D (20:80 v/v); 17-25 min, variação linear até C:D (40:60 v/v); 25-40 min, uma eluição isocrática com C:D (20:80 v/v). A vazão foi de 1,0 mL.min⁻¹, com volume de injeção de 20 µL e comprimento de onda de 350 nm. A solução estoque de referência padrão foi preparada em metanol HPLC em uma faixa de concentração de 0,00097–0,0631 mg.mL⁻¹ para apigenina e 0,0016–1,0 mg.mL⁻¹ para amentoflavona.

Os picos referentes aos constituintes presentes no cromatograma da CLAE foram confirmados comparando o seu tempo de retenção com o do padrão de referência e por espectros DAD (200 a 400 nm). Curva de calibração para apigenina: $y = 1 \times 10^{-8}x + 0,0001$ ($r=0,9998$) e amentoflavona: $y = 4 \times 10^{-7}x - 0,008$ ($r=0,9997$). As amostras foram analisadas em triplicado e medidas as áreas médias dos picos.

2.5 Quantificação de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais foi feita por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, partindo uma solução metanólica da FPO com 0,3 g/L. Em espectrofotômetro UV-Vis foi determinado após 2 horas a absorbância das amostras em 750 nm, utilizando uma curva de calibração de Ácido Gálico para controle positivo com 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4 µg/mL. (Sousa et al., 2007).

2.6 Quantificação de flavonóides

A determinação do teor de flavonóides totais foi feito por meio de espectroscopia na região visível utilizando o reagente cloreto de alumínio (AlCl₃) a 2,5%, partindo uma solução etanólica da FPO com 2,0 g/L. Em espectrofotômetro UV-Vis foi determinado após 30 minutos a absorbância das amostras em 425nm, utilizando uma curva de calibração de Quercetina para controle positivo com 4; 6; 8; 10; 12 µg/mL (Funari; Ferro, 2006).

2.7 Atividade antioxidante pelo método DPPH

A determinação para quantificar a atividade antioxidante foi feito por meio de espectroscopia na região visível em 515 nm utilizando uma solução metanólica do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) como redutor. Partindo de uma solução inicial de 10000 ppm contendo 15 mg da FPO solubilizado em metanol até uma solução de 5 ppm através de diluições em série, utilizando os valores de 25; 5; 2,5; 0,5; 0,25 ppm para a realização dos cálculos de varredura e concentração inibitória para 50% do radical livre (Brand-Williams et al., 1995).

2.8 Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS

A solução ABTS^{•+} (7 mM, 5 ml) foi misturada com 88 µl de persulfato de potássio (140 mM). A mistura foi agitada e mantida no escuro à temperatura ambiente durante 16 h. Em seguida, 1 ml desta solução foi adicionado a 99 ml de etanol. A absorbância é lida a 734 nm (0,715). Várias soluções de concentrações decrescentes de extratos de plantas foram preparadas e 3,0 ml de solução ABTS^{•+} foram adicionados a 30 µl dessas soluções após 6 min, as leituras foram feitas a 734 nm (Re et al., 1999). O CI₅₀ (concentração de inibição média) foi calculado por regressão linear.

2.9 Avaliação in vitro da inibição da acetilcolinesterase

O teste de inibição da enzima acetilcolinesterase foi baseado na metodologia descrita por ELLMAN et al. (1961) com modificações. O teste de inibição quantitativa da enzima acetilcolinesterase usou os seguintes reagentes por poço: 25 µL de

iodeto de acetilcolina (15 mM), 125 µL de 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] na solução Tris/HCL 0,1 M NaCL e 0,02 M MgCl₂. 6H₂O, 50 µL de solução Tris/HCL com 0,1% de albumina de soro bovino, 25 µL de OOF e FPO foram dissolvidos em metanol e os padrões de fisostigmina e galantamina (Curva de diluição de 2 mg mL⁻¹), separadamente. A atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase foi medida em placas de fundo plano de 96 poços usando um leitor ELISA BioTek, modelo ELX 800, software "Gen5 V2.04.11". Todas as amostras foram analisadas em triplicado. Para avaliar os falsos positivos, observamos todo o processo para verificar se houve ou não reação, além de deduzirmos a cor das amostras na avaliação do teste.

