



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA**

CARLA BEATRIZ SIMÕES RIBEIRO DOS SANTOS

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO INIBITÓRIA DOS LIPÍDEOS FENÓLICOS
DO LCC E DERIVADOS SINTÉTICOS SOBRE AS ENZIMAS
 α -AMILASE E ACETILCOLINESTERASE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO 2

BRASÍLIA – DF

2025



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

CARLA BEATRIZ SIMÕES RIBEIRO DOS SANTOS

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO INIBITÓRIA DOS LIPÍDEOS FENÓLICOS
DO LCC E DERIVADOS SINTÉTICOS SOBRE AS ENZIMAS
 α -AMILASE E ACETILCOLINESTERASE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Química da
Universidade de Brasília, como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel
em Química.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Maria Lucília dos
Santos

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO 2

BRASÍLIA – DF

2025

“A cada mentira que contamos, aumentamos nossa dívida com a verdade.”
—Inspirado em camarada Legasov, série Chernobyl.

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Maria Lucília dos Santos pela oportunidade e orientação deste trabalho, contribuindo, além de seus conhecimentos em Química, com sua enorme paciência, dedicação, tempo, compreensão, cafés da tarde e por todo amor envolvido em nosso trabalho. Sinto-me honrada pela sua participação em minha trajetória e por ser um dos seus “mininus” do laboratório;

Aos Professores Doutores Ângelo Henrique de Lira Machado, Alexandre Fonseca e Gabriel Silva Vignoli Muniz por gentilmente aceitarem o convite para participar desta banca, cedendo seu tempo e conhecimento em favor deste trabalho;

A Prof^ª. Dr^ª. Dâmaris Silveira e a Técnica Patrícia Marques Rodrigues (FS-UnB) pelo apoio e colaboração na realização dos testes biológicos, que foram fundamentais para a realização deste trabalho. A minha colega do LCQM, Lilian Coelho pela colaboração no cultivo de células.

Agradeço também ao Professor Doutor Jez Willian Batista Braga e ao Laboratório AQQUA por cordialmente fornecer o infravermelho para análise das amostras. Ademais, sou grata a Professora Doutora Aline Lima de Oliveira Paterno em direcionar seus conhecimentos a fim de contribuir com esta pesquisa.

Aos colegas e amigos do LITMO e do LABPRONAT pela colaboração, estudo e companhia no tempo dedicado a pesquisa.

A minha família, pela criação, educação, orientação e suporte em todo momento. Em especial sou grata principalmente as mulheres da minha família que muito caminharam para que eu pudesse voar e as quais me faltam palavras para expressar tamanha sorte e gratidão por tê-las em minha vida, qualidades e elogios para ilustrar o que digo existem de monte.

A Central analítica do Instituto de Química – CAIQ pelo fornecimento e realização dos espectros de RMN. A Faculdade de Medicina Veterinária (FMV-UnB) pelo fornecimento das células e orientações. Agradeço ao Instituto de Química (IQ-UnB) e a Faculdade de Saúde/ Faculdade de Medicina por fornecerem a estrutura necessária para o desenvolvimento da pesquisa.

RESUMO

O líquido da castanha de caju (LCC) é um óleo viscoso, cáustico e inflamável, encontrado no mesocarpo da castanha do caju (*Anacardium occidentale*), sendo uma das fontes mais ricas de lipídeos fenólicos não isoprenoides: ácidos anacárdicos, cardois, cardanois e metilcardois. O Brasil é categorizado como terceiro maior produtor mundial de castanha de caju, diante deste cenário o LCC apresenta-se como matéria abundante e de baixo valor econômico para o desenvolvimento de pesquisas. Os componentes do LCC e seus derivados são considerados agentes com grande potencial terapêutico, tais como: antimicrobiano; anticoagulante, anti-inflamatório, antitumoral, antiviral e anticonvulsivante. Em virtude das potencialidades químicas e biológicas 17 amostras obtidas no LITMO, incluindo LCC e seus derivados, foram selecionadas para avaliação quanto às possíveis atividades inibitórias sobre as enzimas α -amilase (α -Amy) e acetilcolinesterase (AChE). As amostras orgânicas foram purificadas (coluna cromatográfica e recristalização), avaliadas quanto à pureza (ponto de fusão, fator de retenção) e identificadas por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Na etapa da determinação da atividade de inibição enzimática realizada de acordo com métodos descritos por Bernfeld e López, todas as amostras testadas exibiram baixa ou nula ação inibitória frente a α -Amy, contudo apresentaram alta atividade de inibição para AChE. Este trabalho apresenta novas evidências do potencial das moléculas derivadas do LCC como inibidoras da acetilcolinesterase, despertando interesse futuro quanto à estudos adicionais *in vitro* e *in vivo* que correlacionem os efeitos dos derivados nos fatores etiopatológicos da Doença de Alzheimer, visando a descoberta de novas entidades químicas para tratamento da DA.

Palavras-chaves: Líquido da castanha de caju (LCC). Lipídeos fenólicos não isoprenoides. Amilase. Acetilcolinesterase. Doença de Alzheimer.

ABSTRACT

Cashew nut-shell liquid (CNSL) is a viscous, caustic and flammable oil, found in the mesocarp of the cashew nut (*Anacardium occidentale*), being one of the richest sources of non-isoprenoid phenolic lipids: anacardic acids, cardols, cardanols and methylcardols. Brazil is categorized as the third largest producer of cashew nuts in the world. Given this scenario, CNSL presents itself as an abundant material with low economic value for the development of research. The components of CNSL and its derivatives are considered agents with great therapeutic potential, such as: antimicrobial; anticoagulant, anti-inflammatory, antitumor, antiviral and anticonvulsant. Due to chemical and biological potential of the CNSL and its derivatives, 17 samples obtained at LITMO were selected for evaluation regarding possible inhibitory activities on the enzymes α -amylase (Amy) and acetylcholinesterase (AChE). The organic samples were purified (chromatographic column and recrystallization), evaluated for purity (melting point, retention factor) and identified by Nuclear Magnetic Resonance of ^1H and ^{13}C . In the stage of determining the enzyme inhibition activity carried out according to methods described by Bernfeld and López, all tested samples exhibited low or no inhibitory action against α -Amy, however they showed high inhibition activity for AChE. This work presents new evidence of the potential of CNSL-derived molecules as acetylcholinesterase inhibitors, arousing future interest in additional *in vitro* and *in vivo* studies that correlate the effects of derivatives on the ethiopathological factors of Alzheimer's Disease, aiming at the discovery of new chemical entities for the treatment of AD.

Keywords: Cashew nut-shell liquid (CNSL). Non-isoprenoid phenolic lipids. Amylase. Acetylcholinesterase. Alzheimer's disease.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	O cajueiro por André Thevet.	9
Figura 2 -	<i>Anacardium occidentale</i> – Cajueiro (Cajueiro Anão-Precoce).	10
Figura 3 -	Cajus maduros ainda vinculados ao Cajueiro.	10
Figura 4 -	O fruto do cajueiro (castanha), seu mesocarpo e sua amêndoa.	11
Figura 5 -	Fruto, casca da castanha de caju e castanhas de caju após corte transversal.	12
Figura 6 -	Estrutura química dos constituintes do LCC.	13
Figura 7 -	Processo de descarboxilação do ácido anacárdico.	14
Figura 8 -	Procedimento de separação dos lipídios fenólicos do LCC.	15
Figura 9 -	Polímeros, aditivos e surfactantes derivados do cardanol.	16
Figura 10 -	Aplicações do LCC.	17
Figura 11 -	Derivados do cardanol com atividade antitumoral.	19
Figura 12 -	Candidatos a inibidores da AChE derivados do cardanol e geometria otimizada de rivastigmina.	20
Figura 13 -	Compostos modulados a partir do ácido anacárdico e cardanol.	21
Figura 14 -	Rivastigmina (1) e análogos derivados do cardanol (2 e 3).	21
Figura 15 -	Estrutura química da acetilcolina.	22
Figura 16 -	Transmissão neuronal da acetilcolina e sua hidrólise por AChE.	23
Figura 17 -	Fármacos inibidores da acetilcolinesterase.	24
Figura 18 -	Hipoglicemiantes inibidores da α -glicosidase.	26
Figura 19 -	Fluxograma usado na separação e purificação dos lipídeos do LCC.	30
Figura 20 -	Amostras dos constituintes fenólicos do LCC in natura após realização do procedimento de separação.	31
Figura 21 -	Esquema sequencial de reações do ensaio enzimático da acetilcolinesterase pelo método de Ellman.	34
Figura 22 -	Mapeamento da placa e esquema da diluição seriada.	38

Figura 23 -	Placa utilizada no ensaio de inibição da AChE após realizada a leitura das amostras.	38
Figura 24 -	Reação de redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).	39
Figura 25 -	Estrutura molecular da Acarbose.	39
Figura 26 -	Imagens das células nas placas de 96 poços.	42
Figura 27 -	Redução enzimática do MTT para Formazan.	43
Figura 28 -	Perfil cromatográfico dos constituintes do LCC in natura.	45
Figura 29 -	Inibição da acetilcolinesterase por amostras selecionadas.	48
Figura 30 -	Amostras selecionadas da figura 29.	49
Figura 31 -	Inibição da acetilcolinesterase por amostras selecionadas a 200 µg/mL em comparação ao padrão fisostigmina a 20,0 µg/mL, ao padrão galantamina a 1 µg/mL e às misturas de solventes.	50
Figura 32 -	Amostras selecionadas da figura 31.	50
Figura 33 -	Moléculas das amostras que se apresentaram mais ativas.	51
Figura 34 -	Inibição da α -amilase por amostras selecionadas.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química do LCC.	14
Tabela 2 -	Compostos selecionados para ensaios biológicos e seus respectivos códigos de identificação e estrutura molecular.	31
Tabela 3 -	Representação da organização da placa.	36
Tabela 4 -	Representação da organização da placa.	37
Tabela 5 -	Resultados obtidos para a extração do LCC.	45
Tabela 6 -	Dados Físico-Químicos das 17 amostras selecionadas.	46
Tabela 7 -	Compostos com capacidade de inibição da acetilcolinesterase.	51
Tabela 8 -	Amostras e sua viabilidade celular média.	53

LISTA DE ABREVIATURAS

α -AMY	α -Amilase
Ác	Ácido
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesteterase
AChEI	Inibidores da acetilcolinesterase
AcOEt	Acetato de etila
Anac	Anacárdico
Anti-DA	Anti-doença de Alzheimer
CCD	Cromatografia em camada delgada
IC ₅₀	Concentração de inibição de 50% da atividade da enzima ou célula
CNSL	Cashew Nut Shell Liquid
DA	Doença de Alzheimer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTNB	Ácido 5,5-ditiobis-2-benzoico
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
IV	Infravermelho
Ins	Insaturado
LabPronat	Laboratório de produtos naturais
LCC	Líquido da Casca da Castanha de Caju
LITMO	Laboratório de isolamento e transformação de moléculas orgânicas
p.f	Ponto de fusão
R.f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Sat	Saturado
t.a	Temperatura ambiente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	O CAJUEIRO: IMPORTÂNCIA DO CAJU, DA CASTANHA E DO LCC	9
1.2	LCC E SEUS DERIVADOS: ASPECTOS QUÍMICOS	12
1.3	APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS E INDUSTRIAIS	15
1.4	ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO LCC E SEUS DERIVADOS	18
1.5	BREVE CONTEXTO SOBRE A DOENÇA DE ALZHEIMER	21
1.5.1	Acetilcolinesterase (AChE) e inibidores da enzima	23
1.6	BREVE CONTEXTO SOBRE A DIABETES	25
1.6.1	α -Amilase (α -Amy) e seus inibidores	26
1.7	VIABILIDADE CELULAR ATIVIDADE CITOTÓXICA EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA HUMANO DO TIPO SH-SY5Y	27
2	OBJETIVOS	29
2.1	OBJETIVO GERAL	29
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	30
3.1	OBTENÇÃO DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DE – LCC	30
3.2	SELEÇÃO DE MOLÉCULAS ALVO PARA REALIZAÇÃO DE ENSAIOS BIOLÓGICOS	31
3.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESPECTROMÉTRICA DAS AMOSTRAS SELECIONADAS	32
3.4	ENSAIOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA	33
3.4.1	Avaliação da atividade de inibição da acetilcolinesterase	34
3.4.2	Avaliação da atividade de inibição da α -amilase	35
3.5	CULTURA CELULAR E TESTE DE CITOTOXICIDADE COM MTT	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
4.1	OBTENÇÃO DO LCC	45
4.2	DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DAS 17 AMOSTRAS SELECIONADAS	45

4.3	DETERMINAÇÃO DA INIBIÇÃO ENZIMÁTICA FRENTE A ACETILCOLINESTERASE	48
4.3.1	IC₅₀ para as 17 amostras selecionadas frente a AChE	50
4.3.2	Inibição enzimática das amostras frente a α-amilase	52
4.4	CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA SH-SY5Y	52
5	CONCLUSÃO	54
	REFERÊNCIAS	55
	APÊNDICES	68

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H do 2- Nitrocardol /2B.....	69
Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C do 2- Nitrocardol /2B.....	70
Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H do Álcool metil éter anacárdico saturado /4D	71
Anexo 4. Espectro de RMN de ^{13}C do Álcool metil éter anacárdico saturado /4D.....	72
Anexo 5. Espectro de RMN de ^1H do Propil-oxima do cardanol /5E	73
Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C do Propil-oxima do cardanol /5E	74
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H do Etil-oxima do cardanol /6F	75
Anexo 8. Espectro de RMN de ^{13}C do Etil-oxima do cardanol /6F	76
Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H do 6- Nitrocardol /7G.....	77
Anexo 10. Espectro de RMN de ^{13}C do 6- Nitrocardol /7G.....	78
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H da Benzoxazina do ácido anacárdico /8H.....	79
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C da Benzoxazina do ácido anacárdico /8H	80
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H da Bromoanilida do ácido anacárdico /9I	81
Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C da Bromoanilida do ácido anacárdico /9I	82
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H da 4- Hidroxicumarina /10J.....	83
Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C da 4- Hidroxicumarina /10J	84
Anexo 17. Espectro de RMN de ^1H do Benzoato de cardanoila /12L	85
Anexo 18. Espectro de RMN de ^{13}C do Benzoato de cardanoila /12L	86
Anexo 19. Espectro 2D de RMN do Benzoato de cardanoila /12L	87
Anexo 20. Espectro 2D de RMN do Benzoato de cardanoila /12L	88
Anexo 21. Espectro 2D de RMN do Benzoato de cardanoila /12L	89
Anexo 22. Espectro de RMN de ^1H do Ácido anacárdico saturado /13M.....	90
Anexo 23. Espectro de RMN de ^{13}C do Ácido anacárdico saturado /13M	91
Anexo 24. Espectro de RMN de ^1H do Dimetil cardol saturado /14N	92
Anexo 25. Espectro de RMN de ^{13}C do Dimetil cardol saturado /14N.....	93
Anexo 26. Espectro de RMN de ^1H do Cardanol saturado /15O.....	94
Anexo 27. Espectro de RMN de ^{13}C do Cardanol saturado /15O	95
Anexo 28. Espectro de RMN de ^1H do Álcool do ácido anacárdico saturado /16P.....	96
Anexo 29. Espectro de RMN de ^{13}C do Álcool do ácido anacárdico saturado /16P	97
Anexo 30. Espectro de RMN de ^1H do Dimetil éster do ácido anacárdico insaturado /17Q..	98
Anexo 31. Espectro ampliado de RMN de ^1H do Dimetil éster do ácido anacárdico insaturado /17Q	99
Anexo 32. Espectro de RMN de ^{13}C do Dimetil éster do ácido anacárdico insaturado /17Q	100
Anexo 33. Espectro de RMN de ^1H do Dimetil cardol insaturado /18R	101
Anexo 34. Espectro de RMN de ^{13}C do Dimetil cardol insaturado /18R	102
Anexo 35. Espectro de RMN de ^1H do Cardanol insaturado /20T	103
Anexo 36. Espectro de RMN de ^{13}C do Cardanol insaturado /20T	104
Anexo 37. Espectro de RMN de ^1H do Cardanol saturado metilado /21U	105
Anexo 38. Espectro de RMN de ^{13}C do Cardanol saturado metilado /21U	106

1. INTRODUÇÃO

1.1 O CAJUEIRO: IMPORTÂNCIA DO CAJU, DA CASTANHA E DO LCC

Com alta adaptabilidade e diversidade, compreendendo mais de 20 espécies, o popularmente conhecido cajueiro, *Anacardium occidentale*, pertence à família *Anacardiaceae* e ao gênero *Anacardium*, encontra-se nas regiões costeiras do nordeste brasileira e fundamenta-se, através da origem filogenética, que a espécie é nativa da América Latina. A espécie teve seu cultivo expandido pelas Índias orientais (atualmente corresponde ao sudeste asiático e à Índia) por colonizadores portugueses, mas é apontado como nativo do solo brasileiro por diversos autores. Uma forte evidência encontra-se no livro *Singularidades da França Antártica - Les singularitez de la France Antartique* – do monge naturalista francês André Thevet, no qual descreve o cajueiro (**Figura 1**) e o referencia como “Acaiou”, quando da sua passagem pela costa nordestina brasileira em 1557 (Thevet, 1978).

Figura 1. O cajueiro por André Thevet.



Fonte: Extraída do livro “*Singularidades da França Antártica*” (Thevet 1557).

Dentre todas as espécies, apenas a *Anacardium occidentale* Linn é cultivada comercialmente e compreende os tipos comum e anão-precoce (**Figura 2**). Além dessa, existe uma espécie nativa do Cerrado (*Anacardium humile*), popularmente conhecida como cajuzinho-do-cerrado (Silva, 1998).

Figura 2. *Anacardium humile* – Cajuzinho-do-cerrado (Cajueiro Anão-Precoce).



Fonte: <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/210746/integracao-de-atividades-da-pequena-e-media-exploracao-do-cajueiro-no-nordeste-do-brasil>.

O pedúnculo, chamado de caju (**Figura 3**), bastante desenvolvido e valorizado por sua suculência, é comumente confundido com o fruto, embora, na realidade, seja um pseudofruto conhecido cientificamente como pedúnculo floral, apresentando coloração que varia entre amarelo e vermelho.

Figura 3. Caju maduros ainda vinculados ao Cajueiro.



Fonte: <https://oajuricaba.com.br/seguem-os-trabalhos-de-melhoramento-genetico-dos-cajueiros-do-brasil-o-cajueiro-anao-tem-ajudado-agricultores-nordestinos/>

Segundo dados de 2020, o Brasil é o sexto maior produtor de castanha, com a Costa do Marfim em primeiro lugar e a Índia em segundo (Brainer, 2022). Contudo, o cultivo ocorre em várias regiões equatoriais e sub-equatoriais do mundo (Silva, 1998). No território brasileiro diferentes espécies de cajueiros estão localizados nos diversos domínios fitogeográficos, como Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga (De Castro; Vasconcelos, 2021).

O fruto do cajueiro, que é a castanha de caju, apresenta aparência rinoide, comprimento de 3 a 5 cm e largura entre 2 e 3,5 cm, com peso que varia entre 3 e 20 g, sendo

composta por duas partes distintas (**Figura 4**): i) casca coriácea, onde se encontra um mesocarpo espesso, duro e alveolar contendo um líquido escuro, cáustico e inflamável chamado líquido da casca da castanha de caju (LCC), em inglês *cashew nut shell liquid* (CNSL), e ii) amêndoa, parte comestível do fruto, revestida por uma película de cor rosa/vermelha que a separa da casca.

Figura 4. O fruto do cajueiro (castanha), seu mesocarpo e sua amêndoa.



Fonte: LITMO (2024).

O interesse no cultivo do cajueiro tinha por objetivo inicial o processamento do pedúnculo para industrialização do suco, rico em açúcares, sais minerais, proteínas, ferro, vitamina C, além da niacina, uma das vitaminas do complexo B, sendo utilizado na fabricação de sucos, vinhos, licores, doces e compotas, já a amêndoa é rica em proteínas e componentes graxos e após seu processamento, ela pode ser consumida como castanha torrada, farinha, no preparo de doces e pratos quentes.

Posteriormente, o líquido da casca da castanha de caju (LCC), um óleo escuro e viscoso, passou a ser utilizado na fabricação de inseticidas, germicidas, anti-oxidantes, isolantes térmicos, material de atrito, plastificantes, tensoativos, tintas, vernizes (Ramaiah, 1976). O emprego do LCC como aditivo para combustíveis e lubrificantes e como matéria-prima de surfactantes, antioxidantes anfífilicos e nanomateriais foi investigado, tendo sua eficácia comprovada (Amorati *et al.*, 2011; Praveesh *et al.*, 2010; Bruce *et al.*, 2009; Balachandran *et al.*, 2012).

A importância industrial do LCC é refletida em centenas de patentes internacionais e trabalhos publicados na área. Mazzetto e colaboradores (2009) em seu artigo na revista Química Nova, evidenciam e reconhecem o quanto o LCC é uma matéria-prima muito promissora para o desenvolvimento de produtos sintéticos úteis à química fina e para uma variedade de novos materiais.

Amplamente distribuídos na família *Anacardiaceae*, com destaque para a espécie

Anacardium occidentale, os lipídeos fenólicos não isoprenoides do LCC são em grande parte responsáveis por as potencialidades químicas e biológicas do cajueiro. No entanto, na cadeia produtiva do caju no Brasil, o LCC ainda é considerado como um rejeito industrial devido aos baixos preços comerciais de exportação.

A biodiversidade e a potencialidade dos recursos naturais como fonte de substâncias úteis são fatores que fazem com que o interesse na bioprospecção seja cada vez maior. Dessa forma, no âmbito de linha de pesquisa que visa aproveitamento de matérias-primas abundantes no país, o LCC apresenta grande potencial para ser investigado considerando a abundância, composição química e potencial biológico

1.2 LCC E SEUS CONSTITUINTES: ASPECTOS QUÍMICOS

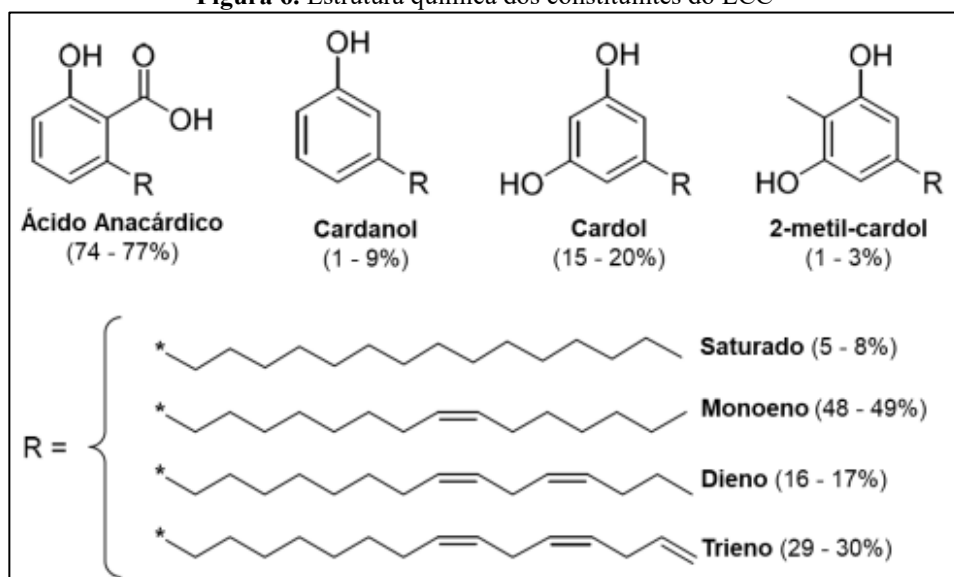
Das estruturas alveolares da casca do caju é extraído o óleo da casca da castanha ou líquido da castanha de caju (LCC) rico em lipídeos fenólicos não isoprenoides (Tyman, 1991), correspondendo a 25% da massa da castanha in natura. Os alvéolos do mesocarpo esponjoso são descritos como pequenos orifícios circulares ou ramificações de estrutura rígida, localizado entre a parte externa do fruto e a parte interna que contém a amêndoa (**Figura 5**).

Figura 5. Castanha de caju in natura e após corte transversal evidenciando mesocarpo e amêndoa.



Fonte: LITMO (2023).

O LCC é constituído por lipídeos fenólicos não isoprenoides: ácido anacárdico, cardanol, cardol, e 2-metil-cardol, que na forma totalmente saturada correspondem ao ácido 3-*n*-pentadecilsalicílico, 3-*n*-pentadecilfenol, 5-*n*-pentadecilresorcinol e 2-metil-5-*n*-pentadecilresorcinol, respectivamente. A fração insaturada é uma mistura com uma, duas ou três insaturações não conjugadas, de configuração *Z*, que se localizam nos carbonos 8', 11' e 14' (**Figura 6**) (Caillol, 2018; Salehi *et al.*, 2019).

Figura 6. Estrutura química dos constituintes do LCC

Fonte: Adaptado de Caillol (2018).

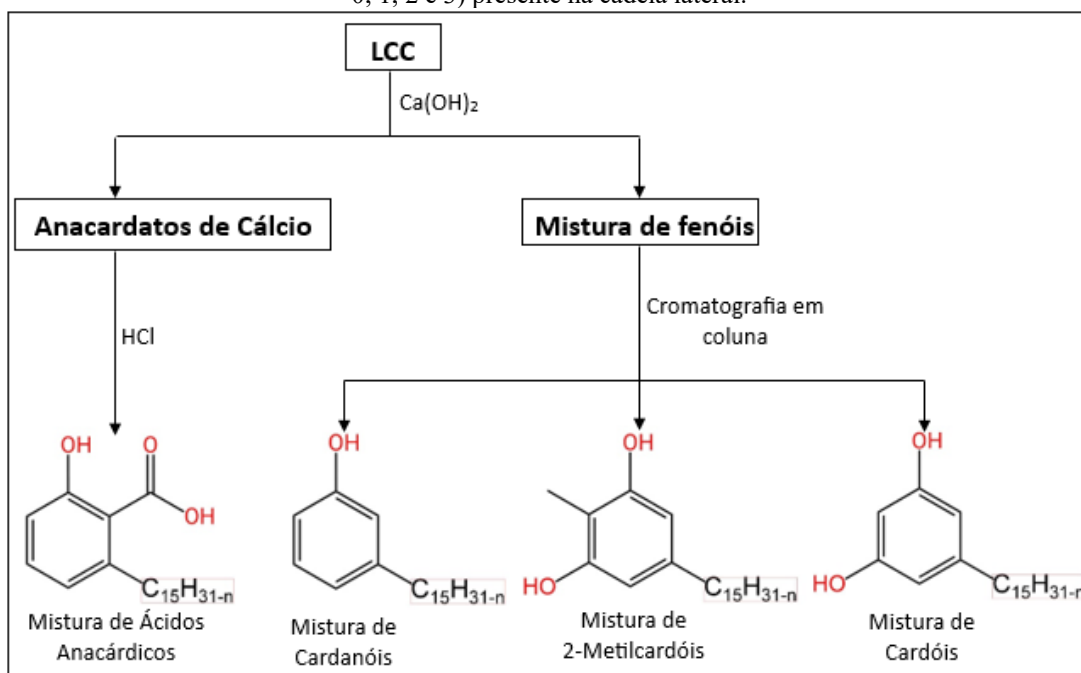
Os constituintes do LCC possuem grupos polares e apolares em sua estrutura, conferindo aos compostos fenólicos propriedades tanto hidrofílicas quanto hidrofóbicas. Esse comportamento anfipático permite que esses compostos atravessem membranas plasmáticas, potencializando suas funções biológicas (Correia *et al.*, 2006). A cadeia alquílica não-isoprenoide é responsável por suas características anfifílicas e lipídicas, enquanto o anel aromático facilita interações com outras moléculas aromáticas e permite funcionalizações (Balachandran *et al.*, 2013).

A natureza dualística dos lipídeos (caráter aromático e acíclico) do LCC, aliado à existência de grupos funcionais no anel aromático e múltiplas insaturações na cadeia alifática, o torna reconhecido como uma matéria prima promissora para o desenvolvimento de produtos sintéticos úteis à química fina e de ampla variedade de novos materiais.

Dependendo do método empregado para sua extração, verifica-se uma proporção distinta entre seus componentes fenólicos (**Tabela 1**). No processo industrial onde emprega-se temperaturas elevadas, faz com que o líquido presente dentro do mesocarpo entre em ebulição e, conseqüentemente, provoque uma explosão da casca liberando sua amêndoa, obtendo-se o LCC técnico como subproduto (processo térmico-mecânico). Já o LCC *in natura* é geralmente obtido por expressão a frio (prensas) ou extração com solventes orgânicos a baixas temperaturas. O LCC natural é rico em ácido anacárdico e não possui material polimérico em sua composição. Entretanto, o LCC técnico possui um elevado percentual de cardanol e material polimérico.

cromatográfica convencional (**Figura 8**).

Figura 8. Procedimento de separação dos lipídios fenólicos do LCC, n representa o número de insaturações (n = 0, 1, 2 e 3) presente na cadeia lateral.



Fonte: A autora (2024), baseado em Kiong, Tyman (1981).

1.3 APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS E INDUSTRIAIS

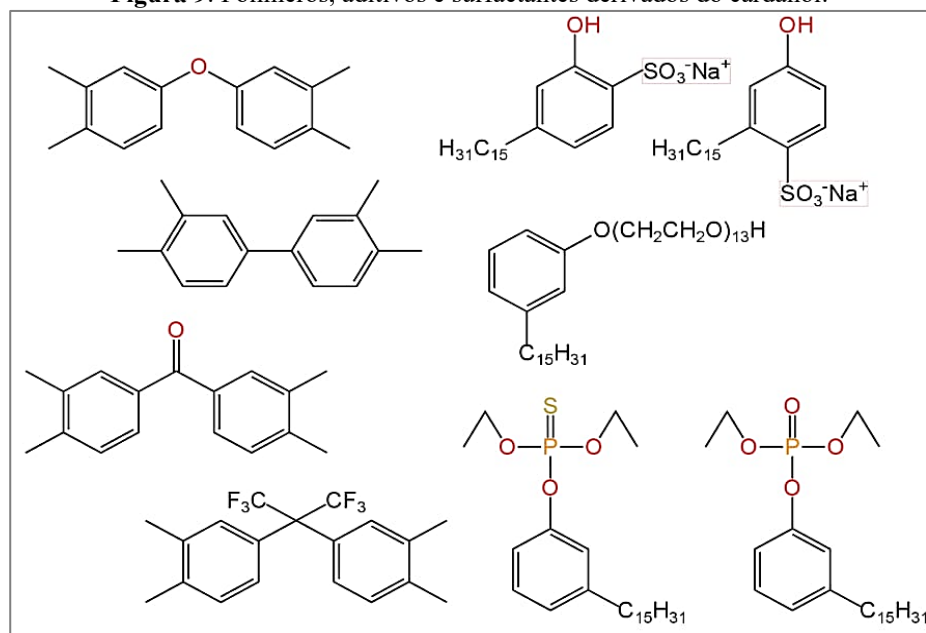
A busca por matérias-primas renováveis e biodegradáveis tem se destacado na indústria moderna por promover o desenvolvimento sustentável e a autonomia tecnológica. Aplicada ao líquido da casca da castanha de caju (LCC), tal vertente permite a geração de produtos de alto valor agregado e amplia o campo de aplicação de seus produtos como demonstrado na **figura 10** (Ramaiah, 1976).

No Laboratório de Produtos e Tecnologia em Processos da Universidade Federal do Ceará, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Selma E. Mazzetto, pesquisas levaram a síntese de compostos fosforados do cardanol para uso como aditivos de lubrificantes e combustíveis, melhorando seu desempenho e lubrificação. Já os polímeros de LCC apresentam maior resistência química, térmica e antimicrobiana, devido à cadeia alifática de 15 carbonos (Sadavarte *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2002; Paramashivappa *et al.*, 2001).

