

UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM
PRODUTOS BIOATIVOS

GABRIELA GOMES CAETITÉ DE AVELAR

**BIOMASSA MICELIAL DE *Lentinus berteroi* COMO FONTE DE BIOATIVOS: PERFIL
QUÍMICO E POTENCIAL MEDICINAL**

Umuarama

2025

GABRIELA GOMES CAETITÉ DE AVELAR

**BIOMASSA MICELIAL DE *Lentinus berteroi* COMO FONTE DE BIOATIVOS: PERFIL
QUÍMICO E POTENCIAL MEDICINAL**

Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com área de concentração em Saúde Única.

Orientação: Profa. Dra. Juliana Silveira do Valle

Umuarama
2025

Ficha Catalográfica

A948b Avelar, Gabriela Gomes Caetité de.
Biomassa micelial de *Lentinus berteroi* como fonte de bioativos: perfil químico e potencial medicinal / Gabriela Gomes Caetité de Avelar. – Umuarama : Universidade Paranaense - UNIPAR, 2025.

85 f.

Orientadora: Dr^a. Juliana Silveira do Valle.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Basidiomicetos. 2. Compostos fenólicos. 3. Diabetes mellitus. 4. *Lentinus berteroi*. 5. A-glicosidase I. Universidade Paranaense - UNIPAR. II. Título.

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Biologia Molecular, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense, no Departamento de Tecnologia da Universidade Estadual de Maringá, Campus Umuarama e na Unidade de Umuarama da Universidade Paranaense como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação da Dra. Juliana Silveira do Valle.

BIOMASSA MICELIAL DE *Lentinus berteroi* COMO FONTE DE BIOATIVOS: PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL MEDICINAL

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

- 1 CAPES: Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior
- 2 CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

GABRIELA GOMES CAETITÉ DE AVELAR

BIOMASSA MICELIAL DE *Lentinus berteroi* COMO FONTE DE BIOATIVOS: PERFIL QUÍMICO E POTENCIAL MEDICINAL

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Dra. Juliana Silveira do Valle

Doutora em Biotecnologia – Universidade Federal do Paraná (UFPR) Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientadora)

Dr. Ranulfo Piau Junior

Doutor em Biomedicina – Universidade de Léon, UNILEON Docente da Universidade Paranaense – UNIPAR

Dr. Antonio Laverde Junior

Doutor em Química. – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Umuarama, 14 de março de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir realizar mais um sonho, foi aos seus pés que um dia pedi por essa oportunidade e mesmo em meio a tantos desafios, Ele colocou pessoas em meu caminho que me impulsionasse a chegar até aqui.

A minha querida e amada orientadora, Professora Dr^a. Juliana do Valle, que se dispunha com tamanha dedicação e amor, ensinar e colaborar em todo o processo de pesquisa. Serei eternamente grata pela valiosa contribuição e exemplo na qual representou para mim.

Ao meu esposo, Igor e meus filhos, Heitor e Maitê, agradeço por todo apoio e incentivo, por serem fonte de inspiração e motivação, fazendo-me acreditar que seria capaz de alcançar meus objetivos, que também são seus e entendendo minha ausência em tantos finais de semana de aula.

Aos meus pais, Valdemira e Abnevaldo, agradeço por todos os ensinamentos e valores, principalmente a ter humildade e perseverança, por me fazerem entender que reconhecer nossas fragilidades não é motivo de desistir ou se sentir incapaz de trilhar caminhos ousados, pois para tudo existe um momento oportuno, diante da permissão de Deus. Além deles, agradeço meus irmãos, Leonardo e Rebeca por sempre acreditarem em mim e vibrarem com todas as minhas conquistas. Á minha sogra, Jane, que foi essencial, dando-me todo suporte familiar, para que eu tivesse condições de realizar o mestrado.

Aos colegas que pude construir uma relação de amizade, em especial a Cecília Spada e Jacqueline Ono, que foram sem dúvida grandes parceiras, levarei vocês para vida, muito obrigada pela grande contribuição e mão estendida.

Enfim, agradeço a todos professores do programa por todo conhecimento transmitido.

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho”. (Dalai Lama)

AVELAR, Gabriela Gomes Caetité. **Biomassa micelial de *Lentinus berteroi* como fonte de bioativos**: perfil químico e potencial medicinal. Orientador: Juliana Silveira do Valle. 2025. 82 f. Disserta o (Mestrado em Ciência Animal com ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

RESUMO

Lentinus berteroi (Fr) (Polyporaceae)   um fungo da podridão branca da madeira nativo do Brasil e que constitui a dieta de etnias Yanomami. Apesar disso, informa es sobre seu potencial como fonte de bioativos são escassas. Fungos produzem compostos com diferentes atividades biológicas com a o antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, citotóxica, que se originam de metabólitos primários e secundários que podem ser isolados e identificados no corpo de frutifica o (cogumelo), micélio vegetativo, substrato de crescimento ou no meio de cultura. Com o intuito de identificar as propriedades biológicas de *L. berteroi*, o objetivo desse estudo foi obter a biomassa micelial de *L. berteroi* para determina o do teor de fenóis e flavonoides, identifica o dos compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e investiga o da atividade anti- α -glicosidase. O micélio foi cultivado em meio líquido extrato-de-malte (20 g/L)   28  C por vinte e um dias. A biomassa resultante foi seca em estufa a 60  C, congelada em nitrogênio líquido, triturada e utilizada para a extra o de compostos. Três gramas do micélio foram submetidos a duas extra es sucessivas com etanol:  gua (80:20) e o extrato obtido foi usado nas análises químicas. Dilui es do extrato a 40, 60, 80 e 100 mg/mL foram preparadas usando etanol:  gua e usadas para determinar o teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu, o teor de flavonoides totais foi determinado por rea o com cloreto de alumínio e os compostos fenólicos foram identificados por CLAE. A atividade inibitória da α -glicosidase dos extratos diluídos a 2, 4, 6, 8 e 10 mg/mL foi determinada pela produ o *in vitro* de *p*-nitrofenol. O teor de fenóis foi de $2303,4 \pm 52,2$ μ g EAG/g de biomassa seca e o de flavonoides totais foi de $1657,0 \pm 36,3$ μ g EQ/g de biomassa seca. Os compostos fenólicos identificados por CLAE foram cinco ácidos fenólicos ( cidos gálico, protocateuico, siríngico, *p*-cumárico e benzoico) sendo que o ácido protocateuico ($310,19 \pm 24,85$ μ g/g) foi o mais abundante seguido do ácido gálico ($108,00 \pm 6,30$ μ g/g). Três flavonoides foram identificados (catequina, miricetina e quercetina) sendo a quercetina ($171,12 \pm 9,17$ μ g/g) o flavonoide presente em maior concentra o no extrato. Em rela o   atividade inibitória da α -glicosidase, o extrato (10 mg/mL) foi capaz de inibir a atividade de α -glicosidase significativamente (89,28%) com $IC_{50} = 8,10 \pm 0,08$ mg/mL. Os resultados deste estudo

reforçam o potencial de *L. berteroi* como uma fonte promissora de compostos bioativos com aplicações biotecnológicas. A presença de fenóis e flavonoides na biomassa micelial, incluindo altos teores de ácido protocatecuico, ácido gálico e quercetina, sugere seu potencial antioxidante e anti-inflamatório que ainda carecem de investigação. Além disso, a atividade inibitória expressiva sobre a enzima α -glicosidase indica potencial aplicação no controle glicêmico. Tais resultados são inéditos para essa espécie nativa do Brasil e destacam a importância da exploração científica de fungos nativos potenciais fontes sustentáveis de bioativos. Estudos adicionais poderão aprofundar a caracterização dos metabólitos e avaliar seu potencial em diferentes aplicações.

Palavras-chave: Basidiomicetos. Compostos fenólicos. Diabetes Mellitus. *Lentinus berteroi*. α -glicosidase.

AVELAR, Gabriela Gomes Caetité. **Mycelial biomass of *Lentinus berteroi* as a source of bioactives**: chemical profile and medicinal potential. Advisor: Juliana Silveira do Valle. 2025. 82 p. Dissertation (Master's degree in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2025.

ABSTRACT

Lentinus berteroi (Fr) (Polyporaceae) is a white wood rot fungus native to Brazil and a staple in the diet of the Yanomami ethnic group. Despite this, information about its potential as a source of bioactives is scarce. Fungi produce compounds with different biological activities, including antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, and cytotoxic action, which originate from primary and secondary metabolites that can be isolated and identified in the fruiting body (mushroom), vegetative mycelium, growth substrate, or culture medium. To identify the biological properties of *L. berteroi*, the objective of this study was to obtain the mycelial biomass of *L. berteroi* for the determination of the phenol and flavonoid content, identification of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography (HPLC), and investigation of the anti- α -glucosidase activity. The mycelium was cultivated in liquid malt extract medium (20 g/L) at 28 °C for twenty-one days. The resulting biomass was dried in an oven at 60 °C, frozen in liquid nitrogen, crushed, and used for compound extraction. Three grams of mycelium were subjected to two successive extractions with ethanol: water (80:20), and the extract obtained was used in chemical analyses. Dilutions of the extract at 40, 60, 80, and 100 mg/mL were prepared using ethanol: water and used to determine the total phenol content by the Folin-Ciocalteu method. The total flavonoid content was determined by reaction with aluminum chloride, and the phenolic compounds were identified by HPLC. The α -glucosidase inhibitory activity of the extracts diluted at 2, 4, 6, 8, and 10 mg/mL was determined by in vitro production of *p*-nitrophenol. The phenol content was 2303.4 ± 52.2 μ g EAG/g of dry biomass, and the total flavonoid content was 1657.0 ± 36.3 μ g EQ/g of dry biomass. The phenolic compounds identified by HPLC were five phenolic acids (gallic, protocatechuic, syringic, *p*-coumaric, and benzoic acids), with protocatechuic acid (310.19 ± 24.85 μ g/g) being the most abundant, followed by gallic acid (108.00 ± 6.30 μ g/g). Three flavonoids were identified (catechin, myricetin, and quercetin), with quercetin (171.12 ± 9.17 μ g/g) being the flavonoid present in the highest concentration in the extract. Regarding the inhibitory activity of α -glucosidase, the extract (10 mg/mL) significantly inhibited α -glucosidase activity (89.28%) with $IC_{50} = 8.10 \pm 0.08$ mg/mL. The results of this study reinforce the potential of *L. berteroi* as a

promising source of bioactive compounds with biotechnological applications. The presence of phenols and flavonoids in the mycelial biomass, including high levels of protocatechuic acid, gallic acid, and quercetin, suggests its antioxidant and anti-inflammatory potential that still needs investigation. In addition, the expressive inhibitory activity on the enzyme α -glucosidase indicates potential application in glycemic control. These results are unprecedented for this species native to Brazil and highlight the importance of scientific exploration of native fungi as potential sustainable sources of bioactives. Additional studies could deepen the characterization of metabolites and evaluate their potential in different applications.

Keywords: Basidiomycetes. Diabetes Mellitus. *Lentinus berteroi*. Phenolic compounds. α -glucosidase.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1 - Fungos basidiomicetos como fontes de compostos com atividade anticolinesterásica e antidiabética

Figura 1 – Basidioma de *Lentinus berteroi* com detalhes da face adaxial (esquerda) e abaxial (direita). (Fonte: Lodge e Sourell, 2015).....19

LISTA DE TABELAS

Artigo 2 - Determinação de compostos fenólicos e atividades biológicas do extrato micelial de *Lentinus berteroi*

Tabela 1 – Teor de fenóis e flavonoides no extrato hidroalcoólico da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* U21-256

Tabela 2 – Ácidos fenólicos e flavonoides identificados no extrato hidroalcoólico de *Lentinus berteroi* U21-2 por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)56

Tabela 3 – Atividade anti- α -glicosidase do extrato hidroalcoólico da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* U21-257

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1 – REVISÃO DA LITERATURA	14
1.1 Introdução	15
1.2 Revisão da Literatura	18
1.3 Referências	26
1.4 Objetivos	32
2. CAPÍTULO 2 – ARTIGO	33
2.1 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA α-GLICOSIDASE DO EXTRATO MICELIAL DE <i>Lentinus berteroi</i>	34
RESUMO	35
ABSTRACT	36
Introdução	38
Material e Métodos	39
Cultivo para produção de inóculo	39
Produção de micélio por cultivo em meio líquido	40
Extração de compostos da biomassa micelial	40
Determinação da concentração de compostos fenólicos	40
Determinação da concentração de flavonoides	41
Identificação de compostos fenólicos por CLAE	41
Determinação da capacidade de inibição da α -glicosidase	42
Análise estatística	43
Resultados	43
Discussão	45
Conclusões	49
Agradecimentos	49
Referências	49
Tabelas	56

3. CONCLUSÃO	58
4. ANEXO	59
ANEXO I – Normas do Periódico World Journal of Microbiology and Biotechnology	60

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

**FUNGOS BASIDIOMICETOS COMO FONTES DE COMPOSTOS COM ATIVIDADE
ANTICOLINESTERÁSICA E ANTIDIABÉTICA**

O capítulo 1 foi editado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ABNT.

FUNGOS BASIDIOMICETOS COMO FONTES DE COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA E ANTIDIABÉTICA

1.1 Introdução

Os fungos basidiomicetos são organismos eucariontes, pertencentes ao Filo Basidiomycota, com cerca de 40.000 espécies já descritas e identificadas (He *et al.*, 2022). São eficientes decompositores de matéria orgânica em seu ambiente natural e a maioria é capaz de prosperar em condições ambientais adversas, como por exemplo, resistem a mudanças de temperatura, a não disponibilidade de nutrientes, pH e luminosidade (Vasina; Pavlov; Koroleva, 2016). Uma das características que torna esses organismos versáteis e robustos é a capacidade de produzirem enzimas com diferentes especificidades o que os tornam relevantes para a indústria. Dentre as enzimas de interesse industrial as que degradam a parede celular das plantas apresentam várias aplicações, como as celulasas, hemicelulasas, pectinases e ligninases (Bentil *et al.*, 2021).

O potencial terapêutico e as propriedades bioativas de diversas espécies de fungos basidiomicetos vêm sendo estudados. Porém, muitas espécies nativas do Brasil permanecem pouco exploradas. Atualmente, diferentes cogumelos são utilizados em diversas aplicações, incluindo alimentação, suplementos nutricionais, agentes antimicrobianos, pesticidas, cosméticos e produtos farmacêuticos, para promover benefícios à saúde humana e animal (Badalyan *et al.*, 2019).

As propriedades medicinais dos basidiomicetos originam-se de vários componentes celulares e metabólitos primários e secundários que podem ser isolados e identificados no corpo de frutificação (cogumelo), micélio vegetativo, substrato de crescimento ou no meio de cultura (Elisashvili, 2012). Dentre os metabólitos que se destacam por suas atividades biológicas estão os ácidos orgânicos, polissacarídeos, peptídeos, alcaloides, compostos fenólicos como os flavonoides e ácidos fenólicos (Afonso *et al.*, 2025). Esses compostos demonstram uma extensa variedade de efeitos benéficos à saúde humana e animal, incluindo atividades antioxidante, antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória, imunomoduladora, hepatoprotetora, antidiabética (Martins *et al.* 2023; Rai *et al.*, 2021) relevantes para aplicações nas indústrias de alimentos e farmacêutica (Badalyan *et al.*, 2023; Pinar; Rodríguez-Couto, 2024).

Os fungos basidiomicetos são fontes promissoras de bioativos com potencial para aplicações na saúde humana, animal e ambiental, alinhando-se ao conceito de Saúde Única, que

reconhece a interconexão entre esses três pilares. As propriedades bioativas podem contribuir tanto para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para doenças humanas, quanto para a melhoria da saúde animal e a biotecnologia ambiental. Assim, o estudo desses organismos amplia as possibilidades de soluções naturais e sustentáveis para desafios globais em saúde. O objetivo dessa revisão foi reunir evidências do potencial de basidiomicetos como produtores de compostos com atividade anticolinesterásica e antidiabética.

1.2 Revisão da Literatura

1.2.1 Importância econômica dos fungos

Os fungos de modo geral têm um papel essencial nos ecossistemas, atuando na reciclagem de carbono e de outros nutrientes. Os de origem selvagens produtores de cogumelos podem se tornar uma valiosa fonte de alimentos e ingredientes bioativos caso possam ser cultivados. Seu cultivo não apenas poderia contribuir para a segurança alimentar, mas também poderia gerar renda para comunidades locais (Mortimer *et al.*, 2012), sendo fonte de aminoácidos, proteínas, carboidratos, vitaminas, gorduras, minerais e outros compostos (Badalyan *et al.*, 2023).

Nos últimos anos, o interesse pelo cultivo de cogumelos tem crescido no mundo todo. Atualmente, 76% da produção mundial vem da Ásia, 17,2% da Europa e 5,9% dos Estados Unidos. O volume de cogumelos comestíveis e trufas produzidos globalmente aumentou de 42,92 milhões de toneladas em 2020 para 44,21 milhões de toneladas em 2021. A China se destaca como o maior produtor mundial, seguida pela Itália (Thomas; Mago, 2024).

