

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS
PRESENTES NOS EXTRATOS ETANÓLICO E
HEXÂNICO DAS FOLHAS DA *Moringa oleifera* LAM.**

MARIA DE SOUSA SANTOS BEZERRA

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO LUIZ MARTINS MAIA FILHO

CO-ORIENTADOR: PROFA. DRA. VALDILÉIA TEIXEIRA UCHÔA

Teresina – PI
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS
PRESENTES NOS EXTRATOS ETANÓLICO E
HEXÂNICO DAS FOLHAS DA *Moringa oleifera* LAM.**

MARIA DE SOUSA SANTOS BEZERRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Bioprospecção Fitoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Martins Maia Filho

Co-orientadora: Prof^a Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa

Teresina – PI

2020

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PRESENTES NOS
EXTRATOS ETANÓLICO E HEXÂNICO DAS FOLHAS DA *Moringa
oleifera* LAM.**

MARIA DE SOUSA SANTOS BEZERRA

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Bioprospecção Fitoquímica

Aprovado em 17 de Setembro de 2020.

Membros da Banca:



Prof. Dr. Antonio Luiz Martins Maia Filho
(Presidente da Banca – UESPI)



Prof(a). Dr(a). Valdiléia Teixeira Uchôa
(Co-orientadora - Membro Titular – UESPI)



Prof(a). Dr(a). Aldenir Feitosa dos Santos
(Membro Titular – UNEAL/CEMAC)



Prof. Dr. Francisco Artur e Silva Filho
(Membro Titular – UESPI)

Prof(a). Dr(a). Rosemarie Brandim Marques
(Membro Suplente – UESPI)

Teresina – PI

2020

Dedicatória

*Dedico esta, e outras conquistas, a meu
esposo pelo grande apoio e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela vida, saúde e oportunidades;
- Aos meus pais, Mariana e Jose Luiz, meus maiores incentivadores, pelo apoio e amor incondicional;
- À minha irmã Ariane Santos pelo apoio e incentivo nos momentos em que eu pensava em desistir;
- Ao meu esposo, Francisco das Chagas Luz, apoio, amor, paciência e incentivo;
- Aos meus chefes-amigos, Pedro Neto e Agenor Martins, pelas ajudas indiretas, apoio e colaboração para que eu pudesse realizar minha pesquisa.
- A minha amiga Adriana Rocha pelas palavras de apoio e incentivo;
- Aos professores Dr Antonio Luiz Martins Maia Filho e Dra. Valdiléia Teixeira Uchôa, pela maravilhosa orientação e co-orientação, acolhimento e paciência. Por terem me guiado no melhor caminho durante a pós-graduação e por abrir tantas portas para o meu crescimento profissional;
- Aos professores Dr. Reginaldo da Silva Santos e Dr. Geraldo Eduardo da Luz Júnior pelo incentivo e compreensão para com cada situação em particular e contribuírem de forma essencial para realização deste trabalho;
- Aos meus amigos, principalmente aos do Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais pela ajuda e parceria;
- Aos parceiros dos laboratórios GERATEC, LPN e às instituições parceiras UFPI e IFAL pela contribuição na realização do trabalho;
- À Universidade Estadual do Piauí, pela oportunidade de realização da pesquisa;

Epígrafe

“Aqueles que são sábios reluzirão como o fulgor do céu, e aqueles que conduzem muitos à justiça serão como as estrelas, para todo o sempre.”

(Daniel 12:3)

RESUMO

BEZERRA, M. de S. S. **Identificação de Compostos Orgânicos Presentes nos Extratos Etanólico e Hexânico das Folhas da *Moringa oleifera* Lam.** 2020. 65 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Piauí. Teresina.