O cardanol tem sido usado na produção de surfactantes, antioxidantes e nanomateriais (Foley *et al.*, 2012; Scorzza *et al.*, 2010; Bruce *et al.*, 2009; Tyman; Bruce, 2003; Kubo; Muroi, 1993; Parasa *et al.*, 2011; Amorati *et al.*, 2011; Praveesh *et al.*, 2010; Balachandran *et al.*, 2012; Façanha *et al.*, 2007), além de substituir derivados fósseis em epóxis, acrilatos e plastificantes (Caillol, 2018). Alguns exemplares dos compostos citados

anteriormente estão ilustrados na **figura 9**.

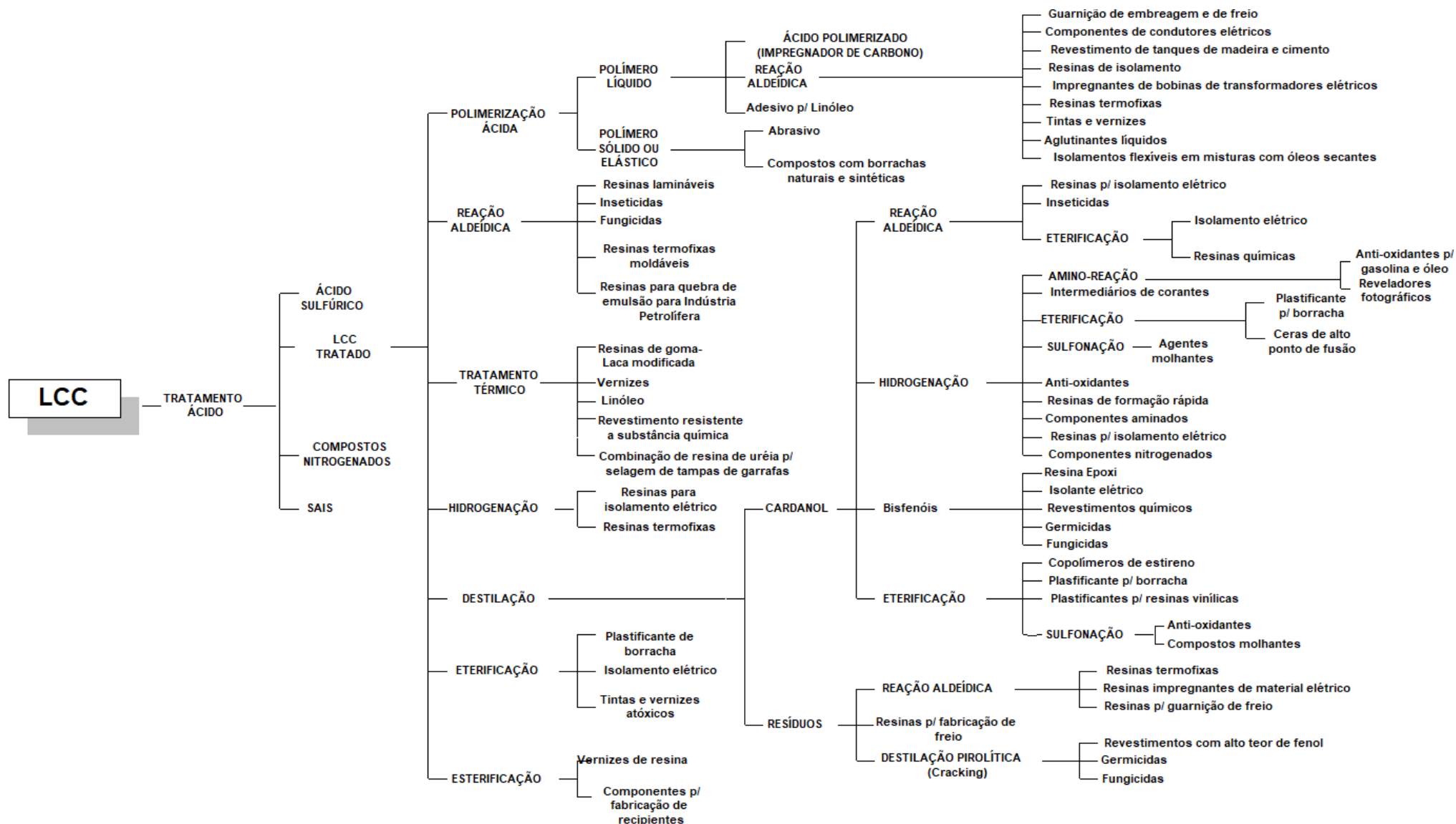
Figura 9. Polímeros, aditivos e surfactantes derivados do cardanol.



Fonte: A autora, baseado em Mazzetto *et al.* (2009).

Derivados do LCC são amplamente aplicados em sínteses de compostos multifuncionais, como: lactonas, benzoxazolonas, sais de amônio quaternário, dentre outros compostos (Rios, 2008; Amorati *et al.*, 2002; Saladino *et al.*, 2000; Attanasi *et al.*, 2006; Mazzetto, 2002; Attanasi *et al.*, 2004; Mele *et al.*, 2004; Del Sole *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2006; Attanasi *et al.*, 2009; Mele; Vasapollo, 2008; Avellar; Godoy; Magalhães, 2000; Santos; Magalhães, 1999).

Figura 10. Aplicações do LCC
 Fonte: Adaptado de Ramaiah (1976)



1.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO LCC E SEUS DERIVADOS

Em virtude da sua alta versatilidade, o LCC e seus derivados fenólicos propiciam os mais variados estudos, objetivando o seu emprego biofarmacológico, como anti-inflamatórios, antimicrobianos, antioxidantes, antitumorais, fungicidas (Araújo *et al.*, 2005; Adetogun; Adegeye, 2003; Fenner *et al.*, 2006), antibactericidas (Amorati *et al.*, 2013), antiacetilcolinesterase, moluscicidas, larvicidas e inseticidas, demonstrando seu potencial terapêutico (Balgude; Sabnis, 2014; Kubo *et al.*, 1993; Oliveira *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2011).

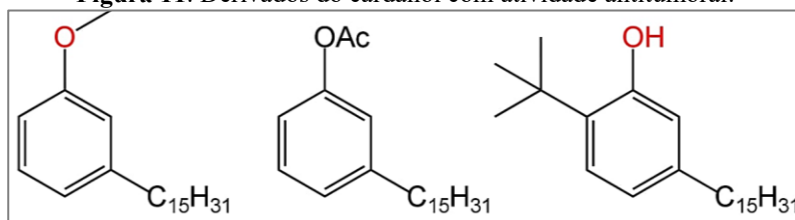
A partir do ácido anacárdico, foram sintetizadas novas séries de derivados sulfonamidas, ureias e tioureias com o objetivo de controlar bactérias como *M. smegmatis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. pyogenes* (Reddy, 2012; Reddy, 2011; Swamy, 2007).

Na linha de combate as larvas do *Aedes aegypti* destacam-se os trabalhos de Farias (2009), Schibichewski (2021), Lomonaco (2009), Jorge (2018) e seus respectivos colaboradores, que utilizando o LCC in natura, LCC técnico, seus componentes isolados e derivados, conseguiram uma taxa de mortalidade larval de até 100% em alguns casos.

Na década de 90, investigações voltadas ao uso de plantas medicinais em atividades antibacterianas evidenciaram a eficiência do ácido anacárdico contra bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (Muroi; Kubo, 1993), e em anos posteriores, estudos com extratos etanólicos das folhas do cajueiro também foram eficazes no controle de bactérias gram-negativa *Escherichia coli* (Kudi *et al.*, 1999).

Morais e colaboradores (2010), ao induzir danos gástricos em espécies de ratos, encontraram uma potencial forma de proteção gastrointestinal ao verificar que os indivíduos previamente tratados com o ácido anacárdico apresentaram áreas lesionadas significativamente menores. Outras linhas de pesquisa visam a utilização do material como ponto de partida para agentes de inibição do ciclo celular (células cancerígenas) (Sukumari-Ramesh *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2011; Kubo *et al.*, 2011), controle de pragas na agricultura (Schultz *et al.*, 2006), agente bactericida (Kubo; Muroi, 1993; Parasa *et al.*, 2011) e inibição das enzimas metaloproteinases (Omanakuttan *et al.*, 2012), lipoxigenases (Wisastra *et al.*, 2012; Ha; Kubo, 2005) e aurora linase a (Kishore *et al.*, 2008).

Derivados sintéticos do cardanol foram analisados quanto ao seu potencial antitumoral em linhagens de células de fibroblastos de ratos (Saladino *et al.*, 2000). O cardanol metilado, o cardanol acetilado e o 2-*terc*-butilcardanol (**Figura 11**) demonstraram atividades superiores.

Figura 11. Derivados do cardanol com atividade antitumoral.

Fonte: A autora (2025), baseado em Saladino *et al.* (2000).

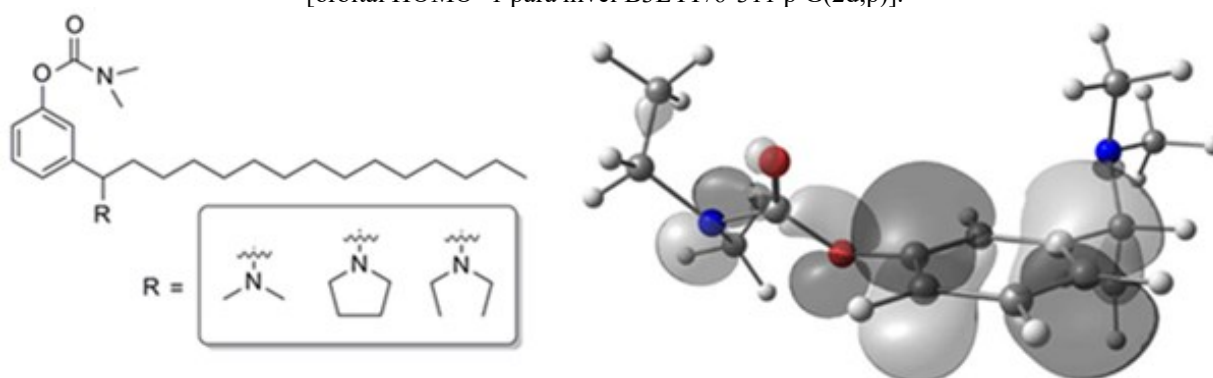
Uma área ainda pouco explorada, mas de grande relevância, é a investigação da citotoxicidade dos componentes do LCC. Nesta perspectiva, destaca-se o trabalho de Carvalho e colaboradores (2011) que, investigando o emprego *in vivo* do ácido anacárdico, demonstrou não haver letalidade ou toxicidade para concentrações até 2 g/kg peso corporal. Os estudos de Suresh e Kaleysa Raj (1990) demonstraram uma tolerância de 5g/kg em ratos para o cardol, componente responsável pela toxicidade do LCC (Suresh; Kaleysa, 1990). A principal característica do cardanol puro é sua não-toxicidade. De acordo com testes realizados pela Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), uma das mais reconhecidas referências internacionais para ensaios de produtos e métodos químicos, o cardanol apresentou os seguintes resultados em relação à ecotoxicidade: biodegradabilidade de 96% em 28 dias (OECD-302C); solubilidade em água de 1,0 g/L; ecotoxicidade em 96 horas para peixes < 11 g/L, dáfias < 66 g/L e algas < 1 g/L (OECD-425); e genotoxicidade negativa em testes com *Ames salmonella*.

Visando o emprego do LCC, diversos estudos do LITMO possibilitaram o aperfeiçoamento dos métodos de extração do LCC e de isolamento/purificação dos seus constituintes lipídicos, bem como conduziram ao desenvolvimento de metodologias para síntese de diversos intermediários e novos heterociclos de 5 e 6 membros com potencial bioativo: benzoxazina-2,4-dionas e isobenzofuranonas com potencial antimicrobiano; derivados 4-hidroxycumarínicos candidatos a anticoagulantes, anti-inflamatórios, antimitóticos, antitumorais e antivirais; indolinonas, isoindolinonas e benzoxazois com possíveis atividade antimicrobiana, antifúngica, analgésica, inseticida, antiviral, anticonvulsivante e antitumoral; ácidos ω -fenil- ω -quinonilalcanoicos e trifluorometano 1,3-dioxanos candidatos a antagonistas de receptores $\text{TXA}_2/\text{PGH}_2$ e inibidores da acetilcolinesterase (AChE); indolinonas e isoindolinonas.

Em meados dos anos 2000, em colaboração com o Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro da Farmácia/UnB, foram desenvolvidos no LITMO projetos visando à utilização dos lípidos fenólicos do LCC na síntese de novos derivados planejados para atuar na inibição da

enzima acetilcolinesterase (AChE), candidatos úteis no tratamento da doença de Alzheimer (DA), Além do planejamento racional e dos experimentos sintéticos, a parceria com professores Dr. João Batista - IQ/UnB e Dr. Ricardo Gargano - IF/UnB, possibilitou vários cálculos computacionais com inibidores clássicos e os candidatos AChEI planejados (De Paula *et al.*, 2007; Nascimento *et al.*, 2008). Os estudos teóricos usando os níveis de cálculos HTR e B3LYP e B3LYP (propriedades eletrônicas, distribuições de cargas) indicaram que para a série dimetilcarbamato do cardanol com substituintes *N,N*-dimetilformamida, pirrolidina e *N,N*-dimetilamina exibem melhor correlação com o fármaco rivastigmina (Figura 12). As previsões do estudo foram avaliadas experimentalmente, confirmando tais derivados como potenciais candidatos a inibidores da AChE, bem como que o procedimento PCA selecionou corretamente os compostos mais potentes da série (De Paula *et al.*, 2009).

Figura 12. Candidatos a inibidores da AChE derivados do cardanol e geometria otimizada de rivastigmina [orbital HOMO -1 para nível B3LYP/6-311 þ G(2d,p)].

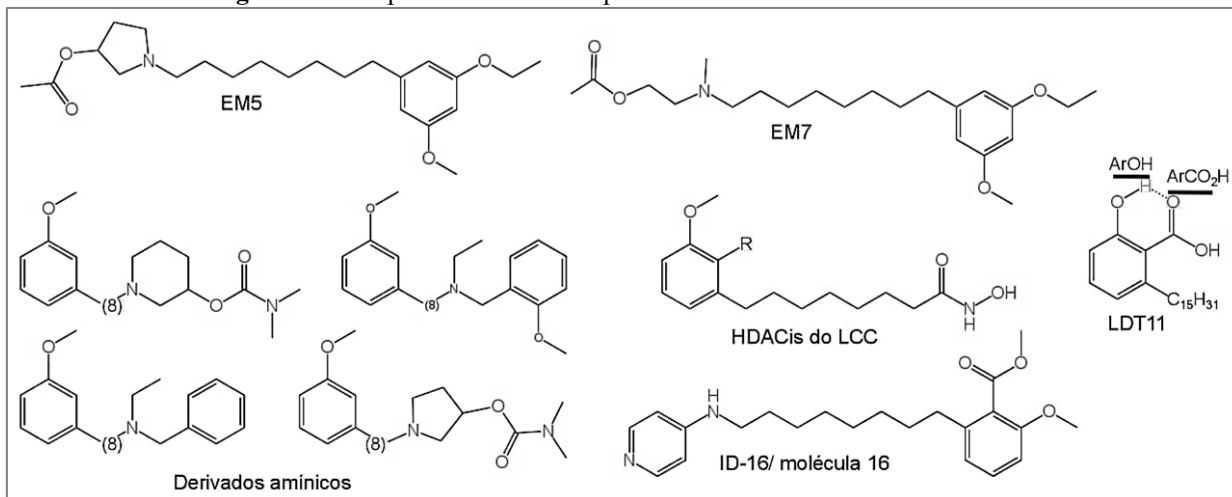


Fonte: LITMO (2024), baseado em De Paula *et al.* (2007).

Estudos de modelagem molecular de novos agentes terapêuticos para o tratamento da doença de Alzheimer com base na hipótese colinérgica foram realizadas pelo Professor Romeiro e colaboradores que resultaram em um conjunto diverso de moléculas com ótimos resultados teóricos e experimentais de inibição da AChE, por exemplo, a molécula ID-16 derivada do ácido anacárdico com IC₅₀ de 50 µM (Kiametis *et al.*, 2017), outro derivado do ácido que está bastante correlacionado a atividade da donepezila é a molécula 16 (Kiametis *et al.*, 2015), além disto, o próprio ácido anacárdico (LDT11) se mostrou um excelente pilar anti-DA em razão das suas características anti-inflamatórias e antioxidantes (De Souza *et al.*, 2018). Derivados amínicos do LCC apresentaram relevante atividade anticolinesterástica (Ramos, 2015), modelagem com inibidores a partir do cardanol se mostraram satisfatórios em relação a inibição da AChE (De Abreu Silva, 2019). Partindo de uma abordagem diferente por meio de medicamentos epigenéticos utilizados na DA - inibidores de histona desacetilases de classe I (HDAC) - Romeiro e Bolognesi desenvolveram os primeiros HDACis derivados do

LCC atingindo um perfil terapêutico bastante satisfatório (Romeiro *et al.*, 2019). As principais moléculas descritas nos trabalhos citados são apresentadas na **figura 13**.

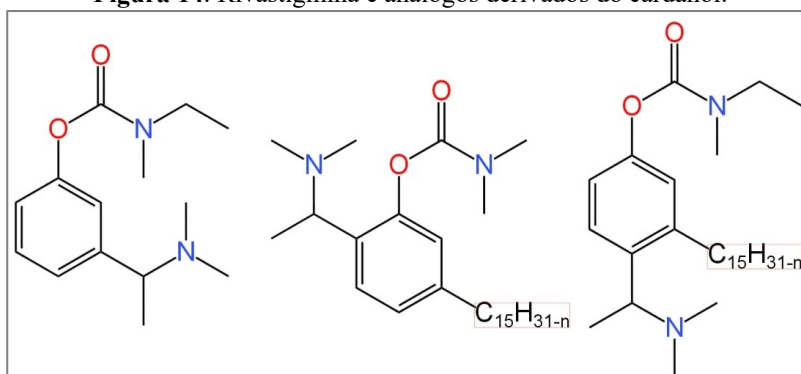
Figura 13. Compostos modelados a partir do ácido anacárdico e cardanol.



Fonte: A autora (2025).

Nos estudos realizados por Imbrosi e Araújo (2008), o cardanol foi utilizado como ponto de partida para a síntese de análogos da rivastigmina, fármaco amplamente utilizado no tratamento da doença de Alzheimer (**Figura 14**).

Figura 14. Rivastigmina e análogos derivados do cardanol.



Fonte: A autora (2025), baseado em Imbrosi, Araújo (2008).

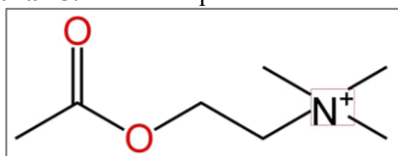
Face às potencialidades químicas e biológicas dos constituintes do LCC e de seus derivados, este estudo buscou investigar as possíveis atividades e potencialidades inibitórias dessas moléculas sobre as enzimas α -amilase (α - Amy) e acetilcolinesterase (AChE).

1.5 BREVE CONTEXTO SOBRE A DOENÇA DE ALZHEIMER

Caracterizada por Alois Alzheimer em 1907, a Doença de Alzheimer é descrita como uma desordem neurodegenerativa do cérebro, sendo a principal doença que acomete as 55 milhões de pessoas no mundo que possuem um diagnóstico sobre algum tipo de demência.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 7,7 milhões de novos casos de demência são diagnosticados a cada ano, incluindo a doença de Alzheimer (DA) (Melo, 2024). A prevalência desta doença tende a aumentar de acordo com o aumento da idade e considerada a principal causa de demência entre pessoas de faixa etária acima dos 60 anos de idade, devido a seus aspectos neuropatológicos degenerativos. Duas são as hipóteses que substanciam o início e a progressão da DA: a hipótese colinérgica, na qual há uma redução crítica dos níveis de acetilcolina (**Figura 15**) devido à rápida hidrólise do neurotransmissor pela acetilcolinesterase, comprometendo aprendizado, memória, comportamento e respostas emocionais destes pacientes; e a hipótese amiloide, na qual a AChE promove a deposição de beta-amiloide na forma de placas e emaranhados no cérebro destes pacientes, dificultando o impulso nervoso.

Figura 15. Estrutura química da acetilcolina.



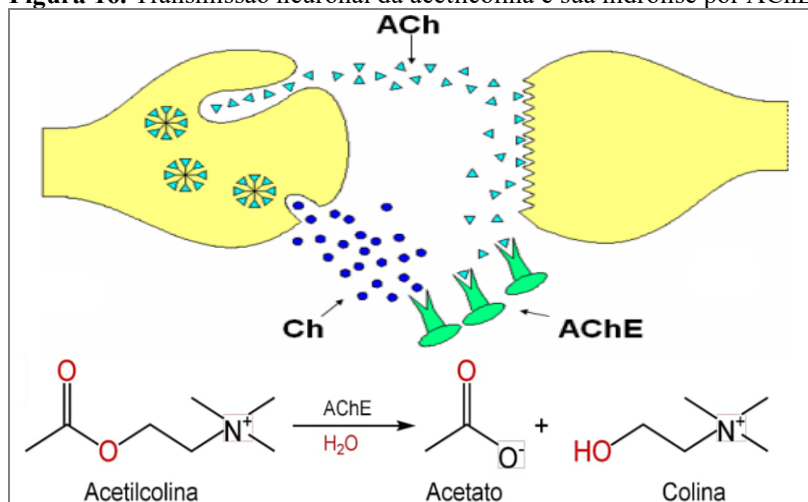
Fonte: A autora (2024).

Podem ser identificadas três fases na evolução da doença. A primeira, cuja duração é de 2 a 5 anos, é caracterizada pela deterioração gradual da memória; na segunda etapa, com duração de 2 a 10 anos, ocorrem alterações importantes no funcionamento do cérebro e aparecem problemas de disfasia, apraxia e agnosia. Na terceira fase estão comprometidas a maioria das funções cognitivas do cérebro, ocorrem tremores espontâneos no corpo, às vezes convulsões, insônia marcada, colapso nervoso e perda total dos estados de personalidade (Anand; Singh, 2013; Hansen *et al.*, 2008; Cheignon *et al.*, 2018).

No cérebro, os neurônios se intercomunicam por meio de áreas específicas, conhecidas como sítios de sinapse neuronal. A acetilcolinesterase (AChE) está presente nas sinapses onde a acetilcolina (ACh) atua como neurotransmissor. O mecanismo envolve a transmissão de um sinal elétrico desde a região pré-sináptica de um neurônio com a região pós-sináptica de outro, através do processo conhecido como neurotransmissão (Fawole *et al.*, 2010). Durante a neurotransmissão colinérgica, é liberada a acetilcolina (ACh), um neurotransmissor dos neurônios pré-ganglionares do sistema nervoso simpático e parassimpático bem como da medula adrenal. A acetilcolina é liberada na fenda sináptica, e posteriormente, se liga a receptores (nicotínicos e muscarínicos) na região pós-sináptica. Ao se desligar do receptor, a ACh retorna a fenda sináptica, o efeito da ACh na neurotransmissão é determinado pela atividade da AChE, capaz de hidrolisar o éster de colina, em colina e

acetato (Araújo *et al.*, 2016) (**Figura 16**).

Figura 16. Transmissão neuronal da acetilcolina e sua hidrólise por AChE.



Fonte: A autora (2025), adaptação de Petronilho, Figueroa-Villar (2014).

O sítio específico na AChE para o substrato é um local aniônico, devido a um resíduo aspartato, que interage com o nitrogênio da acetilcolina (Araújo *et al.*, 2016; Atanasova *et al.*, 2015). A acetilcolinesterase acelera a agregação da proteína β -amiloide formando complexos neurotóxicos estáveis. Esses complexos induzem uma desregulação da concentração de Ca^{2+} intracelular no hipocampo neuronal, disfunção mitocondrial, distrofia neurítica e apoptose (Organização Mundial da Saúde *et al.*, 2019).

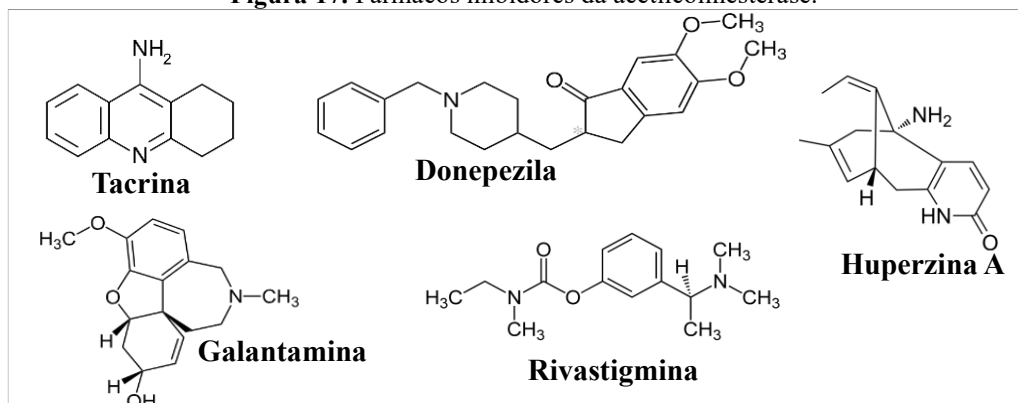
1.5.1 ACETILCOLINESTERASE (ACHE) E INIBIDORES DA ENZIMA

Do ponto de vista bioquímico e seguindo pela hipótese colinérgica, as medicações para o tratamento da DA consistem na inibição reversível da AChE, aumentando assim os níveis de ACh no cérebro, aprimorando as funções colinérgicas nos pacientes (Colovic *et al.*, 2013). Existem no mercado dois tipos de fármacos para o seu tratamento (Organização Mundial da Saúde *et al.*, 2019): inibidores de *N*-metil-*D*-aspartato e inibidores da acetilcolinesterase (AChEI). O primeiro fármaco inibidor da acetilcolinesterase utilizado no tratamento de pacientes com DA foi a tacrina (**Figura 17**). Entretanto, seus efeitos colaterais, sobretudo a hepatotoxicidade, diminuíram a utilidade clínica deste medicamento.

No último grupo, além dos inibidores sintéticos como a tacrina e a donepezila (**Figura 17**) também é possível encontrar inibidores de origem natural como galantamina, rivastigmina e huperzina A (**Figura 17**). Atualmente, são utilizados os fármacos galantamina, donepezila e rivastigmina (Wortmann, 2012; Prince *et al.*, 2015), porém, alguns desses

compostos (rivastigmina, galantamina e donepezila) apresentam atividade limitada e produzem efeitos adversos relacionados com a estimulação colinérgica no cérebro e aos tecidos periféricos (Acosta, 2011).

Figura 17. Fármacos inibidores da acetilcolinesterase.



Fonte: LITMO (2024), ChemDraw Professional 20.0.

O alcaloide galantamina, originalmente extraído da espécie *Galanthus woronowii* L., é um exemplo positivo em pesquisas que buscam substâncias bioativas a partir de espécies da família *Amaryllidaceae* sendo utilizado clinicamente no tratamento da Doença de Alzheimer (Torrás Claveria *et al.*, 2013; Cortes *et al.*, 2015; Andrade *et al.*, 2016). Os compostos do tipo galantamina apresentam elevada importância para obtenção de derivados de galantamina com maior atividade biológica (Castillo *et al.*, 2018; Delatorre *et al.*, 2014; Marques; Cunha, 2008; Freitas; Coelho *et al.*, 2008).

Em seu estudo sobre os fármacos donepezila, rivastigmina e galantamina Maelicke e colaboradores (2001) observaram que 76% de pacientes em uso de inibidores da AChE apresentaram ao menos um efeito adverso, dentre eles náusea, vômito, diarreia, perda de peso, entre outros. Em sua pesquisa Maelicke (2001) estimou que aproximadamente 30% dos pacientes em uso de tais medicamentos interrompiam o tratamento, e desta estimativa cerca de metade dos pacientes justificavam o abandono do tratamento devido aos efeitos adversos apresentados após a terapia medicamentosa (Maelicke *et al.*, 2001).

Apesar de não possuir cura, os pacientes acometidos pela DA encontram como alternativa clínica tratamentos voltados ao controle ou retardo da evolução degenerativa, entretanto, as limitações destes fármacos estimulam novas pesquisas objetivando a descoberta de outros inibidores (Wilcock; Lilienfeld; Gaens, 2000). Considerando o interesse em novas entidades químicas com potencial atividade AChEI, neste estudo foram selecionadas 17 amostras, tendo o LCC como matéria de partida, para se realizar os testes de atividade inibitória.

1.6 BREVE CONTEXTO SOBRE A DIABETES

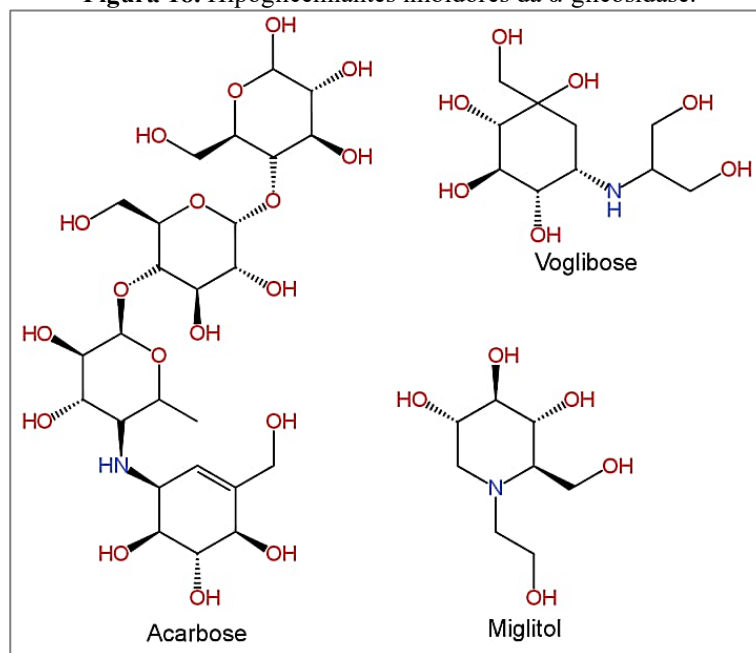
Distúrbios relacionados à absorção de carboidratos estão associados a diversas condições de saúde, como diabetes, obesidade e doenças bucais, todas com incidência crescente na população (Laar *et al.*, 2008; Yanovski; A. Yanovski, 2002; Touger-Decker; Loveren, 2003).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o diabetes é definido como uma doença crônica de etiologia multifatorial, caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue (hiperglicemia), que resultam de uma deficiência na produção de insulina pelo pâncreas, de uma ação ineficaz da insulina, ou de ambas. Essa condição pode levar a complicações graves, como doenças cardiovasculares, neuropatia diabética, retinopatia diabética e insuficiência renal, impactando significativamente a qualidade de vida dos indivíduos afetados. O diabetes é classificado principalmente em dois tipos: o tipo 1 (DM1), que envolve uma produção insuficiente de insulina, e o tipo 2 (DM2), no qual o organismo não consegue usar a insulina de forma adequada, mas ainda temos diabetes gestacional e quadros pré-diabéticos.

Uma das abordagens terapêuticas no tratamento da DM2 é a redução de hiperglicemia a partir da inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase (Van de Laar *et al.*, 2008; Goke; Herrmann-Rinke, 1998; Se, 2002). A inibição dessas enzimas consiste na diminuição da glicemia pós prandial, podendo auxiliar também no controle de peso (Bernfeld, 1955).

Com exceção da insulina, os hipoglicemiantes presentes na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename 2012) pertencentes a classe das biguanidas (cloridrato de metformina) e das sulfonamidas (Glibenclamida e Glicazida) aceleram a perda óssea e aumentam o risco de fraturas, especialmente em mulheres idosas (Kahn *et al.*, 2008). Por essa razão, foram retirados do mercado (Nelson; Cox, 2022). Em contrapartida, a metformina e as sulfonilureias não demonstram efeitos negativos sobre a saúde óssea e podem até proteger contra fraturas por fragilidade. No entanto, a metformina é contraindicada para pacientes com insuficiência renal (Duncan, 2022).