A crescente demanda por alimentos frescos e com produção sustentável tem impulsionado o desenvolvimento de tecnologias para o cultivo em ambientes controlados. Esse método permite a regulação de fatores como temperatura e iluminação, alinhando-se a uma tendência global de produção mais eficiente e previsível (Wong *et al.*, 2020). Nesse contexto, o cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais surge como uma alternativa promissora para a obtenção de produtos de alto valor agregado (Chen *et al.*, 2022).

Menos convencional, porém cada vez mais relevante, é o cultivo de micélio fúngico voltado para diversas aplicações. Tradicionalmente, a produção industrial de micélio ocorre por fermentação para obtenção de metabólitos como enzimas, fármacos e ácidos orgânicos (Amato; Becci; Beolchini, 2020). No entanto, o uso de micélio fúngico comestível tem ganhado atenção como uma fonte alimentar inovadora e sustentável (Cheng *et al.*, 2023). Produtos à base de micélio vêm despertando interesse crescente, o que aponta para a tendência de aprimorar sua produção e modificar características como cor, sabor, textura e formato, tornando-os mais atraentes para o mercado alimentício (Holt *et al.*, 2023).

O cultivo de micélio apresenta vantagens significativas, como tempos de produção reduzidos e menor suscetibilidade à contaminação, garantindo maior previsibilidade e eficiência no processo. Além disso, essa abordagem está alinhada com as diretrizes de desenvolvimento sustentável, pois possibilita a obtenção de alimentos de forma mais eficiente e ambientalmente responsável. A produção de micélio vegetativo em bioprocessos permite controlar com mais precisão a temperatura, oxigenação, composição do meio de cultivo e outros parâmetros do cultivo, além de permitir maior controle de contaminação o que pode otimizar a obtenção de biocompostos (Berger *et al.*, 2022), quando comparado aos cogumelos extraídos da natureza. Assim, há vantagem biotecnológica em investigar as potencialidades do micélio vegetativo. Nesse sentido, a produção de micélio adaptada a sistemas de cultivo *indoor* é uma tendência, permitindo a customização de características organolépticas e estruturais dos fungos para diferentes aplicações (Barzee *et al.*, 2021).

1.2.2 *Lentinus berteroi*

Considerado como um dos maiores filos, Basidiomycota compreende 1.928 nomes de gêneros, 68 ordens, 241 famílias e mais de 40.000 espécies (ALVES, 2017; HE et al., 2022). A estimativa até 2030 é a descoberta de mais de 54.000 espécies, existindo assim, uma grande lacuna entre a diversidade de espécies já descritas e as desconhecidas em Basidiomycota (ALVES, 2017; HE et al., 2022).

Lentinus berteroi (Fr.) Fr. (Polyporaceae) (Figura 1) é um fungo da podridão branca da madeira, ou seja, produz um arsenal enzimático para degradação da celulose, hemicelulose e lignina (Negrão *et al.*, 2014; Polesso *et al.*, 2022). Cogumelo comestível encontrado em regiões tropicais e neotropicais, essa espécie constitui a dieta de algumas etnias indígenas da Amazônia (Nishikido, 2019).



Figura 1. Basidioma de *Lentinus berteroi* com detalhes da face adaxial (esquerda) e abaxial (direita). (Fonte: Lodge e Sourell, 2015)

As pesquisas envolvendo *L. berteroi* são escassas e mesmo em se tratando de uma espécie nativa brasileira, são poucas as informações recentes disponíveis. Estudos demonstraram que *L. berteroi* produz metabólitos secundários com atividades antiproliferativa e imunossupressora (Rosa *et al.*, 2009). Mais recentemente, a produção de fitase, uma enzima que degrada fitato, um importante fator antinutricional, foi relatada para o micélio de *L. berteroi* (Batistela *et al.*, 2023). Além disso, um estudo sobre a capacidade de causar a descoloração de corantes e a detoxificação de efluentes coloridos foi conduzido (Moreira-Neto *et al.*, 2013).

Não há até o momento dados na literatura sobre outras propriedades medicinais como antidiabética e aticolinesterásica dessa espécie. Assim, estudos que investiguem bioativos de *L. berteroi* e que contribuam com o conhecimento sobre essa espécie nativa e gerem embasamento para o desenvolvimento de produtos e processos de interesse para a saúde única são importantes.

1.2.3 Atividade anticolinesterásica

A Doença de Alzheimer (DA) é uma das principais causas de demência em pessoas com 60 anos ou mais e corresponde a 70% dos casos (Ghosh, Banerjee, Sil, 2015). Está entre as principais doenças neurodegenerativas que provocam morte das células nervosas de maneira intensa e que pode resultar em condição debilitante e fatal (Rai *et al.*, 2021). Está associada ao envelhecimento da população e acarreta grande impacto socioeconômico uma vez que resulta na dependência total da pessoa doente e na sua incapacidade para o trabalho (Gonçalves *et al.*, 2020). Estimativas

recentes indicam que 55,2 milhões de pessoas vivem com demência (WHO, 2021) e até 2050, 152,8 milhões de pessoas em todo o mundo apresentarão algum tipo de demência (GBD, 2022).

A DA apresenta influência genética, com mais de 20 *loci* gênicos relacionados ao aumento do risco de desenvolvimento da doença, porém, fatores comportamentais também têm forte relação com o transtorno, como alimentação rica em carboidratos e em ácidos graxos e gorduras, além de doenças pré-existentes como o diabetes tipo 2 (Rusek *et al.*, 2019).

Comumente, a DA acomete idosos acima de 65 anos de idade, todavia, também pode acometer a população adulta entre os 40-50 anos. Um dos primeiros sintomas observado é a perda da memória recente, ocasionada pelo acúmulo de placas proteicas β -amiloide no espaço extracelular e de emaranhados neurofibrilares da proteína no interior dos neurônios, o que acarreta em danos e morte neuronal, podendo haver também mudanças de comportamento, ansiedade e depressão, delírios e alucinações, evoluindo para a perda de nexos, incontinências e imobilidade física (Gonçalves *et al.*, 2020). Além disso, o estresse oxidativo parece ter associação com o desenvolvimento de DA (Öztürk *et al.*, 2011).

Segundo o Ministério da Saúde (Brasil, 2017), os tratamentos farmacológicos disponíveis para a DA agem em dois sistemas que podem ser prejudicados no percurso da doença, o sistema colinérgico e o glutamatérgico. Entretanto, o tratamento visa apenas retardar a progressão da doença e melhorar a sintomatologia. Os fármacos oferecidos para o tratamento da DA têm farmacocinética, farmacodinâmica e reações adversas associadas conhecidas, enquanto outras opções ainda estão sendo estudadas para se tornarem no futuro uma opção terapêutica com maior eficácia, menos toxicidade e efeitos colaterais (Machado; Antunes, 2021).

Os fármacos aprovados para tratamento da DA são os inibidores da enzima acetilcolinesterase (tacrina, donepezil, galantamina e rivastigmina) e o antagonista fraco dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (memantina) (Delanogare *et al.*, 2019).

Sendo assim, o desenvolvimento e utilização de antioxidantes de origem natural pode ser tão eficaz quanto os industrializados, bem como de compostos anticolinesterásicos de origem natural, poderá contribuir com a redução da progressão da DA e reduzir a degeneração neural (Öztürk *et al.*, 2011).

Nas sinapses colinérgicas, a acetilcolina (ACh) é hidrolisada por duas colinesterases, a acetilcolinesterase (AChE) e a butirilcolinesterase (BChE). No tecido cerebral de portadores de Doença de Alzheimer (DA), a AChE é mais abundante que a BChE, contribuindo para a degradação

da ACh no hipocampo e no córtex cerebral (Nordberg *et al.*, 2013). Com a progressão da doença, os níveis de AChE são reduzidos enquanto os de BChE aumentam de forma expressiva indicando o papel importante dessas enzimas na patofisiologia da DA. Dessa forma, tanto a AChE quanto da BChE passaram a ser alvos terapêuticos relevantes.

Os inibidores de AChE e BChE impedem a degradação da ACh, aumentando os níveis desse neurotransmissor e a neurotransmissão colinérgica cerebral deficiente típica da DA. Os inibidores de colinesterase são classificados como inespecíficos quando inibem AChE, BChE e outras colinesterases; e como específicos quando inibem apenas AChE (Marucci *et al.*, 2021).

Pesquisas demonstraram grande interesse em investigar compostos derivados de fungos basidiomicetos com baixa toxicidade e que inibem AChE e BChE. Os compostos fenólicos como ácidos fenólicos e flavonoides, polissacarídeos e terpenoides derivados de fungos são compostos com atividades inibitórias da AChE e BChE, antioxidante e anti-inflamatória sendo alvo de muitas pesquisas (Rahi; Malik, 2016).

Vale destacar que a atividade anticolinesterásica é conhecida também por sua ação inseticida. Inseticidas tradicionais como os organofosforados e metilcarbamatos são usados há décadas para controle de pragas e atuam como anticolinesterásicos. Em insetos ou ácaros a inibição da acetilcolinesterase leva ao acúmulo de acetilcolina que causa excitação e morte, porém esse é um efeito que se estende também a mamíferos (Casida; Durkin, 2013). O uso constante e indiscriminado de inseticidas tradicionais levou a seleção de populações resistentes a inseticidas causada por seleção de acetilcolinesterases modificadas. Nesse contexto, os metabólitos secundários de fungos podem oferecer possíveis alternativas aos pesticidas sintéticos devido à sua vasta gama de atividades biológicas e diversidade de estruturas químicas (Mahmoud *et al.*, 2019).

Tel-Çayan *et al.* (2015) relataram que o extrato acetato de etila de cogumelos de *Ganoderma adspersum* foi capaz de inibir a BChE ($IC_{50} = 19,97 \mu\text{g/mL}$) e o extrato hexânico inibiu a AChE ($IC_{50} = 15,29 \mu\text{g/mL}$). Nguyen *et al.* (2016) verificaram que os extratos metanólicos (0,063 a 1,0 mg/mL) de *Pleurotus pulmonarius* inibiram a AChE com taxas de inibição de 57,24% a 69,05%. Tel-Çayan *et al.* (2018) avaliaram a inibição da AChE e BChE por diferentes extratos dos cogumelos *Chondrogaster pachysporus* e *Setchelliogaster tenuipes* e relataram que os extratos hexânico, metanólico e aquoso de *C. pachysporus* exibiram maior atividade inibitória contra BChE.

Randhawa e Shri (2018) avaliaram o potencial de extratos hidrometanólicos de cogumelos frescos de quatro espécies de *Pleurotus* e observaram que *P. florida* apresentou a maior inibição da

AChE ($IC_{50} = 59,13$ mg/mL). O extrato hexânico de *Trametes pubescens* apresentou significativas atividades inibitórias de AChE ($IC_{50} = 7,37$ µg/mL) e BChE ($IC_{50} = 15,24$ µg/mL) (Tel-Çayan *et al.*, 2021).

Até o momento, não há dados sobre o potencial inibitório da AChE e BChE por compostos derivados de *L. berteroi*, bem como outras espécies nativas brasileiras. De fato, muitas espécies de cogumelos comestíveis e medicinais apresentam propriedades bioativas não identificadas e subutilizadas e novas pesquisas poderiam elucidar mecanismos e compostos de interesse para a saúde única (Rai *et al.* 2021).

1.2.4 Inibidores da α -amilase e α -glicosidase

O Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico no qual o indivíduo apresenta altas concentrações de açúcar no sangue. O nível elevado de açúcar no sangue, por sua vez, produz três sintomas principais característicos do diabetes: poliúria, polidipsia e polifagia (Ghosh; Banerjee; Sil, 2015). O DM é uma doença que geralmente é manifestada quando o organismo não controla a quantidade de glicose no sangue, fazendo com que os rins produzam uma grande quantidade de urina e o corpo não produz insulina suficiente ou não a consome como deveria (Suryasa *et al.*, 2021).

É considerado um problema de saúde de alta prevalência em nosso meio e considerado uma das doenças de mais difícil controle, por ser crônica, sistêmica e multifatorial. Trata-se de um distúrbio metabólico provocado pela parcial ou completa deficiência de insulina pelo pâncreas e/ou diminuição de sua ação nos tecidos prejudicando assim o metabolismo dos lipídeos, glicídios, proteínas, água, vitaminas e minerais (Fonseca; Rached, 2019).

O DM afeta cerca de 5% da população mundial e seu manejo sem desencadear efeitos colaterais é um desafio para o sistema de saúde, sendo caracterizada por uma evolução no esgotamento intensivo das células (Francisco *et al.*, 2022). Segundo dados da Federação Internacional de Diabetes, em 2015 havia 415 milhões de pessoas sofrendo de diabetes em todo o mundo, com a tendência para diabetes continuar a crescer, o número de pessoas que sofrem dessa doença pode atingir até 642 milhões de pessoas em 2040 (Vitak *et al.*, 2017).

Tendo em vista, o crescente número de indivíduos com pré-disposição a DM e o potencial da atividade de inibição enzimática encontrada em basidiomicetos como possível fonte de

compostos para controle dos níveis glicêmicos, se faz necessário aprofundar as pesquisas que evidenciem e qualifiquem essa abordagem.

As α -amilases e α -glicosidases são enzimas relacionadas à digestão do amido em humanos. As α -amilases, produzidas nas glândulas salivares e no pâncreas, hidrolisam o amido em dissacarídeos e oligossacarídeos. Os di- e oligossacarídeos sofrem hidrólise adicional pelas α -glicosidase, nas microvilosidades das células do intestino delgado absorptivas, gerando glicose para absorção intestinal (Li *et al.*, 2022). A inibição das atividades destas enzimas pode retardar a taxa de hidrólise do amido, permitindo maior controle da hiperglicemia pós-prandial representando estratégia importante no manejo do nível de glicose no sangue em pacientes diabéticos tipo 2 e limítrofes (Ren; Ji; Zhu, 2023).

Atualmente tem-se tido interesse em produtos à base de plantas, medicamentos e alimentos funcionais que possam modular os efeitos fisiológicos na prevenção e cura do diabetes e da obesidade (Chiasson *et al.*, 2002). Tem sido crescente o interesse público e a consciência que os medicamentos naturais levam a indústrias farmacêutica e os investigadores acadêmicos a prestarem mais atenção às plantas medicinais e aos cogumelos (Vitak *et al.*, 2017). As investigações para compreensão das propriedades antidiabéticas dos cogumelos e a descoberta de novos medicamentos de base natural estão aumentando, uma vez que alguns estudos examinam as atividades inibitórias das enzimas α -amilase e α -glicosidase *in vitro* dos extratos de alguns cogumelos (Deveci *et al.*, 2021).

O extrato de algumas espécies de cogumelos vem mostrando potentes atividades anti-amilase e antiglicosidase. As atividades inibitórias dos extratos hexânico e metanólico de vinte e quatro cogumelos medicinais sobre a α -amilase e α -glicosidase foram avaliadas por Deveci *et al.* (2021). O extrato hexânico de *Pleurotus ostreatus* ($IC_{50} = 0,10 \pm 0,01$ mg/mL) apresentou a maior atividade inibitória na α -glicosidase. Os extratos hexânicos de *Chroogomphus rutilus* ($IC_{50} = 98,81 \pm 0,01\%$), *Ganoderma adspersum* ($IC_{50} = 96,96 \pm 0,47\%$), *G. sepiarium* ($IC_{50} = 96,89 \pm 1,01\%$) e *Suillus granulatus* ($IC_{50} = 97,74 \pm 0,27\%$) apresentaram maior atividade inibitória de α -amilase do que o controle positivo acarbose (1,00 mg/mL). Adicionalmente, os extratos hexânicos de *P. ostreatus* ($IC_{50} = 0,10 \pm 0,01$ mg/mL), *Macrolepiota procera* ($IC_{50} = 0,11 \pm 0,01$ mg/mL), *Phaeolus schweinitzii* ($IC_{50} = 0,14 \pm 0,01$ mg/mL), *Leucopaxillus gentianeus* ($IC_{50} = 0,22 \pm 0,02$ mg/mL), *Porodaedalea pini* ($IC_{50} = 0,22 \pm 0,03$ mg/mL) e os extratos metanólicos de *Trametes pubescens*

($IC_{50} = 0,12 \pm 0,02$ mg/mL) e *G. adspersum* ($IC_{50} = 0,20 \pm 0,04$ mg/mL) apresentaram maior atividade inibitória da α -glicosidase do que acarbose ($IC_{50} = 0,37 \pm 0,01$ mg/mL).