A *Moringa oleifera* Lam. é uma planta popularmente conhecida por diversos nomes como: lírio-branco, benzolive, saiija, quiabo-de-quina, entre outros. É bastante utilizada na medicina popular para tratar várias doenças, tais como as relacionadas ao excesso de radicais livres no organismo, isso porque todas as partes dessa planta apresentam metabólitos secundários como, por exemplo: flavonoides, taninos, terpenoides, alcaloides, saponinas, compostos fenólicos, entre outros, com diversas atividades biológicas. A presença e quantidade desses metabólitos estão condicionadas a fatores bióticos e abióticos que podem alterar as propriedades que a planta apresenta em relação aos problemas de saúde para o qual ela é aplicada. A busca por fitoterápicos que possam tratar problemas de saúde tem sido um desafio aos pesquisadores pelo mundo. O presente trabalho teve como objetivo identificar os compostos orgânicos presentes nas folhas da *M. oleifera*. Essa identificação foi realizada pelas análises cromatográficas CG-EM e CLAE. Como resultado verificou-se que, a *M. oleifera* cultivada em Teresina-PI apresentou no extrato etanólico das folhas dessa planta 20 compostos e o extrato hexânico, 23 compostos. Apenas 09 compostos eram comuns aos dois extratos, dos demais compostos fitoquímicos, 03 estão citados em outras referências sobre a moringa, 07 foram identificados em plantas de outras espécies, 16 ainda não foram citados por nenhuma outra referência como presente nas plantas e 11 possuem atividade biológica definida. O resultado da CLAE revelou, no extrato etanólico das folhas, os metabólitos secundários: catequina, rutina, miricetina, ácido clorogênico e cumarina. Todos com atividades anticâncer, antioxidante e anti-inflamatória. O extrato hexânico, na CLAE, não revelou compostos fitoquímicos entre os padrões comparados. Concluiu-se que as mudanças na composição fitoquímica das folhas da *M. oleifera* cultivadas em Teresina-PI, podem estar relacionadas a fatores ambientais e fatores biológicos. Portanto, a pesquisa demonstra a necessidade de um estudo mais aprofundado em busca de outros metabólitos secundários.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade Biológica; Fitocompostos Bioativos; *Moringa oleifera*.

ABSTRACT

Moringa oleifera Lam. is a plant popularly known by several names such as: white lily, benzolive, saijha, okra, among others. It is widely used in folk medicine to treat various diseases, such as those related to excess free radicals in the body, because all parts of this plant have secondary metabolites such as: flavonoids, tannins, terpenoids, alkaloids, saponins, phenolic compounds , among others, with several biological activities. The presence and quantity of these metabolites are conditioned to biotic and abiotic factors that can alter the properties that the plant has in relation to the health problems to which it is applied. The search for herbal medicines that can treat health problems has been a challenge for researchers around the world. The present work aimed to identify the organic compounds present in the *M. oleifera* leaves. This identification was carried out by chromatographic analyzes CG-EM and HPLC. As a result, it was found that *M. oleifera* grown in Teresina-PI presented 20 compounds in the ethanolic extract of the leaves of this plant and the hexanic extract, 23 compounds. Only 09 compounds were common to both extracts, of the other phytochemicals, 03 are mentioned in other references about moringa, 07 have been identified in plants of other species, 16 have not yet been mentioned by any other reference as present in plants and 11 have activity defined biological nature. The result of HPLC revealed, in the ethanolic extract of the leaves, the secondary metabolites: catechin, rutin, myricetin, chlorogenic acid and coumarin. All with anti-cancer, antioxidant and anti-inflammatory activities. The hexane extract, at CLAE, did not reveal phytochemical compounds among the compared standards. It was concluded that the changes in the phytochemical composition of the leaves of *M. oleifera* grown in Teresina-PI, may be related to environmental and biological factors. Therefore, the research demonstrates the need for further study in search of other secondary metabolites.