Outras medicações do tipo hipoglicemiantes estão disponíveis no mercado, a saber: a acarbose, o miglitol e a voglibose (**Figura 18**) que atuam no trato intestinal, inibindo as enzimas que quebram os carboidratos, resultando na absorção lenta da glicose. Entretanto, o uso da acarbose apresenta efeitos indesejáveis como distúrbios intestinais, incluindo diarreia, flatulências e cólicas abdominais (Chiasson, 2002; Gyémánt *et al.*, 2003; Chakrabarti; Rajagopalan, 2002) que são causados pela fermentação intestinal de carboidratos parcialmente degradados (Gyémánt *et al.*, 2003; Kwon; Apostolidis; Shetty, 2008).

Figura 18. Hipoglicemiantes inibidores da α -glicosidase.

Fonte: A autora (2025).

Dessa forma, visando a minimização desses efeitos colaterais, a busca por inibidores específicos da enzima α -amilase é desejável.

1.6.1 α -AMILASE (α -AMY) E SEUS INIBIDORES

O interesse por esses inibidores está ligado ao controle de pragas que afetam as lavouras, podendo também ser utilizados como aditivos em setores como detergentes, combustíveis, alimentos, papel, têxtil e farmacêutico (Alagesan *et al.*, 2012; Marshall; Lauda, 1975). Além disso, são evidenciadas aplicações na prevenção de cáries e placa dentária, no papel antinutricional de alimentos que contêm inibidores da alfa-amilase, no diagnóstico e tratamento de distúrbios associados à hiperamilasemia e no tratamento de doenças como diabetes e obesidade (Ellman *et al.*, 1961).

Diversos inibidores da α -amilase foram encontrados em variadas espécies vegetais, com destaque para o feijão branco (*Phaseolus vulgaris*) (López *et al.*, 2002). A farinha de feijão branco é utilizada para auxiliar na inibição da absorção de carboidratos (Bernfeld, 1955).

Em geral, os inibidores não proteicos são moléculas de baixo peso molecular, como compostos fenólicos e açúcares (Ellman *et al.*, 1961). Entre os inibidores naturais, destacam-se os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, que são os mais abundantes dessa classe, além de taninos e triterpenos do tipo oleanano (ácido oleanólico), ursano (ácido ursólico) e lupano (lupeol) (López *et al.*, 2002). Alguns inibidores da α -amilase foram identificados em muitas espécies de plantas (López *et al.*, 2002), destacam-se aquelas abundantes em compostos

fenólicos principalmente moléculas de baixo peso molecular (compostos fenólicos e açúcares) (Ellman *et al.*, 1961), Tendo como referência as informações descritas acima em conjunto de estudos acerca das estruturas químicas das moléculas do LCC foi proposto a inserção destas moléculas nos testes biológicos da inibição da enzima α -amilase.

1.7 VIABILIDADE CELULAR E ATIVIDADE CITOTÓXICA EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA HUMANO DO TIPO SH-SY5Y

A viabilidade celular é definida como a capacidade das células de sobreviverem e manter suas funções normais em um determinado ambiente. Já a citotoxicidade é caracterizada como a capacidade de uma substância ou material causar danos ou morte celular, sendo avaliada através de ensaios *in vitro* que utilizam modelos biológicos para analisar a alteração metabólica nas células.

As células de neuroblastoma do tipo SH-SY5Y são relativamente fáceis de cultivar em laboratório em comparação com células neuronais primárias de humanos ou modelos animais mais representativas de neurônios saudáveis. Por serem mais resistentes e derivadas de um tumor, as células de neuroblastoma têm uma capacidade de proliferação muito maior do que as células neuronais normais. Isso torna as SH-SY5Y uma opção prática para experimentos em grande escala, já que elas podem ser cultivadas e mantidas por longos períodos sem a necessidade de regeneração constante, como acontece com as células saudáveis (Kovalevich; Langford, 2013; Castillo-Ordoñez, 2016). Como as células SH-SY5Y vêm de uma única origem celular e podem ser manipuladas geneticamente ou diferenciadas de forma controlada, os pesquisadores podem controlar melhor as variáveis experimentais, o que é crucial para estudos detalhados de toxicidade, neurodegeneração e mecanismos moleculares. Isso permite que os resultados sejam mais consistentes e interpretáveis (De Medeiros *et al.*, 2019; Xicoy, Wieringa, Martens; 2017).

As células SH-SY5Y possuem a capacidade de simular aspectos das células nervosas em condições patológica, além de sintetizarem neurotransmissores, como dopamina, norepinefrina, e serotonina, o que as torna úteis para estudos relacionados a esses sistemas, sendo muito utilizadas em pesquisas sobre doenças neurodegenerativas como Doença de Parkinson, Doença de Alzheimer, Doença de Huntington, Esclerose Múltipla e Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) (Cheung *et al.*, 2009). Adicionalmente, esta linhagem não diferenciada pode ser usada para simular as respostas celulares de neurônios a agentes tóxicos, o que a torna propícia para estudar a citotoxicidade em células nervosas (Li *et al.*, 2013; Jin *et al.*, 2014; Kwon *et al.*, 2015; Castillo *et al.*, 2018; Shalgum *et al.*, 2018; Trujillo-Chacón *et al.*,

2019; Schneider *et al.*, 2011; Castillo-Ordoñez, 2016; Forster *et al.*, 2016).

Estas células tem características que as tornam uma excelente ferramenta para modelar e entender os mecanismos da doença de Alzheimer, incluindo a análise do impacto das alterações celulares e moleculares associadas a essa doença. Desta forma, é possível investigar como fatores de risco (estresse oxidativo, acúmulo de peptídeos β -amiloide ($A\beta$), ou exposição a substâncias químicas) que possuem um papel importante na degeneração neuronal observada na Doença de Alzheimer podem afetar as células de maneira semelhante ao que ocorre em condições patológicas (Krishtal *et al.*, 2017; Beart *et al.*, 2017). Paralelamente estas células são usadas para estudar os mecanismos de morte celular programada, especialmente por apoptose que está associada à morte neuronal da DA (Beart *et al.*, 2017). Entretanto, o processo de diferenciação permite que as células SH-SY5Y se tornem mais semelhantes a neurônios quando expostas a agentes diferenciadores, como o ácido retinoico, embora não sejam neurônios maduros (Liu *et al.*, 2015; Krishtal *et al.*, 2017).

A linhagem celular SH-SY5Y é um modelo extremamente útil para estudar a Doença de Alzheimer devido à sua capacidade de simular características neuronais e responder a agentes tóxicos, demonstrando ser uma plataforma eficaz para testar novas terapias e estratégias de tratamento para a DA. As células podem ser expostas a diferentes compostos para avaliar sua eficácia como agentes neuroprotetores que visam restaurar a função neuronal e reduzir os efeitos da DA, ou como eles afetam os mecanismos moleculares da doença (como a agregação de proteínas ou a ativação de caspases).

Para uma melhor compreensão dos processos patológicos citados e para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais assertivas é necessário avaliar a citotoxicidade dos compostos com possíveis perfis anti-DA sobre essas células SH-SY5Y, através do teste do MTT (Testes de redução de tetrazólio), que avaliam a viabilidade celular pela atividade mitocondrial. Essas células respondem de forma confiável à exposição a toxinas, permitindo uma quantificação precisa do grau de citotoxicidade (De Medeiros *et al.*, 2019),

Na busca por substâncias antiacetilcolinesterásicas com perfil de toxicidade baixa ou nula, sem danos irreversíveis ou efeitos drásticos nas células, alta viabilidade celular e resposta dose-dependente bem caracterizada, foi proposto o estudo da citotoxicidade para as amostras selecionadas que apresentaram melhor desempenho de IC_{50} para a enzima AChE.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir com o estudo químico e biológico dos lipídeos fenólicos não-isopenoides do líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*) e de seus derivados ao investigar as possíveis atividades e potencialidades inibitórias dessas moléculas sobre as enzimas α -amilase (α -Amy) e acetilcolinesterase (AChE).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

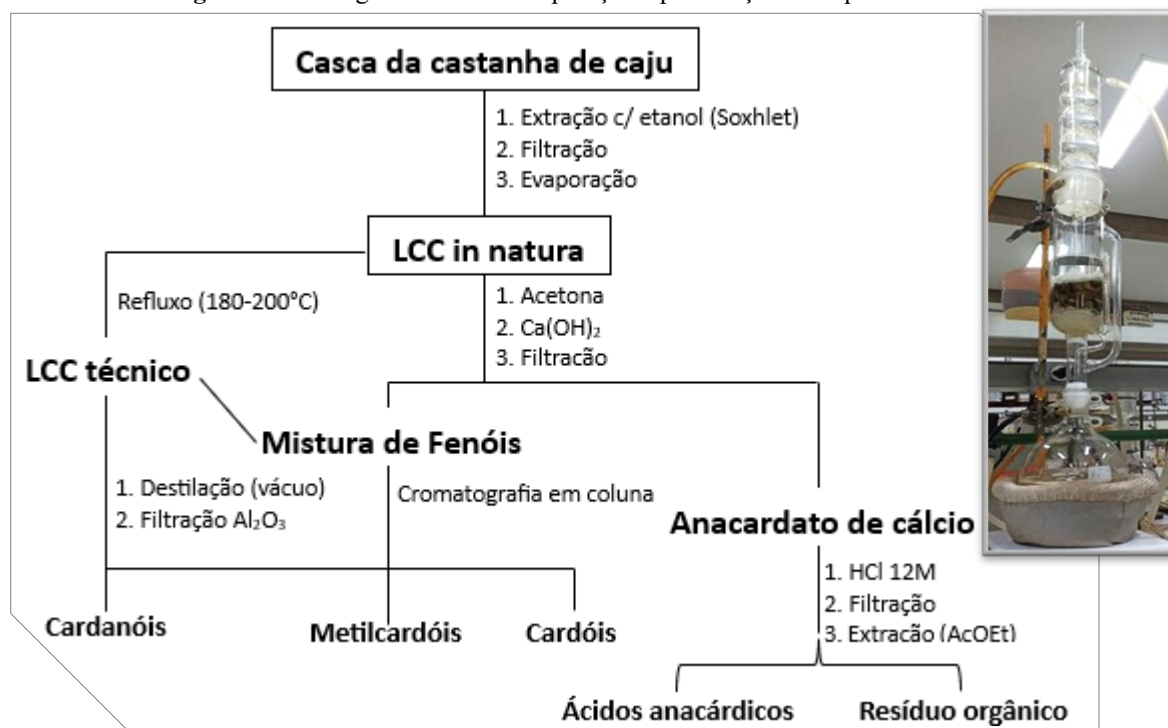
- Selecionar os compostos de interesse derivados dos lipídeos fenólicos não-isopenoides do líquido da casca da castanha de caju, elucidar suas respectivas estruturas químicas e purificá-las, caso necessário.
- Realizar a caracterização físico-química e espectrométrica dos lipídeos e dos seus derivados através de técnicas como cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia em coluna, recristalização e análise por RMN ^1H e ^{13}C .
- Avaliar a atividade de inibição das moléculas de lipídeos e dos seus derivados selecionados, frente as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e α -Amilase (α -Amy).
- Avaliar a viabilidade e toxicidade celular das amostras com melhor desempenho de IC_{50} para a enzima acetilcolinesterase via ensaio do MTT utilizando células de neuroblastoma humano SH-SY5Y.

3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.1 OBTENÇÃO DO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA – LCC.

As reações e procedimentos químicos foram realizados no Laboratório de Isolamento e Transformações de Moléculas Orgânicas – LITMO (**Figura 19**). Para obtenção do LCC *in natura* foi empregada a extração contínua em aparelhagem Soxhlet utilizando etanol comercial (96% v/v) como solvente orgânico. A extração foi realizada por período de 12 horas, com 96,85 g de cascas de castanha de caju (*Anacardium occidentale*) cortadas de forma longitudinal, para retirada de suas amêndoas para obtenção do LCC *in natura*. As castanhas de caju foram adquiridas no comércio local em Brasília.

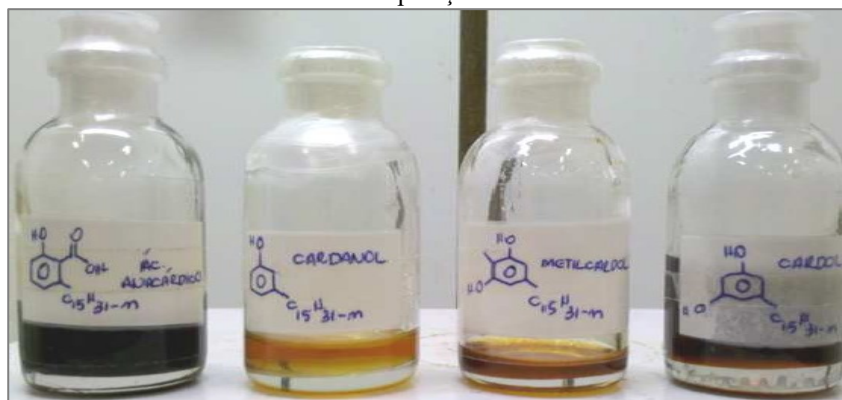
Figura 19. Fluxograma usado na separação e purificação dos lipídeos do LCC.



Fonte: LITMO (2024).

A mistura de fenóis obtida após separação dos ácidos anacárdicos fornece os demais constituintes fenólicos do LCC *in natura* após ser submetida à cromatografia em coluna. Os compostos obtidos, utilizando-se metodologia acima, apresentam-se como líquidos viscosos (óleo) de coloração marrom escura (ácidos anacárdicos), amarelo-claro (cardanois), amarelo-escuro (metilcardois) e vinho (cardois) conforme apresentado na **figura 20**.

Figura 20. Amostras dos constituintes fenólicos do LCC *in natura* após realização do procedimento de separação.



Fonte: LITMO (2013).

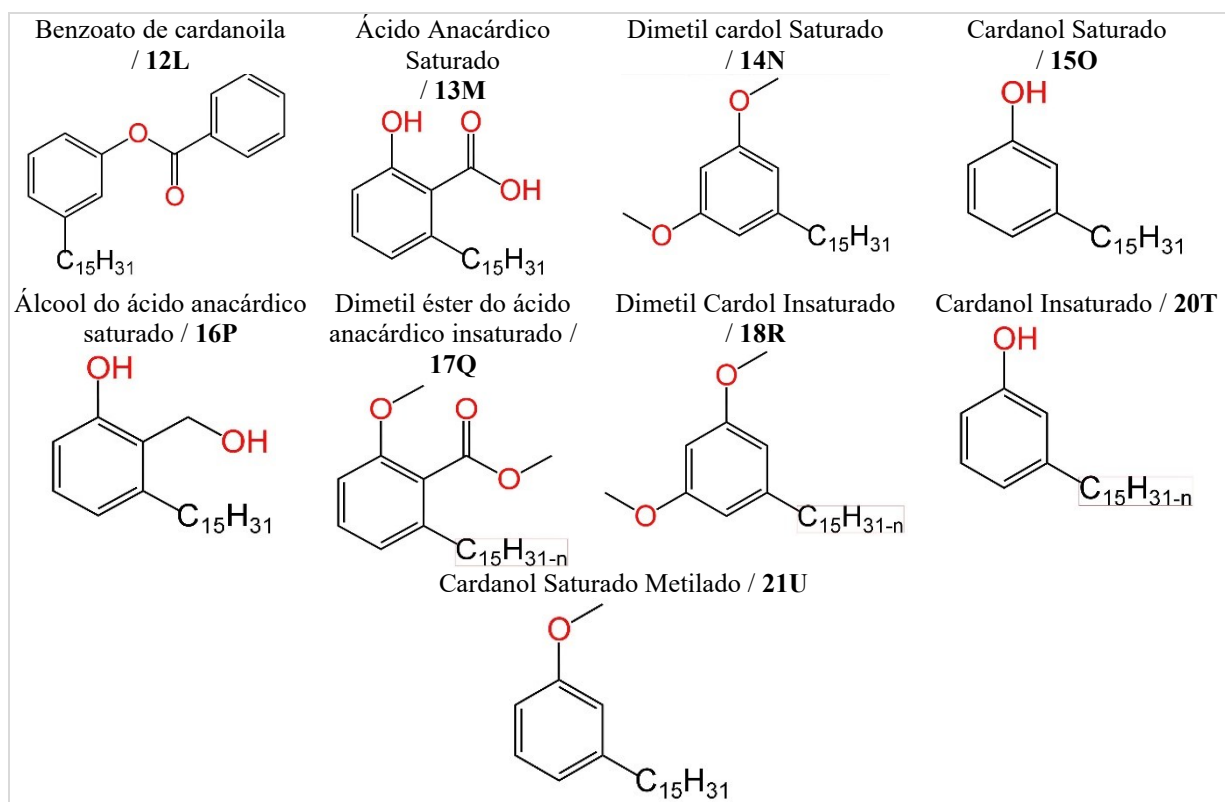
3.2 SELEÇÃO DE MOLÉCULAS ALVO PARA REALIZAÇÃO DE ENSAIOS BIOLÓGICOS

O estudo foi iniciado com 21 amostras e após triagem foram selecionadas 17 amostras com alto grau de pureza, nominados pelos códigos: 2B, 4D, 5E, 6F, 7G, 8H, 9I, 10J, 12L, 13M, 14N, 15O, 16P, 17Q, 18R, 20T, 21U. Na **tabela 2** contém a lista dos compostos utilizados nos ensaios e suas respectivas estruturas.

As amostras utilizadas nesse estudo foram obtidas a partir do fracionamento do LCC e os derivados foram sintetizados em pesquisas anteriores no LITMO por meio de reações clássicas em síntese orgânica, em geral, alquilação, nitração, oxidação (ozonólise), redução, condensação inter e intramoleculares, amidação, e outras, sob variadas condições experimentais: temperatura ambiente, refluxo, aquecimento, acidificação, dentre outras técnicas.

Tabela 2. Compostos selecionados para ensaios biológicos e seus respectivos códigos de identificação e estrutura molecular.

2-Nitrocardol / 2B	Álcool metil éter anacárdico saturado / 4D	Propil-Oxima do cardanol / 5E	Etil-Oxima do cardanol / 6F
6-Nitrocardol / 7G	Benzoxazina do ácido anacárdico / 8H	Bromoanilida do ácido anacárdico / 9I	4-Hidroxicumarina / 10J



Fonte: LITMO (2024), KingDraw: Chemistry Station.

As rotas sintéticas para as amostras empregadas neste estudo foram descritas em trabalhos anteriores do LITMO, referenciados por amostras: **2B**, **7G**, **13M** e **14N** (Vieira, 2007); **15O** e **17Q** (Souza Filho, 2014); **20T** e **21U** (Freitas, 2014); **8H** e **9I** (Resck *et al.*, 2005); **10J** (Gonzaga, 2010); **5E** e **6F** (Avellar; Godoy; Magalhães, 2000) e **18R** (Ramos, 2014).

3.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESPECTROMÉTRICA DAS AMOSTRAS SELECIONADAS

A caracterização estrutural dos compostos envolvidos nessa proposta foi realizada por RMN de ^1H e de ^{13}C , os espectros foram obtidos na CAIQ/UnB. Os espectros de ^1H e de ^{13}C foram registados no espectrômetro Bruker AvanceTM UltraShieldTM Plus (9,4 T), operando a 600 MHz para ^1H e 150 MHz para ^{13}C com deslocamentos químicos relatados em ppm.

Para a análise espectrométrica, as amostras passaram por um processo de secagem em uma bomba de vácuo durante 4 horas para que fossem retirados resquícios de solventes existentes no composto, em seguida 10 mg de cada amostra foi solubilizada em tubo de RMN, em aproximadamente 1,5 mL de clorofórmio deuterado (CDCl_3), e para as amostras que não solubilizaram em CDCl_3 foi adicionado a elas aproximadamente 0,3 ~ 0,5 mL de metanol deuterado (CD_3OD) até a completa solubilização, e como padrão interno foi utilizado o tetrametilsilano (TMS). Após a solubilização das amostras, as mesmas são inseridas em um

tubo de vidro fino até uma altura de 3,5 ~ 4 cm, medindo a partir da base fechada do tubo, vedadas, identificadas e levadas para o CAIQ para posteriormente serem analisadas.

No processo de caracterização também foi realizado a identificação dos compostos com uso da Cromatografia da Camada Delgada (CCD), para qual foram estabelecidos parâmetros de análise, como por exemplo: diâmetros fixos das placas, solventes específicos e medições dos fatores de retenção (R_f) (**Tabela 7**). Além da técnica CCD, também foi aferido o ponto de fusão (PF) (**Tabela 7**) dos compostos para verificar a pureza, visando complementar as informações já obtidas por outras técnicas. As análises de CCD foram efetuadas em placas de silicagel suportada em alumínio 60F254/ 0,2 mm (MACHerey-Nagel), utilizando como fase móvel acetato de etila em hexano em proporções variando de 5% a 20% v/v, reveladas com luz ultravioleta, iodo e vanilina sulfúrica.

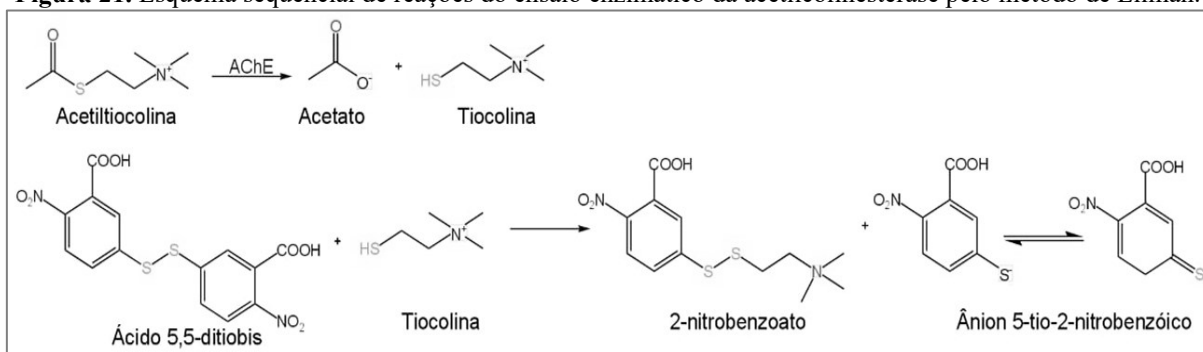
3.4 ENSAIOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

Os testes biológicos envolvendo inibições enzimáticas foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais – LabPronat. Os gráficos de inibição enzimática representados nas figuras e seus respectivos dados foram inicialmente plotados em Microsoft Excel 2016 e posteriormente processados no software GraphPad Prism 6.

3.4.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE

O ensaio para medir a inibição da acetilcolinesterase foi realizado conforme descrito por Ellman (1961) e modificado por López (2002). Este ensaio baseia-se na capacidade da enzima acetilcolinesterase em hidrolisar acetiltiocolina em acetato e tiocolina, que em seguida reage com o ácido 5,5-ditiobis-2- benzoico (DTNB), produzindo 2-nitrobenzoato-5-mercaptotiocolina e ânion 5- tio-2-nitro-benzoico, cuja formação pode ser monitorada a 405 nm (**Figura 21**). Candidatos a inibidores da enzima acetilcolinesterase podem diminuir a hidrólise da acetiltiocolina e, consequentemente, diminuir a formação do ânion 5-tio-2-nitrobenzoico (Kumar *et al.*, 2002; Paramashivappa *et al.*, 2001).

Figura 21. Esquema sequencial de reações do ensaio enzimático da acetilcolinesterase pelo método de Ellman.



Fonte: A Autora (2025), baseado em Gomes (2020).

As porcentagens de inibição enzimática foram calculadas comparando a absorbância das amostras (ensaio contendo amostra, enzima e substrato) com a do controle da enzima (enzima, substrato e tampão), descontado do valor da absorção sem a enzima (tampão e substrato), como controle de atividade enzimática máxima. Também foram utilizados brancos das amostras (amostra, substrato e PBS) para cada concentração. Os valores de referência para o cálculo da atividade biológica foram os obtidos em 10 minutos, tempo necessário para que a variação de absorbância seja menor que 2%. Na ausência do extrato ou padrão, a enzima não foi inibida e, por conseguinte, há maior produção de tiocolina e do composto colorido ácido 5-tio-2-nitro-benzoico. As porcentagens de inibição foram calculadas de acordo com a **Equação 1**, onde **C** é a absorbância do controle de atividade enzimática máxima e **A** sendo a absorbância da amostra, ambos subtraídos dos seus respectivos brancos:

$$\% \text{ de inibição} = \left[\frac{C - A}{A} \right] * 100$$

Equação 1

A curva dose-resposta da galantamina foi construída com concentrações variando entre 1-0,015 µg/mL, no poço. As concentrações das amostras variaram entre 200-0,09 µg/mL, no poço. A curva de inibição enzimática foi obtida plotando o logaritmo da concentração do inibidor e a porcentagem de inibição enzimática..

Etapa 1: Reagentes e Soluções

➤ Solução mãe da amostra e 2º solução da amostra:

Inicialmente, foram preparadas soluções etanólicas das amostras com concentração inicial de 10 mg/mL. Em seguida, a partir das primeiras soluções, foram preparadas soluções etanólicas das amostras com concentração de 600 µg/mL. Além das amostras, foram preparados soluções tampão, de enzima, de substrato, e de inibidores padrão.

➤ **Tampão:**

Foi preparada uma solução tampão fosfato salina (PBS), contendo K_2HPO_4 8 mM (Vetec®, 98%), NaH_2PO_4 2,3 mmol/L (Sinth®, 98%) e NaCl 0,15 mmol/L (Vetec®, 99%), com pH ajustado para 7,5.

➤ **Solução da enzima Acetilcolinesterase:**

A enzima acetilcolinesterase (AChE) de *Electrophorus electricus* (137,0 U/mg sólido em 217 U/mg de proteína, Sigma Aldrich®) foi dissolvida em tampão salina fosfato (PBS) (pH 7,5), a fim de ser obtida uma solução de 137 U/mL (1 mg de AChE em 1 mL de PBS), denominada solução-estoque. Para a solução da enzima foi preparado 16,41 µL da solução-estoque da enzima acetilcolinesterase em 8983,59 µL de tampão fosfato (PBS). Esta solução deve ser preparada somente no momento do ensaio e mantida sob gelo para assim garantir o nível de qualidade e interação na hora do teste com a amostra e evitar qualquer tipo de degradação da enzima.

➤ **Solução de substrato:**

Foi solubilizado iodeto de acetilcolina (0,24 mM, Sigma – Aldrich 98%), Na_2HPO_4 (0,04 M, Merck - 99%) e DTNB (0,2 mM, Sigma – Aldrich 99%) em água destilada. Esta solução deve ser preparada somente no momento do ensaio e mantida sob gelo para assim garantir o nível de qualidade e interação na hora do teste com a amostra e evitar qualquer tipo de degradação do substrato.

➤ **Preparo das amostras:**

Os cálculos de concentração das amostras foram realizados com base em um fator de proporção de 1:3 para que as amostras resultassem em uma concentração de 200 µg/mL no volume final do poço.

Etapa 2: Condições do ensaio para curva geral

➤ **Etapa de 1º incubação:**

Seguindo o esquema representado na **tabela 3**, foram selecionados 21 poços da placa onde foram adicionados 50 µL de tampão PBS, 50 µL da amostra e 50 µL da solução de acetil (enzima). Em seguida, a placa foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente. Durante o período da 1º incubação as demais soluções foram adicionadas aos outros poços da placa como exemplificado na **tabela 3**.

➤ **Etapa de 2º incubação:**

Posteriormente, 100 µL de solução de substrato foi adicionado a cada poço das amostras e incubados por 10 minutos. O substrato também foi adicionado a um dos controles da primeira fileira horizontal da placa (Linha A) e incubado por 10 minutos.

Etapa 3: Leitura da placa

Por último, após a finalização da 2º incubação, a placa é inserida no suporte da leitora e o software é configurado e a leitura é iniciada. A absorbância foi determinada a 405 nm usando um leitor de placas (TP-Reader, Biogenic Scientific Product). O inibidor Galantamina e fisostigmina (Sigma Aldrich, 99%) foram utilizados como controle positivo.

Tabela 3. Representação da organização da placa.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Legenda	
A	.	.	.	*	*	*	°	°	°				.	200 µL tampão PBS + 50 µL enzima
B				+				+				+	*	100 µL tampão PBS + 50 µL enzima + 100 µL de substrato
C				+				+				+	°	250 µL tampão PBS
D				+				+				+	Branco da amostra +	200 µL de tampão PBS + 50 µL da 2º solução da amostra
E				+				+				+		50 µL tampão + 50 µL da 2º solução da amostra + 50 µL da enzima + 100 µL da solução do substrato
F				+				+				+		
G				+				+				+		
H				+				+				+		

Fonte: A Autora (2024), baseado em Ellman (1961) e López (2002).

Ensaio da Curva Dose X resposta

Para os testes de curva dose-resposta, foi utilizado as mesmas soluções da determinação da atividade de inibição, porém foi utilizado a diluição seriada e o mapeamento da placa foi realizado de forma diferente. Para a diluição seriada foi feita uma distribuição em triplicata das amostras em 5 poços com 5 concentrações diferentes (**Tabela 4**).

Condições do ensaio

➤ **Etapa da 1º incubação:**

Seguindo o esquema representado na **tabela 4**, foram pipetados 100 µL da solução (600 µg/mL) das amostras apenas no primeiro poço de cada triplicata, em sequência, foi retirado uma alíquota de 100 µL deste 1º poço e inserida no próximo poço e assim por diante nos poços em sequência, porém para o 5º poço essa alíquota foi descartada (**Figura 22 e Figura 23**), depois 50 µL da enzima é adicionado nesses poços e a placa foi incubada por 30 minutos à

temperatura ambiente. Durante esse período as demais soluções foram adicionadas aos outros poços. Para o branco das amostras a diluição seriada ocorreu da mesma forma, com a alíquota do 5º poço sendo descartada.

➤ **Etapas da 2ª incubação:**

Posteriormente, 100 µL de solução de substrato foi adicionado a cada poço das amostras e incubados por 10 minutos.

Leitura da placa

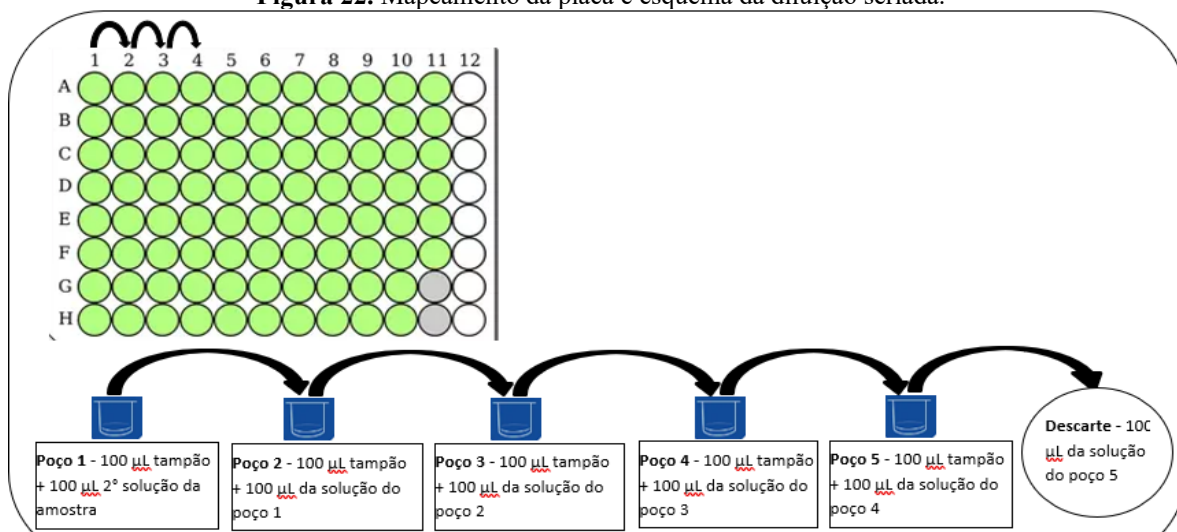
Por último, após a finalização da 2ª incubação, a placa é inserida no suporte da leitora e o software é configurado e a leitura é iniciada. A absorbância foi determinada a 405 nm usando um leitor de placas (TP-Reader, Biogenic Scientific Product). O inibidor Galantamina e fisostigmina (Sigma Aldrich, 99%) foram utilizados como controle positivo.