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização do óleo de Batiputá

O óleo de batiputá mostrou ter aproximadamente 67% de ácidos graxos insaturado e 33% de ácidos graxos saturados. Os principais ácidos graxos identificados por CG/EM (Tabela 1) no óleo de batiputá foram os ácidos palmítico (24,55%), linoleico (20,02%) e oleico (30,81%). O ácido elaídico, de configuração trans, é pouco comum em óleos vegetais e foi obtido provavelmente devido ao processo de extração artesanal do óleo por aquecimento prolongado dos frutos com água (Gotoh et al., 2018), já o ácido linoleico (Ômega 6) é muito importante para a saúde pois previne doenças cardíacas, reduz os fatores de risco mantendo o coração saudável e forte além de controlar a pressão sanguínea, colesterol total e o colesterol LDL (Farvid et al., 2014; Miura et al., 2008). Uma dieta rica em ácido oleico diminui os níveis de insulina e inibem marcadores que provocam a doença de Alzheimer (Amtul, Westaway, Cechetto, & Rozmahel, 2011). O ácido linoleico além de também apresentar um efeito satisfatório para o tratamento da doença de Alzheimer (Fernandez et al., 2016) e possui ação anti-inflamatória (Kolar et al., 2019).

Tabela 1. Ácidos graxos do óleo os frutos de *Ouratea fieldingiana* caracterizados por cromatografia de gás acoplada a espectrometria de massas.

Ácidos graxos saturados	IKlit	IKexp	Tempo de retenção	%
Mirístico (C14:0)	1719	1707	13,79	1,86
Palmitico (C16:0)	1927	1945	18,19	24,56
Estearico (C18:0)	2141	2132	21,62	6,78
18-metil-Nonadecanoico (C20:0)	2398	2335	25,36	0,21
Total de ácidos graxos saturados				33,41
Ácidos graxos insaturados	IKlit	IKexp	Tempo de retenção	%
Cis-9-Palmitoleico (C16:1)	1898	1912	17,58	1,52
Trans-9-Palmitoleico (C16:1)	1909	1932	17,95	0,58
Linoleico (C18:2)	2091	2096	20,97	20,43
Oleico (C18:1)	2080	2101	21,06	31,81
Elaídico (C18:1)	2103	2105	21,13	10,61
Ácido 11-octadecenoico (C18:1)	2110	2113	21,28	1,64
Total de ácidos graxos insaturados				66,59

Fonte: Autores.

3.2 Caracterização da fração polar do óleo

Na CLAE (Tabela 2 e Figura 1) foi caracterizada a apigenina, uma flavona presente em várias partes das plantas que possui propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e anticâncer (O'Prey, Brown, Fleming, & Harrison, 2003; Thierry-

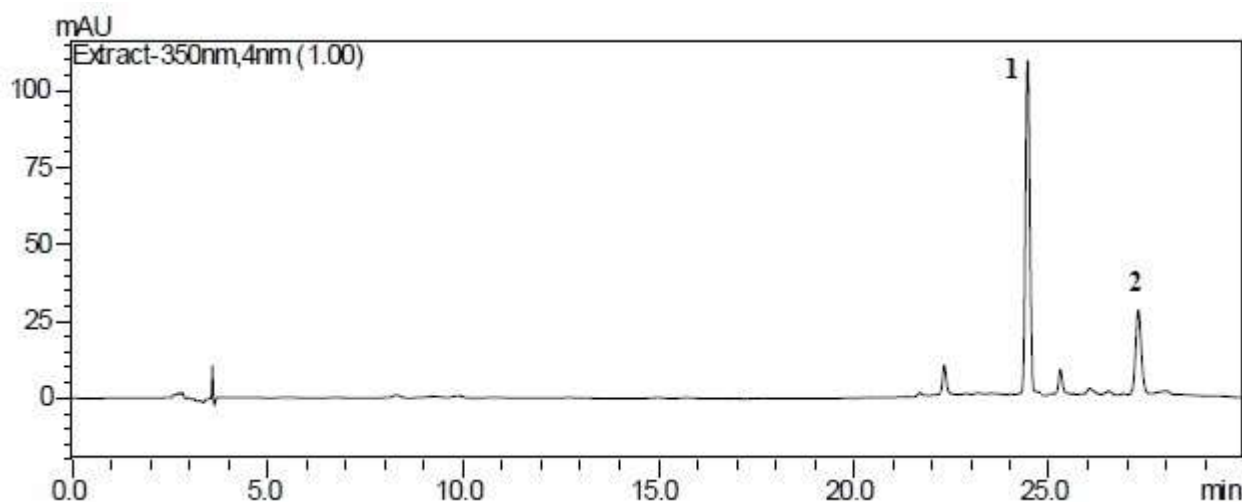
Vuillemin et al., 2005; Yang, Landau, Huang, & Newmark, 2001), apresenta efeitos neuroprotetores e anti-inflamatórios para doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (Dourado et al., 2020). A amentoflavona, dímero da apigenina, é um biflavonóide com diversas atividades, tais como antileishmanial, antioxidante, antitumoral, cicatrizante, está sendo um alvo em potencial para o SARS-Cov-2e e combate ao déficit de memória em testes *in vivo* (Cao et al., 2021; Chen et al., 2021; Kim & Lee, 2021; Miroshnychenko & Shestopalova, 2021; Rizk et al., 2021; Varughese, Joseph Libin, Sindhu, Rosily, & Abi, 2021).