Yang *et al.* (2022) isolaram vinte e seis triterpenóides (1–26) de cogumelos de *Ganoderma weberianum* e os compostos 2, 7, 12 e 14 mostraram atividade inibitória significativa de α -glicosidase com IC_{50} variando de 35,3 μ M ~ 223,4 μ M em comparação com o controle positivo acarbose ($IC_{50} = 304,6$ μ M). Petrović *et al.* (2023) relataram que o extrato metanólico de *Armillaria mellea* promoveu inibição da α -amilase em até 40%, mas não inibiu a α -glicosidase de forma significativa. Kim; Jang; Park (2023) avaliaram o potencial do extrato metanólico de cinco variedades de *Agaricus bisporus* (AB12, AB13, AB18, AB34 e AB40) inibirem a α -glicosidase e relataram que os extratos de AB40, AB13 e AB12 a 1,0 mg/mL inibiram a atividade da enzima em 80,5%, 81,3% e 78,5%, respectivamente, similar à acarbose.

Essas descobertas indicam que o consumo de cogumelos pode oferecer manutenção da saúde, bem como do controle de diabetes por inibição enzimática (Agrawal; Dhanasekarana, 2023). Até o momento não há relatos sobre o potencial de *L. berteroi* inibir as α -amilases e α -glicosidases.

1.2.5 Considerações finais

Os fungos basidiomicetos apresentam um grande potencial biotecnológico devido à produção de metabólitos bioativos com diversas aplicações na indústria alimentícia, farmacêutica e ambiental. *Lentinus berteroi*, ainda pouco explorado, representa um recurso promissor para novas descobertas científicas e inovações sustentáveis. O estudo desses organismos reforça a importância do conceito de Saúde Única, ao integrar saúde humana, animal e ambiental. A bioprospecção de espécies nativas pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras, alternativas sustentáveis para a produção de alimentos funcionais e novos bioprocessos industriais.

Diante da escassez de estudos sobre as propriedades anticolinesterásica e antidiabética dessas espécies, investigações mais aprofundadas são essenciais para ampliar o conhecimento sobre seus mecanismos de ação e possíveis aplicações na saúde humana.

1.3 Referências

- AFONSO, Tiago Barros *et al.* Exploring the bioactive potential of mushroom aqueous extracts: antimicrobial, antioxidant, and prebiotic properties. **Applied Sciences**, v. 15, n. 3, p. 1551, 2025.
- AGRAWAL, Dinesh Chandra; DHANASEKARAN, Muralikrishnan. **Mushrooms with therapeutic potentials**. Springer Singapore, 509p. 2023.
- AMATO, Alessia; BECCI, Alessandro; BEOLCHINI, Francesca. Citric acid bioproduction: the technological innovation change. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 2, p. 199-212, 2020.
- BADALYAN, Susanna M. *et al.* Mushrooms as promising therapeutic resources: review and future perspectives. **Mushrooms with therapeutic potentials: recent advances in research and development**, p. 1-54, 2023.
- BADALYAN, Susanna M.; BARKHUDARYAN, Anush; RAPIOR, Sylvie. Recent progress in research on the pharmacological potential of mushrooms and prospects for their clinical application. **Medicinal mushrooms: recent progress in research and development**, p. 1-70, 2019.
- BARZEE, Tyler J. *et al.* Fungi for future foods. **Journal of Future Foods**, v. 1, n. 1, p. 25-37, 2021.
- BATISTELA, Aline Maria Pereira *et al.* Phytase production by white-rot fungi cultivated in liquid medium with particulate agro-industrial byproducts. **Concilium**, v. 23, n. 5, p. 250-264, 2023.
- BENTIL, Joseph A. *et al.* Cellulase production by white-rot basidiomycetous fungi: solid-state versus submerged cultivation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 5827-5839, 2018.
- BERGER, Ralf G. *et al.* Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungi - A comparison of metabolites. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, p. 1379, 2022.
- BRASIL, Ministério da Saúde (BR), Portaria SAS/MS n. 13, de 28 de novembro de 2017. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Alzheimer.
- CASIDA, John E.; DURKIN, Kathleen A. Anticholinesterase insecticide retrospective. **ChemicoBiological Interactions**, v. 203, n. 1, p. 221-225, 2013.
- CHEN, L. *et al.* Research progress on indoor environment of mushroom factory. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 15, n. 1, p. 25-32, 2022.

CHENG, C.Y. *et al.* Innovative approaches to fungal food production: mycelial pellet morphology insights. **Foods**, v. 12, n. 18, p. 3477, 2023.

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

DELANOGARE, Eslen *et al.* Hipótese amiloide e o tratamento da doença de Alzheimer: revisão dos estudos clínicos realizados. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 31, n. 1, p. 84106, 2019.

DEVECI, Ebru *et al.* Inhibitory activities of medicinal mushrooms on α -amylase and α glucosidase-enzymes related to type 2 diabetes. **South African Journal of Botany**, v. 137, p. 1923, 2021.

ELISASHVILI, Vladimir I. Cultivo submerso de cogumelos medicinais: bioprocessos e produtos. **Revista Internacional de Cogumelos Medicinais**, v. 14, n. 3, 2012.

FRANCISCO, Priscila Maria Stolses Bergamo *et al.* Diabetes mellitus em idosos, prevalência e incidência: resultados do Estudo Fibra. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 25, p. e210203, 2022.

FONSECA, Kathlem Pereira; ABI RACHED, Chennyfer Dobbins. Complicações do diabetes mellitus. **International Journal of Health Management Review**, v. 5, n. 1, 2019.

GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **Lancet Public Health**, v.7, n. 2, p. e105-e125, 2022.

GHOSH, Shatadal; BANERJEE, Sharmistha; SIL, Parames C. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 111-124, 2015.

GONÇALVES, Lucas Ferreira *et al.* The Problem of the epidemic of vascular dementia in Brazil: a bibliographic review. **Brazilian Journal of health Review**, Curitiba, v. 3, n. 5, p. 15451-15459, 2020.

HE, H. *et al.* Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 134, p. 111161-111161, 2020.

HOLT, Roberta R. *et al.* Mycelium: A nutrient-dense food to help address world hunger, promote health, and support a regenerative food system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 72, n. 5, p. 2697-2707, 2023.

KIM, Jung Han; JANG, Myoung Jun; PARK, Youn Jin. In Vitro α -Amylase, α -Glucosidase, Pancreatic Lipase, Xanthine Oxidase Inhibiting Activity of *Agaricus bisporus* Extracts. **Mycobiology**, v. 51, n. 1, p. 60-66, 2023.

LI, Xiaoxiao *et al.* Food-derived non-phenolic α -amylase and α -glucosidase inhibitors for controlling starch digestion rate and guiding diabetes-friendly recipes. **LWT**, v. 153, p. 112455, 2022.

LODGE, Jean; SOURELL Susanne. **Fungos da Reserva Particular do Patrimônio Natural do Cristalino**. 2015. Disponível em <https://fieldguides.fieldmuseum.org/pt-br/guias/guia/719>. Acesso em 20 fev. 2025.

MACHADO, Bruna; ANTUNES, Liana. Pharmacological and non-pharmacological therapies in the treatment of Alzheimer's Disease – A Narrative Literature Review. **Revista Saúde e Desenvolvimento Humano**, Canoas, v. 9, n. 3, p. 01-11, 2021.

MAHMOUD, Nabila F. *et al.* Acaricidal and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from six plants growing in Egypt. **International Journal of Acarology**, v. 45, n. 4, p. 245-251, 2019.

MARUCCI, Gabriella *et al.* Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. **Neuropharmacology**, v. 190, p. 108352, 2021.

MOREIRA-NETO, S. L. *et al.* Decolorization of salt-alkaline effluent with industrial reactive dyes by laccase-producing basidiomycetes strains. **Letters in applied microbiology**, v. 56, n. 4, p. 283290, 2013.

MORTIMER, Peter E. *et al.* Prized edible Asian mushrooms: ecology, conservation and sustainability. **Fungal Diversity**, v. 56, p. 31-47, 2012.

NEGRÃO, Djanira R. *et al.* Biodegradation of *Eucalyptus urograndis* wood by fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 95-102, 2014.

- NGUYEN, Trung Kien *et al.* Evaluation of antioxidant, anti-cholinesterase, and anti-inflammatory effects of culinary mushroom *Pleurotus pulmonarius*. **Mycobiology**, v. 44, n. 4, p. 291-301, 2016.
- NISHIKIDO, Linda Midori Tsuji. Cogumelos como hábitos alimentares dos índios Yanomami saberes associados à ciência, à preservação e à defesa da floresta amazônica. **Revista de Estudos Brasileños**, v. 6, n. 11, p. 205-210, 2019.
- NORDBERG, Agneta *et al.* A review of butyrylcholinesterase as a therapeutic target in the treatment of Alzheimer's disease. **The primary care companion for CNS disorders**, v. 15, n. 2, p. 26731, 2013.
- ÖZTÜRK, Mehmet *et al.* In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 6, p. 1353-1360, 2011.
- PETROVIĆ, Nevena *et al.* Chemical Characterization and Bioactive Properties of the Edible and Medicinal Honey Mushroom *Armillaria mellea* (Agaricomycetes) from Serbia. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 25, 2023.
- PINAR, Orkun; RODRÍGUEZ-COUTO, Susana. Biologically active secondary metabolites from white-rot fungi. **Frontiers in Chemistry**, v. 12, p. 1363354, 2024.
- POLESSO, Camila Borges *et al.* Transforming second-generation ethanol production waste into sustainable enzymatic cosmetic inputs. **Industrial Crops and Products**, v. 188, p. 115658, 2022.
- RAHI, Deepak K.; MALIK, Deepika. Diversity of mushrooms and their metabolites of nutraceutical and therapeutic significance. **Journal of Mycology**, v. 2016, 2016.
- RAI, Sachchida Nand *et al.* Therapeutic applications of mushrooms and their biomolecules along with a glimpse of in silico approach in neurodegenerative diseases. **Biomedicina & Farmacoterapia**, v. 137, p. 111377, 2021.
- RANDHAWA, Kudrat; SHRI, Richa. Comparison of antioxidant and anticholinesterase activities of selected *Pleurotus* species (Agaricomycetes) from India. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 20, n. 8, 2018.

- REN, Fei; JI, Nairu; ZHU, Yunping. Research progress of α -glucosidase inhibitors produced by microorganisms and their applications. **Foods**, v. 12, n. 18, p. 3344, 2023.
- ROSA, Luiz H. *et al.* Cytotoxic, immunosuppressive, trypanocidal and antileishmanial activities of Basidiomycota fungi present in Atlantic Rainforest in Brazil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 95, p. 227-237, 2009.
- RUSEK, Marta *et al.* Ketogenic diet in Alzheimer's disease. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 16, p. 3892, 2019.
- SURYASA, Wayan; RODRÍGUEZ-GÁMEZ, María; KOLDORIS, Tihnov. Health and treatment of diabetes mellitus. **International Journal of Health Sciences**, v. 5, n. 1, 2021.
- TEL-CAYAN, Gülsen *et al.* Comparative assessment of phytochemical composition, antioxidant and anticholinesterase activities of two Basidiomycota Truffle Fungi from Turkey. **Marmara Pharm J**, v. 22, n. 1, p. 59-65, 2018.
- TEL-ÇAYAN, Gülsen *et al.* Phenolic profile, antioxidant and cholinesterase inhibitory activities of four Trametes species: *T. bicolor*, *T. pubescens*, *T. suaveolens*, and *T. versicolor*. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 5, p. 4608-4616, 2021.
- TEL-ÇAYAN, Gülsen *et al.* Phytochemical investigation, antioxidant and anticholinesterase activities of *Ganoderma adspersum*. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 749-754, 2015.
- THOMAS, L.; MAGO, P. Unearthing the therapeutic benefits of culinary-medicinal mushrooms for humans: Emerging sustainable bioresources of 21st century. **Journal of Basic Microbiology**, p. e2400127, 2024.
- VASINA, Daria V.; PAVLOV, Andrey R.; KOROLEVA, Olga V. Extracellular proteins of *Trametes hirsuta* st. 072 induced by copper ions and a lignocellulose substrate. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2016.
- VITAK, Taras *et al.* Effect of medicinal mushrooms on blood cells under conditions of diabetes mellitus. **World journal of diabetes**, v. 8, n. 5, p. 187, 2017.
- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* Global status report on the public health response to dementia. 2021. Disponível em <https://www.who.int/publications/i/item/9789240033245>. Acesso em 28 fev. 2025.

WONG, Chui Eng *et al.* Seeing the lights for leafy greens in indoor vertical farming. **Trends in Food Science & Technology**, v. 106, p. 48-63, 2020.

YANG, Li *et al.* Antidiabetic lanostane triterpenoids from the fruiting bodies of *Ganoderma weberianum*. **Bioorganic Chemistry**, v. 127, p. 106025, 2022.

1.4 Objetivos

Determinar o teor de fenóis totais, flavonoides totais, identificar os compostos fenólicos e a atividade anti- α -glicosidase do extrato do micélio vegetativo de *Lentinus berteroi*.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

2.1 ARTIGO 1 - DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE INIBITÓRIA DA α -GLICOSIDASE DO EXTRATO MICELIAL DE *Lentinus berteroi*

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Revista World Journal of Microbiology and Biotechnology– ISSN 1573-0972.

RESUMO

Lentinus berteroi é um fungo produtor de cogumelos nativo do Brasil sobre o qual há poucas informações na literatura. Basidiomicetos produzem metabólitos com atividades biológicas que podem ser utilizados na promoção de saúde e bem-estar. O objetivo desse estudo foi produzir o micélio de *L. berteroi* e determinar o teor de fenóis e flavonoides, identificar compostos fenólicos e avaliar a inibição da enzima α -glicosidase. O micélio foi submetido à duas extrações sucessivas com etanol :água (80:20). O extrato obtido foi usado para determinar o teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu e de flavonoides por reação com cloreto de alumínio. O teor de fenóis foi de $2303,4 \pm 52,2$ μg EAG/g de biomassa seca e o de flavonoides totais foi de $1657,0 \pm 36,3$ μg EQ/g de biomassa seca. Os compostos fenólicos foram identificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, indicando o ácido protocatecuico ($310,19 \pm 24,85$ $\mu\text{g/g}$) foi o mais abundante seguido do ácido gálico ($108,00 \pm 6,30$ $\mu\text{g/g}$). A quercetina ($171,12 \pm 9,17$ $\mu\text{g/g}$) foi o flavonoide presente em maior concentração no extrato. Das atividades biológicas realizadas até o momento, a atividade inibitória da α -glicosidase foi determinada pela produção de p-nitrofenol. O extrato foi capaz de inibir a atividade de α -glicosidase significativamente (89,28%) com $\text{IC}_{50} = 8,10 \pm 0,08$ mg/mL. Os resultados são inéditos e promissores em relação às características químicas de *L. berteroi* uma espécie com potencial biotecnológico e como fonte de bioativos.

ABSTRACT

Lentinus berteroi is a mushroom-producing fungus native to Brazil, about which there is little information in the literature. Basidiomycetes produce metabolites with biological activities that can be used to promote health and well-being. This study aimed to produce the mycelium of *L. berteroi* and determine the phenol and flavonoid content, identify phenolic compounds, and evaluate the inhibition of α -glucosidase. The mycelium was subjected to two extractions with ethanol:water (80:20). The extract obtained was used to determine the total phenol content by the Folin-Ciocalteu method and the flavonoid content by reaction with aluminum chloride. The phenol content was 2303.4 ± 52.2 $\mu\text{g EAG/g}$ of dry biomass, and the total flavonoid content was 1657.0 ± 36.3 $\mu\text{g EQ/g}$ of dry biomass. High-Performance Liquid Chromatography identified the phenolic compounds; protocatechuic acid (310.19 ± 24.85 $\mu\text{g/g}$) was the most abundant, followed by gallic acid (108.00 ± 6.30 $\mu\text{g/g}$). Quercetin (171.12 ± 9.17 $\mu\text{g/g}$) was the flavonoid present in the highest concentration in the extract. Of the biological activities performed so far, the inhibitory activity of α -glucosidase was determined by the production of p-nitrophenol. The extract significantly inhibited α -glucosidase activity (89.28%) with $\text{IC}_{50} = 8.10 \pm 0.08$ mg/mL. The results are unprecedented and promising regarding the chemical characteristics of *L. berteroi*, a species with biotechnological potential and as a source of bioactives.