Tabela 4. Mapeamento da placa de teste de diluição seriada para AChE.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Legenda	
A						*						Coluna vazia	*	100 µL tampão PBS + 50 µL enzima + 100 µL substrato
B						*							=	250 µL tampão PBS
C						*							Branco da amostra +	100 µL de tampão PBS + 100 µL da 2ª solução da amostra correspondente + 150 µL de tampão PBS
D	+	+	+	+	+	*	+	+	+	+	+		Amostra 1	Amostra 1 = 100 µL tampão + 100 µL da 2ª solução da amostra 1 + 50 µL da enzima + 100 µL da solução do substrato
E						*							Amostra 2	100 µL tampão + 100 µL da 2ª solução da amostra 2 + 50 µL da enzima + 100 µL da solução do substrato
F						=							Amostra 3	100 µL tampão + 100 µL da 2ª solução da amostra 3 + 50 µL da enzima + 100 µL da solução do substrato
G						=							Amostra 4	100 µL tampão + 100 µL da 2ª solução da amostra 4 + 50 µL da enzima + 100 µL da solução do substrato
H	+	+	+	+	+	=	+	+	+	+	+			

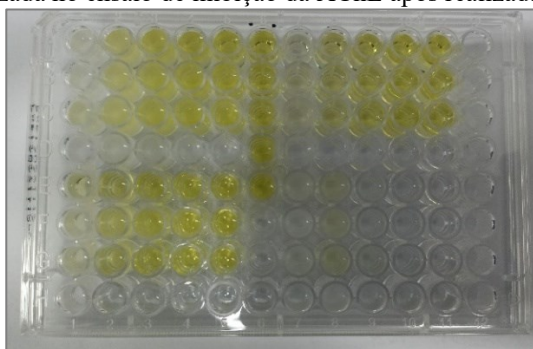
Fonte: A Autora (2024), baseado em Ellman (1961) e López (2002).

Figura 22. Mapeamento da placa e esquema da diluição seriada.



Fonte: A Autora (2024), baseado em Ellman (1961) e López (2002).

Figura 23. Placa utilizada no ensaio de inibição da AChE após realizada a leitura das amostras.



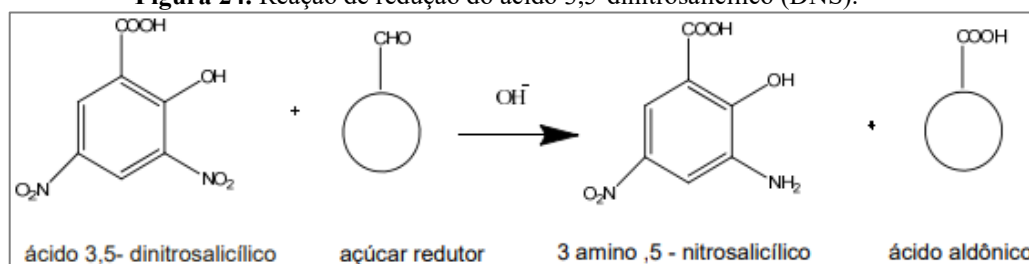
Fonte: A autora (2024).

3.4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE INIBIÇÃO DA α -AMILASE

Nos testes para avaliar a atividade de inibição sobre a enzima α -amilase foi utilizado o método colorimétrico para determinação de açúcares redutores descrito por Bernfeld (1955) adaptado por Sigma Aldrich (Sigma-Aldrich, [s.d.]) com modificações. O método consiste em determinar a diferença de absorbância da cor gerada pela reação de redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico a 3 amino,5-nitrosalicílico (**Figura 24**) pelo produto da reação enzimática a α -amilase e seu substrato o amido na presença e ausência de um possível inibidor dessa enzima. Para calcular a atividade de inibição da enzima da fórmula a seguir, onde **C** representa a absorbância do controle negativo e **A** sendo a absorbância da amostra, ambos subtraídos dos seus respectivos brancos:

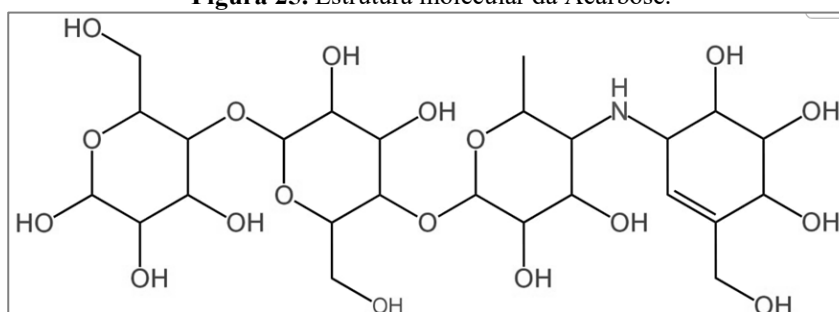
$$\% \text{ de inibição} = \left[\frac{C - A}{A} \right] * 100$$

Equação 2

Figura 24. Reação de redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).

Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2003).

Como controle positivo para a atividade inibitória foi utilizado o pseudotetrassacarídeo de origem microbiana, a acarbose (**Figura 25**), esse hipoglicemiante é comercializado pela Bayer e tem com nome comercial Glucobay®.

Figura 25. Estrutura molecular da Acarbose.

Fonte: A autora (2025), baseado em Rodrigues (2016).

Etapas 1: Reagentes e Soluções

➤ **Reagente ácido 3,5 - dinitrosalicílico (DNS):**

Sob agitação constante, foram dissolvidos hidróxido de sódio (Vetec), tartarato de sódio e potássio (Vetec), bissulfito de sódio (Vetec), ácido 3,5-dinitrosalicílico (Sigma) em água destilada. O reagente foi acondicionado em frasco âmbar, protegido da exposição a luz e mantido a temperatura ambiente.

➤ **Solução tampão fosfato de sódio 20 mM (pH 6,9):**

Preparado pela mistura de 1,25 g fosfato de sódio monobásico, 2,95 g de fosfato de sódio dibásico e 0,388 g de cloreto de sódio em 1 L de água destilada.

➤ **Solução de α -amilase 40 UI/mL:**

Enzima α -amilase pancreática suína (Sigma) dissolvida em solução tampão.

➤ **Solução de amido a 1%:**

Foi dissolvido em solução tampão 2 g de amido solúvel (Sigma). Para facilitar a solubilização, a solução de amido foi mantida em aquecimento por 20 minutos com agitação

constante. O volume original da solução de amido foi ajustado com água destilada.

➤ **Preparo das amostras:**

As amostras foram diluídas de modo que a concentração em 20 μL fosse suficiente para obter a concentração desejada no tubo de teste (pré-incubação) com volume final de 1 mL. Foram usados como solvente água destilada ou mistura dimetilsulfóxido – DMSO (Dinâmica): etanol (Vetec) na proporção de 1:3. A amostra diluída foi agitada mecanicamente para completa solubilização. A princípio a amostra foi avaliada na concentração de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

➤ **Solução de acarbose - controle positivo:**

Foi preparada solução de acarbose (Sigma) 1 mg/mL em água destilada. A partir dessa solução foram feitas diluições e construída a curva dose x resposta com nas concentrações entre 0,9 – 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Etapa 2: Condições do ensaio

➤ **Etapa de pré-incubação:**

A solução da amostra juntamente a solução da enzima foram adicionadas a um tubo contendo 930 μL do tampão fosfato e mantidos a 25 °C por 30 minutos em banho-maria.

➤ **Etapa de incubação:**

Uma alíquota de 250 μL da mistura preparada na etapa de pré-incubação foi adicionada a tubo contendo 250 μL de solução tampão e 500 μL de solução de amido a 1%. A nova mistura foi incubada a 40 °C em banho-maria por 20 minutos. Durante o tempo de incubação foram adicionados 500 μL do reagente DNS a todos os tubos. Em seguida os tubos foram aquecidos em água fervente por 5 minutos e arrefecidos a temperatura ambiente.

Além das amostras foram preparados o controle positivo para a atividade da enzima e os brancos para o desconto de possíveis interferentes como a coloração do substrato, atividade amiolítica ou açúcares redutores pré-existentes no extrato além de sua coloração característica e para o ajuste da linha de base do equipamento. Controle positivo para a atividade da enzima: tubo contendo apenas tampão, substrato e enzima. Para esse controle o volume correspondente à amostra foi substituído por tampão na etapa de pré-incubação. Branco do substrato: tubo com solução 500 μL de solução tampão e 500 μL de solução de amido a 1%. Branco do extrato: tubo contendo 500 μL da solução de amido a 1%, 545 μL tampão e 5 μL da solução de extrato. Branco do aparelho: tubo contendo apenas 1000 μL de solução tampão.

Todos os tubos da etapa de incubação foram preparados em triplicata, exceto para

a mistura de calibração do aparelho (branco do aparelho) e branco do extrato. Após arrefecerem os volumes nos tubos foram diluídos pela adição de 4,5 mL de água destilada. Para cada preparação, uma alíquota foi transferida para uma cubeta de plástico com caminho óptico de 1 cm e realizada a leitura da absorbância a 540 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Evolution™ 60S UV-Visible Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, EUA) previamente ajustado com a solução denominada, branco do aparelho.

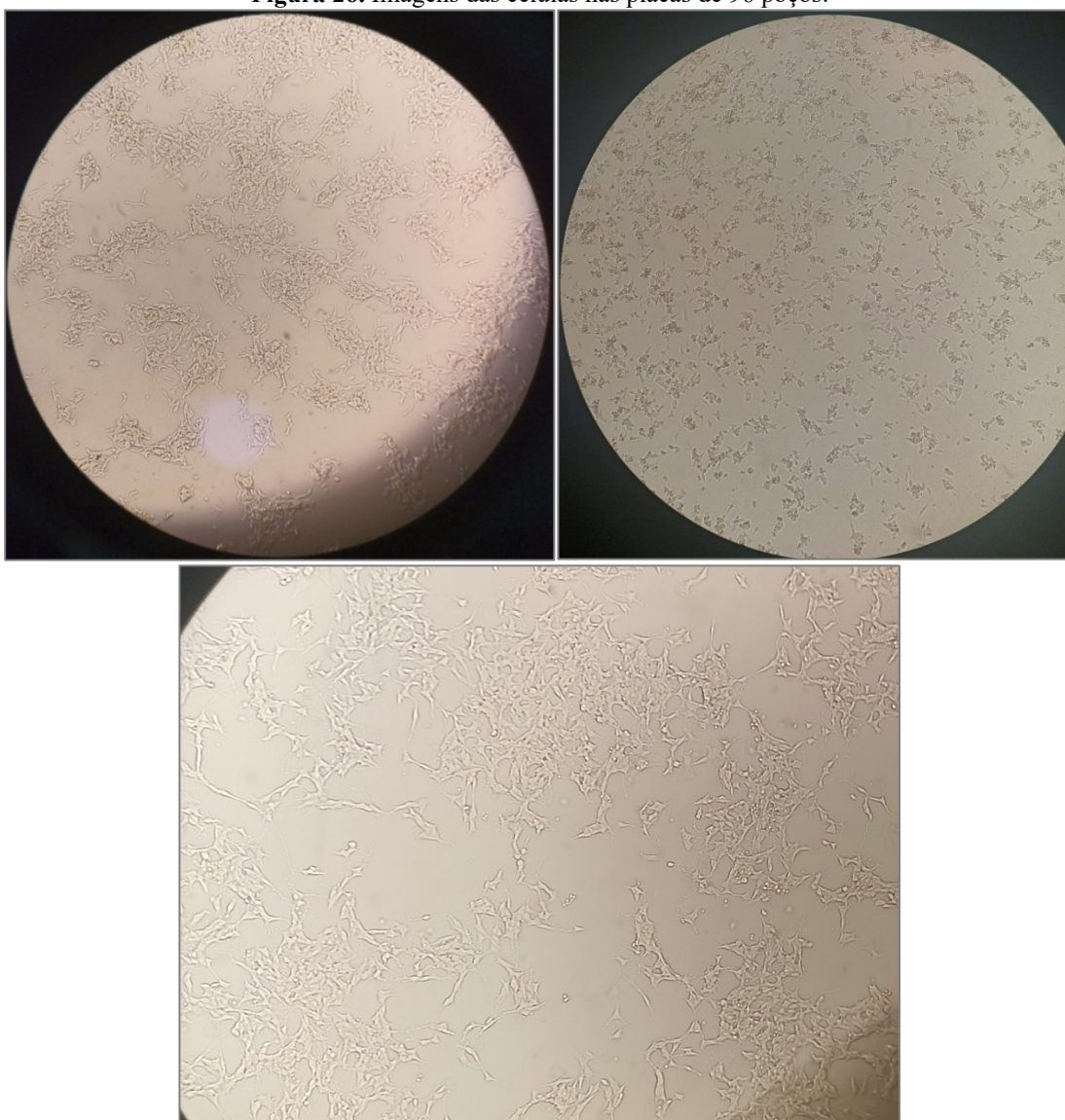
3.5 CULTURA CELULAR E TESTE DE CITOTOXICIDADE COM MTT

As células de neuroblastoma humano SH-SY5Y foram gentilmente doadas pelo Laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, essa linhagem foi cultivada em frascos de cultivo (25 cm²) em monocamada e com meio de tratamento completo, constituído de mistura 1:1 de Ham's F12 e DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (Gibco®) suplementada com 10% de soro fetal bovino (SFB) e mais 60 mg de bicarbonato de sódio (Merk®).

Para a passagem de meio, foi adicionado em 8 mL da mistura, 1 mL de L-Glutamina a 10 mg/mL, mais 1 mL de solução antibiótica contendo 0,024 g/mL de penicilina e 0,04 g/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich). O meio de cultivo foi trocado a cada 1-3 dias e foram mantidas em estufa incubadora a 37 °C em atmosfera úmida contendo 5% CO₂ e 95% O₂. Quando as células atingiram a confluência, foram soltas com solução de tripsina 0,05% e centrifugadas. O pellet de células foi ressuspenso em meio de cultura, seguindo-se da quantificação do número de células em câmara de Neubauer para definição da quantidade de células a ser adicionada em cada poço da placa de cultura.

Os ensaios celulares das amostras selecionadas foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade em medicamentos, Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília-DF, utilizando células de neuroblastoma humano, linhagem celular SH-SY5Y (**Figura 26**).

Figura 26. Imagens das células nas placas de 96 poços.



Fonte: A autora (2025).

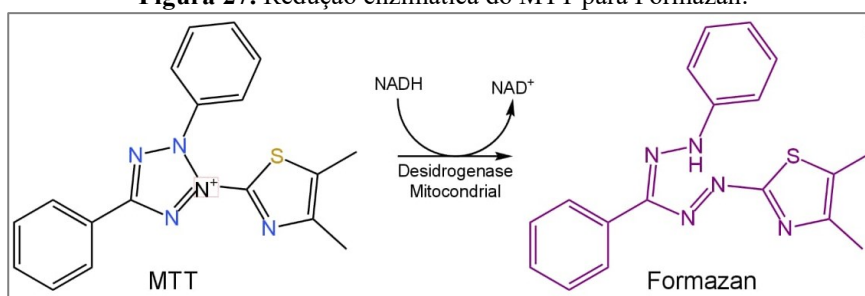
As células de neuroblastoma foram semeadas em placas de 96 poços à densidade de 5×10^4 células por poço. Após o período de incubação de 48 horas para estabilização/aderência das células, o meio antigo foi descartado e em seguida foi realizado o tratamento com as amostras 6F, 9I, 10J, 13M, 16P e 20T, adicionando-as nos poços nas diferentes concentrações: 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,1, 1,6, 0,8 e 0,4 $\mu\text{g/mL}$. As concentrações testadas foram preparadas de tal forma que a concentração de DMSO, utilizado para solubilizar as amostras, fosse menor que 2% no poço. As células com o tratamento das amostras foram incubadas por mais 24 horas e após esse período, todo o meio antigo foi novamente descartado e depois foi adicionado 50 μL de solução MTT em cada poço da placa e incubado por 4 horas. Concluído o tempo de incubação, as células foram avaliadas em microscópio para analisar a formação de cristais de formazan, logo após, o meio foi trocado por

150 μ L de solução de isopropanol acidificado que foi homogenizado na placa até os cristais serem totalmente dissolvidos e os poços contendo células viáveis mudarem da cor amarela para roxo/ violeta intenso.

O teste do MTT vem substituindo metodologias tradicionais, como contagem manual de células ou formação de colônias, em experimentos de larga escala, quando centenas ou até mesmo milhares de amostras são testadas (Ali-Boucetta *et al.*, 2011; Gasque *et al.*, 2014; Riss *et al.*, 2016; Kuete *et al.*, 2017). O teste do MTT (3-(4,5- dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina) é um ensaio colorimétrico mundialmente conhecido, inicialmente descrito por Mosman (1983) e Alley (1988) é utilizado para medir a atividade metabólica celular por meio da avaliação da viabilidade e toxicidade celular. Também é possível medir a quantidade de apoptose ou necrose causada pelo material testado.

Em sua dissertação, Ferreira (2010) esclarece no que consiste o ensaio e como ele se relaciona com a citotoxicidade. Neste ensaio o sal tetrazólico MTT ([3-dimetiltiazol-2-il) - 2,5-difeniltetrazóliobrometo]), de cor amarela, é acumulado nas células por endocitose e, uma vez no interior das células é metabolizado essencialmente pela enzima mitocondrial succinil desidrogenase que provoca a redução do anel tetrazólico deste sal, resultando na formação de cristais de formazan ((E,Z)-5-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-1,3-difenilformazan) (**Figura 27**). Posteriormente, estes cristais são acumulados em compartimentos endossomais e/ou lipossomais, sendo liberado depois no meio extracelular por exocitose. Devido os cristais serem produto da metabolização celular do MTT somente as células vivas e viáveis são capazes de realizar a conversão e devido a isto é possível avaliar o grau de citotoxicidade e viabilidade celular por este teste (Zabeu *et al.*, 2022).

Figura 27. Redução enzimática do MTT para Formazan.



Fonte: A autora (2025), baseado em Kuete *et al.* (2017).

A intensidade da cor púrpura é diretamente proporcional ao número de células e, portanto, indica a quantidade de células vivas (Araújo *et al.*, 2008; Ali-Boucetta *et al.*, 2011; Bahuguna *et al.*, 2017). Posteriormente, foi medida a absorbância em espectrofotômetro para microplacas TP-Reader, Biogenic Scientific Product a 570nm onde se avalia a viabilidade das

células. Os resultados foram expressos como porcentagem de células viáveis comparadas ao controle positivo (100% viabilidade, apenas células cultivadas em meio completo) e controle do solvente (célula com 2% DMSO, v/v), usando a equação:

$$\% \text{ de células viáveis} = \left[\frac{(\text{Absorbância do tratamento} - \text{Branco do extrato})}{(\text{Controle 100\% de viabilidade} - \text{Branco do solvente})} \right] * 100$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 OBTENÇÃO DO LCC

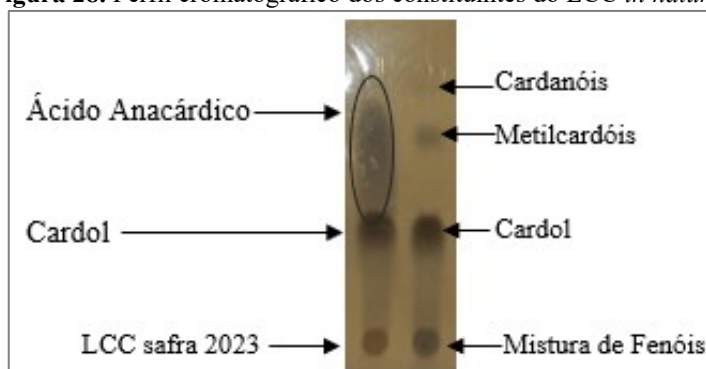
A utilização de método extrativo em Soxhlet, para obtenção do LCC *in natura*, mostrou-se eficiente, apesar de fornecer quantidades de LCC um pouco abaixo dos valores relatados na literatura (Kumar *et al.*, 2002; Paramashivappa *et al.*, 2001), correspondendo a 17,5% em massa do fruto ou 25% em relação a massa das cascas (**Tabela 5**). O procedimento de extração foi acompanhado por CCD e comparado a uma mistura de fenóis sintetizada em trabalhos anteriores do LITMO (**Figura 28**), sendo LCC *in natura* safra 2023 à esquerda da figura e mistura de fenóis do LCC após reação de precipitação dos ácidos anacárdicos à direita.

Tabela 5. Resultados obtidos para a extração do LCC.

Massa do fruto (g)	Massa das cascas (g)	LCC (g)
138,088	96,850	24,184
Rendimento calculado com base na massa das cascas.		

Fonte: A autora (2024).

Figura 28. Perfil cromatográfico dos constituintes do LCC *in natura*.



Fonte: A autora (2024).

Os derivados sintéticos utilizados nesse estudo foram preparados em pesquisas anteriores ao meu trabalho, por meio de reações clássicas em síntese orgânica, em geral, alquilação, nitração, oxidação (ozonólise), redução, condensações inter- e intramoleculares, amidação, e outras, sob variadas condições experimentais: temperatura ambiente, refluxo, aquecimento, acidificação, dentre outras técnicas, conforme pesquisas anteriores no LITMO.

4.2 DADOS FÍSICO-QUÍMICOS DAS 17 AMOSTRAS SELECIONADAS

Os compostos listados já haviam sido objeto de pesquisas anteriores do LITMO, sendo estes também purificados e suas estruturas confirmadas, comparando com seus dados

espectrométricos já registrados na literatura. As identificações preliminares dos compostos foram realizadas com o uso da Cromatografia da Camada Delgada (CCD), **Tabela 6**, comparando-se os fatores de retenção (R_f) com dados de pesquisas como os descritos por Resck (2005) e por Souza Filho (2014). A determinação do ponto de fusão (PF) dos compostos também foi eficaz na verificação da pureza, pois na maioria das substâncias foi obtido bons resultados, variando em no máximo 2 °C ou 3 °C. Os valores se mostraram condizentes com os dados da literatura, complementando as informações já obtidas por outras técnicas.

A caracterização estrutural dos compostos selecionados para os testes foi realizada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ^1H e ^{13}C , os espectros foram obtidos na CAIQ/UnB e resultaram em dados espectrométricos semelhantes aos encontrados na literatura e descritos por Resck (2005) e Souza Filho (2014) em seus respectivos trabalhos, onde os valores experimentais estão descritos na **tabela 6** e os espectros estão localizados na seção de anexos. Os deslocamentos químicos são expressos em δ (ppm) com referência ao TMS ($\delta = 0$ ppm), e os padrões de acoplamentos são definidos por: s (singlete), d (duplete), t (triplete), m (multiplete), dd (duplo duplete), td (triplo duplete), dt (duplo triplete) e bl (banda larga). Os referentes dados de deslocamento químico encontram-se na **tabela 6**.

Os espectros obtidos foram processados utilizando-se o programa MestReNova labs e encontram-se nos apêndices deste trabalho. As estruturas dos compostos apresentados, foram obtidos utilizando-se o programa KingDraw: Chemistry Station 2024.

Tabela 6. Dados Físico-Químicos das 17 amostras selecionadas.

Dados Físico – Químicos
Identificação do Composto /Código da amostra /R_f em cm (Hexano: Acetato de Etila) /Ponto de fusão /Principais sinais obtidos no RMN de ^1H e de ^{13}C
2-Nitro-5-pentadecilbenzeno-1,3-diol (2B): $R_f = 0,79$; PF 68 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9,50 (s, 1H), 6,25 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H), 2,53 (tt, $J = 7,9, 0,8$ Hz, 1H), 1,61 – 1,52 (m, 1H), 1,35 – 1,23 (m, 7H), 1,26 (s, 5H), 0,94 – 0,85 (m, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 154,1, 148,4, 121,9, 110,9, 34,8, 31,8, 31,6, 29,7, 29,7, 29,7, 29,6, 29,5, 29,5, 29,4, 29,4, 29,4, 22,7, 14,1.
2-Metóxi-6-pentadecilfenil)metanol (4D): $R_f = 0,24$ e $0,59$; PF 53° - 55 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,26 (s, 1H), 7,19 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 6,76 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,73 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 2,70 – 2,63 (m, 2H), 1,56 (td, $J = 15,4, 8,3$ Hz, 4H), 1,25 (s, 26H), 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 158,4, 142,8, 128,6, 127,0, 122,5, 108,2, 77,3, 76,9, 57,5, 55,6, 33,4, 32,3, 32,1, 29,8, 29,5, 22,8, 14,2.
8-(3-Propóxifenil)octanal oxima (5E): $R_f = 0,56$ e $0,64$; PF 66° - 68 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,41 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,17 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,76 – 6,69 (m, 5H), 3,91 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H), 2,56 (t, $J = 7,7$ Hz, 3H), 2,39 – 2,33 (m, 1H), 2,21 – 2,15 (m, 2H), 1,80 (h, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,60 (s, 3H), 1,47 (q, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,03 (t, $J = 7,4$ Hz, 4H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 148,6, 142,6, 141,9, 133,8, 118,5, 110,1, 104,3, 100,8, 66,7, 58,8, 25,4, 20,7, 18,8, 18,7, 18,6, 18,4, 15,9, 15,5, 14,3, 12,1.
8-(3-Etóxifenil)octanal oxima (6F): $R_f = 0,56$ e $0,64$; PF 58° - 63 °C; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,41 (t, $J = 6,1$ Hz, 1H), 7,17 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 6,76 – 6,74 (m, 1H), 6,72 (d, $J = 2,7$ Hz, 2H), 6,71 – 6,69 (m, 1H), 4,03 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 4,01 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 2,56 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,39 – 2,34 (m, 1H), 2,18 (dd, $J = 7,7, 6,1$ Hz,

1H), 1,60 (s, 2H), 1,48 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,41 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,34 – 1,32 (m, 5H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 144,0, 138,2, 137,5, 129,5, 114,2, 105,8, 99,9, 96,4, 62,3, 61,9, 48,3, 21,0, 16,4, 14,2, 11,6, 11,1, 9,9.

1,5-Dimetóxi-2-nitro-3-pentadecilbenzeno (7G): $R_f = 0,35$ e $0,71$; PF $59^\circ - 61^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6,37 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 6,32 (s, 1H), 3,84 (d, $J = 11,3$ Hz, 6H), 2,56 – 2,51 (m, 2H), 1,57 (d, $J = 11,9$ Hz, 4H), 1,25 (s, 24H), 0,88 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 161,1, 152,4, 137,5, 135,9, 105,5, 97,0, 77,2, 76,8, 56,3, 55,6, 31,9, 31,7, 30,5, 29,7, 22,7, 14,1.

5-Pentadecil-3-fenil-2H-benzo[1,3]oxazina-2,4(3H)-diona (8H): $R_f = 0,52$ e $0,73$; PF $123^\circ - 125^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,60 (s, 1H), 7,54 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,49 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 7,26 (s, 3H), 7,20 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,15 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 1,58 (s, 9H), 1,34 (d, $J = 7,5$ Hz, 3H), 1,24 (d, $J = 10,5$ Hz, 16H), 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 129,7, 128,2, 127,9, 114,7, 31,2, 29,7, 29,5, 22,7, 14,1.

N-(4-Bromofenil)-2-hidróxi-6-pentadecilbenzamida (9I): $R_f = 0,14$, $0,19$, $0,25$ e $0,40$; PF $83^\circ - 84^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8,93 (s, 0H), 7,51 (q, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,84 (dd, $J = 14,3$, $7,9$ Hz, 1H), 2,84 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 2,10 (s, 1H), 1,69 (p, $J = 7,5$ Hz, 1H), 1,36 (ddd, $J = 18,4$, $12,8$, $7,0$ Hz, 1H), 1,31 (s, 1H), 1,31 – 1,23 (m, 8H), 0,91 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 168,1, 140,6, 136,1, 132,3, 132,2, 122,12, 122, 117,9, 115,3, 34,6, 32, 29,7, 29,6, 29,6, 29,6, 29,5, 29,4, 22,7, 14,1.

4-Hidróxi-5-pentadecil-2H-cromen-2-ona (10J): $R_f = 0,09$ e $0,12$; PF $160^\circ - 162^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 3,26 (s, 8H), 3,01 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,57 – 1,49 (m, 1H), 1,33 – 1,19 (m, 10H), 0,88 – 0,82 (m, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 179,5, 164,7, 150,2, 134,7, 125,2, 122,3, 117,8, 53, 52,7, 52,3, 39, 35,9, 35,8, 33,8, 33,6, 33,5, 33,5, 33,2, 26,5, 17,8.

Benzoato de 3-pentadecilfenila (12L): $R_f = 0,38$, $0,45$, $0,61$, $0,69$, $0,82$ e $0,87$; PF $55^\circ - 56^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 8,21 (dd, $J = 8,4$, $1,3$ Hz, 1H), 7,51 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,03 (dd, $J = 7,4$, $1,1$ Hz, 1H), 2,65 – 2,61 (m, 1H), 1,66 – 1,59 (m, 1H), 1,25 (s, 10H), 0,88 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 165,3, 150,9, 144,8, 133,5, 129,2, 128,5, 126, 121,5, 118,8, 35,8, 31,9, 31,9, 31,2, 29,7, 29,7, 29,3, 22,7, 14,1.

Ácido 2-hidróxi-6-pentadecilbenzoico (13M): $R_f = 0,35$; PF $59^\circ - 61^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6,51 – 6,47 (m, 1H), 6,00 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 5,91 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 2,14 – 2,09 (m, 2H), 0,77 – 0,70 (m, 2H), 0,50 (d, $J = 8,2$ Hz, 3H), 0,38 (s, 23H), 0,02 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 163,6, 147,8, 135,4, 135,4, 122,7, 115,8, 110,4, 36,5, 32,0, 31,9, 29,8, 29,7, 29,7, 29,7, 29,6, 29,5, 29,4, 22,7, 14,1.

1,3-Dimetóxi-5-pentadecilbenzeno (14N): $R_f = 0,24$, $0,81$ e $0,86$; PF $40^\circ - 42^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6,37 (d, $J = 2,3$ Hz, 2H), 6,32 (t, $J = 2,3$ Hz, 1H), 3,81 (s, 5H), 2,59 – 2,54 (m, 2H), 1,99 (q, $J = 6,5$ Hz, 1H), 1,66 – 1,58 (m, 1H), 1,62 (s, 1H), 1,38 – 1,32 (m, 6H), 1,30 (s, 3H), 1,28 (s, 10H), 0,91 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 160,7, 145,4, 106,5, 97,5, 55,2, 36,3, 32,6, 32,6, 31,9, 31,3, 29,7, 29,7, 29,7, 29,7, 29,6, 29,5, 29,4, 29,2, 22,7, 14,1.

3-Pentadecilfenol (15O): $R_f = 0,38$, $0,74$ e $0,86$; PF $45^\circ - 47^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6,68 – 6,61 (m, 1H), 4,69 (s, 0H), 2,58 – 2,52 (m, 1H), 1,63 – 1,55 (m, 1H), 1,34 – 1,26 (m, 2H), 1,25 (s, 7H), 0,88 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 155,4, 145, 129,3, 121, 115,3, 112,4, 35,8, 31,9, 31,3, 29,7, 29,7, 29,7, 29,7, 29,6, 29,5, 29,5, 29,4, 29,3, 22,7, 14,1.

2-(Hidróximetil)-3-pentadecilfenol (16P): $R_f = 0,14$, $0,24$ e $0,47$; PF $64^\circ - 67^\circ \text{C}$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,53 (s, 0H), 6,75 (ddd, $J = 17,2$, $7,8$, $1,2$ Hz, 1H), 4,95 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H), 2,62 – 2,56 (m, 1H), 1,55 – 1,47 (m, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,34 (td, $J = 17,9$, $6,5$ Hz, 3H), 1,29 (s, 7H), 0,94 – 0,88 (m, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 156,7, 141,2, 128,9, 122,6, 121,6, 114,4, 60,1, 33,3, 31,9, 31,8, 29,7, 29,7, 29,6, 29,6, 29,5, 29,5, 29,3, 22,7, 14,1.