Tabela 2. Determinação por cromatografia líquida de alta eficiência dos principais flavonoides presentes na fração polar do óleo de *O. fieldingiana*.

Compostos	mg/g da fração	Tr (min)
Apigenina	4,28 ± 0,12	24,45
Amentoflavona	56,53 ± 1,13	27,31

Tr – Tempo de retenção. Fonte: Autores.

Figura 1. Cromatograma obtido na CLAE com a fração polar do óleo de *O. fieldingiana*.



Fonte: Autores.

3.3 Avaliação dos testes de atividades antioxidante e anticolinesterásica *in vitro*

Tabela 3. Fenóis totais, flavonóides e atividade antioxidante da fração polar do óleo (FPO).

Amostras	Fenóis totais (mg EAG/g)*	Flavonóides (mg EQ/g)**	CI ₅₀ DPPH* (µg/mL)	CI ₅₀ ABTS** (µg/mL)
FPO	138,78 ± 0,16	10,18 ± 0,51	5,66 ± 0,138	4,42 ± 0,14
Quercetina	-	-	1,05 ± 0,55	0,95 ± 0,06
BHT	-	-	-	4,19 ± 0,25

* Fenóis totais equivalente em miligramas de ácido gálico por grama da fração do óleo

** Flavonóides equivalente em miligramas de quercetina por grama da fração do óleo

*** BHT: Hidroxitolueno butilado

Fonte: Autores.

Em estudo realizado com 42 plantas medicinais de Camarões os autores chegaram à conclusão que na avaliação da capacidades antioxidantes de extratos, aqueles que possuem $CI_{50} < 50 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ contém elevada atividade, os que possuem $50 < CI_{50} < 100 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ contém moderada atividade e os que possuem $CI_{50} > 100 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ contém baixa atividade antioxidante (Ngameni et al., 2013), com isso, podemos afirmar que nosso óleo possui ótima atividade antioxidante. A FPO apresenta valores muito significantes para inibir o radical DPPH* e ABTS*+ (Tabela 3). Tal consideração é importante pois os antioxidantes são substancias capazes de prevenir, retardar ou inibir os processos oxidativos e quando os antioxidantes produzidos pelo corpo são insuficientes para combater os radicais livres produzidos pelo organismo, este sofre ações degenerativas através do distúrbio conhecido como estresse oxidativo (Alves, David, David, Bahia, & Aguiar, 2010).

A FPO apresenta uma boa quantidade de fenóis totais e flavonoides (Tabela 3), sabemos que existe uma relação entre concentração de fenóis totais e a capacidade de sequestrar radicais livres, visto que materiais com maior conteúdo de fenóis totais são justamente os extratos com maior atividade antioxidante (Vieira, Castro, Dias, & Silva, 2015).

Em relação à ação anticolinesterásica (Tabela 4), os valores tanto do óleo quanto de sua fração polar se mostraram promissores para a inibição desta enzima. Quando comparada as duas, pode-se relacionar a atividade melhor da fração por ser constituídos da flavona apigenina e seu dímero a amentoflavona.

Tabela 4. Valores de CI_{50} para inibição da acetilcolinesterase do óleo de batiputá e da fração polar.

Compostos	$\mu\text{g}/\text{mL}$
Fisostigmina (padrão)	$1,15 \pm 0,05^a$
Galantamina (padrão)	$1,02 \pm 0,02^a$
OOF	$12,58 \pm 0,10^b$
FPO	$36,66 \pm 0,24^c$

OOF - Óleo de *Ouratea fieldingiana*, FPO - Fração polar do óleo de *Ouratea fieldingiana*; Letras minúsculas subscritas significam resultados significativamente diferentes ($p < 0.001$, ANOVA seguido pelo teste de Tukey). Fonte: Autores.