KEYWORDS: Biological Activity; Bioactive phytocomposites; *Moringa oleifera*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Floração de <i>M. oleifera</i>	19
Figura 2.2	(a) Vagens e (b) Sementes da <i>M. oleifera</i>	20
Figura 2.3	Espécie <i>M. oleifera</i> , (a) Árvore, (b) Folhas e (c) Vagens. (São João da Canabrava - PI)	23
Figura 3.1	(a) Extrato etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i> (b) Extrato sendo rota-evaporado	28
Figura 3.2	(a) Liofilizador ModulyoD Freeze Dryer, (b) Extrato etanólico após liofilização	28
Figura 3.3	(a) Extrato hexânico antes da liofilização. (b) Extrato hexânico após liofilização	29
Figura 3.4	(a) Tanino condensados, (b) Tanino hidrolisáveis	30
Figura 3.5	Reação para identificação de flavonoides	30
Figura 3.6	Equação para reação de identificação de esteroides e triterpenoides pela reação	31
Figura 3.7	Saponina do tipo oleano (β -amirina)	31
Figura 3.8	Estruturas de alguns alcaloides	32
Figura 4.1	Cromatograma do extrato etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i>	37
Figura 4.2	Fórmulas estruturais dos compostos identificados por CG-EM somente no extrato etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i>	38
Figura 4.3	Cromatograma GC-MS do extrato hexânico das folhas da <i>M. oleifera</i>	40
Figura 4.4	Fórmulas estruturais dos compostos identificados na análise por CG-EM somente no extrato hexânico das folhas da <i>M. oleifera</i>	40
Figura 4.5	Fórmulas estruturais dos compostos identificados por CG-EM tanto no extrato etanólico quanto no extrato hexânico das folhas da <i>M. oleifera</i>	42
Figura 4.6	Fórmulas estruturais dos compostos identificados na análise CLAE do extrato etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i>	47
Figura 4.7	Comparação dos cromatogramas do extrato etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i> em 290 nm e padrões cromatográficos: (40) catequina (tR = 25,658 min), (41) ácido clorogênico (tR = 29,062 min), (46) cumarina (tR = 45,412 min), (47) rutina (tR = 49,361 min) e (48) miricetina (tR = 50,932 min)	48
Figura 4.8	Cromatograma do extrato etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i> , co-injeção do extrato com os padrões (40) catequina, (41) ácido clorogênico, (46) cumarina, (47) rutina e (48) miricetina	49
Figura 4.9	Estrutura padrão e requisitos estruturais observados para atividade anti-inflamatória de flavonoides	50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 4.1** Compostos identificados na análise por CG-EM, somente no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* com seus respectivos: tempos de retenção, fórmulas e massas moleculares e percentuais relativos de áreas. **36**
- Tabela 4.2** Compostos identificados na análise por CG-EM somente no extrato hexânico das folhas da *M. oleifera* com seus respectivos: tempos de retenção, fórmulas e massas moleculares e percentuais relativos de áreas. **39**
- Tabela 4.3** Compostos orgânicos identificados em comum em ambos os extratos. **41**

LISTA DE QUADROS

- Quadro 4.1** Registro da identificação na prospecção preliminar dos metabólitos secundários nos extratos hexânico e etanólico das folhas da *M. oleifera* **32**
- Quadro 4.2** Compostos identificados na CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera* com suas respectivas atividade biológica **43**
- Quadro 4.3** Compostos identificados na CLAE do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* e suas respectivas atividades biológicas no organismo **51**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HIV/AIDS - *Human Immunodeficiency Virus/ Acquired ImmunoDeficiency Syndrome*

CG-EM – Cromatografia Gasosa – Espectroscopia de Massa

HPLC/CLAE - *High Performance Liquid Chromatography/Cromatografia Líquida de Alta Eficiência*

LDL - *Low Density Lipoproteins*

UFPI – Universidade Federal do Piauí

NPBio – Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade.

LPN – Laboratório de Produtos Naturais

GERATEC – Núcleo Interinstitucional de Estudo e Geração de Novas Tecnologias.

Tr – Tempo de retenção.

Nuplam – Núcleo de Plantas Aromáticas e Medicinais

MAPKs – *Mitogen-Activated Protein Kinases*

NF- κ B – *Nuclear Factor kappa B*

IL-8 – Interleucina 8

NOS – *Oxido Nitrico Sintase*

SOD – Superóxido Dismutase

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Objetivos.....	16
1.1.1 Geral.....	16
1.1.2 Específico.....	16
CAPÍTULO 2 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Consumo de plantas medicinais no tratamento de doenças.....	17
2.2 A família Moringaceae.....	18
2.3 O gênero Moringa.....	19
2.4 A espécie <i>Moringa oleifera</i> Lamark.....	22
CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	27
3.1 Materiais e Reagentes.....	27
3.2 Análise preliminar fitoquímica das folhas da <i>M. oleifera</i>	29
3.2.1 Operações preliminares.....	29
3.2.2 Teste para Taninos.....	29
3.2.3 Teste para Flavonoides.....	30
3.2.4 Teste para Esteroides e Triterpenoides.....	30
3.2.5 Teste para Saponinas.....	31
3.2.6 Teste para Alcaloides.....	31
3.3 Análise por CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas da <i>M. oleifera</i>	32
3.4 Análise por CLAE dos extratos etanólico e hexânico das folhas da <i>M. oleifera</i>	32
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	34
4.1 Análise fitoquímica preliminar dos extratos das folhas da <i>M. oleifera</i>	34
4.2 Análise por CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas da <i>M.</i> <i>oleifera</i>	36
4.3 HPLC dos extratos hexânico e etanólico das folhas da <i>M. oleifera</i>	47
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
REFERÊNCIAS.....	55

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

O consumo de plantas como suprimento alimentar e medicinal vem desde o surgimento da humanidade. Dados históricos revelam que essa prática é comum desde 150 a. C. [1]. Isso se deve ao fato destas apresentarem diversas atividades biológicas tanto nutricionais quanto farmacológica [2,3,4]. Essa cultura vem passando gerações e com o avanço tecnológico isso vem sendo estudado para comprovação da eficácia dessas plantas no tratamento para o qual são utilizadas como medicina complementar ou alternativa [3].