2-Metóxi-6-pentadecilbenzoato de metila - Mistura (17Q): $R_f = 0,56$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7,26 (d, $J = 16,0$ Hz, 5H), 6,81 (d, $J = 7,3$ Hz, 3H), 6,75 (d, $J = 8,3$ Hz, 3H), 5,39 (d, $J = 17,8$ Hz, 6H), 3,94 (d, $J = 16,1$ Hz, 2H), 3,90 (s, 9H), 3,81 (s, 9H), 2,84 – 2,77 (m, 2H), 2,77 – 2,71 (m, 3H), 2,68 (d, $J = 14,5$ Hz, 2H), 2,62 – 2,57 (m, 1H), 2,56 – 2,50 (m, 7H), 2,02 (d, $J = 5,2$ Hz, 3H), 1,96 (d, $J = 4,1$ Hz, 6H), 1,29 (d, $J = 3,6$ Hz, 20H), 1,25 (s, 11H), 0,90 – 0,85 (m, 6H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ : 169,0, 156,3, 141,4, 136,9, 131,0, 130,4, 130,3, 130,1, 123,5, 121,7, 114,9, 108,4, 36,7, 32,6, 31,9, 31,8, 31,1, 29,8, 29,1, 27,2, 22,7, 14,1.

1,3-Dimetóxi-5-pentadecilbenzeno - Mistura (18 R): $R_f = 0,20, 0,67, 0,77$ e $0,88$; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 6,37 (s, 2H), 6,32 (s, 1H), 3,81 (s, 6H), 2,56 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 1,28 (s, 2H), $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 160,7, 130,0, 127,6, 106,5, 97,6, 55,2, 36,2, 31,3, 29,2, 27,2, 25,6.

3-Pentadecifenol - Mistura (20 T): $R_f = 0,09, 0,28$ e $0,35$; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7,16 (t, $J = 7,7$ Hz, 3H), 6,77 (d, $J = 7,7$ Hz, 3H), 6,70 – 6,65 (m, 6H), 5,40 – 5,34 (m, 3H), 3,75 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 2,58 (t, $J = 7,7$ Hz, 6H), 2,04 (q, $J = 6,7$ Hz, 6H), 1,61 (d, $J = 7,7$ Hz, 7H), 1,33 (d, $J = 1,7$ Hz, 24H), 1,31 – 1,25 (m, 16H), 0,96 – 0,86 (m, 8H), $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 155,5, 144,9, 130,4, 129,8, 129,4, 127,6, 126,8, 120,9, 115,3, 112,5, 35,8, 31,9, 31,8, 31,5, 31,3, 29,4, 29,2, 27,2, 25,6, 22,7, 22,7, 14,1.

1-Metóxi-3-pentadecilbenzeno - Mistura (21 U): $R_f = 0,77$ e $0,91$; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 6,80 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,75 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,75 (q, $J = 7,0$ Hz, 1H), 2,63 – 2,57 (m, 2H), 1,28 (s, 13H), 1,27 (d, $J = 7,1$ Hz, 4H), 0,91 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 159,6, 144,7, 129,1, 120,9, 114,2, 110,8, 58,5, 55,1, 36,1, 31,9, 31,4, 29,7, 29,7, 29,6, 29,5, 29,4, 22,7, 18,5, 14,1.

Fonte: LITMO (2024).

4.3 DETERMINAÇÃO DA INIBIÇÃO ENZIMÁTICA FRENTE A ACETILCOLINESTERASE

No presente estudo, 17 amostras foram selecionadas e investigadas quanto à capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase a 200 $\mu\text{g/mL}$, e foram comparados ao padrão fisostigmina 20,0 $\mu\text{g/mL}$ e ao padrão da galantamina a 1,0 $\mu\text{g/mL}$ (**Figura 29**). O bromidrato de galantamina, controle positivo para este ensaio, alcançou IC_{50} de $0,16 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$ (0,56 μM). As estruturas das referidas amostras da figura 29 aparecem logo abaixo da mesma. A atividade é expressa em porcentagem (%). Os resultados representam os valores da média ($n=3$) $\pm$ desvio-padrão ($p < 0,05$) em triplicata.

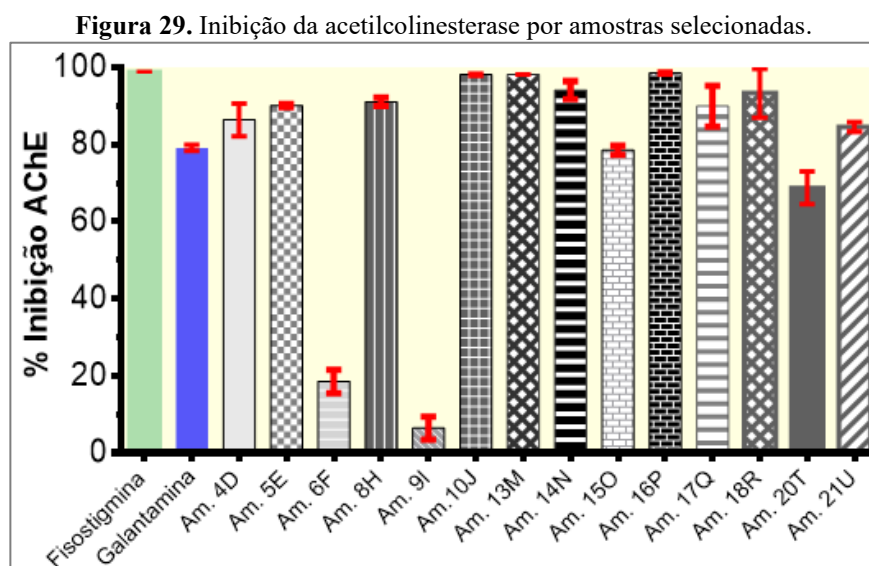
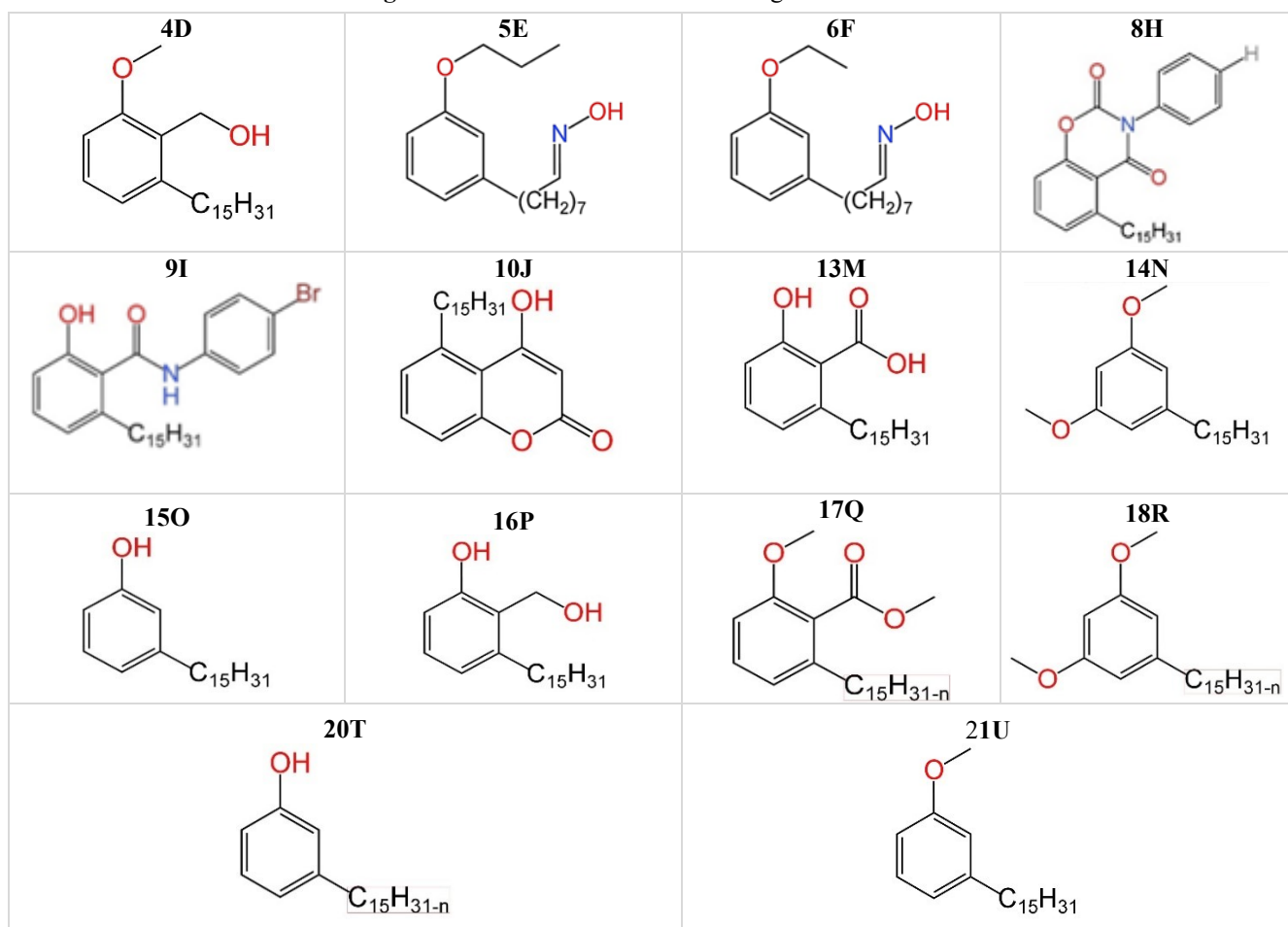


Figura 30. Amostras selecionadas da figura 29.



Fonte: A Autora (2024), KingDraw: Chemistry Station.

Os compostos e derivados do LCC obtidos a partir da casca da castanha do caju foram capazes de inibir a enzima acetilcolinesterase de maneira dependente da concentração. Entretanto, dentre as amostras selecionadas, a amostra **6F** e **9I** foram menos ativas, apresentando, respectivamente, 24% e 6% de inibição. As amostras **10J** e **13M** foram as mais ativas com 98% de inibição, assemelhando-se significativamente ao padrão da Fisostigmina, cuja atividade foi de 98,95% e sendo superior ao padrão de bromidato de galantamina com atividade de 80%. As amostras que apresentaram atividade de inibição superior a 60% a 200 µg/mL, foram avaliadas em diferentes concentrações para construção das curvas dose x resposta, possibilitando a obtenção do IC₅₀.

Todavia, devido a baixa solubilidade das amostras **2B**, **7G**, **12L** em etanol, foi necessário adicionar DMSO à solução de EtOH, visando solubilizar os compostos e permitir a realização dos testes utilizando os solventes adequados para o método. Porém, ao realizar a curva do controle positivo e dos solventes foi observado que a mistura de solventes DMSO:EtOH (0,5% v/v de DMSO em 1 mL de solução) geraram interferência significativa na

leitura da absorbância, uma vez que a mesma também causou inibição da atividade da enzima AChE (**Figura 31**). Ao testar a inibição da AChE nas concentrações superiores a 12,5 µg/mL para as amostras **2B**, **7G**, **12L**, notou-se essa interferência da mistura de solventes, já em concentrações menores que 12,5 µg/mL, onde o solvente não causou interferência as taxas de inibição para as amostras **2B**, **7G**, **12L**, foram baixas. Ao analisar os resultados de inibição para estas amostras, nas concentrações mais altas, não foi possível identificar com exatidão que os dados obtidos foram de fato gerados pela inibição derivada exclusivamente das amostras ou somente pelos solventes ou ainda pela junção de ambos. As estruturas das referidas amostras da **Figura 31** aparecem logo abaixo da mesma. A atividade é expressa em porcentagem (%). Os resultados representam os valores da média ($n=3$) $\pm$ desvio-padrão ($p < 0,05$) em triplicata.

Figura 31. Inibição da acetilcolinesterase por amostras selecionadas a 200 µg/mL em comparação ao padrão fisostigmina a 20,0 µg/mL, ao padrão galantamina a 1,0 µg/mL e as misturas de solventes.

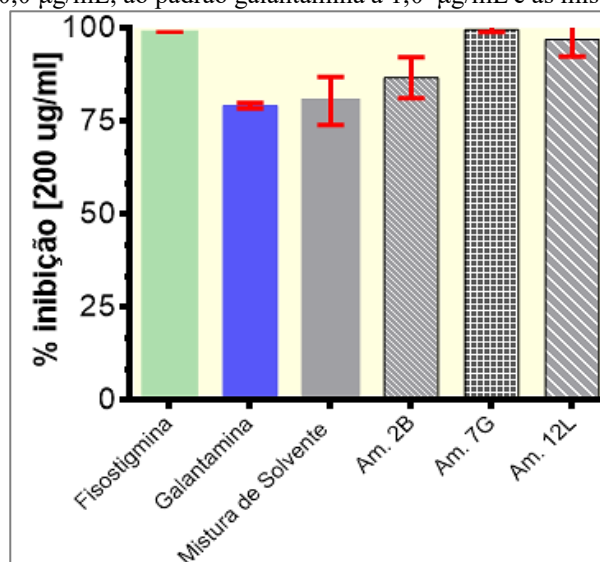
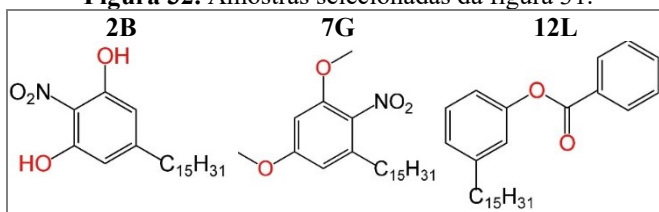


Figura 32. Amostras selecionadas da figura 31.



4.3.1 IC₅₀ PARA AS 17 AMOSTRAS SELECIONADAS FRENTE A ACHE

As concentrações foram avaliadas de forma que a concentração necessária para 50% da atividade máxima inibitória (IC₅₀) fosse calculada, sendo possível analisar sua eficácia na função biológica ou bioquímica da inibição. Os valores foram expressos como média $\pm$ desvio padrão e comparados por meio de regressão não linear. Valores de p menores que 0,05

foram considerados como diferença significativa. As análises estatísticas foram realizadas no GraphPad Prism®, versão 6.0. Entretanto, devido o teste ser realizado em triplica de amostra para a maioria das amostras o IC₅₀ apresentou desvio padrão alto, sendo necessário realizar o teste de inibição da AChE em triplica biológica para diminuir este desvio e apenas as amostras **6F, 9I, 10J, 13M, 16P e 20T** foram testadas em triplicata biológica.

Para as amostras **4D, 5E, 8H, 12L, 14N, 15O, 16P, 17Q, 18R e 21U** foram construídas curvas Dose x Resposta com as suas concentrações variando de 200 até 0,20 µg/mL. Para obter o IC₅₀ das amostras **10J e 13M**, as concentrações variaram de 4,00 até 0,0625 µg/mL. Não foi possível calcular o IC₅₀ para as amostras **2B, 7G, 12L** devido a interferência do solvente. Os resultados estão representados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Compostos com capacidade de inibição da acetilcolinesterase.

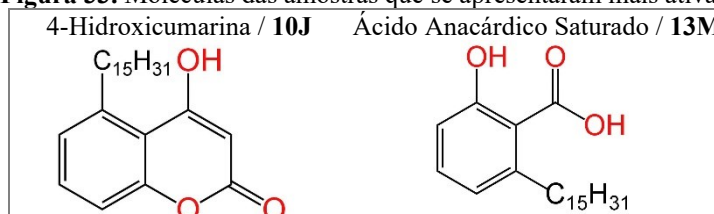
Nome do composto/ Código de identificação	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µM)
Álcool metil éter anacárdico saturado / 4D	80,04 ± 72,19	229,80 ± 207,26
Propil-oxima do cardanol / 5E	58,86 ± 53,69	212,34 ± 193,69
Benzoxazina do ácido anacárdico / 8H	53,44 ± 53,72	118,94 ± 119,57
4-Hidroxycumarina /10J	0,83 ± 0,07	2,23 ± 0,19
Ácido anacárdico saturado /13M	0,935 ± 0,003	2,68 ± 0,08
Dimetil cardol saturado / 14N	64,45 ± 67,09	185,04 ± 192,62
Cardanol saturado / 15O	8,07 ± 7,68	26,52 ± 25,24
Álcool do ácido anacárdico saturado / 16P	31,75 ± 0,33	94,98 ± 1,01
Dimetil éster do ácido anacárdico insaturado / 17Q	24,97 ± 26,74	66,31 ± 71,01
Dimetil cardol insaturado / 18R	48,47 ± 50,78	139,16 ± 145,79
Cardanol insaturado / 20T	44,81 ± 1,07	147,26 ± 3,51
Cardanol saturado metilado / 21U	56,21 ± 53,59	176,60 ± 168,37
Galantamina	0,16 ± 0,01	0,56 ± 0,03

Os valores de IC₅₀ estão expressos como o valor médio ± desvio padrão

Fonte: A Autora (2024).

A eficácia da inibição da amostra frente a AChE é expressa pela avaliação de seu IC₅₀. Portanto, quanto mais próximo a concentração desta amostra no seu IC₅₀ estiver do valor de concentração do IC₅₀ da galantamina e/ ou do IC₅₀ da fisostigmina, maior será a sua eficiência na inibição, como o caso das amostras **10J e 13M (Figura 33)** (comparadas ao IC₅₀ da galantamina).

Figura 33. Moléculas das amostras que se apresentaram mais ativas.

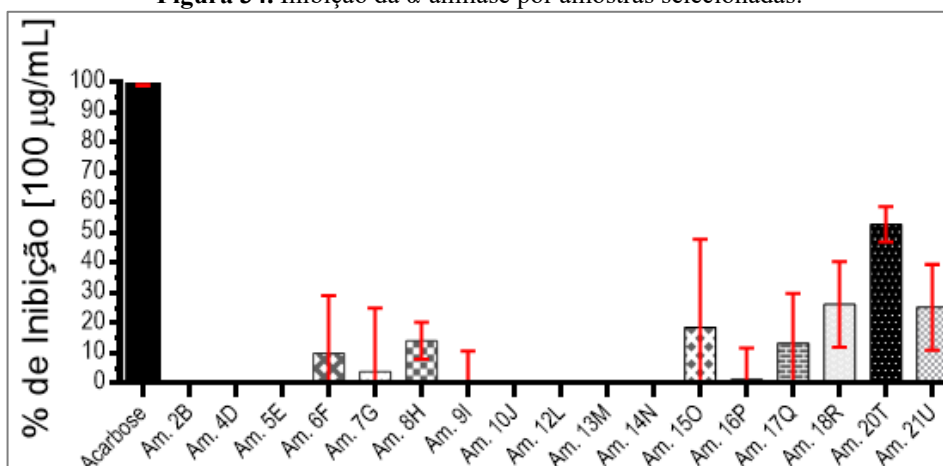


Fonte: A autora (2024), KingDraw: Chemistry Station.

4.3.2 INIBIÇÃO ENZIMÁTICA DAS AMOSTRAS FRENTE A α -AMILASE

As amostras foram submetidas ao ensaio de atividade de inibição enzimática da α -amilase, com concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ e foram comparadas ao padrão de acarbose a 62,5 $\mu\text{g/mL}$ (**Figura 34**) inibidor da α -amilase já conhecido pela literatura. A atividade é expressa em porcentagem (%). Os resultados representam os valores da média ($n=3$) $\pm$ desvio-padrão em triplicata

Figura 34. Inibição da α -amilase por amostras selecionadas.



Fonte: A autora (2024).

Dentre os compostos testados, nenhum apresentou o valor de inibição superior a 55%, se distanciando bastante do padrão acarbose cuja atividade foi de (99,1%). Para substâncias isoladas a concentração máxima indicada pela literatura é de 200 μM , valores superiores podem causar diversas interferências no teste como saturação do inibidor, toxicidade, reações secundárias indesejadas, interferência na quantificação, baixa solubilidade dos compostos, efeito de retroalimentação, comprometendo a confiabilidade dos resultados. Desta forma, os resultados de inibição enzimática da α -amilase obtidos no presente estudo foram considerados não promissores para continuar a avaliação dos compostos em diferentes concentrações para obtenção da curva dose x resposta, face as baixas taxas de inibição e os possíveis efeitos adversos que poderiam ser causados pelo aumento da concentração das soluções das amostras.

4.4 CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA SH-SY5Y

Devido a dificuldade em cultivar as células SH-SY5Y, a baixa qualidade do lote adquirido e a demanda por outros acadêmicos, foi obtida uma pequena quantidade de células e apenas 5 amostras foram selecionadas para o teste, a saber: **6F**, **9I**, **13M**, **16P** e **20T**. As

amostras foram testadas quanto à citotoxicidade em células, todos os ensaios foram conduzidos em triplicata simples e os resultados foram analisados pelo valor médio da viabilidade celular $\pm$ desvio padrão e também pelo coeficiente de variação. As análises estatísticas foram feitas utilizando a planilha do Microsoft Excel.

Como mostrado na **Tabela 8**, em algumas concentrações específicas, duas amostras apresentaram coeficiente de variação e desvio padrão $<15\%$, a etil-oxima do cardanol (**6F**) e o álcool do ácido anacárdico saturado (**16P**), demonstrando baixa ou nula toxicidade para essas concentrações, considerando uma viabilidade de 50-80% como sendo uma amostra de baixa toxicidade, e viabilidade de 81-100% sendo uma amostra sem toxicidade. É importante salientar que tais dados remetem apenas a uma aproximação da citotoxicidade destes compostos, sendo necessário realizar o teste em triplicata biológica.

Tabela 8. Amostras e sua viabilidade celular média.

Amostras	Concentração (μM)	Média da viabilidade (%)	Desvio Padrão, deve ser $<15\%$	Coeficiente de Variação (%), deve ser $<15\%$
Etil-oxima do cardanol (6F)	41,08	61,4	5,95	9,69
Álcool do ácido anacárdico (16P)	164,32	52,4	6,26	11,94
	82,16	68,5	9,59	14,00
	41,08	94,9	12,19	12,84
	1,28	74,9	4,14	5,52

Fonte: A Autora (2025).

Os demais resultados obtidos apresentaram o coeficiente de variação elevado, superior a 20%, sendo que para a interpretação de resultados aceitáveis e com boa reprodutibilidade o ideal seria valores $<15\%$. Por apresentarem alta variação não foi possível elaborar a curva dose-resposta para calcular o IC_{50} , inviabilizando calcular qual concentração as substâncias testadas resultariam na morte de metade das células viáveis ou perda da sua atividade metabólica, sendo necessário repetir o teste em triplicata biológica para cada amostra buscando diminuir as interferências causadas pelos erros.

Apesar disto, foi demonstrado que é possível realizar o teste de citotoxicidade com a linhagem celular SH-SY5Y utilizando amostras derivadas do LCC, pois quando testadas em variadas concentrações, até mesmo na concentração máxima indicada pela literatura, os compostos não causaram a morte total e imediata das células.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a viabilidade de pesquisas baseadas nos lipídeos fenólicos do LCC, uma matéria abundante no país e de baixo valor econômico, visando agregar valor sob o ponto de vista sintético e do potencial biofarmacológico.

Os ensaios realizados para investigar a inibição enzimática dos lipídeos fenólicos do LCC e derivados sintéticos forneceram resultados muito promissores quanto a ação inibitória para a Acetilcolinesterase. Para essas amostras, os ensaios de inibição da α -Amilase não se mostraram promissores.

A alta atividade inibitória para a enzima Acetilcolinesterase e baixa e/ou nula atividade inibitória para a α -Amilase mostra a seletividade dessas moléculas para a acetilcolinesterase, característica que pode ser grande aliada para que esses componentes interajam apenas com as moléculas alvo desejadas.

Em relação aos testes de citotoxicidade em células de neuroblastoma humano SH-SY5Y não foi possível obter o IC₅₀ das amostras devido a alta variação e dispersão dos valores de porcentagem da viabilidade celular, comprometendo a exatidão e precisão da análise da citotoxicidade destes compostos derivados do LCC, sendo necessário realizar o teste em triplicata biológica.

Os avanços descritos nessa pesquisa abrem a perspectiva para novas pesquisas e ensaios adicionais que poderão levar a descoberta de novas entidades químicas alternativas para o tratamento da doença de Alzheimer (DA). Porém, o mesmo raciocínio não se aplica a doenças metabólicas, tais como diabetes e obesidade.

Essas descobertas ressaltam a importância de se explorar os compostos presentes no LCC *in natura* e seus derivados, em pesquisas visando uma investigação acerca da toxicidade, antioxidantes e testes em células, interessantes para as áreas de química, farmácia e medicina.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, D. La enfermedad de Alzheimer, diagnóstico y tratamiento: una perspectiva latinoamericana. **México: Editorial Médica Panamericana**, 2011. 132 p. ISBN 6077743194.
- ADETOGUN, A. C.; ADEGEYE, O. A. Avaliação in vitro do líquido da casca da castanha de caju (LCC) como fungicida contra basidiomicetos que apodrecem a madeira. **Moor Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 1, p. 131-134, 2003.
- ALAGESAN, K.; RAGHUPATHI, P. K.; SANKARNARAYANAN, S. Amylase inhibitors: potential source of anti-diabetic drug discovery from medicinal plants. **International Journal of Pharmaceutical Life Sciences**, v. 3, n. 2, 2012.
- ALI-BOUCETTA, H.; AL-JAMAL, K. T.; KOSTARELOS, K. Cytotoxic assessment of carbon nanotube interaction with cell cultures. **Biomedical Nanotechnology**, v. 726, p. 299-312, 2011.
- ALLEY, M. C. *et al.* Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer research**, v. 48, n. 3, p. 589-601, 1988.
- AMORATI, R. *et al.* Síntese de novos derivados de cardanol e cardol por reações de alilação e ciclocarbonilação regioselectiva. **Synthesis**, n. 18, p. 2749-2755, 2002.
- AMORATI, R. *et al.* Amphiphilic antioxidants from “cashew nut shell liquid”(CNSL) waste. **Organic & biomolecular chemistry**, v. 9, n. 5, p. 1352-1355, 2011.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 10835-10847, 2013.
- ANAND, P.; SINGH, B. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, n. 4, p. 375-99, 2013.
- ANDRADE, J. P. *et al.* The Brazilian *Amaryllidaceae* as a source of acetylcholinesterase inhibitory alkaloids. **Phytochemistry Reviews**, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2016.
- ARAÚJO, C. R. F. *et al.* Atividade antifúngica in vitro da casca do *Anacardium occidentale* linn. sobre leveduras do gênero candida. **Arquivos em odontologia**, p. 263-270, 2005.
- ARAÚJO, S. A. C. *et al.* Avaliação in vitro da atividade citotóxica de drogas antivirais em fibroblastos caprinos. **Ciência Animal**, v. 18, p. 25-31, 2008.
- 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.

ATANASOVA, M. *et al.* Galantamine derivatives with indole moiety: docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 17, p. 5382-5389, 2015.

ATTANASI, O. A. *et al.* Synthesis of fullerene-cardanol derivatives. **Synlett**, n. 5, p. 799-802, 2004.

ATTANASI, O. A. *et al.* Synthesis of novel lipophilic porphyrin-cardanol derivatives. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 8, n. 11, p. 1276-1284, 2004.

ATTANASI, O. A. *et al.* Síntese e reações de derivados nitro de cardanol hidrogenado. **Tetrahedron**, v. 62, n. 25, p. 6113-6120, 2006.

ATTANASI, O. A. *et al.* Síntese e caracterização de novas fulleropirrolidinas baseadas em cardanol. **Arkivoc**, v. 8, p. 69-84, 2009.

AVELLAR, I. G. J.; GODOY, K.; MAGALHÃES, G. C.; Novos sais de amônio quaternário derivados do cardanol e seu uso como catalisador de transferência de fase. **Revista da Sociedade Brasileira de Química**, v. 11, p. 22-26, 2000.

BAHUGUNA, A. *et al.* MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 115-118, 2017.

BALACHANDRAN, V. S. *et al.* **Chemical Society Reviews**, p. 1460, 2012.

BALACHANDRAN, V. S. *et al.* Recent advances in cardamom chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. **The Royal Society of Chemistry**, v. 42, p. 427- 438, 2013.

BALGUDE, D.; SABNIS, A.S. CNSL: an environment friendly alternative for the modern coating industry. **Journal of Coatings Technology and Research**, v. 11, n. 2, p. 169-183, 2014.

BEART, P. *et al.* Doenças neurodegenerativas: Patologia, mecanismos e potenciais alvos terapêuticos. **Springer**, 2017.

BERNFELD, P. Amylases, α and β . **Methods in Enzymology**, v. 1, p. 149-158, 1955.

BRAINER, M. S. C. P. **Cajucultura**. 2022.

BRUCE, I. E. *et al.* Anionic surfactants synthesised from replenishable phenolic lipids. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 12, n. 4, p. 337-344, 2009.

CAILLOL, S. Cardanol: a promising building block for biobased polymers and additives. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 14, p. 26-32, 2018.

CARVALHO, A. L. N. *et al.* Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 135, n. 3, p. 730-736, 2011.

CASTILLO-ORDOÑEZ, W. O. **Avaliação dos efeitos neuroprotetores do extrato etanólico de Caliphurria subdentata e o fármaco galantamina em células indiferenciadas SH-SY5Y expostas ao peptídeo beta-amiloide(1-42)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2016.

CASTILLO, W. O. *et al.* Caliphurria subdentata (*Amaryllidaceae*) decreases genotoxicity and cell death induced by β -amyloid peptide in SH-SY5Y cell line. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 836, p. 54-61, 2018.

CHAKRABARTI, R.; RAJAGOPALAN, R. Diabetes and insulin resistance associated disorders: Disease and the therapy. *Current science*, p. 1533-1538, 2002.

CHEIGNON, C. *et al.* Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. **Redox Biology**, v. 14, p. 450-464, 2018.

CHEUNG, Y. T. *et al.* Efeitos do ácido all-trans-retinóico no neuroblastoma SH-SY5Y humano como modelo in vitro em pesquisa de neurotoxicidade. **Neurotoxicology**, v. 30, n. 1, p. 127-135, 2009.

CHIASSON, J. L. *et al.* Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. **The Lancet**, v. 359, n. 9323, p. 2072-2077, 2002.

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M.; DIAS, B. **Tecnologia enzimática**- Rio de Janeiro: FAPERJ; Petrópolis, RJ: EPUB, p. 264, 2008.

COLOVIC, M. B. *et al.* Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 315-335, 2013.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de *anacardiaceae*. **Química Nova**, v. 29, p. 1287 -1300, 2006.

CORTES, N. *et al.* Neuroprotective activity and acetylcholinesterase inhibition of five Amaryllidaceae species: a comparative study. **Life Sciences**, v. 122, p. 42-50, 2015.

DE ABREU SILVA, M. *et al.* Modelagem molecular de inibidores de AChE derivados de cardanol. **Chemical Physics Letters**, v. 731, p. 136591, 2019.

DE AVELLAR, I. G. J.; GODOY, K.; MAGALHÃES, G. C. New quaternary ammonium salts derived from cardanol and their use as phase transfer catalyst. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, p. 22-26, 2000.

DE CASTRO, A. C. R.; VASCONCELOS, L. F. L. **Bancos genéticos de *Anacardium* (caju e cajuí)**. 2021.

DE MEDEIROS, L. M. *et al.* Diferenciação colinérgica da linhagem celular de neuroblastoma humano SH-SY5Y e seu uso potencial como modelo in vitro para estudos da doença de Alzheimer. **Molecular neurobiology**, v. 56, p. 7355-7367, 2019.

DELATORRE, A. B. *et al.* Microrganismos termofílicos e enzimas termoestáveis de importância comercial. **Perspectivas OnLine**, v. 4, n. 16, 2014.

DEL SOLE, R. *et al.* Third International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines, New Orleans, Estados Unidos, 2004.

DE PAULA, A. A. N. *et al.* New potential AChE inhibitor candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3754 - 3759, 2009.