A literatura relata que flavonoides sintéticos e naturais têm alto efeito frente atividade de inibição da enzima AChE e baixo efeito de toxicidade. Entre os principais grupos se destacam as flavonas, chalconas, flavonóis e isoflavonas (Khan, Marya, Amin, Kamal, & Patel, 2018). A atividade inibitória da AChE dos flavonóides pode estar relacionada ao número e à posição dos grupos hidroxila e à insaturação do anel C (Balkis, Tran, Lee, & Ng, 2015).

4. Conclusões

A fração polar do óleo de *Ouratea fieldingiana* possui uma boa quantidade de compostos fenólicos, sendo caracterizados como apigenina e seu dímero, amentoflavona. A fração também apresenta uma ótima atividade antioxidante e uma boa atividade anti-acetilcolinesterase. A composição química do óleo seja de seus constituintes ácidos graxos insaturados como também os flavonoides e compostos fenólicos presentes, pode justificar várias ações relatadas para este óleo como a anti-inflamatória. Suas propriedades antioxidante e anticolinesterásica abrem possibilidades para novos estudos envolvendo a doença de Alzheimer.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (FUNCAP) que forneceu bolsa de estudos para o FL. Agradecemos também a Luiz Wilson Lima-Verde pela exsicata depositada no Herbário Prisco Bezerra.

Referências

- Adams, R. (2017). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*.
- Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., & Aguiar, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, 33(10), 2202–2210. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000033>
- Amtul, Z., Westaway, D., Cechetto, D. F., & Rozmahel, R. F. (2011). Oleic Acid Ameliorates Amyloidosis in Cellular and Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Brain Pathology*, 21(3), 321–329. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2010.00449.x>
- Anand, P., & Singh, B. (2013). A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of Pharmacal Research*, 36(4), 375–399. <https://doi.org/10.1007/s12272-013-0036-3>
- Araújo, B. L. O., Andrade, E. T. de, Nolasco, K. C. V., Castro, R. P., & Castro Neto, P. (2020). Efficiency of mechanical extraction of Moringa oleifera according to different grain drying conditions. *Research, Society and Development*, 9(7), e937975133. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.5133>
- Balkis, A., Tran, K., Lee, Y. Z., & Ng, K. (2015). Screening Flavonoids for Inhibition of Acetylcholinesterase Identified Baicalein as the Most Potent Inhibitor. *Journal of Agricultural Science*, 7(9). <https://doi.org/10.5539/jas.v7n9p26>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cao, B., Zeng, M., Zhang, Q., Zhang, B., Cao, Y., Wu, Y., & Zheng, X. (2021). Amentoflavone Ameliorates Memory Deficits and Abnormal Autophagy in A β 25–35-Induced Mice by mTOR Signaling. *Neurochemical Research*, 46(4), 921–934. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03223-8>
- Chen, W.-T., Chen, C.-H., Su, H.-T., Yueh, P.-F., Hsu, F., & Chiang, I.-T. (2021). Amentoflavone Induces Cell-cycle Arrest, Apoptosis, and Invasion Inhibition in Non-small Cell Lung Cancer Cells. *Anticancer Research*, 41(3), 1357–1364. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14893>
- Corrêa, P., Chagas, M., & Pimentel, R. (2007). Anatomia foliar de Ouratea fieldingiana (Gardner) Engl. (Ochnaceae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5, 813–815.
- Dourado, N. S., Souza, C. dos S., de Almeida, M. M. A., Bispo da Silva, A., dos Santos, B. L., Silva, V. D. A., & Costa, S. L. (2020). Neuroimmunomodulatory and Neuroprotective Effects of the Flavonoid Apigenin in in vitro Models of Neuroinflammation Associated With Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00119>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Farvid, M. S., Ding, M., Pan, A., Sun, Q., Chiuve, S. E., Steffen, L. M., & Hu, F. B. (2014). Dietary Linoleic Acid and Risk of Coronary Heart Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Circulation*, 130(18), 1568–1578. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010236>
- Fernandez, I. M., Mozombite, D. M. S., Santos, R. C., De Melo Filho, A. A., Ribeiro, P. R. E., Chagas, E. A., ... Maldonado, S. A. S. (2016). Oil in Inajá Pulp (Maximiliana maripa): Fatty Acid Profile and Anti-acetylcholinesterase Activity. *Orbital - The Electronic Journal of Chemistry*, 8(2). <https://doi.org/10.17807/orbital.v7i4.769>
- Firmo, W., Menezes, V., Passos, C., Dias, C., Alves, L., Dias, I., & Olea, R. (2011). Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Cadernos de Pesquisa*, 18.
- Fonelles Filho, J. M., Santos, M. P. dos, Santos, M. A. dos, & Sousa, F. E. de. (2014). Fauna e flora Tremembé Região da Mata. *Imprensa Universitária: Fortaleza*, 112.
- Funari, C. S., & Ferro, V. O. (2006). Análise de própolis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(1), 171–178. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000100028>
- Gotoh, N., Kagiono, S., Yoshinaga, K., Mizobe, H., Nagai, T., Yoshida, A., & Nagao, K. (2018). Study of Trans Fatty Acid Formation in Oil by Heating Using Model Compounds. *Journal of Oleo Science*, 67(3), 273–281. <https://doi.org/10.5650/jos.ess17209>
- Gupta, R., Kumari, A., Syal, P., & Singh, Y. (2015). Molecular and functional diversity of yeast and fungal lipases: Their role in biotechnology and cellular physiology. *Progress in Lipid Research*, 57, 40–54. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2014.12.001>
- Höckerberg, Y. H. M., Duchiate, M. P., & Barcellos, C. (2001). Organização e qualidade da assistência à saúde dos índios Kaingáng do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 17(2), 261–272. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000200002>
- Jung, M., & Park, M. (2007). Acetylcholinesterase Inhibition by Flavonoids from Agrimonia pilosa. *Molecules*, 12(9), 2130–2139. <https://doi.org/10.3390/12092130>
- Khan, H., Marya, Amin, S., Kamal, M. A., & Patel, S. (2018). Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 860–870. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.007>
- Kim, Y.-J., & Lee, J.-A. (2021). Anti-oxidant, Anti-inflammatory, and Wound Healing Activities of Selaginella tamariscina Leaf Extract. *Journal of*