Determinação de compostos fenólicos e atividade inibitória da α -glicosidase do extrato micelial de *Lentinus berteroi*

Gabriela Gomes Caetité de Avelar^{1*}, Katielle Vieira Avelino², Flavio Augusto Vicente Seixas²,
Juliana Silveira do Valle¹

¹Pós-graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos, Universidade Paranaense, Umuarama, Paraná, Brasil

²Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, Paraná, Brasil

Autor para correspondência

Gabriela Gomes Caetité de Avelar

E-mail: gabriela.caetite@edu.unipar.br

G. G. C. de Avelar: <https://orcid.org/0009-0003-9053-3969>

K. V. Avelino: <https://orcid.org/0000-0001-9826-8029>

F. A. V. Seixas: <https://orcid.org/0000-0002-0117-6919>

J. S. Valle: <https://orcid.org/0000-0002-9463-5378>

RESUMO

Lentinus berteroi é um fungo produtor de cogumelos nativo do Brasil sobre o qual há poucas informações na literatura. Basidiomicetos produzem metabólitos com atividades biológicas que podem ser utilizados na promoção de saúde e bem-estar. O objetivo desse estudo foi produzir o micélio de *L. berteroi* e determinar o teor de fenóis e flavonoides, identificar compostos fenólicos e avaliar a inibição da α -glicosidase. O micélio foi submetido à duas extrações com uma etanol:água (80:20). O extrato obtido foi usado para determinar o teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu e de flavonoides por reação com cloreto de alumínio. O teor de fenóis foi de $2303,4 \pm 52,2$ μg EAG/g de biomassa seca e o de flavonoides totais foi de $1657,0 \pm 36,3$ μg EQ/g de biomassa seca. Os compostos fenólicos foram identificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do ácido protocatecuico ($310,19 \pm 24,85$ $\mu\text{g/g}$) foi o mais abundante seguido do ácido gálico ($108,00 \pm 6,30$ $\mu\text{g/g}$). A quercetina ($171,12 \pm 9,17$ $\mu\text{g/g}$) foi o flavonoide presente em maior concentração no extrato. Das atividades biológicas realizadas até o momento, a atividade inibitória da α -glicosidase foi determinada pela produção de *p*-nitrofenol. O extrato foi capaz de inibir a atividade de α -glicosidase significativamente (89,28%) com $\text{IC}_{50} = 8,10 \pm 0,08$ mg/mL. Os resultados são inéditos e promissores em relação às características químicas de *L. berteroi* uma espécie com potencial biotecnológico e como fonte de bioativos.

Palavras-chave: Alzheimer. Basidiomicetos. Diabetes Mellitus. *Lentinus bertieri*. α -glicosidase.

Introdução

Fungos basidiomicetos são fontes promissoras de metabólitos com diferentes atividades biológicas como antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatórios, imunomoduladores, neuroprotetores entre outras (Thomas e Mago 2024). Na natureza, estes fungos têm papel central na degradação da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes, ao mesmo tempo que oferecem grande potencial para o desenvolvimento de novas aplicações nas indústrias farmacêutica, de cosméticos, química e de alimentos (Lu et al., 2020). Portanto, podem ser recursos naturais valiosos no contexto da Saúde Única.

Os fungos, de maneira geral, estão presentes em diversas situações cotidianas. Tanto na área da saúde, na indústria, na biotecnologia ou na gastronomia, os fungos têm participação ativa e muitas vezes essencial. Em virtude de serem organismos eucariotos com características que os aproximam filogeneticamente dos reinos animal e vegetal, porém, com características únicas que os distinguem dos demais organismos vivos, os fungos têm seu papel insubstituível no mundo moderno (Cavalcante *et al.*, 2021).

Compostos bioativos são obtidos na maioria das vezes a partir do corpo de frutificação dos basidiomicetos. Porém, o micélio vegetativo pode ser uma fonte estratégica desses compostos, uma vez que a produção de micélio em biorreatores é mais rápida, menos sujeita à contaminação, de fácil recuperação e o processo é escalonável, representando uma opção para a produção de material rico em componentes bioativos ampliando as possibilidades de exploração biotecnológica sustentável para a promoção da saúde e do bem-estar (Berger et al., 2022).

Lentinus berteroi (Fr.) Fr. um basidiomiceto da Família Polyporaceae é um fungo da podridão branca da madeira capaz de degradar todos os componentes da parede celular vegetal, devido à produção de várias enzimas para degradação da celulose, hemicelulose e lignina (Negrão et al. 2014; Polesso et al., 2022). Mais recentemente, a produção da enzima fitase, que degrada o fator antinutricional fitato, foi relatada para o micélio de *L. berteroi* (Batistela et al. 2023).

Em suas especificidades o *Lentinus berteroi* (Fr.) Fr. é caracterizado por apresentar píleo fibriloso com margem involuta, formação de anastomoses (poros) na inserção das lamelas decorrentes no estipe e esporos cilíndricos de 5,5-7,5 x 2-2,7 µm (Cavalcante et al., 2021). Esta espécie produz cogumelos comestíveis de ocorrência tropical e neotropical e compõe a dieta de etnias indígenas da Amazônia (Nishikido, 2019), o que indica potencial uso na indústria de

alimentos. Estudos prévios demonstraram que esta espécie produz metabólitos secundários com atividades antiproliferativa e imunossupressora (Rosa et al., 2009), mas não há outros estudos sobre compostos bioativos ou atividades biológicas desse fungo.

Metabólitos de fungos basidiomicetos têm sido explorados como novas fontes de inibidores naturais da alfa-glicosidase (Deveci et al., 2021), destacando-se os compostos fenólicos. Assim, a bioprospecção desses organismos representa uma estratégia para o desenvolvimento de terapias mais seguras e eficazes no controle da glicemia, alinhando-se aos princípios da Saúde Única.

O diabetes é considerado uma doença degenerativa e autoimune, que aumenta o risco da instalação do Alzheimer no indivíduo, sendo responsável pela intoxicação do fígado, da inflamação dos intestinos, com reflexos imediatos no cérebro, causando-lhe também inflamações, estresse oxidativo e as disfunções teciduais cerebrais (Roberto, 2022).

A crescente prevalência do diabetes tipo 2, associada ao envelhecimento populacional e a hábitos alimentares inadequados (Francisco et al., 2022), tem impulsionado a busca por novas abordagens terapêuticas para o controle glicêmico. Dentre os tratamentos disponíveis, os inibidores da α -glicosidase são utilizados para reduzir a taxa de digestão do amido e retardar a absorção de carboidratos, permitindo maior controle da glicemia pós-prandial (Ren et al., 2023). No entanto, efeitos adversos como distúrbios gastrointestinais impulsionam a busca por inibidores naturais desta enzima.

Os objetivos do presente estudo foram determinar o teor de fenóis totais, flavonoides, identificar os compostos fenólicos e a atividade anti α -glicosidase do extrato da biomassa micelial de *L. berteroi*, para ampliar o conhecimento sobre as propriedades bioativas desta espécie e seu potencial biotecnológico no desenvolvimento de novos produtos para a promoção da saúde e bem-estar.

Material e métodos

Cultivo para produção de inóculo

O basidiomiceto *Lentinus berteroi* (Fr.) Fr. (sinonímia *Lentinus bertieri* (Fr.) Fr.) foi analisado nesse estudo. A linhagem U21-2 está depositada na coleção de culturas do Laboratório de Biologia Molecular da UNIPAR, Umuarama-Paraná. A referida linhagem foi adquirida junto ao Instituto de Botânica de São Paulo (CCIBt 3355), originalmente coletada em Bofete – SP. A

linhagem foi devidamente registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob número AE7ECBC.

A linhagem foi cultivada em meio sólido ágar-extrato-de-malte (AEM) 20 g/L a 28 ± 1 °C na ausência de luz para a produção de inóculo. Seis discos de 6 mm de diâmetro contendo micélio sem setoriamento foram usados para inocular os meios de cultivo para produção de biomassa micelial.

Produção de micélio por cultivo em meio líquido

O cultivo de micélio foi realizado empregando-se frascos Erlenmeyer (250 mL) contendo 100 mL de meio extrato de malte (20 g/L) previamente autoclavado a 121 °C por 20 minutos (Halabura et al. 2023). Depois da inoculação com o micélio, os frascos foram mantidos por 21 dias a 28 ± 1 °C em estufas BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) na ausência de luz.

A biomassa micelial obtida após 21 dias foi recuperada por filtração e, posteriormente, submetida à secagem em uma estufa com circulação de ar a 60 °C até que se atinja um estado de massa constante. Após a completa secagem, a biomassa resultante foi submetida a um processo de congelamento rápido utilizando nitrogênio líquido e, em seguida, triturada em um almofariz até que se obtenha um pó de textura fina. Este pó de micélio foi empregado como matéria-prima para a extração de compostos.

Extração de compostos da biomassa micelial

Os procedimentos de obtenção dos extratos a partir da biomassa micelial seguiram as diretrizes propostas por Saltarelli et al. (2009). Uma amostra de 3 gramas de micélio em pó foi submetida a duas extrações sucessivas com 15 mL de uma solução composta por etanol e água na proporção de 80:20 (v/v), a 50 °C por um período de 50 minutos. As soluções resultantes foram submetidas a centrifugação a uma velocidade de 4400 g durante 20 minutos e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. Os sobrenadantes provenientes das duas extrações foram combinados e armazenados a uma temperatura de -80 °C e utilizados em todas as análises subsequentes.

Determinação da concentração de compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos presentes no extrato hidroalcoólico do micélio foi conduzida utilizando o método de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Singleton et al. (1999). O extrato, inicialmente a uma concentração de 100 mg/mL, foi diluído em solução de etanol e água na proporção de 80:20 (v/v), obtendo-se concentrações de 20, 40, 60 e 80 mg/mL, sendo a concentração máxima avaliada igual a 100 mg/mL. Em seguida, uma alíquota de 0,3 mL do extrato foi combinada com 2,5 mL de uma solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v) e 2,0 mL de carbonato de sódio com concentração de 7,5 g/L. A mistura resultante foi mantida a uma temperatura de 50 °C por um período de 15 minutos, e a variação na absorvância foi registrada a um comprimento de onda de 760 nm. Como controle analítico, uma mistura de etanol e água foi empregada. As concentrações dos fenóis foram calculadas com base em uma curva padrão de ácido gálico, abrangendo a faixa de concentração de 10 a 700 µM. Os resultados obtidos foram expressos em microgramas equivalentes de ácido gálico (EAG) por miligrama de micélio seco.

Determinação da concentração de flavonoides

Os flavonoides totais presentes no extrato dos micélios foram quantificados por meio do método colorimétrico utilizando cloreto de alumínio, empregando quercetina como padrão de referência, como indicado por Alves e Kubota (2013). Os extratos foram diluídos em etanol: água (80:20 v/v) para obtenção de concentrações de 20, 40, 60 e 80 mg/mL, sendo 100 mg/mL a concentração máxima avaliada. Alíquotas de 0,5 mL dos extratos foram misturadas a 0,5 mL de solução de cloreto de alumínio 2% (m/v) em metanol e mantidas a temperatura ambiente por 10 minutos. A variação da absorvância foi determinada a 425 nm. A concentração de flavonoides foi calculada de acordo com curva padrão de quercetina (5 – 40 µg/mL) e os resultados expressos em µg equivalentes de quercetina (EQ) por mg de micélio seco.

Identificação de compostos fenólicos por CLAE

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando-se um sistema Shimadzu (LC-20A Prominence) acoplado a um detector UV-Vis (Shimadzu, SPD-20A). O extrato (40 mg/mL) foi filtrado em membrana com poros de 0,22 µm e uma amostra de 20 µL foi injetada no equipamento. Os compostos foram detectados a 280 e 320 nm, segundo Palacios et al. (2011). Empregou-se um gradiente de solventes

composto por uma fase móvel composta pelo solvente A (ácido acético glacial 0,1% em água) e solvente B (ácido acético glacial 0,1% em acetonitrila).

O gradiente foi executado conforme o seguinte perfil: inicialmente foi empregado 100% de solvente A; no intervalo de 0 a 2 minutos, a composição foi ajustada para 95% de solvente A e 5% de solvente B; em seguida, entre 2 e 27 minutos, a proporção foi de 70% de solvente A e 30% de solvente B; no intervalo de 27 a 50 minutos, a composição foi alterada para 10% de solvente A e 90% de solvente B; em seguida, durante 50 a 60 minutos, foi utilizado 100% de solvente B; finalmente, no período de 60 a 63 minutos, a composição retornou a 100% de solvente A. Durante todo o processo cromatográfico, o fluxo foi mantido constante a 1 mL/min, e temperatura mantida a 40 °C.

Os compostos fenólicos foram caracterizados de acordo com seus espectros UV e tempos de retenção e comparados com padrões autênticos. Para análise quantitativa, curvas de calibração foram preparadas utilizando diferentes compostos padrão como o ácido benzoico, ácido gálico, ácido *p*-cumárico, ácido protocatecuico, ácido siríngico; catequina, miricetina, quercetina e vanilina (0 – 20 µg/mL) e os resultados foram expressos em µg/g de micélio (base seca).

Determinação da capacidade de inibição da α -glicosidase

A determinação da capacidade do extrato em inibir a α -glicosidase foi avaliada segundo Kim et al. (2023) e Lankatillake et al. (2021) usando o *p*-nitrofenil- α -D-glucopiranosídeo (pNPG) como substrato. Uma solução de 1 U/mL de α -glicosidase e uma solução 2 mM de pNPG foram preparadas em tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 6,8). A mistura reacional de volume total 200 µL foi preparada contendo 100 µL de tampão fosfato, 40 µL de extrato e 20 µL de α -glicosidase (1 U/mL) e incubada a 37 °C por 10 min. Em seguida, foram adicionados 40 µL de pNPG e incubada novamente a 37 °C por 10 min. Ao final da incubação, 200 µL de carbonato de sódio (100 mM) foram adicionados à mistura e a absorvância foi determinada a 405 nm. A mistura de todos os componentes reacionais menos o extrato e a mistura de todos os componentes menos o pNPG foram utilizados como controles analíticos. A acarbose (1,0 mM) foi utilizada como controle positivo. A porcentagem de inibição da α -glicosidase foi determinada segundo a equação (1):

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(AbsC - AbsE)}{AbsC} \times 100 \quad (1)$$

Onde: AbsC = absorvância do controle positivo e AbsE = absorvância da amostra com extrato.

Adicionalmente, a concentração do extrato capaz de inibir a atividade da α -glicosidase em 50% (IC₅₀) foi determinada.

Análise estatística

Os ensaios seguiram o delineamento inteiramente casualizado (DIC), consistindo de um tratamento com 50 repetições para a produção de biomassa. Todos os ensaios analíticos foram conduzidos em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias ($p \leq 0,05$) foram determinadas pelo teste de Scott-Knott, com auxílio do software Sisvar 5.6 (Ferreira, 2014). Determinou-se o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre a concentração de extrato e o percentual de inibição enzimática.

Resultados

O teor médio de fenóis no extrato da biomassa micelial de *L. berteroi* foi de $2249,20 \pm 158,83$ μg EAG/g de biomassa seca (Tabela 1). O teor de fenóis variou significativamente com a concentração do extrato analisada (Tabela 1), sendo que o maior teor de fenóis ($2291,47 \pm 44,24$ μg EAG/g de biomassa seca) foi obtido na menor concentração de extrato (40 mg/mL), indicando elevado poder redutor do extrato mesmo na menor concentração. Contudo, a menor concentração de fenóis ($2086,67 \pm 24,60$ μg EAG/g de biomassa seca) foi obtida na maior concentração de extrato (100 mg/mL).

A quantificação de flavonoides totais resultou em teor médio de $1634,35 \pm 54,10$ μg EQ/g de biomassa seca (Tabela 1) e a concentração não variou com a concentração de extrato analisada.

A análise por CLAE do extrato hidroalcoólico obtido da biomassa micelial de *L. berteroi* permitiu a identificação e quantificação de alguns ácidos fenólicos e flavonoides (Tabela 2). Foram identificados cinco ácidos fenólicos (ácidos gálico, protocatecuico, siríngico, *p*-cumárico e benzoico) e três flavonoides (catequina, miricetina e quercetina). O ácido protocatecuico foi o ácido fenólico com maior concentração no extrato ($310,19 \pm 24,85$ $\mu\text{g/g}$) seguido do ácido gálico ($108,00 \pm 6,30$ $\mu\text{g/g}$). A quercetina foi o flavonoide de maior concentração no extrato ($171,12 \pm 9,17$ $\mu\text{g/g}$).

A determinação da atividade anti- α -glicosidase do extrato foi realizada avaliando-se o potencial do extrato em inibir a hidrólise do pNPG em *p*-nitrofenol pela α -glicosidase. A quantificação do cromóforo *p*-nitrofenol gerado foi realizada pela determinação da absorvância em

um comprimento de onda específico. A capacidade de inibição das diferentes concentrações do extrato encontra-se na Tabela 3 e estes são os primeiros relatos da atividade anti- α -glicosidase de *L. berteroi*.

O extrato de *L. berteroi* apresentou atividade inibitória contra a enzima α -glicosidase em concentrações avaliadas de 2 mg/mL a 10 mg/mL, resultando em porcentagem de inibição de 6,74% a 89,28%, respectivamente (Tabela 3). Em concentrações iguais ou inferiores a 4 mg/mL não houve diferença significativa entre os percentuais de inibição. Os resultados indicam que o extrato em concentrações iguais ou superiores a 6 mg/mL inibe a α -glicosidase significativamente, sendo que a maior concentração de extrato avaliada reduziu a atividade enzimática. O índice de correlação de Pearson indicou uma correlação positiva muito forte entre a concentração de extrato e o percentual de inibição da tirosinase ($r = 0,94$), indicando que quanto maior a concentração, maior a inibição da α -glicosidase.

A concentração do extrato necessária para inibir em 50% da atividade da enzima (IC_{50}), foi de $8,10 \pm 0,08$ mg/mL (Tabela 3), maior que a IC_{50} da acarbose (0,12 mg/mL), um fármaco potente inibidor da α -glicosidase.