DE SOUZA, M. Q. *et al.* Avaliação molecular da atividade anti-inflamatória do lipídio fenólico extraído do líquido da casca da castanha de caju (LCC). **BMC complementary and alternative medicine**, v. 18, p. 1-11, 2018.

DUNCAN, B. B. *et al.* **Medicina ambulatorial: condutas de atenção primária baseadas em evidências**. Artmed Editora, 2022.

DURRANI, A. A. *et al.* Fenóis de cadeia longa. Parte 231 separações práticas dos fenóis componentes em líquido técnico de casca de castanha de caju (*Anacardium occidentale*): Procedimentos de destilação para obtenção de cardanol. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 32, n. 7-12, p. 681-690, 1982.

ELLMAN, G. L. *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

FAÇANHA, M. A. R. *et al.* Avaliação das propriedades antioxidantes de um composto de cardanol fosforado em óleos minerais (NH₁₀ e NH₂₀). **Fuel**, v. 86, n. 15, p. 2416-2421, 2007.

FARIAS, D. F. *et al.* **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 25, p. 386, 2009.

FAWOLE, O. A. *et al.* Anti-inflammatory, anticholinesterase, antioxidant and phytochemical properties of medicinal plants used for pain-related ailments in South Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 235-241, 2010.

FENNER, R. *et al.* Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 369-394, 2006.

FERREIRA, P. S. **Neurotoxicidade da "Ectasy" e dos seus metabolitos em células humanas dopaminérgicas SH-SY5Y**. Tese de Mestrado. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal. 2010.

FOLEY, P. *et al.* Derivação e síntese de surfactantes renováveis. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1499-1518, 2012.

FORSTER, J. I. *et al.* Caracterização de SH-SY5Y diferenciado como modelo de triagem neuronal revela maior vulnerabilidade oxidativa. **Journal of biomolecular screening**, v. 21, n. 5, p. 496-509, 2016.

FREITAS, L. S.; MARTINS, E. S.; FERREIRA, O. E. Produção e caracterização parcial de α -amilase de *Syncephalastrum racemosum*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n. 4, p. 226-232, 2014.

FREITAS, T. V. **Síntese de derivados 2-Benzil-quinona e 4-Fenil-1,3-dioxolano planejados a partir dos lipídeos fenólicos não-isoprenoides do LCC**. 2014. xxi, 139 f., il. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

GARGANO, R. *et al.* Desenhos de novos compostos com potencial atividade biológica. **Revista Processos Químicos**, v. 5, p. 9-24, 2011.

GASQUE, K. C. S. *et al.* Cell density and solvent are critical parameters affecting formazan evaluation in MTT assay. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 3, p. 381-385, 2014.

GOKE, B.; HERRMANN-RINKE, C. The evolving role of α -glucosidase inhibitors. **Diabetes/metabolism reviews**, v. 14, n. S1, p. S31-S38, 1998.

GOMES, J. V. D. **Estudo químico e biológico de *crinum americanum* L. (amaryllidaceae)**. Tese de Doutorado. Faculdade Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasil. 2020.

GONZAGA, W. A. **Preparação e avaliação farmacológica de derivados dos lipídios fenólicos do líquido da casca da castanha de caju**. 2010.

GUO, Y. C. *et al.* Synthesis of new meso-tetraarylporphyrins bearing cardanol and further transformation of the unsaturated chains. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 10, n. 08, p. 1071-1079, 2006.

GYÉMÁNT, Gyöngyi *et al.* Inibição da α -amilase salivar humana por glucopiranosilideno-espiro-tio-hidantoína. **Comunicações de pesquisa bioquímica e biofísica**, v. 312, n. 2, p.

334-339, 2003.

HA, T. J.; KUBO, I. Lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4350-4354, 2005.

HANSEN, R. A. *et al.* Efficacy and safety of donepezil, galantamine, and rivastigmine for the treatment of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Interventions in Aging**, v. 3, n. 2, p. 211-225, 2008.

IMBROSI, D. D. O.; ARAÚJO, C. R. M. Progressos na síntese de análogos da rivastigmina a partir do líquido da castanha e caju (LCC). **Sociedade Brasileira de química**, 2006.

JIN, A. *et al.* Four new compounds from the bulbs of *Lycoris aurea* with neuroprotective effects against CoCl_2 and H_2O_2 -induced SH-SY5Y cell injuries. **Archives of pharmacal research**, v. 37, p. 315-323, 2014.

JORGE, M. R. **Síntese, caracterização e aplicação de sulfonatos e emulsões de LCC técnico e cardanol para controle de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. 2018. Tese de Doutorado. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Universidade da Grande Dourados (UFGD).

KAHN, S. E. *et al.* Fraturas associadas à rosiglitazona no diabetes tipo 2: uma análise de um estudo de progressão de desfechos de diabetes (ADOPT). **Diabetes care**, v. 31, n. 5, p. 845-851, 2008.

KIAMETIS, A. S. *et al.* Potenciais inibidores de acetilcolinesterase: acoplamento molecular, dinâmica molecular e predição in silico. **Journal of molecular modeling**, v. 23, p. 1-10, 2017.

KIAMETIS, A. S. *et al.* Derivados do ácido anacárdico como potenciais inibidores da acetilcolinesterase. **Revista Processos Químicos**, p. 248, 2015.

KIONG, L. S.; TYMAN, J. H. P. Long-chain phenols. Part 18. Conversion of anacardic acid into urushiol. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, p. 1942-1952, 1981.

KISHORE, H. A. *et al.* Specific small-molecule activator of Aurora kinase A induces autophosphorylation in a cell-free system. **Journal of medicinal chemistry**, v. 51, n. 4, p. 792-797, 2008.

KOVALEVICH, J.; LANGFORD, D. Considerações para o uso de células de neuroblastoma SH-SY5Y em neurobiologia. **Cultura de células neuronais: métodos e protocolos**, p. 9-21, 2013.

KRISHTAL, J. *et al.* A fibrilação in situ de beta-amiloide 1-42 induz degeneração de neuritos

e apoptose de células SH-SY5Y diferenciadas. **PloS one**, v. 12, n. 10, p. e0186636, 2017.

KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA, M. Structure-Antibacterial activity relationships of anacardic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p.1016–1019, 1993.

KUBO, I. *et al.* Agentes citotóxicos multifuncionais de *Anacardium occidentale*. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 1, p. 38-45, 2011.

KUDI, A. C. *et al.* Triagem de algumas plantas medicinais nigerianas para atividade antibacteriana. **Journal of ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 225-228, 1999.

KUETE, V.; KARAOSMANOĞLU, O.; SIVAS, H. Anticancer activities of African medicinal spices and vegetables. **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**, p. 271–297, 2017.

KUMAR, P. P. *et al.* Processo para isolamento de cardanol do líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) técnica. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4705-4708, 2002.

KWON, Y. I.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. J. B. T. Estudos in vitro de fenólicos de berinjela (*Solanum melongena*) como inibidores de enzimas-chave relevantes para diabetes tipo 2 e hipertensão. **Bioresource technology**, v. 99, n. 8, p. 2981-2988, 2008.

KWON, S.-H. *et al.* 3', 4', 7-Trihydroxyflavone previne a morte celular apoptótica em células neuronais devido ao estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio. **Food and Chemical Toxicology**, v. 80, p. 41-51, 2015.

LAAR, F. A. *et al.* Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus (Cochrane Review). In: **The Cochrane Library**. 2008

LI, X. *et al.* Neuroprotective compounds from the bulbs of *Lycoris radiata*. **Fitoterapia**, v. 88, p. 82-90, 2013.

LIU, QIANG. *et al.* A novel nicotinic mechanism underlies β -amyloid-induced neurotoxicity. **Neuropharmacology**, v. 97, p. 457-463, 2015.

LÓPEZ, S. *et al.* Acetylcholinesterase inhibitory activity of some *Amaryllidaceae* alkaloids and *Narcissus* extracts. **Life Sciences**, v. 71, p. 2521-2529, 2002.

MAELICKE, A. *et al.* Allosteric sensitization of nicotinic receptors by galantamine, a new treatment strategy for Alzheimer's disease. **Biological Psychiatry**, v. 49, n. 3, p. 279-288, 2001.

MARQUES, S. J. P.; DA CUNHA, M. E. T. Produção de álcool combustível utilizando

milho. **Cient. Exatas Tecnol.**, v. 7, n. 1, p. 45-51, 2008.

MARSHALL, J. J.; LAUDA, C. M. Purification and properties of phaseolamin, an inhibitor of alpha-amylase, from the kidney bean, *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 250, n. 20, p. 8030-8037, 1975.

MAZZETTO, S. E. **Relatório de Pós-doutorado**. Università Degli Studi Di Lecce, Itália. 2002.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química nova**, v. 32, pág. 732-741, 2009.

MELE, G. *et al.* TiO₂ policristalino impregnado com porfirinas à base de cardanol para a degradação fotocatalítica de 4-nitrofenol. **Green Chemistry**, v. 6, n. 12, p. 604-608, 2004.

MELE, G.; VASAPOLLO, G.; Produtos químicos finos e novos materiais híbridos a partir do cardanol. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 5, n. 3, p. 243-253, 2008.

MELO, L. **Brasil agora tem política nacional para Alzheimer e outras demência**. Agência Senado, 2024.

MORAIS, T. C. *et al.* Efeito protetor dos ácidos anacárdicos do cajueiro (*Anacardium occidentale*) sobre danos gástricos induzidos por etanol em camundongos. **Interações químico-biológicas**, v. 183, n. 1, p. 264-269, 2010.

MOSMAN, T. J. **Immunol. Methods**, 1983, 65, 55.

MUROI, H.; KUBO, I. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1780-1783, 1993.

NASCIMENTO, E. C. M. *et al.* Theoretical study of classical acetylcholinesterase inhibitors. **Chemical Physics Letters**, v. 458, p. 285 - 289, 2008.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2022.

OLIVEIRA, L. D. M. **Síntese, caracterização e funcionalidade de aditivos de lubricidade, derivados do LLC**. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

OLIVEIRA, M. S. C. *et al.* Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **Acta Tropica**, v. 117, p. 165-170, 2010.

OMANAKUTTAN, A. *et al.* Anacardic acid inhibits the catalytic activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9. **Molecular pharmacology**, v. 82, n. 4, p. 614-622, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *et al.* Dementia - Fact sheets. Redução de risco de declínio cognitivo e demência: diretrizes da OMS. **Organização Mundial da Saúde**, 2019.

PARAMASHIVAPPA, R. *et al.* Novo método para isolamento dos principais constituintes fenólicos do líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2548-2551, 2001.

PARASA, L. S. *et al.* Atividade antimicrobiana in vitro do líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*, L.) contra isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA). **Int. J. Pharm. Sci.**, v. 3, n. 4, p. 436-40, 2011.

PAULA, A. A. N. *et al.* Electronic structure calculations toward new potentially AChE inhibitors. **Chemical Physics Letters**, v. 446, p. 304- 308, 2007.

PETRONILHO, E. C.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Agentes para Defesa Contra Guerra Química: Reativadores da Acetilcolinesterase Inibida com Organofosforados Neurotóxicos. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 671- 686, 2014.

PEUNGJITTON, P. *et al.* Surfactante de cardanol sulfonato de sódio do líquido da casca da castanha de caju. **Journal Surfactants Detergents**, v. 12, p. 85- 89, 2009.

PRAVEESH, B. V. *et al.* **Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 5, p. 216, 2010.

PRINCE, M. *et al.* World Alzheimer Report 2015. **O Impacto Global da Demência: Uma análise de prevalência, incidência, custo e tendências**. Tese de Doutorado. Alzheimer's Disease International, 2015.

RAMAIAH, S. M. Progress of research in cashew industry. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 78, n. 12, p. 472-477, 1976.

RAMOS, G. A. **Síntese e avaliação farmacológica de inibidores da enzima acetilcolinesterase planejados a partir do cardol**. 2014. 168 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de Brasília, Brasília, 2014

RAMOS, G. A. *et al.* **Derivados amínicos do LCC como inibidores da acetilcolinesterase, processos para sua obtenção, composições farmacêuticas contendo os mesmos e aplicações**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2015.

REDDY, N. S. *et al.* Síntese e atividade antibacteriana de derivados de ureia e hiouréia na

cadeia alquila C-8 de mistura de ácido anacárdico isolada de um produto natural líquido de casca de castanha de caju (LCC). **International Journal of Organic Chemistry**, v. 1, n. 04, p. 167, 2011.

REDDY, N. S. *et al.* Síntese e atividade antibacteriana de derivados de sulfonamida na cadeia alquílica C-8 da mistura de ácido anacárdico isolada de um produto natural líquido de casca de castanha de caju (LCC). **Journal of Chemical Sciences**, v. 124, p. 723-730, 2012.

RESCK, I. S.; DOS SANTOS, M. L.; ROMEIRO, L. A. S. New application of triphosgene in a convenient synthesis of 3-aryl-1,3-benzoxazine-2,4-diones from anacardic acids. **Heterocycles**, v. 65, n. 2, p. 311-318, 2005.

RIOS, M. A. S. **Síntese e Aplicabilidade de Antioxidantes derivados do Cardanol hidrogenado**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2008.

RISS, T. L. *et al.* Cell viability assays. **Assay Guidance Manual**. 2016.

RODRIGUES, F. H. A. **Ação antioxidante de derivados do líquido da castanha de caju (LCC) sobre a degradação termooxidativa do POLI (1,4-CIS-ISOPRENO)**. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

RODRIGUES, F. H. A. *et al.* Oligomerização térmica do cardanol. **e-Polymers**, v. 1, p. 81, 2006.

ROMEIRO, L. A. S. *et al.* Novos inibidores de HDAC sustentáveis por design para o tratamento da doença de Alzheimer. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, n. 4, p. 671-676, 2019.

SADAVARTE, N. V. *et al.* Synthesis and characterization of new polyimides containing pendent pentadecyl chains. **European polymer journal**, v. 45, n. 2, p. 582-589, 2009.

SALADINO, R.; NERI, V. *et al.* A new and efficient synthesis of ortho - and para-benzoquinones of cardanol derivatives by the catalytic system MeReO_3 - H_2O_2 . **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.1, n. 4, p. 581-586, 2000.

SALEHI, B. *et al.* *Anacardium* plants: chemical, nutritional composition and biotechnological applications. **Biomolecules**, v. 9, n. 465. 2019.

SANTOS, M. L.; MAGALHÃES, G. C. Utilização do líquido da casca da castanha de caju de *Anacardium occidentale* como material de partida para síntese orgânica: uma nova rota para lasiodiplodina a partir de cardóis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, p. 13-20, 1999.

SCHIBICHEWSKI, M. *et al.* Bioprodutos desenvolvidos a partir do princípio da química verde para o controle. Portal da Reunião Anual da SBPC. 2021.

SCHNEIDER, L. *et al.* Differentiation of SH-SY5Y cells to a neuronal phenotype changes cellular bioenergetics and the response to oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 11, p. 2007-2017, 2011.

SCHULTZ, D. J. *et al.* Bioactivity of anacardic acid against Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) larvae. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7522-7529, 2006.

SCORZZA, C. *et al.* Síntese e caracterização físico-química de surfactantes aniônicos derivados do óleo da casca da castanha de caju. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 13, p. 27-31, 2010.

SE, I. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes. **JAMA**, v. 287, p. 360-372, 2002.

SHALGUM, A. *et al.* Neuroprotective effects of Hibiscus Sabdariffa against hydrogen peroxide-induced toxicity. **Journal of Herbal Medicine**, v. 17, p. 100253, 2019.

SILVA, V. V. **Caju. Coleção 500 perguntas 500 respostas – o produtor pergunta a EMBRAPA responde**. 1998.

SOUZA FILHO, R. Y. **Estudos visando à síntese de hetero-ciclos de 5-membros a partir dos lipídios fenólicos do LCC: isobenzofurano-nas e indolinonas em foco**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

SUKUMARI-RAMESH, S. *et al.* O ácido anacárdico induz apoptose independente de caspase e radiosensibiliza células de adenoma pituitário. **Journal of neurosurgery**, v. 114, n. 6, p. 1681-1690, 2011.

SURESH, M.; KALEYSA RAJ, R. Cardol: The antifilarial principle from *Anacardium occidentale* L. **Current Science**, v. 59, p. 477-479, 1990.

SWAMY, B. N. *et al.* Synthesis of isonicotinoylhydrazones from anacardic acid and their in vitro activity against *Mycobacterium smegmatis*. **European journal of medicinal chemistry**, v. 42, n. 3, p. 420-424, 2007.

THÉVET, A.; Singularidades da França Antártica, **Edusp: São Paulo**, 1978.

TORRAS CLAVERIA, L. *et al.* Daffodils as potential crops of galanthamine: assessment of more than 100 ornamental varieties for their alkaloid content and acetylcholinesterase inhibitory activity. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 237-244, 2013.

TOUGER-DECKER, R.; LOVEREN, C. V. Cor. Açúcares e cáries dentárias. **The American journal of clinical nutrition**, v. 78, n. 4, p. 881S-892S, 2003.

TRUJILLO-CHACÓN, L. *et al.* Atividade neuroprotetora de alcalóides isoquinolínicos de plantas *Amaryllidaceae chilenas* contra citotoxicidade induzida por estresse oxidativo em células de neuroblastoma humano SH-SY5Y e cultura de fatias de hipocampo de camundongo. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, p. 110665, 2019.

TYMAN, J. H. P.; TYCHOPOULOS, V.; COLENTT, B. A. Long-chain phenols: XXI. quantitative analysis of the phenolic lipids in technical cashew nut-shell liquid, from *anacardium occidentale*, by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 213, n. 2, p. 287-300, 1981.

TYMAN, J. H. P. The chemistry of non-isoprenoid phenolic lipids. In: ATTA-UR-RAHAN (Ed.). Studies in natural products chemistry. **Amsterdam: Elsevier Science Publisher**, v. 9, p. 313-381, 1991.

TYMAN, J. H. P.; BRUCE, I. E. Synthesis and characterization of polyethoxylate surfactants derived from phenolic lipids. **Journal of surfactants and detergents**, v. 6, n. 4, p. 291-297, 2003.

VAN DE LAAR, F. A. *et al.* Inibidores da alfa-glicosidase no tratamento precoce do diabetes tipo 2. **Vascular health and risk management**, v. 4, n. 6, p. 1189-1195, 2008.

VIEIRA, T. S. **Estudos visando à síntese de novos derivados do LCC com potencial atividade no tratamento da doença de Alzheimer**. 2007. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

WILCOCK, G. K.; LILIENFELD, S.; GAENS, E. Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial. **British Medical Journal**, v. 321, n. 7274, p. 1445-1449, 2000.

WISASTRA, R. *et al.* Anacardic acid derived salicylates are inhibitors or activators of lipoxygenases. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 20, n. 16, p. 5027-5032, 2012.

WORTMANN, M. Dementia: a global health priority - highlights from an ADI and World Health Organization report. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 4, n. 5, p. 1-3, 2012.

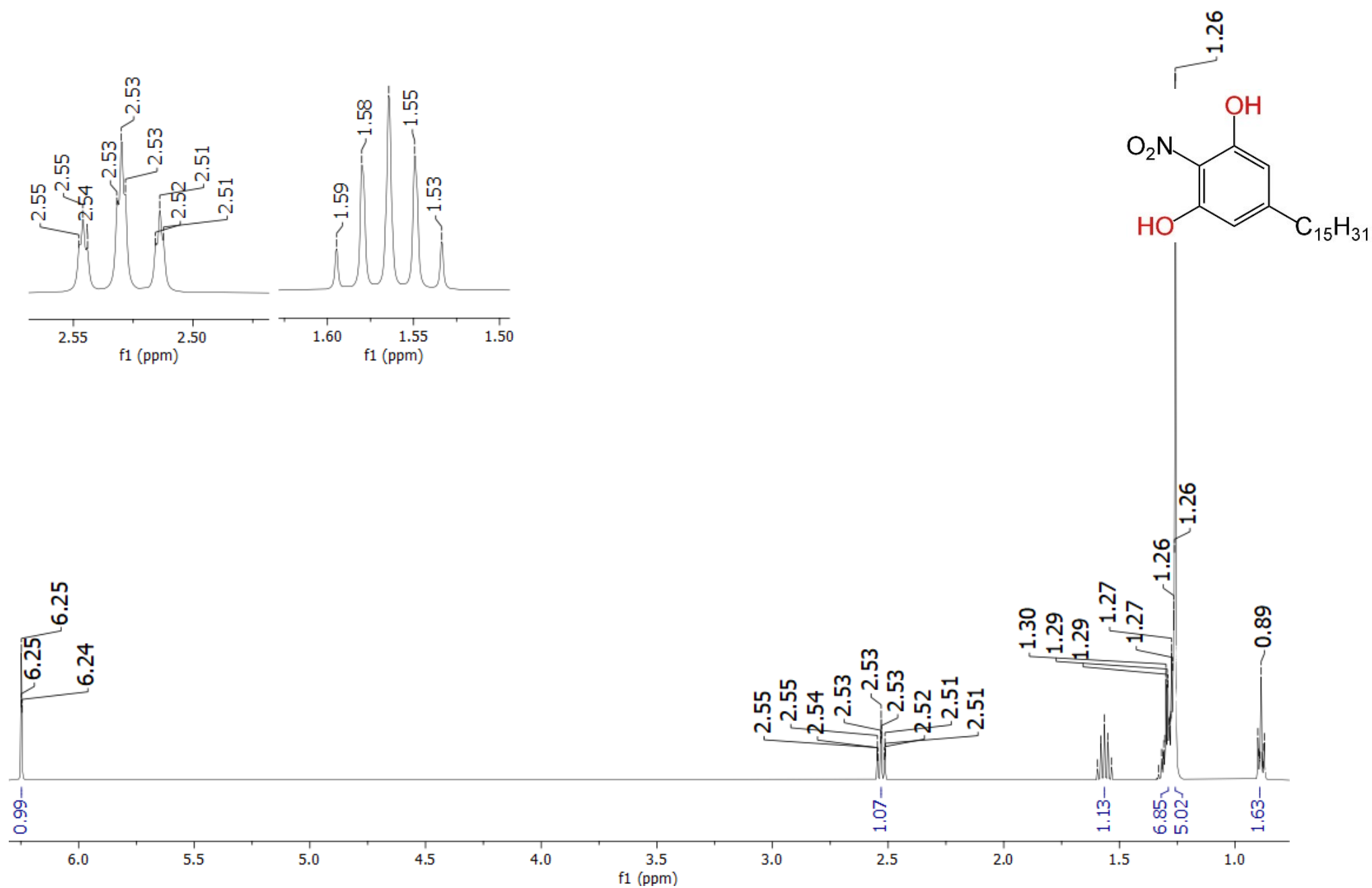
WU, Y. *et al.* Anacardic Acid (6-Pentadecylsalicylic Acid) Inhibits Tumor Angiogenesis by Targeting Src/FAK/Rho GTPases Signaling Pathway. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 339, p. 403-411, 2011.

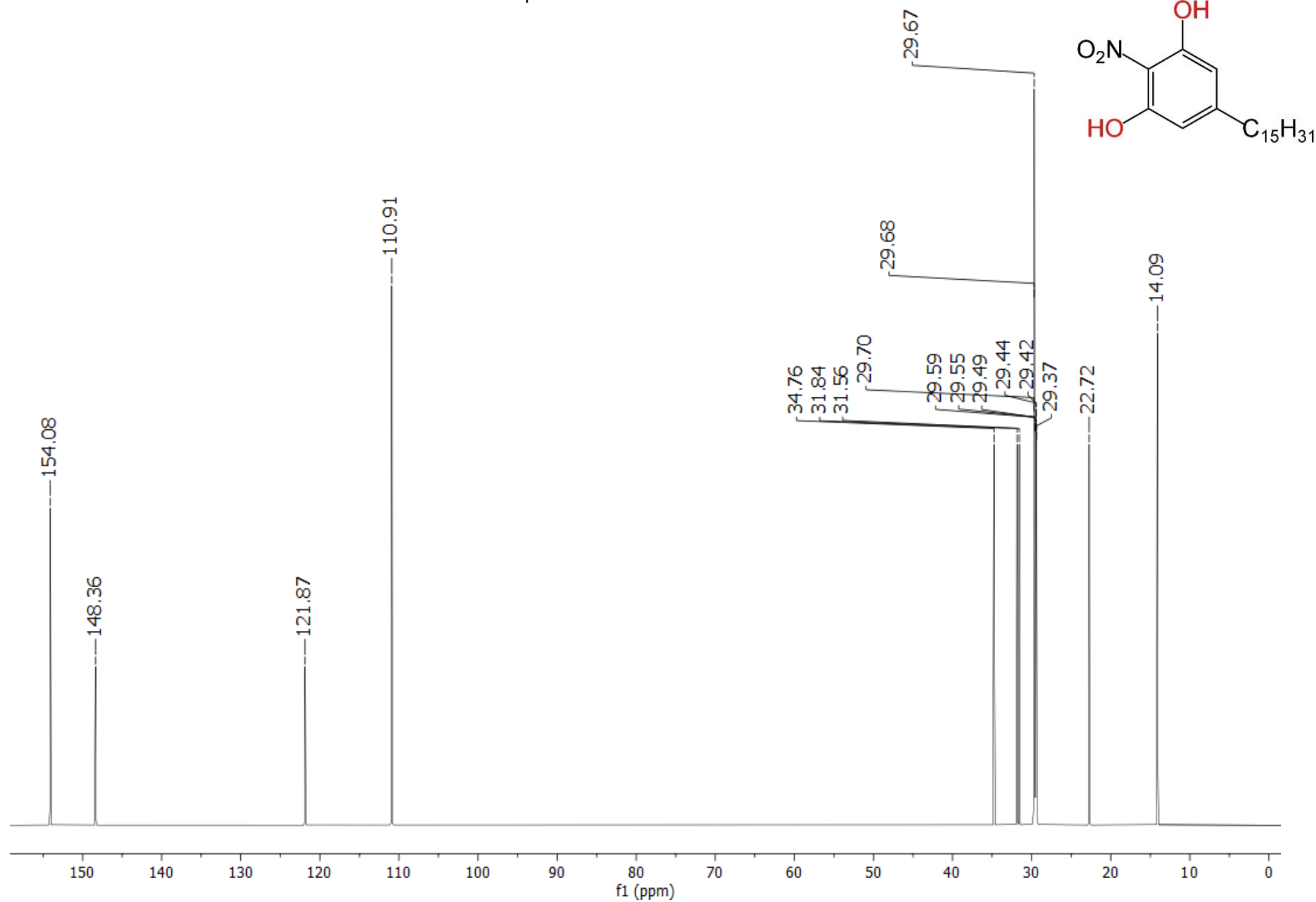
XICOY, H.; WIERINGA, B.; MARTENS, G. J. A linhagem celular SH-SY5Y na pesquisa da doença de Parkinson: uma revisão sistemática. **Mol Neurodegeneration**, v. 12, n° 10, 2017.
YANOVSKI, S. Z.; YANOVSKI, J. A. Drug Therapy: Obesity. **The New England Journal of Medicine**. 2002.

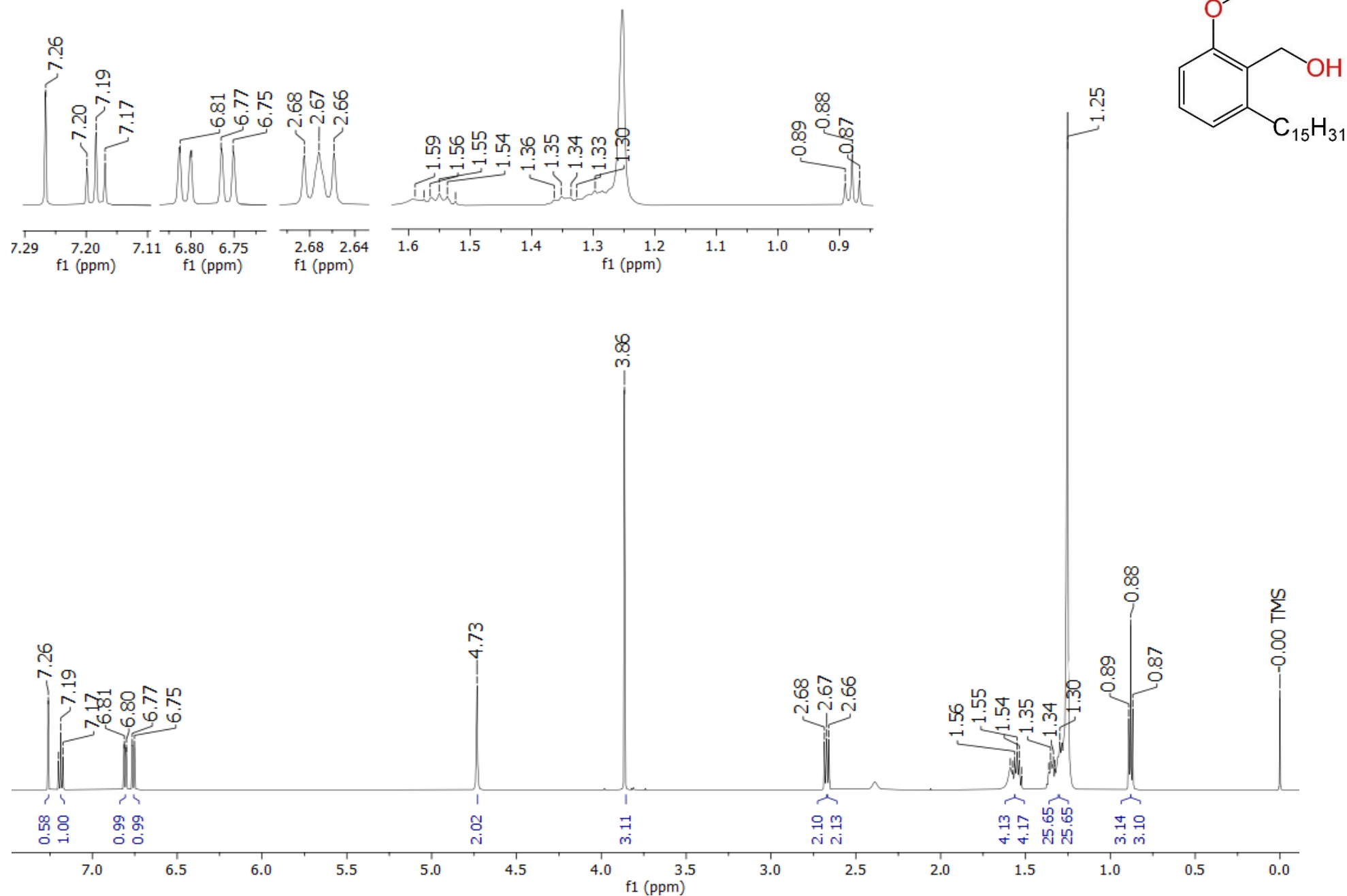
ZABEU, A. M. C. *et al.* Estresse oxidativo em células SH-SY5Y diante da exposição ao

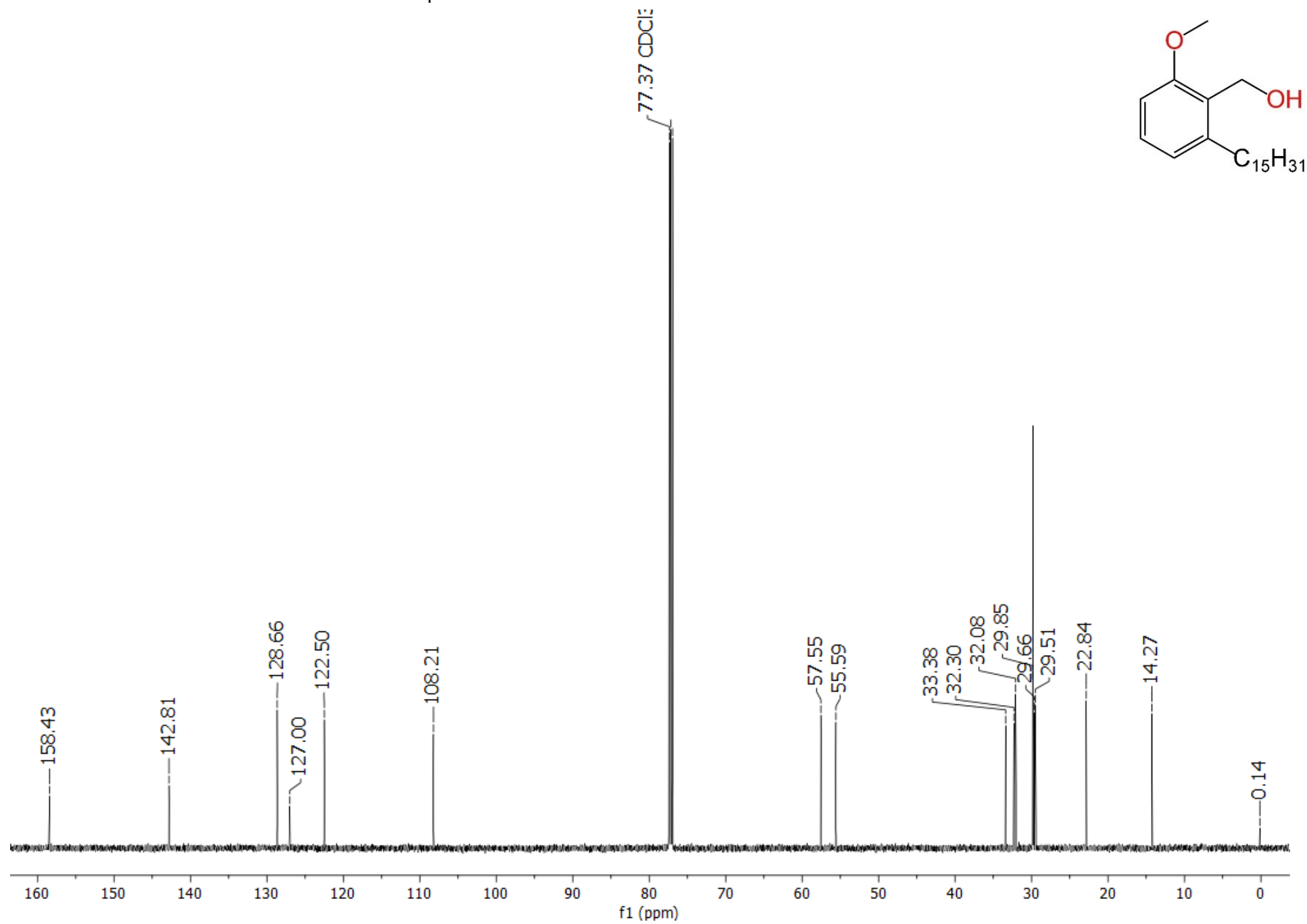
peróxido de hidrogênio. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e30811326474-e30811326474, 2022.