As plantas, no geral, apresentam dois tipos de metabolismos importantes, o primário no qual são produzidos compostos essenciais ao seu processo vital, e o metabolismo secundário, derivado do metabolismo primário, onde se produzem compostos com outras finalidades, tais como: defesa contra herbívoros, infecções por micro-organismos, proteção contra raios ultravioleta, atração de polinizadores, entre outros [5]. Tais metabólitos secundários são de grande interesse para a pesquisa farmacêutica devido às atividades biológicas que estas exercem no organismo humano. As indústrias, medicinal e nutricional, estão sempre à procura de novas fontes naturais que possuem fitocompostos com atividades biológicas tais como os polifenóis, flavonoides, isotiocianatos, glucosinolatos, taninos, triterpenos, fitoesteróis, entre outros, com propriedades terapêuticas [1,6].

Muitas dessas plantas são utilizadas na medicina popular com a finalidade de tratar diversos tipos de enfermidades [7,8]. Uma delas é a *Moringa oleifera* Lam., que apresenta uma infinidade de aplicações dentre elas: tratamento e prevenção de doenças, uso na alimentação e no tratamento de água [8]. Originária do noroeste da Índia, pertencente à família Moringaceae e ao gênero *Moringa* que apresenta 13 espécies, possui crescimento rápido podendo atingir de 12 a 15 metros de altura. Difundiu-se pelo mundo devido às suas propriedades fármaco nutritivas, bem como, por sua facilidade de adaptação a qualquer tipo de clima, razão pela qual há, provavelmente, tanta variação nas quantidades e tipos de compostos secundários

[9]. É conhecida em várias partes do mundo por diversos nomes populares, entre eles: Lírio-branco, Quiabo-de-quina, Benzolive, Saijha, Mulangay, Sajna Marango, Árvore de Rábano, Mlonge [10], é cultivada em muitas regiões, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, estando adaptada ao nordeste brasileiro, principalmente nos estados do Maranhão, Piauí e Ceará [11].

Essa espécie possui grande utilidade para a humanidade no campo medicinal por apresentar metabólitos secundários com atividades biológicas e farmacológicas diversificadas para uso na medicina popular como: antioxidante, anticâncer, antidiabética, antiaterosclerótica, anti-inflamatória, antibacteriana, antimicrobiana, antifúngica, hepatoprotetora, hipoglicêmica, neuroprotetora, cicatrizante, no tratamento de cefaleia, febre, infecções de garganta, hemorroidas, bronquite, infecção nos olhos e ouvidos, escorbuto, dores, hipertensão, úlceras, como diurético, redutor do colesterol, lesões de tecidos, entre outras [4,6,9,12-15].

Conforme pesquisa realizada por Seifu e Teketai (2020) no Botsuana-África, pessoas utilizam essa planta, na fitoterapia, para tratar, além das doenças já citadas, reumatismo, alívio de cólicas menstruais e estomacais, doenças renais, úlceras, HIV/AIDS, para estimular o sistema imunológico, facilitar a digestão, alívio de coceira nos olhos, tuberculose, dermatites e queimaduras, constipação, gripe, câncer, asma, reduzir a fadiga e o cansaço [16]. Como visto, a *M. oleifera* é uma espécie que apresenta uma variedade de compostos fitoquímicos biologicamente ativos com diversas atividades no organismo humano, sendo utilizada para tratar mais de 300 doenças pelo mundo [11,17].

Como fonte nutricional, é consumida para combater a desnutrição e para suplementação alimentar [18] pela presença de vitaminas, fibras, sais minerais carboidratos, lipídios e proteínas [10,19,20]. As folhas da *M. oleifera* são consumidas cozidas em sopa com ou sem leite de coco ou frescas, adicionadas a sopas, misturadas com outros vegetais e como chá [16].