Discussão

Até o momento os relatos sobre as propriedades bioativas de *L. berteroi* se restringiam ao trabalho de Rosa et al. (2009) que determinou as atividades antiproliferativa e imunossupressora do extrato acetato de etila do micélio de *L. berteroi* e outras espécies da Mata Atlântica. Contudo, os autores não identificaram os compostos responsáveis pela atividade. Nesse contexto, o presente estudo é inovador e pioneiro na investigação das propriedades biológicas dessa espécie e na identificação de compostos fenólicos no extrato hidroalcoólico obtido do micélio. Pela primeira vez, são reportados os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides do extrato da biomassa desse basidiomiceto e a capacidade de inibição da enzima α -glicosidase.

A extração de bioativos de fungos basidiomicetos tradicionalmente ocorre a partir dos corpos de frutificação (cogumelos) coletados diretamente nos seus habitats naturais ou produzidos em condições controladas (Gomes et al., 2019). A coleta ou a produção de cogumelos são limitadas pela sazonalidade e pela necessidade de controle rigoroso de temperatura, umidade e teor de gás carbônico (Berger et al., 2022). O cultivo de micélio vegetativo em meio líquido, no entanto, resolve essas dificuldades ao possibilitar a rápida produção de biomassa micelial em biorreatores, garantindo a oferta contínua de material biológico. Adicionalmente, essa abordagem apresenta vantagens como menor exigência por espaço físico, menor risco de contaminação, maior controle de fatores físicos (temperatura, aeração, agitação), químicos (pH, composição do meio) e biológicos (inóculo e morfologia) tornando o processo mais eficiente e previsível (Singh et al., 2020, Fogarasi et al., 2024). Outra vantagem é a oportunidade de detecção de novos compostos bioativos, uma vez que os metabólitos obtidos do micélio frequentemente diferem dos encontrados nos corpos de frutificação (Vallavan et al., 2020). Nesse sentido, a abordagem do presente estudo inova em destacar as características químicas do micélio de *L. berteroi*.

Diferentes níveis e tipos de compostos fenólicos podem ser observados entre diferentes espécies de fungos e em distintos estágios de desenvolvimento como micélio e basidiocarpo (Halabura et al., 2023). O teor de fenóis totais em uma amostra está diretamente relacionado ao seu poder redutor, capacidade antioxidante, pois compostos fenólicos apresentam grupos hidroxila (-OH) em sua estrutura o que lhes conferem a capacidade de doar elétrons e prótons. Essa ação permite a neutralização de radicais livres e a redução de espécies reativas de oxigênio e, por isso,

os compostos fenólicos são importantes antioxidantes que protegem as células contra danos oxidativos (Fogarasi et al., 2024).

O teor médio de fenóis totais de *L. berteroi* é similar ao relatado para os extratos hidroalcoólicos da biomassa micelial de *Lentinus crinitus* (2200 ± 20 µg EAG/g) (Halabura et al., 2023). Por outro lado, são superiores ao teor de fenóis no extrato hidroalcoólico do micélio de *Lepista sórdida* (1350 ± 3 µg EAG/g) e de *Trametes hirsuta* (1640 ± 820 µg EAG/g) isolados no Brasil (Aranha et al., 2022).

Ao compararmos o teor de fenóis de diferentes concentrações do extrato, detectamos diferença significativa, sendo o maior teor de fenóis obtido da menor concentração de extrato (Tabela 1), uma tendência diferente da esperada. O método Folin-Ciocalteu, usado na determinação de fenóis totais, pode sofrer interferência de outros compostos redutores presentes no extrato além dos fenóis como açúcares redutores, proteínas com grupos fenólicos e outros metabólitos secundários não identificados (Lawag et al. 2023). Estes interferentes podem competir pela reação com o reagente Folin-Ciocalteu e reduzir a detecção dos fenóis esperados. Além disso, alguns compostos podem interagir com os íons molibdato-tungstato, alterando a formação do complexo azul e interferindo na intensidade da resposta colorimétrica (Torres et al., 2024). Outro fator interferente é a formação de complexos entre fenóis e outros metabólitos, tornando os fenóis menos disponíveis para reagir com o Folin-Ciocalteu (Pérez et al., 2023). A análise posterior do extrato por CLAE, revelou a presença de compostos que, por limitação da disponibilidade de padrões, não puderam ser identificados. Assim, nossos achados podem ser explicados pela interferência na metodologia e, por isso, novos ensaios planejados para a redução de interferentes são necessários.

Os ácidos fenólicos representam a classe de polifenóis mais abundante em cogumelos, sendo responsáveis por várias propriedades bioativas onde se destacam as atividades: antitumorais, antioxidantes, imunomoduladores, hipocolesterolêmicos, antimicrobianos, anti-inflamatórios, hepatoprotetores, antidiabético, entre outros (Liberal et al., 2023). Os ácidos fenólicos mais abundantes em fungos produtores de cogumelos são os ácidos *p*-cumárico, *p*-hidroxibenzóico, protocatecuico (Finimundy et al., 2018), gálico e cafeico (Fogarasi et al. 2024). Tais aspectos têm aumentado o interesse pelo consumo de diferentes espécies de fungos como potenciais nutracêuticos, seja na forma de consumo direto na dieta ou por meio de frações bioativas (extratos ou compostos fenólicos isolados) incorporadas em alimentos funcionais (Liberal et al. 2023).

O ácido protocatecuico (ácido 3,4-di-hidroxibenzóico) foi o ácido fenólico mais abundante no micélio de *L. berteroi*. O ácido protocatecuico é encontrado em vários fungos e plantas e exibe atividades como antioxidante, antitumoral, antidiabético, agente antiúlcera, antifibrótico, antienvhecimento, antibacteriano, anti-inflamatório, analgésico, antiviral, antiaterosclerótico e hepatoprotetora (Khan et al., 2015). Também é conhecido por servir como precursor para a síntese de polímeros e plásticos o que confere ao ácido protocatecuico importância comercial e potenciais aplicações na produção de plásticos, produtos farmacêuticos, ingredientes alimentícios e cosméticos (Okai et al. 2017, Upadhyay e Lali, 2021).

O teor de flavonoides no micélio de *L. berteroi* foi menor do que o extrato aquoso de *T. versicolor* ($5150 \pm 30 \mu\text{g EQ/g}$) (Angelova et al. 2022) e de *Ganoderma lucidum* ($3170 \pm 260 \mu\text{g ECatequina/g}$) (Martins et al. 2023). E o teor de fenóis totais encontrado para o *L. berteroi* ($2303,4 \mu\text{g EAG}$) pode ser justificado pela presença dos ácidos protocatecuico ($310,19 \mu\text{g/g}$) e gálico ($108,00 \mu\text{g/g}$) identificados no micélio (Tabela 2). Estes ácidos são potentes antioxidantes visto que possuem metabólitos que se destacam por sua atividade biológica.

O teor de flavonoide encontrado para o *L. berteroi* ($1657,0\mu\text{g/g}$) pode estar relacionado com a quercetina ($171,12 \mu\text{g/g}$) (Tabela 1), visto que a quercetina é um flavonoide com alto potencial antioxidante. Flavonoides são metabólitos secundários com ampla ocorrência no reino vegetal, reconhecidos como compostos valiosos por diversas propriedades benéficas à saúde, tais como anticancerígena, antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, fotoprotetora, neuroprotetora, cardioprotetora e senolíticos (Ullah et al., 2020; Fan et al., 2022). Fungos também produzem flavonoides, porém por via metabólica diferente de plantas (Wang et al. 2022). Dentre os flavonoides detectados no extrato do micélio de *L. berteroi* dois são flavonóis (quercetina e miricetina) e um é um flavanol (catequina) (Câmara et al., 2021). A quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavona), flavonoide mais abundante detectado, é conhecida por suas atividades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, anti-bacteriana, antiagregante plaquetário, vasodilatadora e neuroprotetora (Fideles et al., 2023; Zhang et al., 2024).

Os inibidores da α -glicosidase são uma classe de medicamentos orais redutores de glicose que atuam inibindo enzimas do revestimento epitelial intestinal envolvidas na digestão de açúcares complexos em monossacarídeos menores e de fácil absorção (Jovanović et al., 2021). O objetivo do uso é reduzir os níveis de glicemia pós-prandial. No entanto, a persistência de carboidratos não

digeridos no trato gastrointestinal podem causar efeitos da dose, como flatulência e diarreia, que podem limitar seu uso (Jovanović et al., 2021).

Compostos bioativos derivados de fungos produtores de cogumelos como ácidos fenólicos, flavonoides, polissacarídeos, ácidos graxos, alcaloides e triterpenos possuem a capacidade de inibir a atividade da α -glicosidase (Papoutsis et al. 2021). O extrato hidroalcoólico de *L. berteroi* foi efetivo em inibir a atividade da α -glicosidase *in vitro*, com redução de até 89% da atividade com extrato a 10 mg/mL ($IC_{50} = 8,10 \pm 0,08$ mg/mL). Estes resultados são superiores aos observados por Kaewnarin et al. (2016) que avaliaram os extratos metanólico e aquoso do basidiomiceto *Rugiboletus extremiorientalis* e reportaram inibição enzimática de $55,5 \pm 3,9\%$ e $54,4 \pm 1,2\%$, respectivamente. Os teores de flavonoides e compostos fenólicos totais podem ser correlacionados com a inibição da enzima. Em *L. berteroi* o ácido protocatecuico, o ácido gálico e a quercetina podem ter contribuído, em sinergismo com outros componentes, para o efeito inibitório do extrato. Similarmente, nos extratos metanólico e aquoso de *R. extremiorientalis* (Kaewnarin et al. 2016) o ácido protocatecuico, o ácido gálico e a catequina eram os compostos majoritários.

Fica, portanto, evidente o potencial de *L. berteroi* como fonte de compostos fenólicos bioativos. O presente estudo apresenta dados inéditos sobre as propriedades bioativas da biomassa micelial de *L. berteroi*, identificação de compostos fenólicos e flavonoides e a primeira descrição da atividade inibitória de α -glicosidase. A atividade anti- α -glicosidase do extrato sugere sua potencial aplicação no controle da glicemia, podendo contribuir para o desenvolvimento de estratégias complementares no manejo do diabetes tipo 2. Embora a IC_{50} do extrato tenha sido maior do que a da acarbose, é importante destacar que o efeito biológico de misturas complexas de metabólitos pode ser vantajoso, oferecendo menor risco de efeitos adversos.

Diante do crescente interesse pelo uso de compostos naturais na promoção da saúde e bem-estar, os resultados reforçam o potencial de *L. berteroi* como fonte de biomoléculas com propriedades funcionais. No contexto da Saúde Única, a bioprospecção de fungos é essencial para a obtenção de bioativos com potencial farmacêutico e nutracêutico, promovendo o uso sustentável da biodiversidade. Além disso, oferecem atividades bioativas diferentes de outras já estudadas, que impactam no avanço terapêutico das doenças, oferecendo novas alternativas às atualmente existentes.

Contudo, é importante destacar que a acarbose é um fármaco e o extrato uma mistura complexa de compostos e, mesmo assim, a inibição da enzima foi significativa.

Conclusões

O cultivo de micélio desta espécie em meio líquido se mostra uma estratégia para a obtenção sustentável de metabólitos bioativos, com vantagens em termos de eficiência e controle de variáveis ambientais. O micélio apresentou significativo teor de fenóis ($2249,20 \pm 158,83 \mu\text{g EAG/g}$ de biomassa seca) e flavonoides ($1634,35 \pm 54,10 \mu\text{g EQ/g}$ de biomassa seca), diversidade de ácidos fenólicos e flavonoides com elevado poder redutor, com destaque para o ácido protocatecuico ($310,19 \pm 24,85 \mu\text{g/g}$), ácido gálico ($108,00 \pm 6,30 \mu\text{g/g}$) e quercetina ($171,12 \pm 9,17 \mu\text{g/g}$). O extrato promoveu inibição significativa da atividade de α -glicosidase com 89% de inibição na concentração de 100 mg/mL.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Paranaense, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), à Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro e bolsas.

Referências

- Alves E, Kubota EH (2013) Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 34:37-41
- Angelova G, Brazkova M, Mihaylova D et al (2022) Bioactivity of biomass and crude exopolysaccharides obtained by controlled submerged cultivation of medicinal mushroom *Trametes versicolor*. *J Fungi* 8:738 <https://doi.org/10.3390/jof8070738>
- Aranha GM, Contato AG, Salgado JCS et al (2022) Biochemical characterization and biological properties of mycelium extracts from *Lepista sordida* GMA-05 and *Trametes hirsuta* GMA-01: new mushroom strains isolated in Brazil. *Braz J Microbiol* 53:349-358 <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00670-5>
- Batistela AMP, Halabura MIW, Avelino KV et al. (2023) Phytase production by white-rot fungi cultivated in liquid medium with particulate agro-industrial byproducts. *Concilium* 23:250-264 <https://doi.org/10.53660/CLM-1075-23C74>
- Berger RG, Bordewick S, Krahe N-K, Ersoy F (2022) Mycelium vs. fruiting bodies of edible fungia comparison of metabolites. *Microorganisms*. 10:1379. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071379>
- Câmara JS, Albuquerque BR, Aguiar J et al. (2020) Food bioactive compounds and emerging techniques for their extraction: Polyphenols as a case study. *Foods* 10:37 <https://doi.org/10.3390/foods10010037>
- Cavalcante FS et al. (2021) Macrofungos pertencentes à família Polyporaceae no sudoeste da Amazônia, Brasil. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological* 8: 154-169.
- Deveci E, Çayan F, Tel-Çayan G et al (2021) Inhibitory activities of medicinal mushrooms on α amylase and α -glucosidase-enzymes related to type 2 diabetes. *S Afr J Bot* 137:19-23 <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.09.039>
- Fan X, Fan Z, Yang Z et al. (2022) Flavonoids—Natural gifts to promote health and longevity. *Int J Mol Sci* 23:2176 <https://doi.org/10.3390/ijms23042176>

- Ferreira DF (2014) Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciênc Agrotecnol* 38:109-112
- Fideles SOM, Ortiz AC, Buchaim DV et al. (2023) Influence of the neuroprotective properties of quercetin on regeneration and functional recovery of the nervous system. *Antioxidants* 12:149 <https://doi.org/10.3390/antiox12010149>
- Finimundy TC, Barros L, Calhella RC et al (2018) Multifunctions of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer: A highly nutritious food and a source for bioactive compounds. *Food Chem* 245:150-158 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.088>
- Fogarasi M, Nemeş SA, Fărcaş A et al (2024) Bioactive secondary metabolites in mushrooms: A focus on polyphenols, their health benefits and applications. *Food Biosc* 62:105166 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105166>
- Fortune Business Insights (2024) Mercado de nutracêuticos: Tamanho, participação e tendências globais 2024-2032. <https://www.fortunebusinessinsights.com/pt/nutraceuticals-market-102530>
- Francisco PMSB, Assumpção DD, Bacurau AGDM et al (2022) Diabetes mellitus em idosos, prevalência e incidência: resultados do Estudo Fibra. *Rev Bras Geriatr Gerontol* 25:e210203 <https://doi.org/10.1590/1981-22562022025.210203.pt>
- Gomes DCV, de Alencar MVOB, dos Reis AC et al (2019) Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic/antitumoral bioactives from the phylum Basidiomycota and their possible mechanisms of action. *Biomed Pharmacother* 112:108643 <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108643>
- Halabura MIW, Avelino KV, Araújo NL et al (2023) Light conditions affect the growth, chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the white-rot fungus *Lentinus crinitus* mycelial biomass. *Photochem Photobio Sci* 22: 669-68 <https://doi.org/10.1007/s43630-022-003447>
- Jiang X, Song Y, Lv C et al (2024) Mushroom-derived bioactive components with definite structures in alleviating the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front Pharmacol* 15:1373660 <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1373660>
- Jovanović JA, Mihailović M, Uskoković A et al. (2021) The effects of major mushroom bioactive compounds on mechanisms that control blood glucose level. *J Fungi* 7:58 <https://doi.org/10.3390/jof7010058>

Kaewnarin K, Suwannarach N, Kumla J, Lumyong S (2016) Phenolic profile of various wild edible mushroom extracts from Thailand and their antioxidant properties, anti-tyrosinase and hyperglycaemic inhibitory activities. *J Funct Foods* 27:352-364

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.008>

Khan AK, Rashid R, Nighat F et al. (2015) Pharmacological activities of protocatechuic acid. *Acta Pol Pharm* 72:643-650

Kim JH, Jang MJ, Park YJ (2023) In vitro α -amylase, α -glucosidase, pancreatic lipase, xanthine oxidase inhibiting activity of *Agaricus bisporus* extracts. *Mycobiology* 51:60-66

<https://doi.org/10.1080/12298093.2023.2176020>

Lankatillake C, Luo S, Flavel M et al. (2021) Screening natural product extracts for potential enzyme inhibitors: protocols, and the standardisation of the usage of blanks in α -amylase, α -glucosidase and lipase assays. *Plant Methods* 17:1-19 <https://doi.org/10.1186/s13007-020-007025>