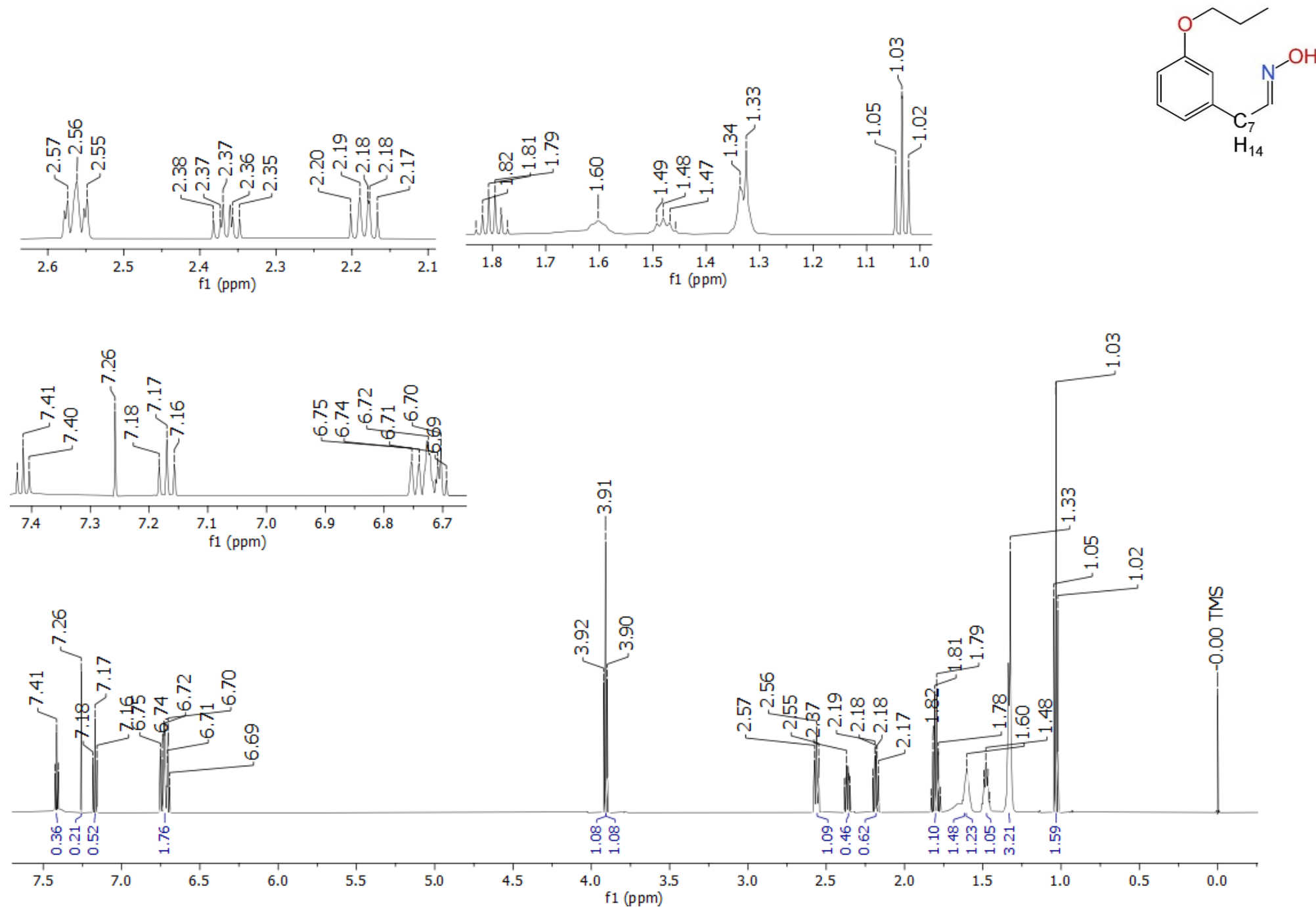
7. APÊNDICES

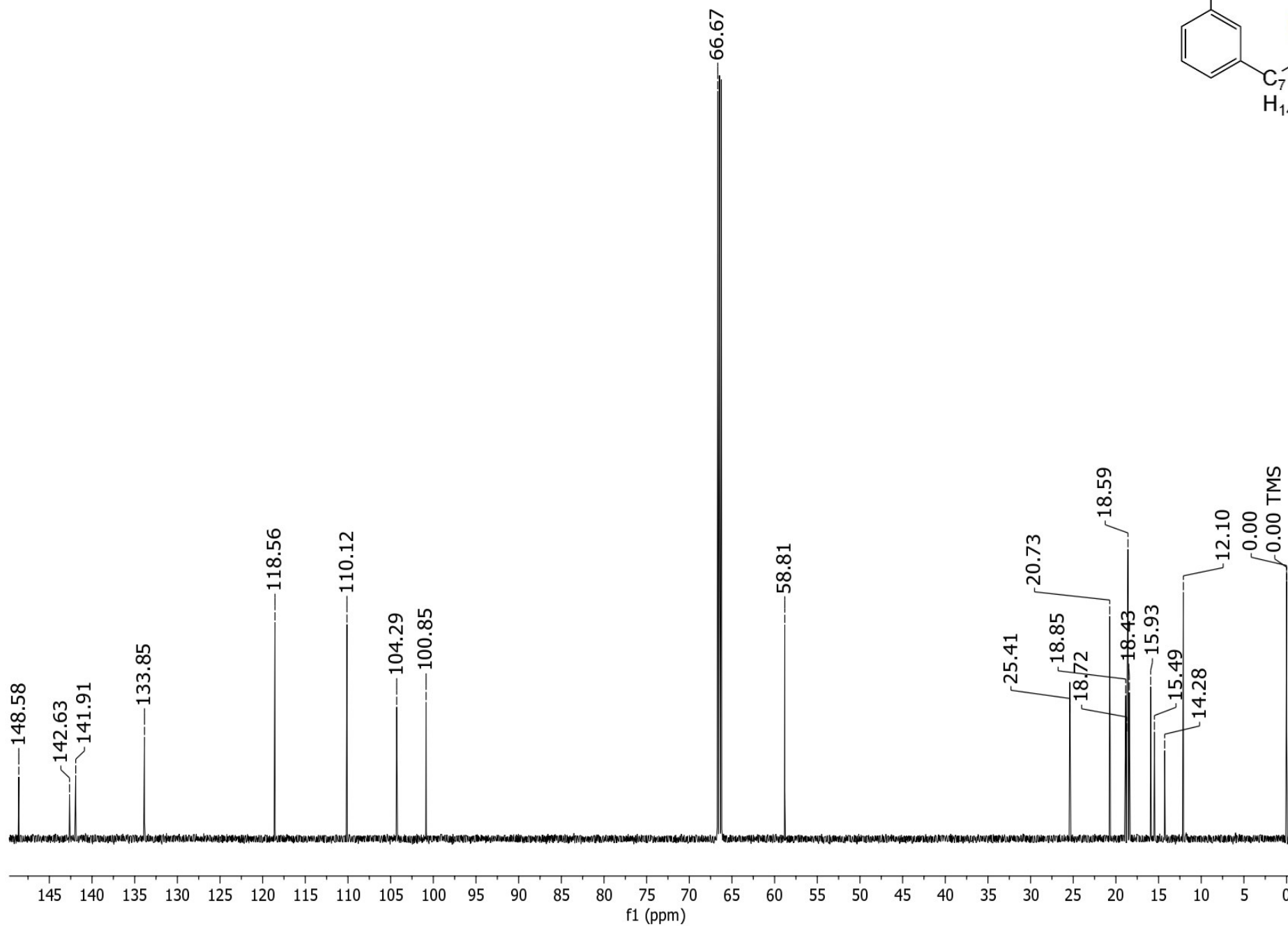
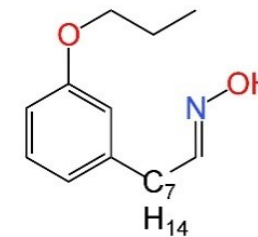
Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H do 2-Nitrocardol /2B

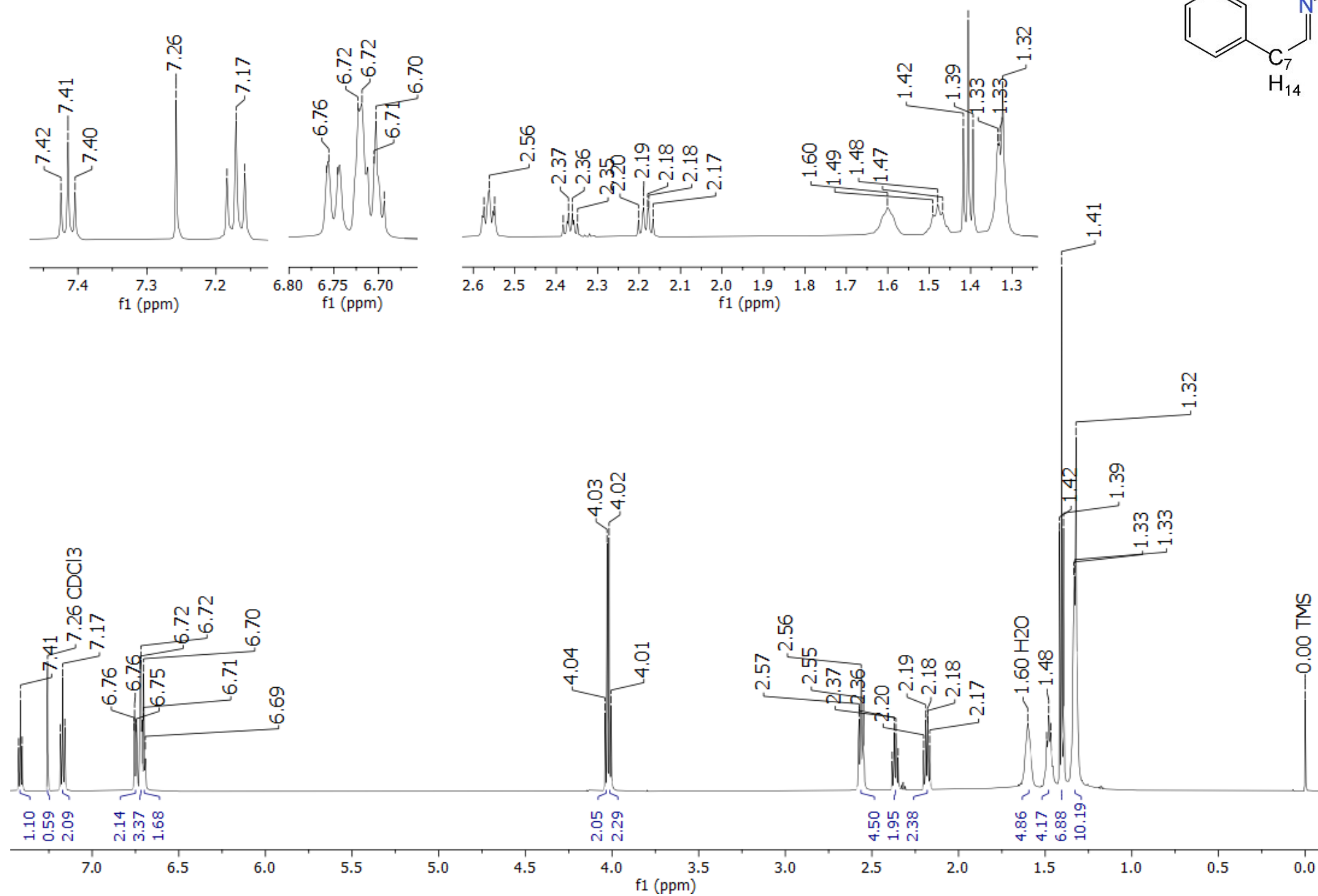


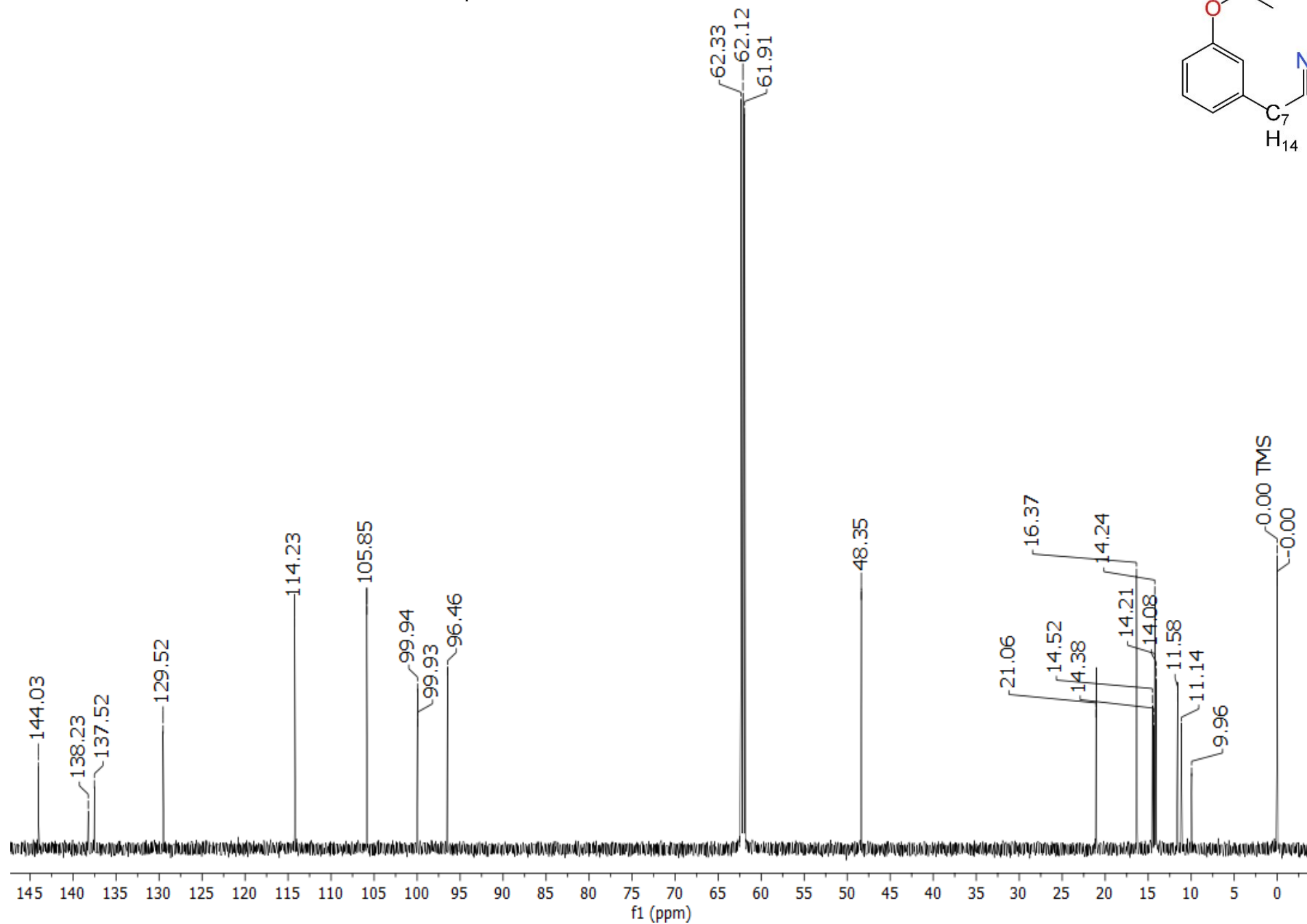


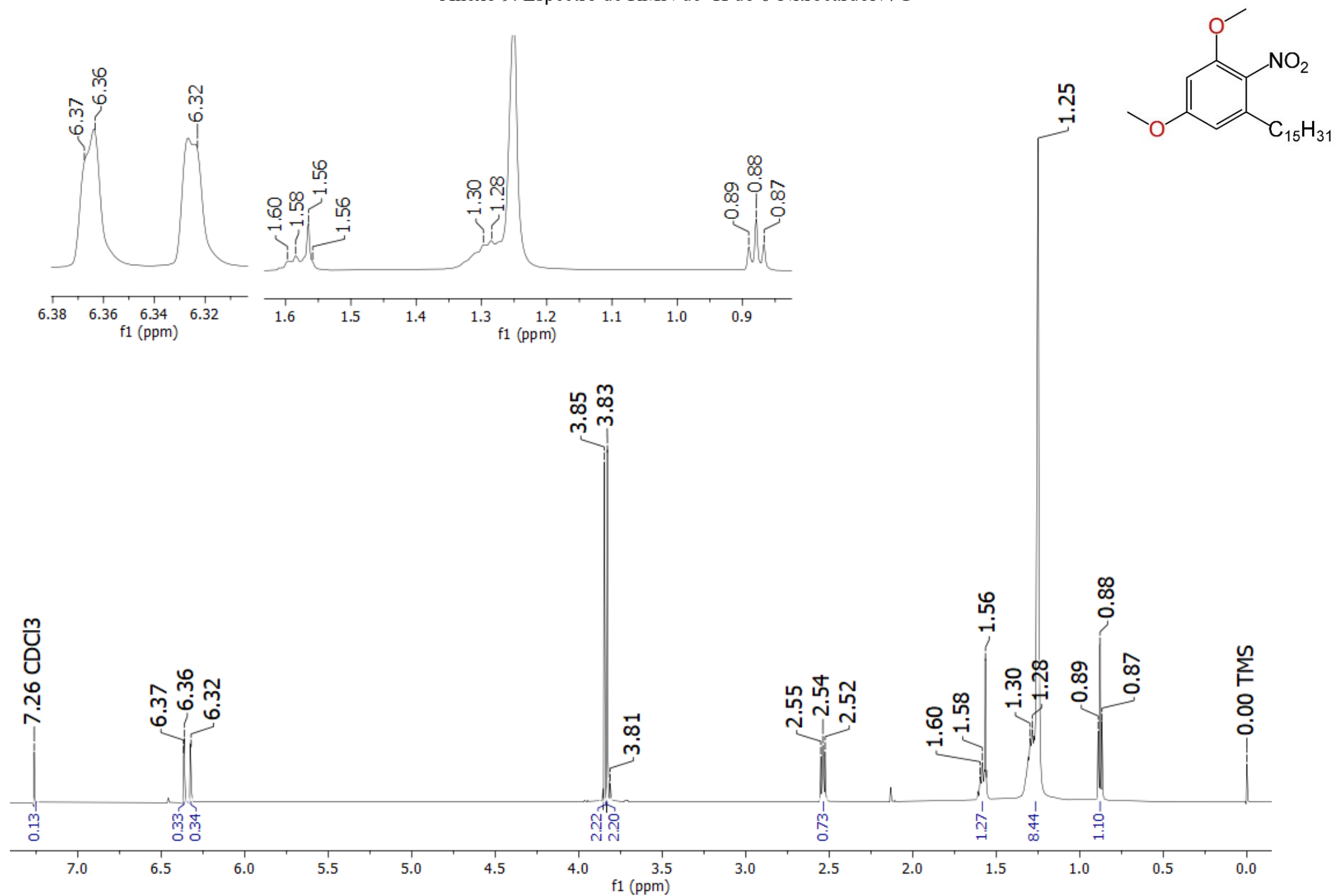


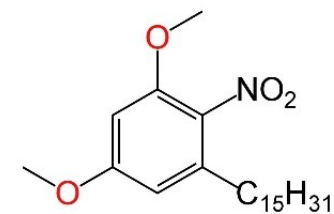
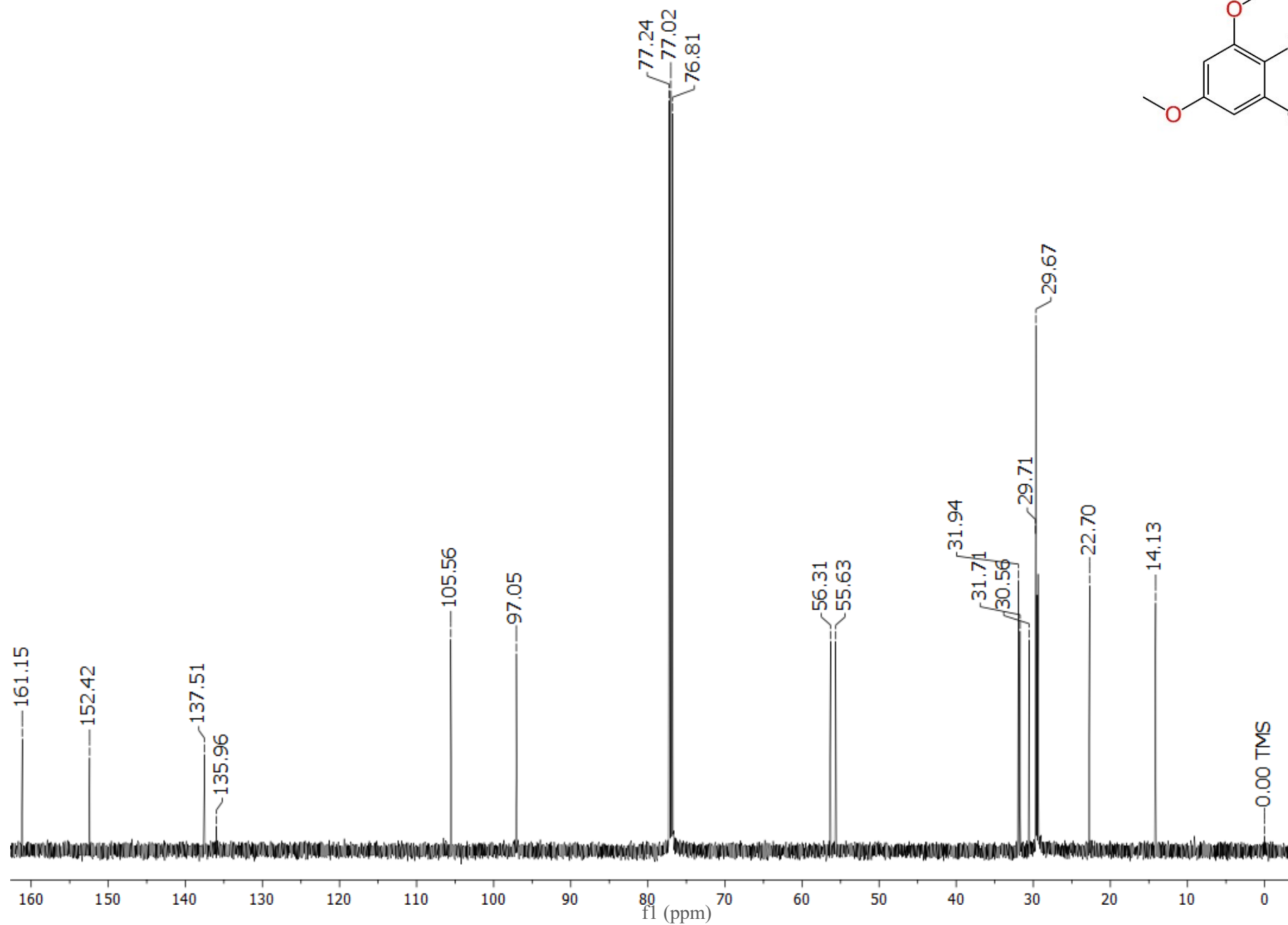