Convergence for Information Technology, 11(4), 194–202. <https://doi.org/10.22156/CS4SMB.2021.11.04.194>

Kolar, M. J., Konduri, S., Chang, T., Wang, H., McNerlin, C., Ohlsson, L., & Saghatelian, A. (2019). Linoleic acid esters of hydroxy linoleic acids are anti-inflammatory lipids found in plants and mammals. *Journal of Biological Chemistry*, 294(27), 10698–10707. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006956>

Machado, R. C., Soares, A. K. V., Santos, I. C. dos, Bortolucci, W. de C., Luizar, L. F. E., Campos, C. F. de A. A., & Lovato, E. C. W. (2020). Chemical composition and antibacterial activity of commercial copaiba (*Copaifera* spp.) oils against bacterial pathogens isolated from postoperative mammoplasty surgery. *Research, Society and Development*, 9(10), e1869108593. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8593>

Maciel, M. A. M., Pinto, A. C., Veiga Jr., V. F., Grynberg, N. F., & Echevarria, A. (2002). Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, 25(3), 429–438. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016>

Marcol, P. Q. (1988). Antimicrobial active of the oil of the fruit of *Ouratea parviflora* Baill (Ochnaceae). *Chemical Abstracts*, 108(91748), 399.

Markus, M. A., & Morris, B. J. (2008). Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of aging. *Clinical Interventions in Aging*, 3(2), 331–339. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18686754>

Miroshnychenko, K. V., & Shestopalova, A. V. (2021). Combined use of the hepatitis C drugs and amentoflavone could interfere with binding of the spike glycoprotein of SARS-CoV-2 to ACE2: the results of a molecular simulation study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–15. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1914168>

Miura, K., Stamler, J., Nakagawa, H., Elliott, P., Ueshima, H., Chan, Q., & Zhao, L. (2008). Relationship of Dietary Linoleic Acid to Blood Pressure. *Hypertension*, 52(2), 408–414. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.112383>

Morais, S. M. de, Nascimento, J. E. T. do, Silva, A. A. de S., Junior, J. E. R. H., Pinheiro, D. C. S. N., & Oliveira, R. V. de. (2017). Fatty acid profile and anti-inflammatory activity of fixed plant oils. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45(1), 8. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.79403>

Morais, S., & Vieira, Í. (2018). *Introdução à prospecção de produto naturais*.