Lawag IL, Nolden ES, Schaper AA et al. (2023) A modified folin-ciocalteu assay for the determination of total phenolics content in honey. *Appl Sci* 13:2135

<https://doi.org/10.3390/app13042135>

Li, I -C. et al. Neurohealth properties of *Herichium erinaceus* mycelia enriched with erinacines. *Behavioural Neurology*, v. 2018, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5802634>

Liberal Â, Cardoso RVC, Heleno SA et al. (2023) Phenolic acids from fungi. In: Carocho M, Heleno SA, Barros L (eds) *Natural secondary metabolites: from nature, through science, to industry*, 1st edn. Springer International Publishing, pp 475-495 https://doi.org/10.1007/978-3031-18587-8_14

Lu H, Lou H, Hu J, et al. (2020) Macrofungi: A review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 19:2333-2356

<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12602>

Martins T, Machado-Carvalho L, Aires A et al. (2023) Antioxidant, antimicrobial and cosmeceutical potential of wild mushroom extracts. *Appl Microbiol* 3:562-579

<https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3020040>

McKinsey e Company (2023) O mercado de beleza em 2023: um relatório especial sobre o estado da moda. <https://www.mckinsey.com/featured-insights/destaques/o-mercado-de-beleza-em-2023um-relatorio-especial-sobre-o-estado-da-moda/pt>

Negrão DR, da Silva Júnior TAF, de Souza Passos JR et al. (2014) Biodegradation of *Eucalyptus urograndis* wood by fungi. Int Biodeter Biodegr 89:95-102 <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.01.004>

Nishikido LMT (2019) Cogumelos como hábitos alimentares dos índios Yanomami saberes associados à ciência, à preservação e à defesa da floresta amazônica. Rev Estud Bras 6:205-210 <https://doi.org/10.14201/reb2019611205210>

Okai N, Masuda T, Takeshima Y et al. (2017) Biotransformation of ferulic acid to protocatechuic acid by *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21420 engineered to express vanillate O-demethylase. Amb Express 7:1-10 <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0427-9>

Ombra MN, Nazzaro F, Fratianni F (2022) Lowering the predicted glycemic index of pasta using dried onions as functional ingredients. Int J Food Sci Nutr 73:443-450 <https://doi.org/10.1080/09637486.2021.2025211>

Öztürk M, Duru ME, Kivrak Ş et al. (2011) *In vitro* antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. Food Chem Toxicol 49:1353-1360 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.019>

Palacios I, Lozano M, Moro C et al. (2011) Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. Food Chem 128:674-678 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.085>

Papoutsis K, Zhang J, Bowyer MC et al. (2021) Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. Food Chem 338:128119 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128119>

Pérez M, Dominguez-López I, Lamuela-Raventós RM. (2023) The chemistry behind the folin-ciocalteu method for the estimation of (poly) phenol content in food: Total phenolic intake in a mediterranean dietary pattern. J Agric Food Chem 71:17543-17553 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>

Polesso CB, Fontana RC, Costa C et al. (2022) Transforming second-generation ethanol production waste into sustainable enzymatic cosmetic inputs. *Ind Crop Prod* 188:115658 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115658>

Ren F, Ji N, Zhu Y (2023) Research progress of α -glucosidase inhibitors produced by microorganisms and their applications. *Foods* 12:3344 <https://doi.org/10.3390/foods12183344>

Rosa LH, Machado KM, Rabello AL et al. (2009) Cytotoxic, immunosuppressive, trypanocidal and antileishmanial activities of Basidiomycota fungi present in Atlantic Rainforest in Brazil. *A Van Leeuw* 95:227-237 <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9306-y>

Saltarelli R, Ceccaroli P, Iotti M et al (2009) Biochemical characterisation and antioxidant activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from Central Italy. *Food Chem* 116:143-151 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.023>

Singh U, Gautam A, Singha TK et al (2020) Mass production of *Pleurotus eryngii* mycelia under submerged culture conditions with improved minerals and vitamin D2. *Lwt* 131:109665 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109665>

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol* 299:152-178 [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Tel-Çayan G, Çayan F, Deveci E, Duru ME (2021) Phenolic profile, antioxidant and cholinesterase inhibitory activities of four *Trametes* species: *T. bicolor*, *T. pubescens*, *T. suaveolens*, and *T. versicolor*. *J Food Meas Charact* 15:4608-4616 <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01034-1>

Thomas L, Mago P (2024) Unearthing the therapeutic benefits of culinary-medicinal mushrooms for humans: Emerging sustainable bioresources of 21st century. *J Basic Microbiol* 64:e2400127 <https://doi.org/10.1002/jobm.202400127>

Torres P, Osaki S, Silveira E et al. (2024) Comprehensive evaluation of Folin-Ciocalteu assay for total phenolic quantification in algae (Chlorophyta, Phaeophyceae, and Rhodophyta). *Algal Res* 80:103503 <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103503>

Ullah A, Munir S, Badshah SL et al. (2020) Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules* 25:5243 <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>

Upadhyay P, Lali A (2021) Protocatechuic acid production from lignin-associated phenolics. *Prep Biochem Biotech* 51: 979-984 <https://doi.org/10.1080/10826068.2021.1881908>

Vallavan V, Krishnasamy G, Zin NM, Abdul Latif M (2020) A review on antistaphylococcal secondary metabolites from basidiomycetes. *Molecules* 25:5848 <https://doi.org/10.3390/molecules25245848>

Wang S, Liu Z, Wang X et al. (2022) Mushrooms do produce flavonoids: Metabolite profiling and transcriptome analysis of flavonoid synthesis in the medicinal mushroom *Sanghuangporus baumii*. *J Fungi* 8:582 <https://doi.org/10.3390/jof8060582>

Zhang L, Xu LY, Tang F et al. (2024) New perspectives on the therapeutic potential of quercetin in non-communicable diseases: Targeting Nrf2 to counteract oxidative stress and inflammation. *J Pharm Analysis* 14:100930 <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2023.12.020>

Declarações

Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Contribuição dos autores

Todos os autores contribuíram para a concepção e o desenho do estudo. A preparação do material, coleta de dados e análise foram realizadas por Gabriela Gomes Caetité de Avelar e Juliana Silveira do Valle. A análise de HPLC foi realizada conjuntamente por Juliana Silveira do Valle, Katielle Vieira Avelino e Flávio Augusto Vicente Seixas. O primeiro rascunho do manuscrito foi escrito por Gabriela Gomes Caetité de Avelar e todos os autores comentaram versões anteriores do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

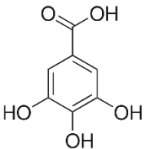
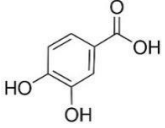
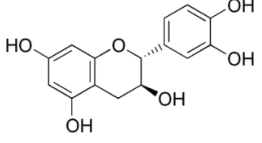
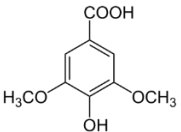
Tabelas

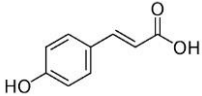
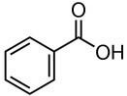
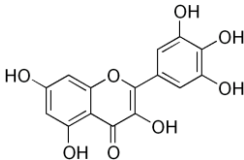
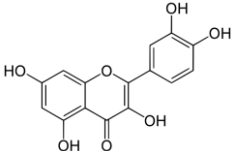
Tabela 1 Teor de fenóis e flavonoides no extrato hidroalcoólico da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* U21-2.

Extrato (mg/mL)	Teor de fenóis totais (μg EAG/g de biomassa seca)	Teor de favonoides totais (μg EQ/g de biomassa seca)
40	2291,47 \pm 44,24 ^a	1623,02 \pm 38,89 ^a
60	2451,20 \pm 28,17 ^b	1652,64 \pm 48,41 ^a
80	2167,46 \pm 19,45 ^c	1695,24 \pm 28,96 ^a
100	2086,67 \pm 24,60 ^d	1566,51 \pm 13,81 ^a
Média	2249,20 \pm 158,83	1634,35 \pm 54,10

Os resultados são a média \pm desvio padrão de três repetições. Médias indicadas por letras distintas na mesma coluna diferem significativamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Scott-Knott.

Tabela 2 Ácidos fenólicos e flavonoides identificados no extrato hidroalcoólico de *Lentinus berteroi* U21-2 por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Composto	TR (min)	Estrutura molecular	Concentração ($\mu\text{g/g}$)
Ácido gálico	8,460		108,00 \pm 6,30
Ácido protocatecuico	11,549		310,19 \pm 24,85
Catequina	15,371		12,84 \pm 0,88
Ácido siríngico	17,800		8,84 \pm 0,54

Ácido <i>p</i> -cumárico	21,223		5,31 ± 0,15
Ácido benzoico	24,696		37,21 ± 0,25
Miricetina	28,203		8,00 ± 0,08
Quercetina	32,873		171,12 ± 9,17

TR = tempo de retenção

Tabela 3 Atividade anti- α -glicosidase do extrato hidroalcoólico da biomassa micelial de *Lentinus berteroi* U21-2.

Extrato (mg/mL)	Inibição da α -glicosidase (%)
2	6,74 ± 1,42 ^d
4	8,18 ± 0,66 ^d
6	21,47 ± 1,12 ^c
8	57,52 ± 1,02 ^b
10	89,28 ± 0,03 ^a
IC₅₀ (mg/mL)	8,10 ± 0,08

Os resultados são a média ± desvio padrão de três repetições. Médias indicadas por letras diferentes diferem significativamente ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste de Scott-Knott. IC₅₀ = metade da concentração inibitória máxima. Acarbose (controle positivo): IC₅₀ = 0,12 ± 0,02 mg/mL.

3. CONCLUSÃO

O cultivo de micélio de *Lentinus berteroi* em meio líquido se mostrou uma estratégia para a obtenção sustentável de metabólitos bioativos, com vantagens em termos de eficiência e controle de variáveis ambientais. O micélio apresentou significativo teor de fenóis ($2249,20 \pm 158,83$ μg EAG/g de biomassa seca) e de flavonoides ($1634,35 \pm 54,10$ μg EQ/g de biomassa seca). Foram identificados compostos com elevado poder redutor incluindo ácidos fenólicos (ácidos gálico, protocatecuico, siríngico, *p*-cumárico e benzoico) e flavonoides (catequina, miricetina e quercetina).

Dessa forma os compostos identificados em maior concentração no extrato foram o ácido protocatecuico ($310,19 \pm 24,85$ $\mu\text{g/g}$), ácido gálico ($108,00 \pm 6,30$ $\mu\text{g/g}$) e quercetina ($171,12 \pm 9,17$ $\mu\text{g/g}$). Sendo possível identificar que o extrato promoveu a inibição significativa da atividade de α -glicosidase com 89% de inibição na concentração de 100 mg/mL.

4. ANEXO

ANEXO 1 – Normas da Revista World Journal of Microbiology and Biotechnology

Submission guidelines

Instructions for Authors

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit manuscript” and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Source Files

Please ensure you provide all relevant editable source files at every submission and revision. Failing to submit a complete set of editable source files will result in your article not being considered for review. For your manuscript text please always submit in common word processing formats such as .docx or LaTeX.

Submitting Declarations

Please note that [Author Contribution information](#) and [Competing Interest information](#) must be provided at submission via the submission interface. Only the information submitted via the interface will be used in the final published version. Please make sure that if you are an editorial board member and also a listed author that you also declare this information in the Competing Interest section of the interface.

Please see the relevant sections in the submission guidelines for further information on these statements as well as possible other mandatory statements.

Important note:

- A copy of the **author checklist**, appropriately checked, must accompany every submission.

[Author Checklist \(Download docx, 86 kB\)](#)

Authorship Policy

Authorship should incorporate and should be restricted to those who have contributed substantially to the work in one or more of the following categories:

- Conceived of or designed study
- Performed research
- Analyzed data
- Contributed new methods or models
- Wrote the paper

Title Page

Please make sure your title page contains the following information.

Title

The title should be concise and informative.

Author information

- The name(s) of the author(s)
- The affiliation(s) of the author(s), i.e. institution, (department), city, (state), country
- A clear indication and an active e-mail address of the corresponding author
- If available, the 16-digit [ORCID](#) of the author(s)

If address information is provided with the affiliation(s) it will also be published.

For authors that are (temporarily) unaffiliated we will only capture their city and country of residence, not their e-mail address unless specifically requested.

Large Language Models (LLMs), such as [ChatGPT](#), do not currently satisfy our [authorship criteria](#). Notably an attribution of authorship carries with it accountability for the work, which cannot be effectively applied to LLMs. Use of an LLM should be properly documented in the Methods section (and if a Methods section is not available, in a suitable alternative part) of the manuscript. The use of an LLM (or other AI-tool) for "AI assisted copy editing" purposes does not need to be declared. In this context, we define the term "AI assisted copy editing" as AI-assisted improvements to human-generated texts for readability and style, and to ensure that the texts are free of errors in grammar, spelling, punctuation and tone. These AI-assisted improvements may include wording and formatting changes to the texts, but do not include generative editorial work and autonomous content creation. In all cases, there must be human accountability for the final version of the text and agreement from the authors that the edits reflect their original work.

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

For life science journals only (when applicable)

- Trial registration number and date of registration for prospectively registered trials
- Trial registration number and date of registration, followed by “retrospectively registered”, for retrospectively registered trials

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Additional request Title page

Graphical Abstracts

You are welcome to submit a graphical abstract consisting of an image (figure, scheme) representing the contents of the article graphically. The use of color is strongly encouraged here.

Format

Manuscripts should be divided into the following sections:

- Title page
- Abstract
- Introduction
- Materials and methods

- Results
- Discussion; the Discussion section must not recapitulate the Results
- Acknowledgements
- References
- Figure legends
- Figures
- Tables

Results and Discussion should be separated.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX. We recommend using [Springer Nature's LaTeX template](#).

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

References

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995a, b; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999, 2000).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work. Please alphabetize according to the following rules: 1) For one author, by name of author, then chronologically; 2) For two authors, by name of author, then name of coauthor, then chronologically; 3) For more than two authors, by name of first author, then chronologically.

If available, please always include DOIs as full DOI links in your reference list (e.g. “<https://doi.org/abc>”).

- Journal article
Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>
Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:
Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329
- Article by DOI
Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>
- Book
South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London
- Book chapter
Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257
- Online document
Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007
- Dissertation
Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title

Word Abbreviations, see

[ISSN LTWA](#)

If you are unsure, please use the full journal title.

Statements & Declarations

The following statements must be included in your submitted manuscript under the heading 'Statements and Declarations'. This should be placed after the References section. Please note that submissions that do not include required statements will be returned as incomplete.

Funding

Please describe any sources of funding that have supported the work. The statement should include details of any grants received (please give the name of the funding agency and grant number).

Example statements:

“This work was supported by [...] (Grant numbers [...] and [...]). Author A.B. has received research support from Company A.”

“The authors declare that no funds, grants, or other support were received during the preparation of this manuscript.”

Competing Interests

Authors are required to disclose financial or non-financial interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Interests within the last 3 years of beginning the work (conducting the research and preparing the work for submission) should be reported. Interests outside the 3-year time frame must be disclosed if they could reasonably be perceived as influencing the submitted work.

Example statements:

“Financial interests: Author A and B declare they have no financial interests. Author C has received speaker and consultant honoraria from Company M. Dr. C has received speaker honorarium and research funding from Company M and Company N. Author D has received travel support from Company O. Non-financial interests: Author D has served on advisory boards for Company M and Company N.”

“The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.”

Please refer to the “Competing Interests” section below for more information on how to complete these sections.

Author Contributions

Authors are encouraged to include a statement that specifies the contribution of every author to the research and preparation of the manuscript.

Example statement:

“All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by [full name], [full name] and [full name]. The first draft of the manuscript was written by [full name] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.”

Please refer to the “Authorship Principles ” section below for more information on how to complete this section.

Data Availability

This journal encourages authors to provide an optional statement of data availability in their article. Data Availability Statements should include information on where data supporting the results reported in the article can be found, including, where applicable, hyperlinks to publicly archived datasets analysed or generated during the study. Data availability statements can also indicate whether data are available on request from the authors and where no data are available, if appropriate.

Example statements:

“The datasets generated during and/or analysed during the current study are available in the [NAME] repository, [PERSISTENT LINK TO DATASETS]”

“The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.”

Please refer to the “Research Data Policy and Data Availability” section below for more information on how to complete this section.

In addition to the above, manuscripts that report the results of studies involving humans and/or animals should include the following declarations:

Ethics approval

Authors of research involving human or animal subjects should include a statement that confirms that the study was approved (or granted exemption) by the appropriate institutional and/or national research ethics committee (including the name of the ethics committee and reference number, if available). For research involving animals, their data or biological material, authors should supply detailed information on the ethical treatment of their animals in their submission. If a study was granted exemption or did not require ethics approval, this should also be detailed in the manuscript.

“This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Approval was granted by the Ethics Committee of University B (Date.../No....).”