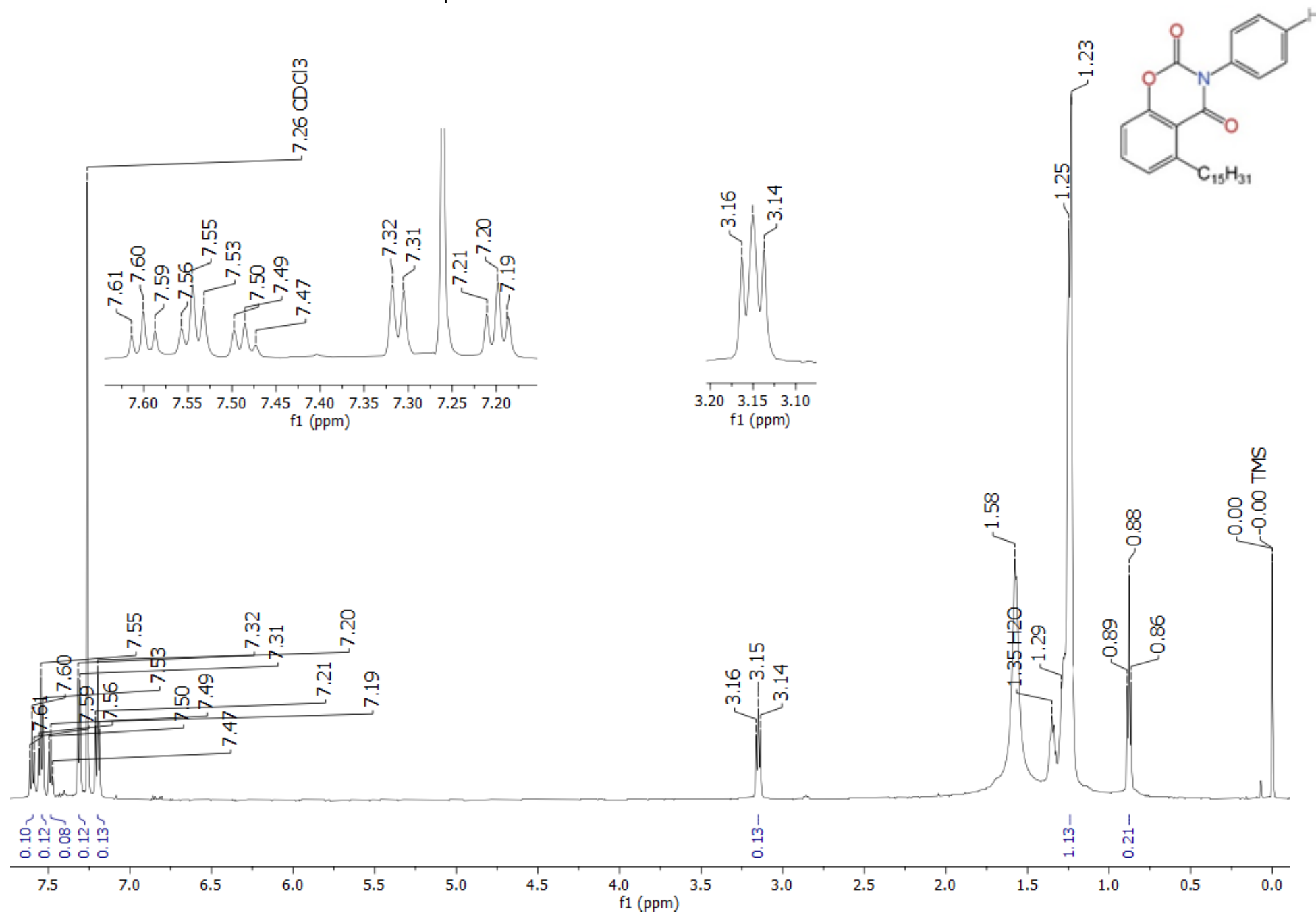


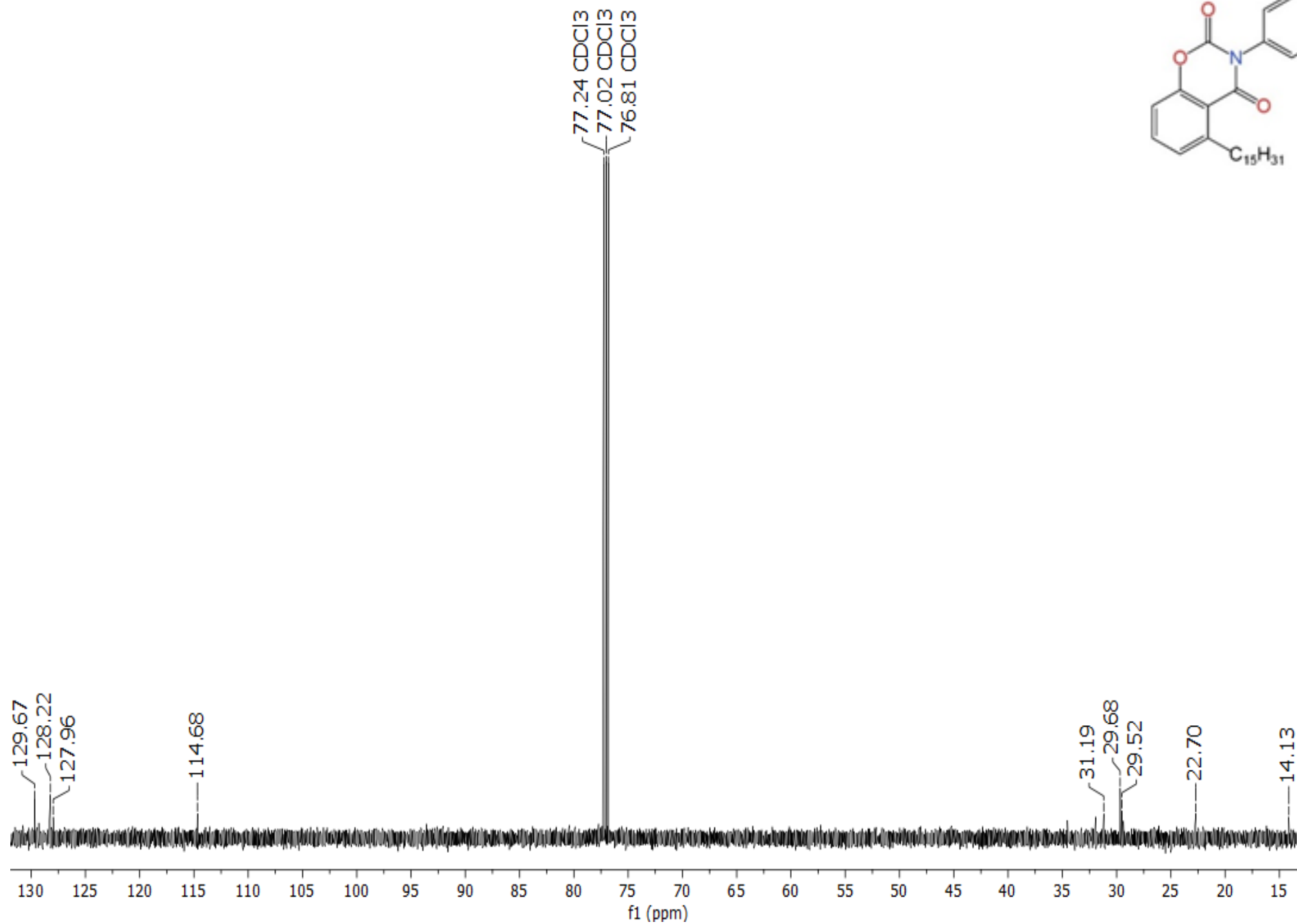




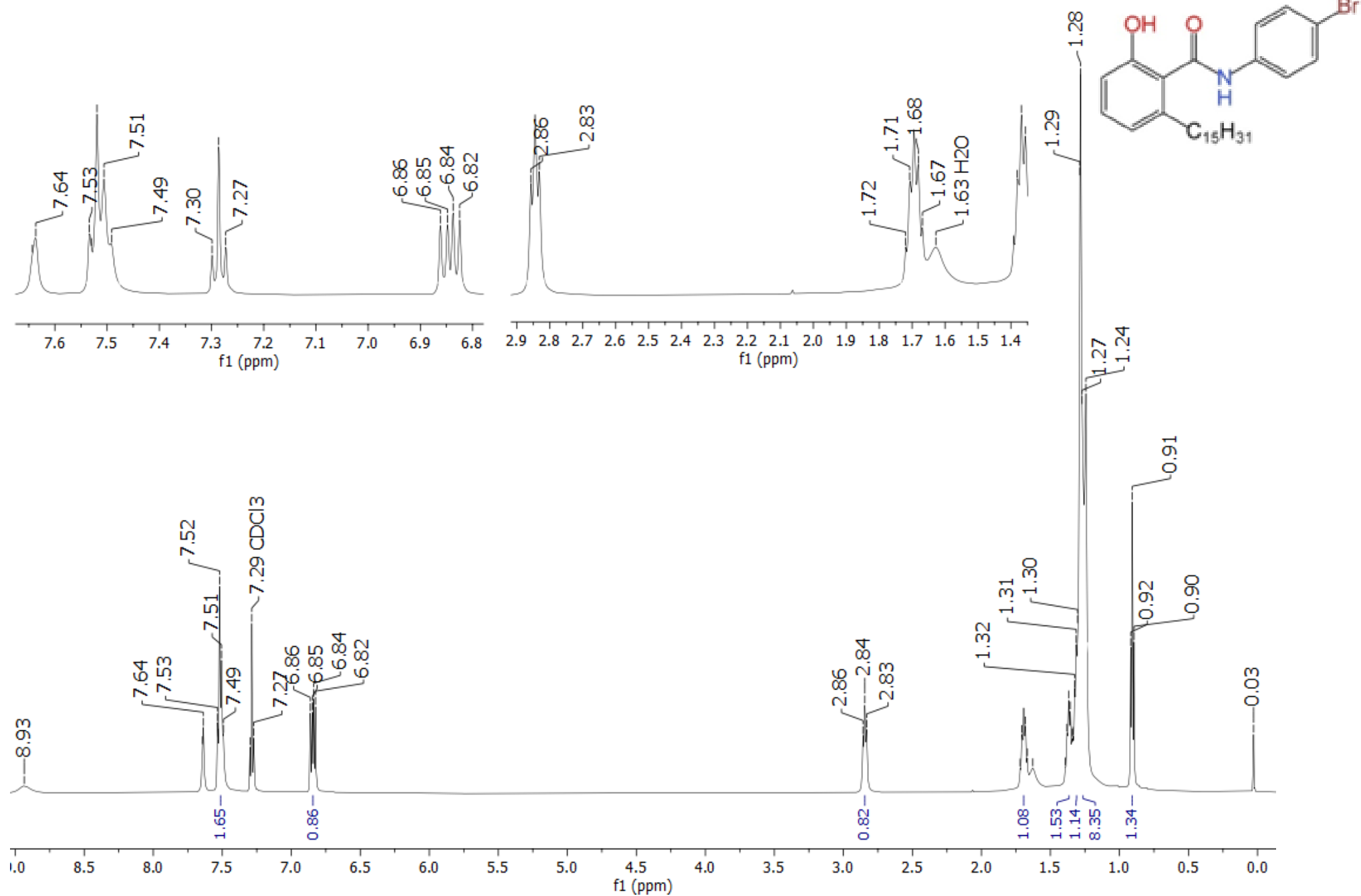


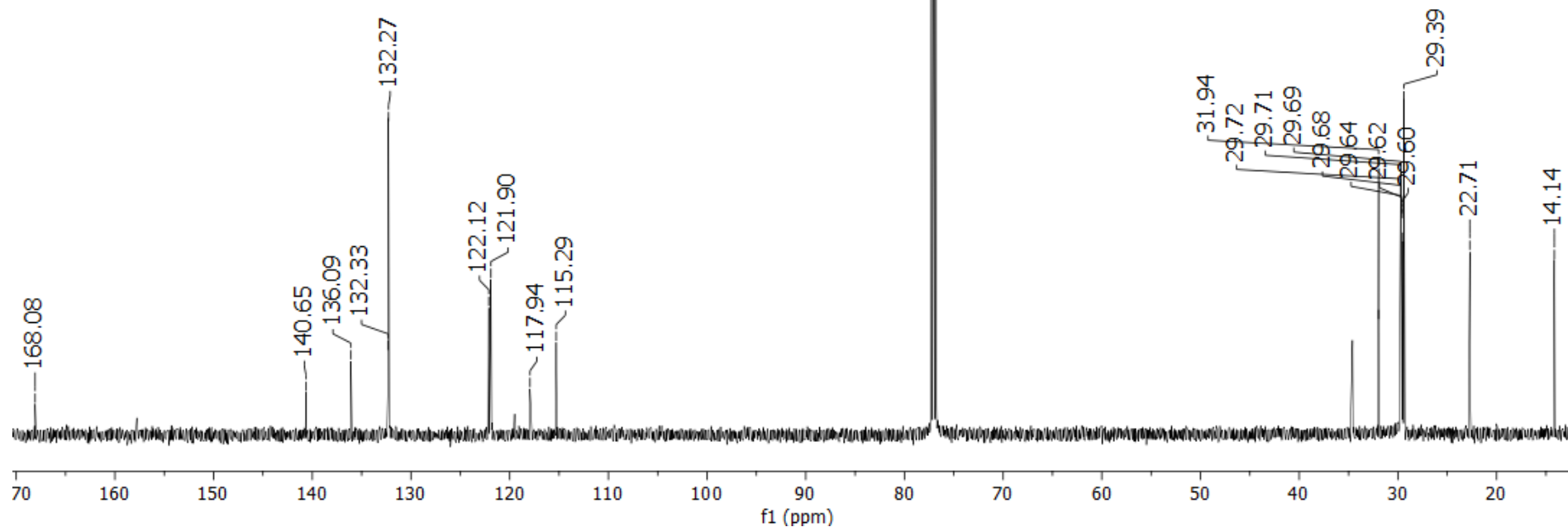
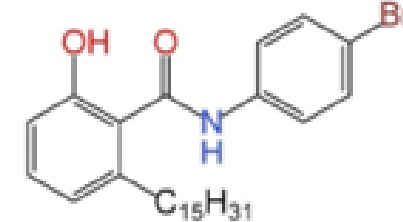
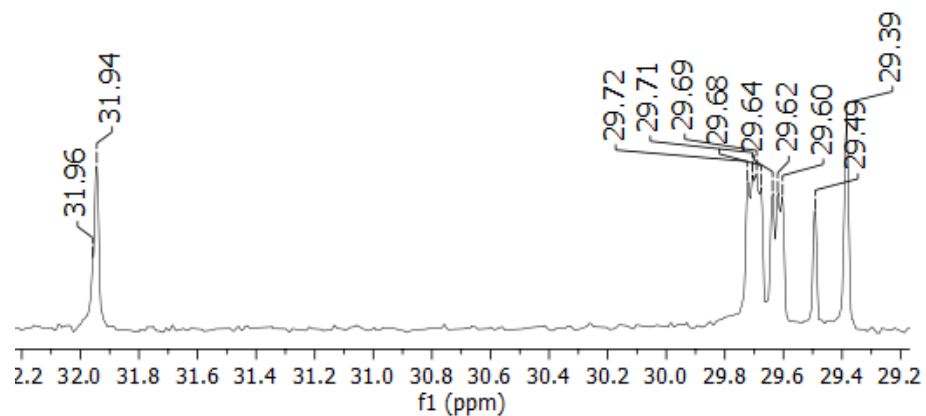


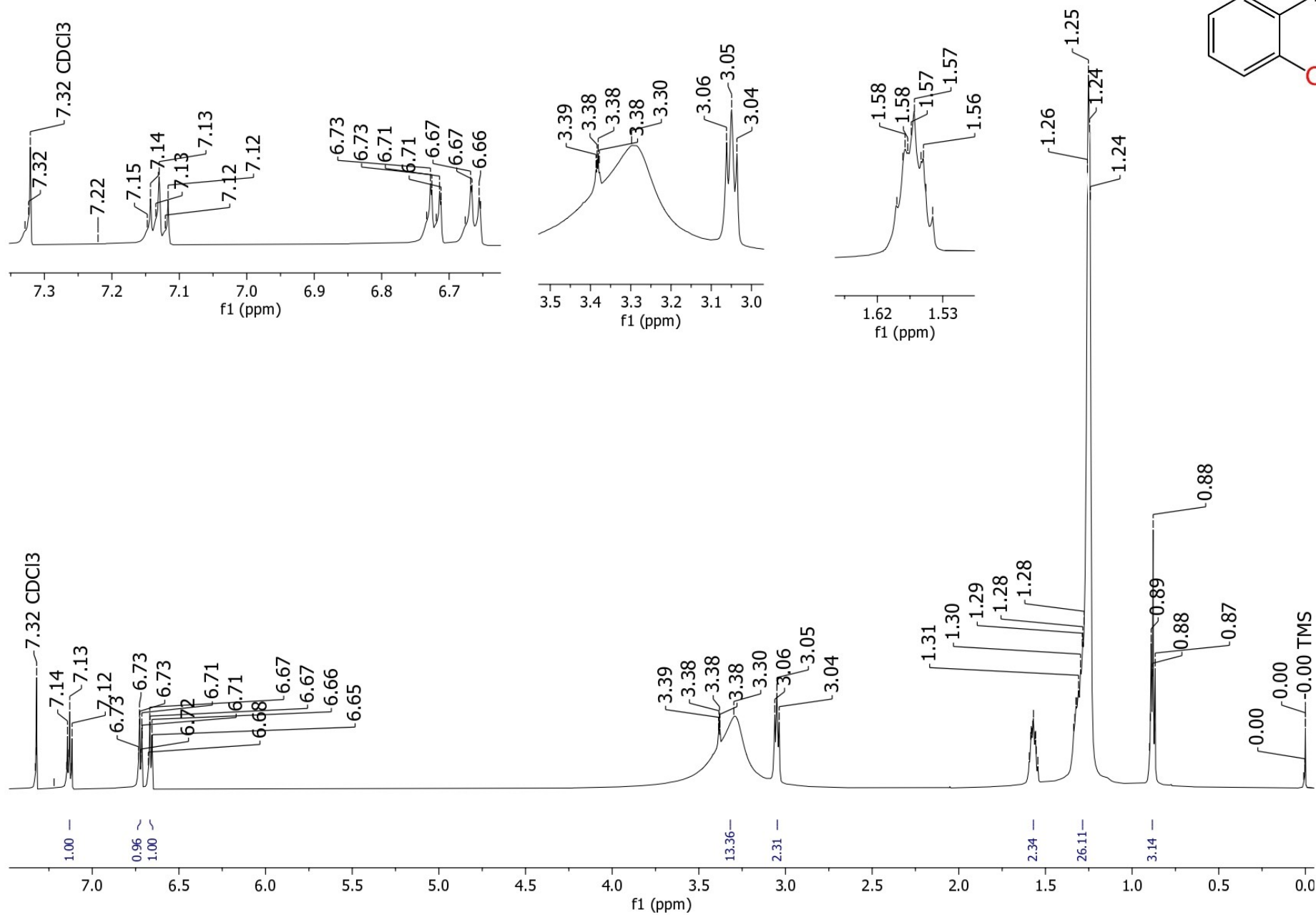


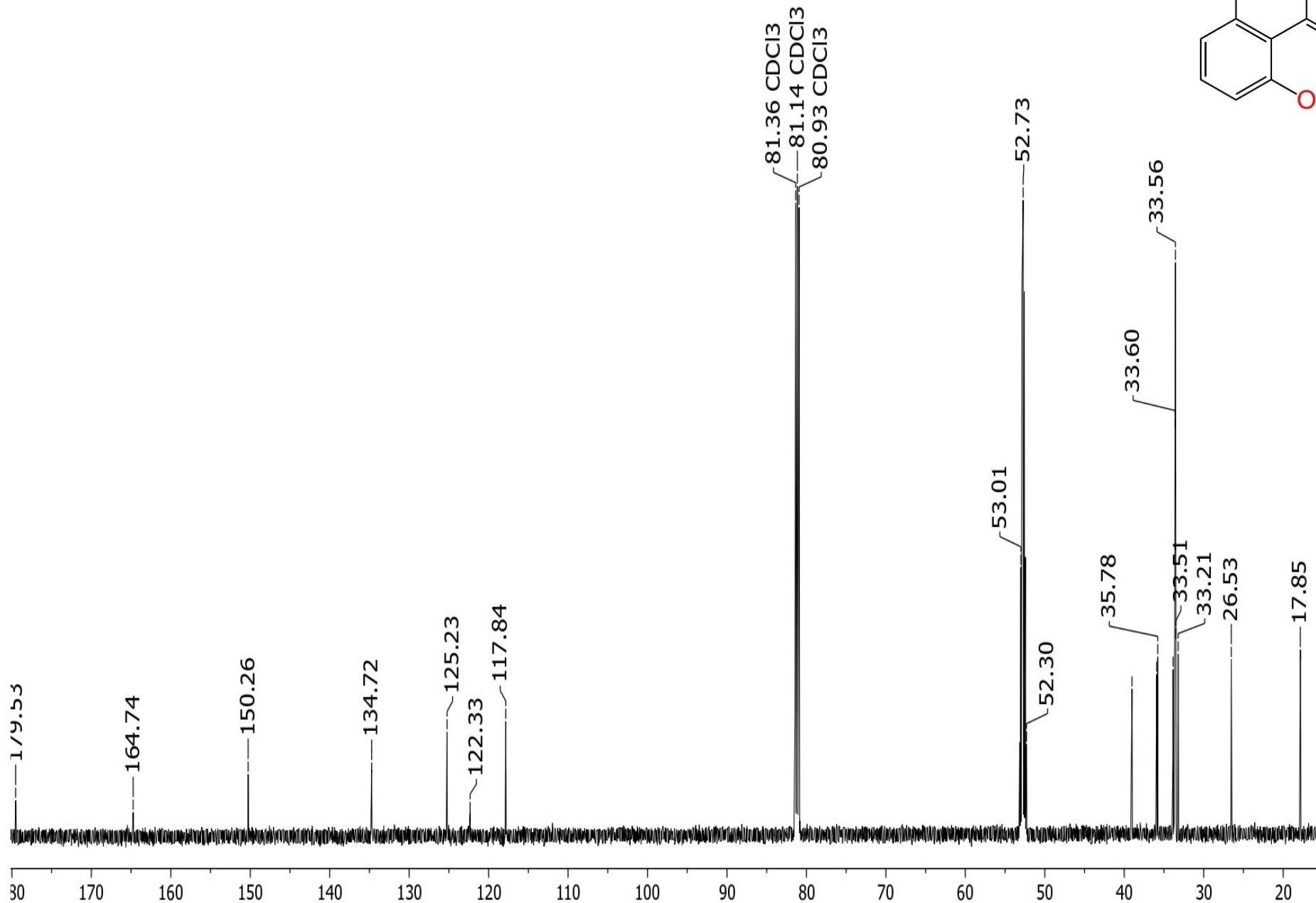


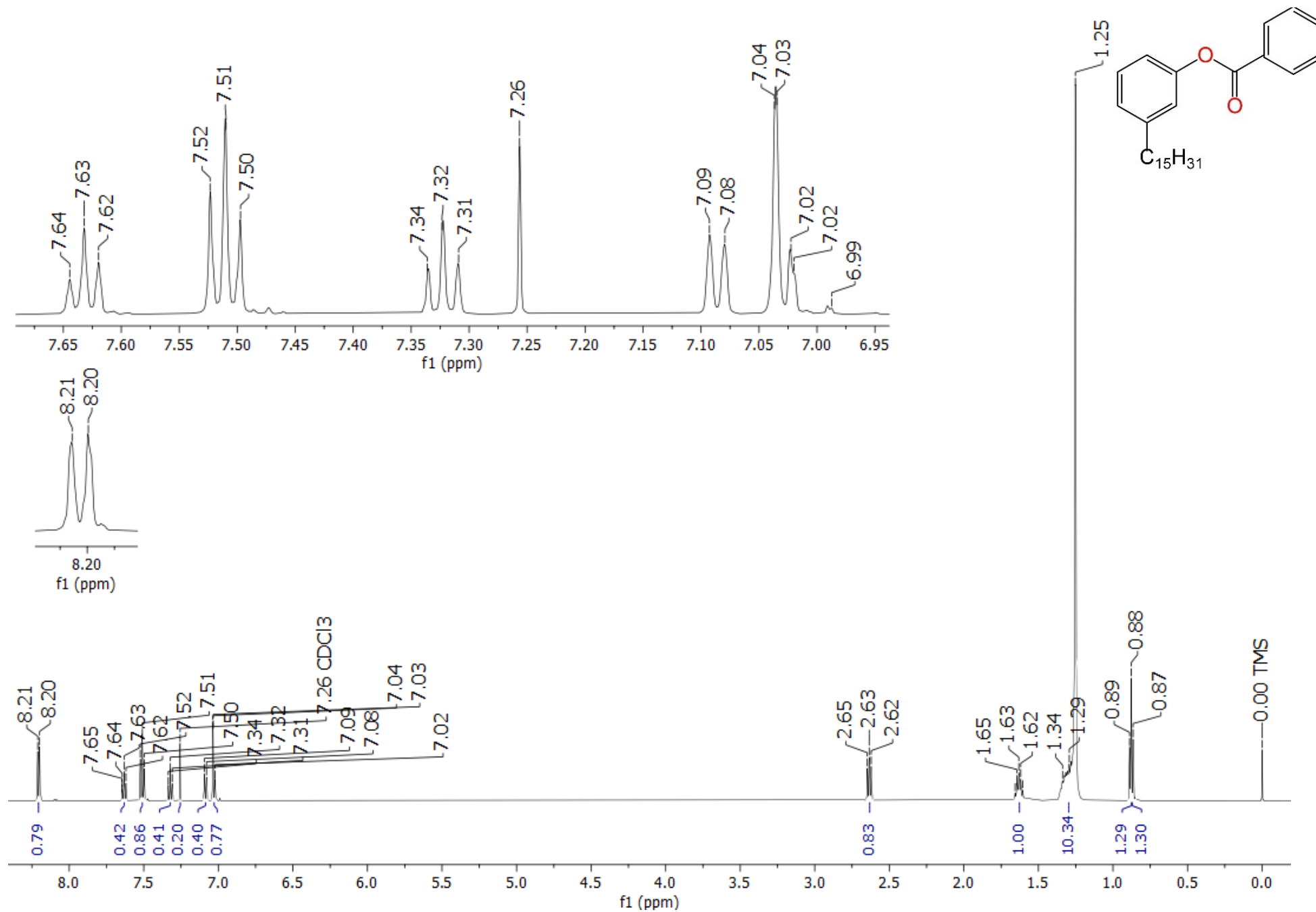
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H da Bromoanilida do ácido anacárdico /9I

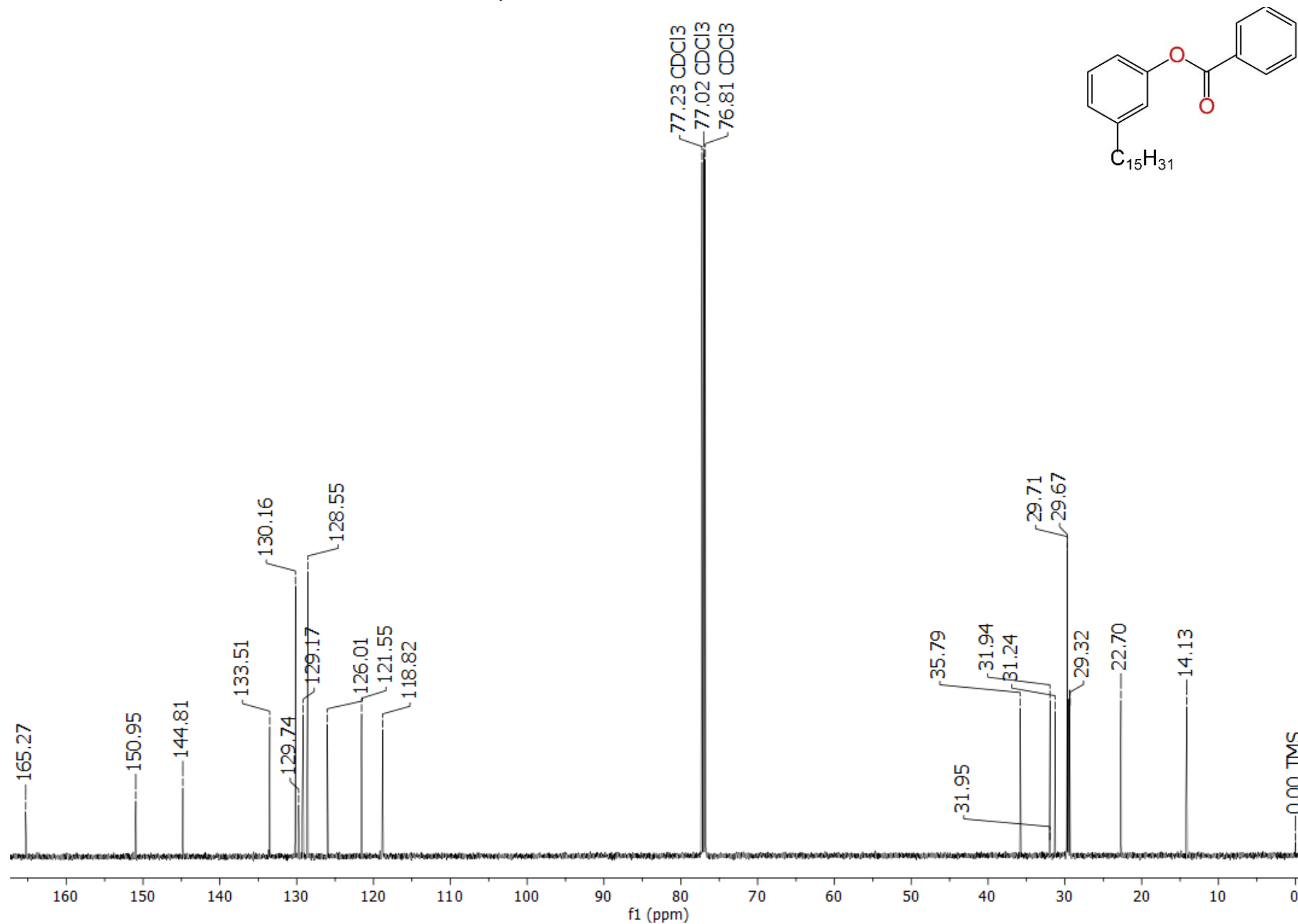




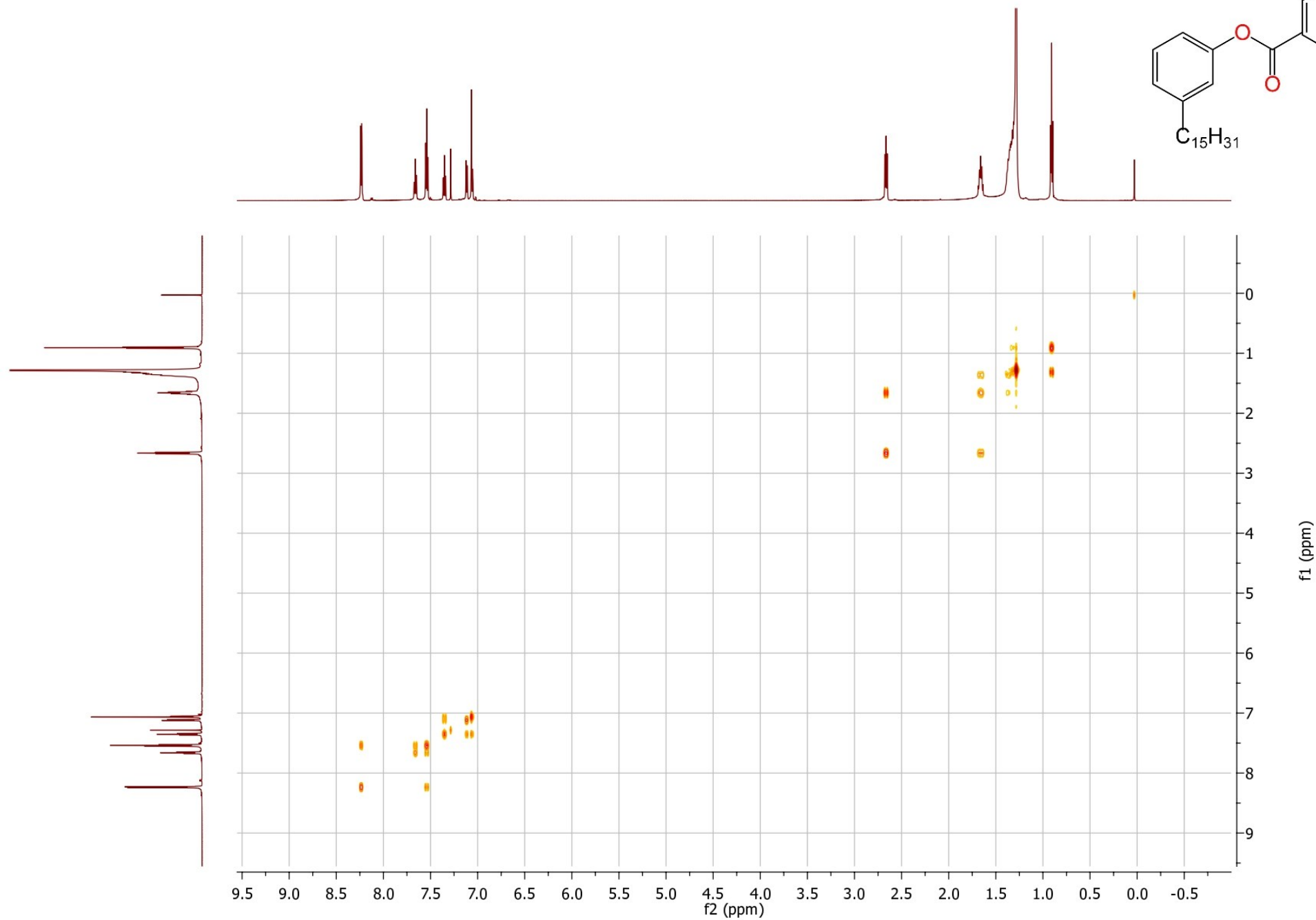
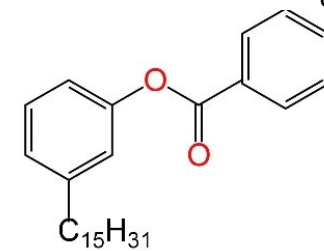




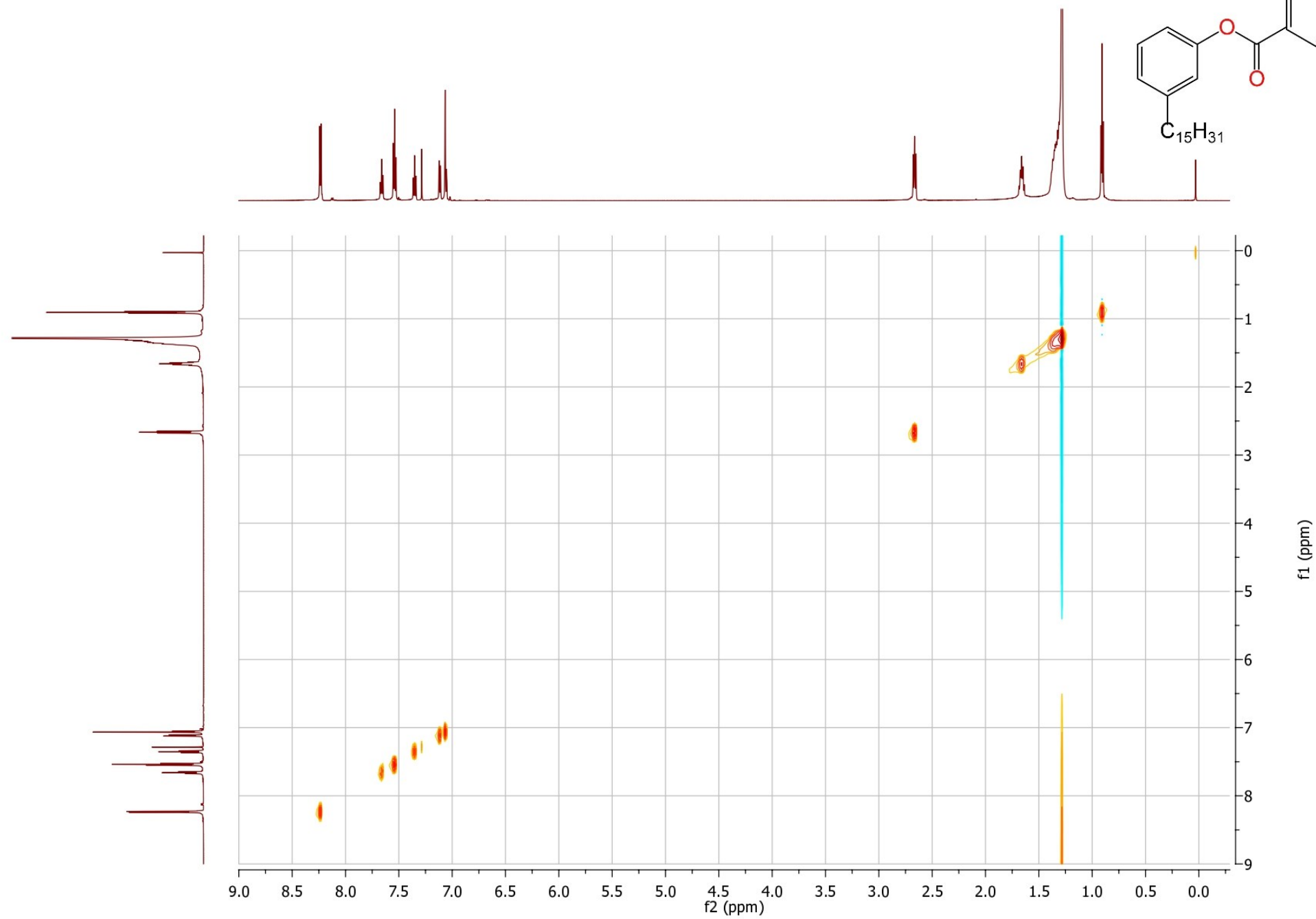




Anexo 19. Espectro 2D de RMN do Benzoato de cardanoila /12L



Anexo 20. Espectro 2D de RMN do Benzoato de cardanoila /12L



Anexo 21. Espectro 2D de RMN do Benzoato de cardanoila /12L

89