Nascimento, J. E. T. do. (2018). *Caracterização química e avaliação de atividades biológicas de extratos e constituintes de Ouratea fieldingiana (Gardner) Engl.*

Nascimento, J. E. T. do, Morais, S. M. de, Lisboa, D. S. de, Sousa, M. de O., Santos, S. A. A. R., Magalhães, F. E. A., & Campos, A. R. (2018). The orofacial antinociceptive effect of Kaempferol-3-O-rutinoside, isolated from the plant *Ouratea fieldingiana*, on adult zebrafish (*Danio rerio*). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 1030–1036. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.089>

Ngameni, B., Fotso, G. W., Kanga, J., Ambassa, P., Abdou, T., Fankam, A. G., & Kuete, V. (2013). Flavonoids and Related Compounds from the Medicinal Plants of Africa. In *Medicinal Plant Research in Africa* (pp. 301–350). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00009-6>

O'Prey, J., Brown, J., Fleming, J., & Harrison, P. R. (2003). Effects of dietary flavonoids on major signal transduction pathways in human epithelial cells. *Biochemical Pharmacology*, 66(11), 2075–2088. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.07.007>

Oh, M. H., Houghton, P. J., Whang, W. K., & Cho, J. H. (2004). Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. *Phytomedicine*, 11(6), 544–548. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.03.001>

Pinto, A. (2016). *Na nossa terra tem Murici e Batiputá: o conhecimento etnobotânico dos tremembé sobre as frutas nativas*. Retrieved from <https://repositorio.unilab.edu.br/jspui/handle/123456789/908>

Pinto, T. (2017). *Estudo do potencial farmacológico do óleo de batiputá (Ouratea fieldingiana (Gardner) Engl.) como insumo farmacêutico*. Retrieved from <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/28011>

Pinto, T., Magalhães, P., Fonseca, S., & Bandeira, M. (2016). Contribuição ao estudo fitoquímico dos frutos de batiputa (*Ouratea fieldingiana* (Gardner) Engl). *Revista Encontros Universitários Da UFC*, 1(1).

Re, R., Pellegrini, N., Progettente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Rizk, Y. S., Santos-Pereira, S., Gervazoni, L., Hardoim, D. de J., Cardoso, F. de O., de Souza, C. da S. F., & Calabrese, K. da S. (2021). Amentoflavone as an Ally in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis: Analysis of Its Antioxidant/Prooxidant Mechanisms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.615814>

Silveira, P. F. da, Bandeira, M. A. M., & Arrais, P. S. D. (2008). Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 618–626. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400021>

Sousa, C. M. de M., Silva, H. R. e, Vieira-Jr., G. M., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. da, Araújo, D. S., & Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30(2), 351–355. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>

Suzart, L. R., Daniel, J. F. de S., Carvalho, M. G. de, & Kaplan, M. A. C. (2007). Biodiversidade flavonoídica e aspectos farmacológicos em espécies dos gêneros *Ouratea* e *Luxemburgia* (Ochnaceae). *Química Nova*, 30(4), 984–987. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400038>

Thiery-Vuillemin, A., Nguyen, T., Pivot, X., Spano, J. P., Dufresne, A., & Soria, J. C. (2005). Molecularly targeted agents: Their promise as cancer chemopreventive interventions. *European Journal of Cancer*, 41(13), 2003–2015. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.06.005>

Varughese, J. K., Joseph Libin, K. L., Sindhu, K. S., Rosily, A. V., & Abi, T. G. (2021). Investigation of the inhibitory activity of some dietary bioactive flavonoids against SARS-CoV-2 using molecular dynamics simulations and MM-PBSA calculations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–16. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1891139>

Viegas Junior, C., Bolzani, V. da S., Furlan, M., Fraga, C. A. M., & Barreiro, E. J. (2004). Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do Mal de Alzheimer. *Química Nova*, 27(4), 655–660. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400021>

Vieira, L. M., Castro, C. F. S., Dias, A. L. B., & Silva, A. R. (2015). Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4), 521–527. https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_033

Vizzotto, M., Krolow, A., & Weber, G. (2010). Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância. *Embrapa Clima Temperado-Docmentos (INFOTECA-E)*.

Volpato, G., Damasceno, C., Calderon, I., & Rudge, M. (2002). Revisão de plantas Brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do diabetes mellitus. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 4, 35–45.

Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M.-T., & Newmark, H. L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition*, 21(1), 381–406. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.21.1.381>