“This is an observational study. The XYZ Research Ethics Committee has confirmed that no ethical approval is required.”

For detailed information on relevant ethical standards and criteria, please refer to the sections on

“Research involving human participants, their data or biological material”, “Research involving animals, their data or biological material”.

Consent to participate

For all research involving human subjects, freely-given, informed consent to participate in the study must be obtained from participants (or their parent or legal guardian in the case of children under 16) and a statement to this effect should appear in the manuscript.

Example statement:

“Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.”

“Written informed consent was obtained from the parents.”

Please refer to the section on “Informed Consent” for additional help with completing this information.

Consent to publish

Individuals may consent to participate in a study, but object to having their data published in a journal article. If your manuscript contains any individual person’s data in any form (including any individual details, images or videos), consent for publication must be obtained from that person, or in the case of children, their parent or legal guardian. This is in particular applicable to case studies. A statement confirming that consent to publish has been received from all participants should appear in the manuscript.

Example statement:

“The authors affirm that human research participants provided informed consent for publication of the images in Figure(s) 1a, 1b and 1c.”

Please refer to the section on “Informed Consent” for additional help with completing this information.

Tables

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table. □ Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

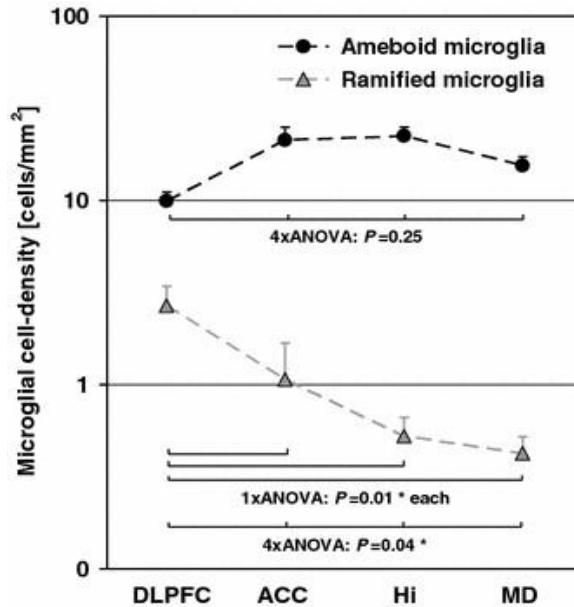
Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.

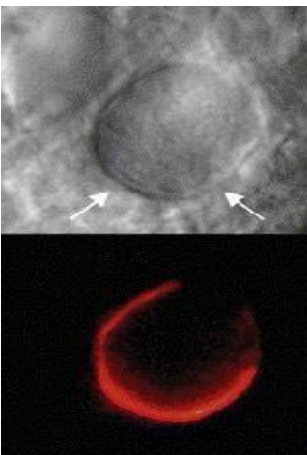
- Indicate what graphics program was used to create the artwork. □ For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art



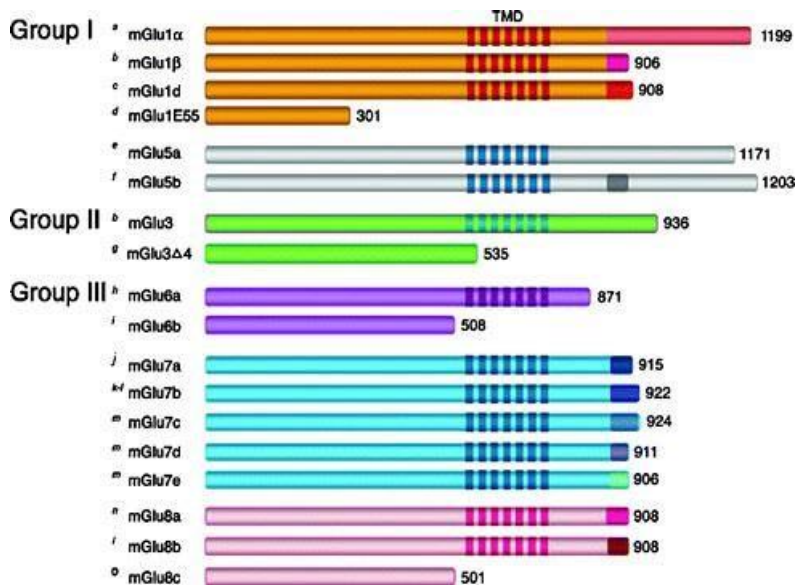
- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices [Supplementary Information (SI)] should, however, be numbered separately.

Figure Captions □ Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- Figures should be submitted within the body of the text. Only if the file size of the manuscript causes problems in uploading it, the large figures should be submitted separately from the text.
- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For large-sized journals the figures should be 84 mm (for double-column text areas), or 174 mm (for single-column text areas) wide and not higher than 234 mm.
- For small-sized journals, the figures should be 119 mm wide and not higher than 195 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Generative AI Images

Please check [Springer's policy on generative AI images](#) and make sure your work adheres to the principles described therein.

Supplementary Information (SI)

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as Supplementary Information, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.

- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.
- High resolution (streamable quality) videos can be submitted up to a maximum of 25GB; low resolution videos should not be larger than 5GB.

Audio, Video, and Animations

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB for high resolution files; 5 GB for low resolution files
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Supplementary Information (SI) will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Generative AI Images

Please check [Springer's policy on generative AI images](#) and make sure your work adheres to the principles described therein.

Availability of Materials

By publishing the authors agree that any microbial strains, plasmids, viruses, and other materials such as prions or cell lines newly described in the articles are available in a timely fashion, free or at reasonable cost, to members of the scientific community for noncommercial purposes, if necessary via an appropriate Materials Transfer Agreement between the interested parties.

We strongly encourage the authors to deposit important strains in publicly accessible culture collections and to refer to the collections and strain numbers in the manuscript. The authors should indicate laboratory strain designations and donor source when the culture or subculture specimen is distributed by individuals.

Nucleotide and Amino Acid Sequences

Any nucleotide or amino acid sequences that were determined for the first time should be deposited to a public database, such as GenBank, EMBL or DDBJ, and the accession numbers should be included in a separate paragraph in the Materials and Methods section. Sequence data must be publicly available no later than the publication date of the article.

Ethical Responsibilities of Authors

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics ([COPE](#)) the journal will follow the [COPE](#) guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation is helped by following the rules of good scientific practice, which include*:

- The manuscript should not be submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The submitted work should be original and should not have been published elsewhere in any form or language (partially or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work. (Please provide transparency on the re-use of material to avoid the concerns about text-recycling ('self-plagiarism').
- A single study should not be split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (i.e. 'salamislicing/publishing').
- Concurrent or secondary publication is sometimes justifiable, provided certain conditions are met. Examples include: translations or a manuscript that is intended for a different group of readers.
- Results should be presented clearly, honestly, and without fabrication, falsification or inappropriate data manipulation (including image based manipulation). Authors should adhere to discipline-specific rules for acquiring, selecting and processing data.
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author's own ('plagiarism'). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks (to indicate words taken from another source) are used for verbatim copying of material, and permissions secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

- Authors should make sure they have permissions for the use of software, questionnaires/(web) surveys and scales in their studies (if appropriate).
- Research articles and non-research articles (e.g. Opinion, Review, and Commentary articles) must cite appropriate and relevant literature in support of the claims made. Excessive and inappropriate self-citation or coordinated efforts among several authors to collectively self-cite is strongly discouraged.

- Authors should avoid untrue statements about an entity (who can be an individual person or a company) or descriptions of their behavior or actions that could potentially be seen as personal attacks or allegations about that person.
- Research that may be misapplied to pose a threat to public health or national security should be clearly identified in the manuscript (e.g. dual use of research). Examples include creation of harmful consequences of biological agents or toxins, disruption of immunity of vaccines, unusual hazards in the use of chemicals, weaponization of research/technology (amongst others).
- Authors are strongly advised to ensure the author group, the Corresponding Author, and the order of authors are all correct at submission. Adding and/or deleting authors during the revision stages is generally not permitted, but in some cases may be warranted. Reasons for changes in authorship should be explained in detail. Please note that changes to authorship cannot be made after acceptance of a manuscript.

*All of the above are guidelines and authors need to make sure to respect third parties rights such as copyright and/or moral rights.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results presented. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential or proprietary data is excluded.

If there is suspicion of misbehavior or alleged fraud the Journal and/or Publisher will carry out an investigation following [COPE](#) guidelines. If, after investigation, there are valid concerns, the author(s) concerned will be contacted under their given e-mail address and given an opportunity to address the issue. Depending on the situation, this may result in the Journal's and/or Publisher's implementation of the following measures, including, but not limited to:

- If the manuscript is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
- If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction:
 - an erratum/correction may be placed with the article
 - an expression of concern may be placed with the article
 - or in severe cases retraction of the article may occur.

The reason will be given in the published erratum/correction, expression of concern or retraction note. Please note that retraction means that the article is **maintained on the platform**, watermarked "retracted" and the explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.

- The author's institution may be informed
- A notice of suspected transgression of ethical standards in the peer review system may be included as part of the author's and article's bibliographic record.

Fundamental errors

Authors have an obligation to correct mistakes once they discover a significant error or inaccuracy in their published article. The author(s) is/are requested to contact the journal and explain in what sense the error is impacting the article. A decision on how to correct the literature will depend on the nature of the error. This may be a correction or retraction. The retraction note should provide transparency which parts of the article are impacted by the error.

Suggesting / excluding reviewers

Authors are welcome to suggest suitable reviewers and/or request the exclusion of certain individuals when they submit their manuscripts. When suggesting reviewers, authors should make sure they are totally independent and not connected to the work in any way. It is strongly recommended to suggest a mix of reviewers from different countries and different institutions. When suggesting reviewers, the Corresponding Author must provide an institutional email address for each suggested reviewer, or, if this is not possible to include other means of verifying the identity such as a link to a personal homepage, a link to the publication record or a researcher or author ID in the submission letter. Please note that the Journal may not use the suggestions, but suggestions are appreciated and may help facilitate the peer review process.

Authorship principles

These guidelines describe authorship principles and good authorship practices to which prospective authors should adhere to.

Authorship clarified

The Journal and Publisher assume all authors agreed with the content and that all gave explicit consent to submit and that they obtained consent from the responsible authorities at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.

The Publisher does not prescribe the kinds of contributions that warrant authorship. It is recommended that authors adhere to the guidelines for authorship that are applicable in their specific research field. In absence of specific guidelines it is recommended to adhere to the following guidelines*:

All authors whose names appear on the submission

- 1) made substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data; or the creation of new software used in the work;
- 2) drafted the work or revised it critically for important intellectual content;
- 3) approved the version to be published; and
- 4) agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

* Based on/adapted from:

[ICMJE, Defining the Role of Authors and Contributors.](#)

[Transparency in authors' contributions and responsibilities to promote integrity in scientific publication, McNutt at all, PNAS February 27, 2018](#)

Disclosures and declarations

All authors are requested to include information regarding sources of funding, financial or nonfinancial interests, study-specific approval by the appropriate ethics committee for research involving humans and/or animals, informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals (as appropriate).

The decision whether such information should be included is not only dependent on the scope of the journal, but also the scope of the article. Work submitted for publication may have implications for public health or general welfare and in those cases it is the responsibility of all authors to include the appropriate disclosures and declarations.

Data transparency

All authors are requested to make sure that all data and materials as well as software application or custom code support their published claims and comply with field standards. Please note that journals may have individual policies on (sharing) research data in concordance with disciplinary norms and expectations.

Role of the Corresponding Author

One author is assigned as Corresponding Author and acts on behalf of all co-authors and ensures that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately addressed.

The Corresponding Author is responsible for the following requirements:

- ensuring that all listed authors have approved the manuscript before submission, including the names and order of authors;
- managing all communication between the Journal and all co-authors, before and after publication;*
- providing transparency on re-use of material and mention any unpublished material (for example manuscripts in press) included in the manuscript in a cover letter to the Editor;

- making sure disclosures, declarations and transparency on data statements from all authors are included in the manuscript as appropriate (see above).

* The requirement of managing all communication between the journal and all co-authors during submission and proofing may be delegated to a Contact or Submitting Author. In this case please make sure the Corresponding Author is clearly indicated in the manuscript.

Author contributions

In absence of specific instructions and in research fields where it is possible to describe discrete efforts, the Publisher recommends authors to include contribution statements in the work that specifies the contribution of every author in order to promote transparency. These contributions should be listed at the separate title page.

Examples of such statement(s) are shown below:

- Free text:

All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by [full name], [full name] and [full name]. The first draft of the manuscript was written by [full name] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Example: CRediT taxonomy:

- Conceptualization: [full name], ...; Methodology: [full name], ...; Formal analysis and investigation: [full name], ...; Writing - original draft preparation: [full name, ...]; Writing - review and editing: [full name], ...; Funding acquisition: [full name], ...; Resources: [full name], ...; Supervision: [full name],....

For **review articles** where discrete statements are less applicable a statement should be included who had the idea for the article, who performed the literature search and data analysis, and who drafted and/or critically revised the work.

For articles that are based primarily on the **student's dissertation or thesis**, it is recommended that the student is usually listed as principal author:

[A Graduate Student's Guide to Determining Authorship Credit and Authorship Order, APA](#)

[Science Student Council 2006](#)

Affiliation

The primary affiliation for each author should be the institution where the majority of their work was done. If an author has subsequently moved, the current address may additionally be stated. Addresses will not be updated or changed after publication of the article.

Changes to authorship

Authors are strongly advised to ensure the correct author group, the Corresponding Author, and the order of authors at submission. Changes of authorship by adding or deleting authors, and/or changes in Corresponding Author, and/or changes in the sequence of authors are **not accepted after acceptance** of a manuscript.

- **Please note that author names will be published exactly as they appear on the accepted submission!**

Please make sure that the names of all authors are present and correctly spelled, and that addresses and affiliations are current.

Adding and/or deleting authors at revision stage are generally not permitted, but in some cases it may be warranted. Reasons for these changes in authorship should be explained. Approval of the change during revision is at the discretion of the Editor-in-Chief. Please note that journals may have individual policies on adding and/or deleting authors during revision stage.

Author identification

Authors are recommended to use their [ORCID](#) ID when submitting an article for consideration or acquire an [ORCID](#) ID via the submission process.

Deceased or incapacitated authors

For cases in which a co-author dies or is incapacitated during the writing, submission, or peerreview process, and the co-authors feel it is appropriate to include the author, co-authors should obtain approval from a (legal) representative which could be a direct relative.

Authorship issues or disputes

In the case of an authorship dispute during peer review or after acceptance and publication, the Journal will not be in a position to investigate or adjudicate. Authors will be asked to resolve the dispute themselves. If they are unable the Journal reserves the right to withdraw a manuscript from the editorial process or in case of a published paper raise the issue with the authors' institution(s) and abide by its guidelines.

Confidentiality

Authors should treat all communication with the Journal as confidential which includes correspondence with direct representatives from the Journal such as Editors-in-Chief and/or Handling Editors and reviewers' reports unless explicit consent has been received to share information.

Compliance with Ethical Standards

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the abovementioned guidelines.

Competing Interests

Authors are requested to disclose interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Interests within the last 3 years of beginning the work (conducting the research and preparing the work for submission) should be reported. Interests outside the 3-year time frame must be disclosed if they could reasonably be perceived as influencing the submitted work. Disclosure of interests provides a complete and transparent process and helps readers form their own judgments of potential bias. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate.

Editorial Board Members and Editors are required to declare any competing interests and may be excluded from the peer review process if a competing interest exists. In addition, they should exclude themselves from handling manuscripts in cases where there is a competing interest. This may include – but is not limited to – having previously published with one or more of the authors, and sharing the same institution as one or more of the authors. Where an Editor or Editorial Board Member is on the author list we recommend they declare this in the competing interests section on the submitted manuscript. If they are an author or have any other competing interest regarding a specific manuscript, another Editor or member of the Editorial Board will be assigned to assume responsibility for overseeing peer review. These submissions are subject to the exact same review process as any other manuscript. Editorial Board Members are welcome to submit papers to the journal. These submissions are not given any priority over other manuscripts, and Editorial Board Member status has no bearing on editorial consideration.

Interests that should be considered and disclosed but are not limited to the following:

Funding: Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number) and/or research support (including salaries, equipment, supplies, reimbursement for attending symposia, and other expenses) by organizations that may gain or lose financially through publication of this manuscript.

Employment: Recent (while engaged in the research project), present or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of this manuscript. This includes multiple affiliations (if applicable).

Financial interests: Stocks or shares in companies (including holdings of spouse and/or children) that may gain or lose financially through publication of this manuscript; consultation fees or other forms of remuneration from organizations that may gain or lose financially; patents or patent applications whose value may be affected by publication of this manuscript.

It is difficult to specify a threshold at which a financial interest becomes significant, any such figure is necessarily arbitrary, so one possible practical guideline is the following: "Any undeclared financial interest that could embarrass the author were it to become publicly known after the work was published."

Non-financial interests: In addition, authors are requested to disclose interests that go beyond financial interests that could impart bias on the work submitted for publication such as professional interests, personal relationships or personal beliefs (amongst others). Examples include, but are not limited to: position on editorial board, advisory board or board of directors or other type of management relationships; writing and/or consulting for educational purposes; expert witness; mentoring relations; and so forth.

Primary research articles require a disclosure statement. Review articles present an expert synthesis of evidence and may be treated as an authoritative work on a subject. Review articles therefore require a disclosure statement. Other article types such as editorials, book reviews, comments (amongst others) may, dependent on their content, require a disclosure statement. If you are unclear whether your article type requires a disclosure statement, please contact the Editor-in-Chief.

Please note that, in addition to the above requirements, funding information (given that funding is a potential competing interest (as mentioned above)) needs to be disclosed upon submission of the manuscript in the peer review system. This information will automatically be added to the Record of CrossMark, however it is **not added** to the manuscript itself. Under 'summary of requirements' (see below) funding information should be included in the '**Declarations**' section.

Summary of requirements

The above should be summarized in a statement and placed in a 'Declarations' section before the reference list under a heading of 'Funding' and/or 'Competing interests'. Other declarations include Ethics approval, Consent, Data, Material and/or Code availability and Authors' contribution statements.

Please see the various examples of wording below and revise/customize the sample statements according to your own needs.

When all authors have the same (or no) conflicts and/or funding it is sufficient to use one blanket statement.

Examples of statements to be used when funding has been received:

- Partial financial support was received from [...]
 - The research leading to these results received funding from [...] under Grant Agreement No[...].
 - This study was funded by [...]
 - This work was supported by [...] (Grant numbers [...] and [...])
- Examples of statements to be used when there is no funding:**
- The authors did not receive support from any organization for the submitted work.
 - No funding was received to assist with the preparation of this manuscript.
 - No funding was received for conducting this study.

- No funds, grants, or other support was received.

Examples of statements to be used when there are interests to declare:

- **Financial interests:** Author A has received research support from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company W and owns stock in Company X. Author C is consultant to company Y.
Non-financial interests: Author C is an unpaid member of committee Z.
- **Financial interests:** The authors declare they have no financial interests.
Non-financial interests: Author A is on the board of directors of Y and receives no compensation as member of the board of directors.
- **Financial interests:** Author A received a speaking fee from Y for Z. Author B receives a salary from association X. X where s/he is the Executive Director.
Non-financial interests: none.
- **Financial interests:** Author A and B declare they have no financial interests. Author C has received speaker and consultant honoraria from Company M and Company N. Dr. C has received speaker honorarium and research funding from Company M and Company O. Author D has received travel support from Company O.
Non-financial interests: Author D has served on advisory boards for Company M, Company N and Company O.

Examples of statements to be used when authors have nothing to declare:

- The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.
- The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.
- All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.
- The authors have no financial or proprietary interests in any material discussed in this article.

Authors are responsible for correctness of the statements provided in the manuscript. See also Authorship Principles. The Editor-in-Chief reserves the right to reject submissions that do not meet the guidelines described in this section.

Research involving human participants, their data or biological material

Ethics approval

When reporting a study that involved human participants, their data or biological material, authors should include a statement that confirms that the study was approved (or granted exemption) by the appropriate institutional and/or national research ethics committee (including the name of the ethics committee) and certify that the study was performed in accordance with the ethical standards as laid down in the [1964 Declaration of Helsinki](#) and its later amendments or comparable ethical standards. If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that an independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study. If a study was granted exemption from requiring ethics approval, this should also be detailed in the manuscript (including the reasons for the exemption).

Retrospective ethics approval

If a study has not been granted ethics committee approval prior to commencing, retrospective ethics approval usually cannot be obtained and it may not be possible to consider the manuscript for peer review. The decision on whether to proceed to peer review in such cases is at the Editor's discretion.

Ethics approval for retrospective studies

Although retrospective studies are conducted on already available data or biological material (for which formal consent may not be needed or is difficult to obtain) ethics approval may be required dependent on the law and the national ethical guidelines of a country. Authors should check with their institution to make sure they are complying with the specific requirements of their country.

Ethics approval for case studies

Case reports require ethics approval. Most institutions will have specific policies on this subject. Authors should check with their institution to make sure they are complying with the specific requirements of their institution and seek ethics approval where needed. Authors should be aware to secure informed consent from the individual (or parent or guardian if the participant is a minor or incapable) See also section on **Informed Consent**.

Cell lines

If human cells are used, authors must declare in the manuscript: what cell lines were used by describing the source of the cell line, including when and from where it was obtained, whether the cell line has recently been authenticated and by what method. If cells were bought from a life science company the following need to be given in the manuscript: name of company (that provided the cells), cell type, number of cell line, and batch of cells.

It is recommended that authors check the [NCBI database](#) for misidentification and contamination of human cell lines. This step will alert authors to possible problems with the cell line and may save considerable time and effort.

Further information is available from the [International Cell Line Authentication Committee](#) (ICLAC).

Authors should include a statement that confirms that an institutional or independent ethics committee (including the name of the ethics committee) approved the study and that informed consent was obtained from the donor or next of kin.

Research Resource Identifiers (RRID)

Research Resource Identifiers (RRID) are persistent unique identifiers (effectively similar to a DOI) for research resources. This journal encourages authors to adopt RRIDs when reporting key biological resources (antibodies, cell lines, model organisms and tools) in their manuscripts.

Examples:

Organism: *Filip1^{tm1a(KOMP)Wtsi}* **RRID:**MMRRC_055641-UCD

Cell Line: RST307 cell line **RRID:**CVCL_C321

Antibody: Luciferase antibody DSHB Cat# LUC-3, **RRID:**AB_2722109

Plasmid: mRuby3 plasmid **RRID:**Addgene_104005

Software: ImageJ Version 1.2.4 **RRID:**SCR_003070

RRIDs are provided by the [Resource Identification Portal](#). Many commonly used research resources already have designated RRIDs. The portal also provides authors links so that they can quickly [register a new resource](#) and obtain an RRID.

Clinical Trial Registration

The World Health Organization (WHO) definition of a clinical trial is "any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes". The WHO defines health interventions as "A health intervention is an act performed for, with or on behalf of a person or population whose purpose is to assess, improve, maintain, promote or modify health, functioning or health conditions" and a health-related outcome is generally defined as a change in the health of a person or population as a result of an intervention.

To ensure the integrity of the reporting of patient-centered trials, authors must register prospective clinical trials (phase II to IV trials) in suitable publicly available repositories. For example www.clinicaltrials.gov or any of the primary registries that participate in the [WHO International Clinical Trials Registry Platform](#).

The trial registration number (TRN) and date of registration should be included as the last line of the manuscript abstract.

For clinical trials that have not been registered prospectively, authors are encouraged to register retrospectively to ensure the complete publication of all results. The trial registration number (TRN), date of registration and the words 'retrospectively registered' should be included as the last line of the manuscript abstract.

Standards of reporting

Springer Nature advocates complete and transparent reporting of biomedical and biological research and research with biological applications. Authors are recommended to adhere to the minimum reporting guidelines hosted by the [EQUATOR Network](#) when preparing their manuscript.

Exact requirements may vary depending on the journal; please refer to the journal's Instructions for Authors.

Checklists are available for a number of study designs, including:

Randomised trials ([CONSORT](#)) and Study protocols ([SPIRIT](#))

Observational studies ([STROBE](#))

Systematic reviews and meta-analyses ([PRISMA](#)) and protocols ([Prisma-P](#))

Diagnostic/prognostic studies ([STARD](#)) and ([TRIPOD](#))

Case reports ([CARE](#))

Clinical practice guidelines ([AGREE](#)) and ([RIGHT](#))

Qualitative research ([SRQR](#)) and ([COREQ](#))

Animal pre-clinical studies ([ARRIVE](#))

Quality improvement studies ([SQUIRE](#))

Economic evaluations ([CHEERS](#))

Summary of requirements

The above should be summarized in a statement and placed in a 'Declarations' section before the reference list under a heading of 'Ethics approval'.

Examples of statements to be used when ethics approval has been obtained:

- All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The study was approved by the Bioethics Committee of the Medical University of A (No. ...).
- This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Approval was granted by the Ethics Committee of University B (Date.../No. ...).
- Approval was obtained from the ethics committee of University C. The procedures used in this study adhere to the tenets of the Declaration of Helsinki.
- The questionnaire and methodology for this study was approved by the Human Research Ethics committee of the University of D (Ethics approval number: ...).

Examples of statements to be used for a retrospective study:

- Ethical approval was waived by the local Ethics Committee of University A in view of the retrospective nature of the study and all the procedures being performed were part of the routine care.
- This research study was conducted retrospectively from data obtained for clinical purposes. We consulted extensively with the IRB of XYZ who determined that our study did not need ethical approval. An IRB official waiver of ethical approval was granted from the IRB of XYZ.
- This retrospective chart review study involving human participants was in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The Human Investigation Committee (IRB) of University B approved this study.

Examples of statements to be used when no ethical approval is required/exemption granted:

- This is an observational study. The XYZ Research Ethics Committee has confirmed that no ethical approval is required.
- The data reproduced from Article X utilized human tissue that was procured via our Biobank

AB, which provides de-identified samples. This study was reviewed and deemed exempt by our XYZ Institutional Review Board. The BioBank protocols are in accordance with the ethical standards of our institution and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Authors are responsible for correctness of the statements provided in the manuscript. See also Authorship Principles. The Editor-in-Chief reserves the right to reject submissions that do not meet the guidelines described in this section.

Informed consent

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. This is especially true concerning images of vulnerable people (e.g. minors, patients, refugees, etc) or the use of images in sensitive contexts. In many instances authors will need to secure written consent before including images.

Identifying details (names, dates of birth, identity numbers, biometrical characteristics (such as facial features, fingerprint, writing style, voice pattern, DNA or other distinguishing characteristic) and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scholarly purposes and the participant (or parent/guardian if the participant is a minor or incapable or legal representative) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases. Detailed descriptions of individual participants, whether of their whole bodies or of body sections, may lead to disclosure of their identity. Under certain circumstances consent is not required as long as information is anonymized and the submission does not include images that may identify the person.

Informed consent for publication should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort meaning.

Exceptions where it is not necessary to obtain consent:

- Images such as x rays, laparoscopic images, ultrasound images, brain scans, pathology slides unless there is a concern about identifying information in which case, authors should ensure that consent is obtained.
- Reuse of images: If images are being reused from prior publications, the Publisher will assume that the prior publication obtained the relevant information regarding consent. Authors should provide the appropriate attribution for republished images.

Consent and already available data and/or biologic material

Regardless of whether material is collected from living or dead patients, they (family or guardian if the deceased has not made a pre-mortem decision) must have given prior written consent. The aspect of confidentiality as well as any wishes from the deceased should be respected.

Data protection, confidentiality and privacy

When biological material is donated for or data is generated as part of a research project authors should ensure, as part of the informed consent procedure, that the participants are made aware what kind of (personal) data will be processed, how it will be used and for what purpose. In case of data acquired via a biobank/biorepository, it is possible they apply a broad consent which allows research participants to consent to a broad range of uses of their data and samples which is regarded by research ethics committees as specific enough to be considered “informed”. However, authors should always check the specific biobank/biorepository policies or any other type of data provider policies (in case of non-bio research) to be sure that this is the case.

Consent to Participate

For all research involving human subjects, freely-given, informed consent to participate in the study must be obtained from participants (or their parent or legal guardian in the case of children under 16) and a statement to this effect should appear in the manuscript. In the case of articles describing human transplantation studies, authors must include a

statement declaring that no organs/tissues were obtained from prisoners and must also name the institution(s)/clinic(s)/department(s) via which organs/tissues were obtained. For manuscripts reporting studies involving vulnerable groups where there is the potential for coercion or where consent may not have been fully informed, extra care will be taken by the editor and may be referred to the Springer Nature Research Integrity Group.

Consent to Publish

Individuals may consent to participate in a study, but object to having their data published in a journal article. Authors should make sure to also seek consent from individuals to publish their data prior to submitting their paper to a journal. This is in particular applicable to case studies. A consent to publish form can be found [here. \(Download docx, 36 kB\)](#)

Summary of requirements

The above should be summarized in a statement and placed in a ‘Declarations’ section before the reference list under a heading of ‘Consent to participate’ and/or ‘Consent to publish’. Other declarations include Funding, Competing interests, Ethics approval, Consent, Data and/or Code availability and Authors’ contribution statements.

Please see the various examples of wording below and revise/customize the sample statements according to your own needs.

Sample statements for "Consent to participate":

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Informed consent was obtained from legal guardians.

Written informed consent was obtained from the parents.

Verbal informed consent was obtained prior to the interview.

Sample statements for "Consent to publish":

The authors affirm that human research participants provided informed consent for publication of the images in Figure(s) 1a, 1b and 1c.

The participant has consented to the submission of the case report to the journal.

Patients signed informed consent regarding publishing their data and photographs.

Sample statements if identifying information about participants is available in the article:

Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article.

Authors are responsible for correctness of the statements provided in the manuscript. See also Authorship Principles. The Editor-in-Chief reserves the right to reject submissions that do not meet the guidelines described in this section.

Images will be removed from publication if authors have not obtained informed consent or the paper may be removed and replaced with a notice explaining the reason for removal.

Research Data Policy and Data Availability Statements

This journal follows Springer Nature [research data policy](#). Sharing of all relevant research data is strongly encouraged and authors must add a Data Availability Statement to original research articles.

Research data includes a wide range of types, including spreadsheets, images, textual extracts, archival documents, video or audio, interview notes or any specialist formats generated during research.

Data availability statements

All original research must include a data availability statement. This statement should explain how to access data supporting the results and analysis in the article, including links/citations to publicly archived datasets analysed or generated during the study. Please see our full policy [here](#).

If it is not possible to share research data publicly, for instance when individual privacy could be compromised, this statement should describe how data can be accessed and any conditions for reuse. Participant consent should be obtained and documented prior to data collection. See our [guidance on sensitive data](#) for more information.

When creating a data availability statement, authors are encouraged to consider the minimal dataset that would be necessary to interpret, replicate and build upon the findings reported in the article.

Further guidance on writing a data availability statement, including examples, is available at:

[Data availability statements](#)

Data repositories

Authors are strongly encouraged to deposit their supporting data in a publicly available repository. Sharing your data in a repository promotes the integrity, discovery and reuse of your research, making it easier for the research community to build on and credit your work.

See our [data repository guidance](#) for information on finding a suitable repository.

We recommend the use of discipline-specific repositories where available. For a number of data types, submission to specific public repositories is mandatory.

See our [list of mandated data types](#).

The journal encourages making research data available under open licences that permit reuse. The journal does not enforce use of particular licences in third party repositories. You should ensure you have necessary rights to share any data that you deposit in a repository.

Data citation

The journal recommends that authors cite any publicly available data on which the conclusions of the paper rely. This includes data the authors are sharing alongside their publication and any secondary data the authors have reused. Data citations should include a persistent identifier (such as a DOI), should be included in the reference list using the minimum information recommended by [DataCite](#) (Dataset Creator, Dataset Title, Publisher [repository], Publication Year, Identifier [e.g. DOI, Handle, Accession or ARK]) and follow journal style.

See our [further guidance](#) on citing datasets.

Research data and peer review

If the journal that you are submitting to uses double-anonymous peer review and you are providing reviewers with access to your data (for example via a repository link, supplementary information or data on request), it is strongly suggested that the authorship in the data is also anonymised. There are [data repositories that can assist with this](#) and/or will create a link to mask the authorship of your data.

Support with research data policy

Authors who need help understanding our data sharing policy, finding a suitable data repository, or organising and sharing research data can consult our [Research Data Helpdesk](#) for guidance.

See our [FAQ page](#) for more information on Springer Nature's research data policy.

After acceptance

Upon acceptance, your article will be exported to Production to undergo typesetting. Shortly after this you will receive two e-mails. One contains a request to confirm your affiliation, confirm the publishing model for your article, as well as to arrange rights and payment of any associated publication cost. A second e-mail containing a link to your article's proofs will be sent once typesetting is completed.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Open Choice

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication. Article processing charges (APCs) vary by journal – [view the full list](#)

Benefits:

- Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.
- Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average*.
- Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our funding and support pages for more information.

*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

[Open Choice](#)

[Funding and Support pages](#)

Copyright

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under a Creative Commons license. Details of the OA licences offered to authors can be found on the individual journal website, in the journal's **How to publish with us** guide.

Editing Services

English

How can you help improve your manuscript for publication?

Presenting your work in a well-structured manuscript and in well-written English gives it its best chance for editors and reviewers to understand it and evaluate it fairly. Many researchers find that getting some independent support helps them present their results in the best possible light. The experts at Springer Nature Author Services can help you with manuscript preparation— including **English language editing, developmental comments, manuscript formatting, figure preparation, translation**, and more.

[Get started and save 15%](#)

You can also use our free [Grammar Check](#) tool for an evaluation of your work.

Please note that using these tools, or any other service, is not a requirement for publication, nor does it imply or guarantee that editors will accept the article, or even select it for peer review.