As folhas, ainda, são ricas em compostos dos grupos dos flavonoides (miricetina, quercetina, kaempferol, isohamnetina, rutina, catequina), taninos, triterpenos, ácidos fenólicos [17], saponinas, antocianinas, carotenoides, β -sitosterol, nicotina, ácido fólico, piridoxina e aminoácidos (entre eles: metionina, cisteína, triptofano, lisina, serina, prolina, ácido glutâmico, glicina, arginina e

tirosinafenilalanina) [10,15,19,21-23], além de heterosídeos cardioativos, açúcar redutores (frutose, glicose, sacarose) e cumarinas [4,9].

Vários estudos mostram estes compostos em quantidades diferentes, mesmo sendo realizados em plantas da mesma região. A presença, ausência e variação da quantidade desses compostos estão diretamente relacionadas às condições em que a planta é cultivada, tipo de solo, clima, incidência de raios solares, entre outros fatores [4,9,24,25].

O presente trabalho teve como objetivo identificar os compostos orgânicos dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera* cultivada na cidade de Teresina-PI, através das análises: prospecção preliminar fitoquímica, Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa – CG-EM e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE, comparar os dados encontrados com outros dados reportados na literatura que indiquem as variações metabólicas da planta conforme local de cultivo.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

Identificar os compostos orgânicos dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera* cultivada na cidade de Teresina-PI por CG-EM e CLAE e comparar os dados encontrados com a literatura que indiquem as variações metabólicas da planta conforme local de cultivo.

1.1.2 Específicos

- Analisar por meio da bioprospecção preliminar fitoquímica a identificação das classes de metabólitos secundários dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera*;
- Utilizar a cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa para identificar os componentes fitoquímicos voláteis presentes nas folhas da *M. oleifera* em seus extratos etanólico e hexânico;
- Identificar por meio da cromatografia líquida de alta eficiência compostos não-voláteis específicos presentes nas folhas da *M. oleifera* através de comparações com soluções-padrão previamente definidos;
- Realizar um estudo bibliográfico à cerca de trabalhos publicados que fazem referências ao estudo das folhas da *M. oleifera*;
- Fazer um estudo comparativo entre os dados fornecidos por esta pesquisa e outros reportados em outros estudos;

Capítulo 2

REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Consumo de plantas medicinais no tratamento de doenças

Por décadas, uma vasta gama de plantas, com propriedades medicinais na fitoterapia, tem sido uma rica fonte de medicamentos, nutrientes e alimentos em vários países do mundo. Parte dessas plantas é empregada como medicina alternativa para prevenir e tratar diversos tipos de doenças, e parte delas, fornecerem nutrientes essenciais para suplementação alimentar [2,17,26,27], além de outras aplicações. Esses produtos vêm sendo amplamente estudados e conhecidos nos últimos anos, mesmo a era moderna da medicina favorecendo a disseminação dos produtos sintéticos [15]. Estudos recentes revelaram que muitos desses produtos vegetais possuem forte atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticâncer, antidiabético, hepatoprotetora, hipocolesterolêmica, entre outras atividades [27].

Segundo Santos (2012), alguns estudos têm demonstrado que uma dieta rica em vegetais e frutas pode reduzir o risco de muitas doenças, inclusive aquelas associadas ao excesso de radicais livres no corpo humano, como hipertensão, envelhecimento precoce, aterosclerose, câncer, inflamação, entre outros [4,28]. Isso se deve ao fato desses vegetais apresentarem fitocompostos que atuam, direta ou indiretamente, sobre esses problemas, como o caso dos taninos, flavonoides, terpenoides, entre outros.

A fitoterapia tem sido uma prática comum em muitos países, por ser uma técnica de tratamento acessível, barata e eficaz, relacionada com o conhecimento popular e, muitas vezes mais eficaz que os medicamentos sintéticos [15]. Essa prática é passada de geração em geração e aperfeiçoada com o auxílio da tecnologia para comprovação de sua eficácia.

Técnicas como bioprospecção fitoquímica, cromatografias, espectroscopias, ressonância magnéticas nucleares, entre outras, tem ajudado a indústria farmacêutica na identificação e isolamento dos compostos atuantes como princípio ativo em muitas plantas [29]. Os metabólitos secundários se apresentam, como mecanismo de defesa, responsáveis pelas quantidades, presenças ou ausência destes compostos bioativos nas plantas medicinais [30]. Há uma preocupação em entender a atuação desses metabólitos no organismo humano de modo a minimizar os riscos no consumo dos medicamentos industrializados, bem com, do consumo direto da planta na medicina popular. A busca por esse entendimento pode estar relacionada à toxicidade e efeitos colaterais causados pelos medicamentos sintéticos, o que aumenta a preocupação em consumi-los levando, conseqüentemente, a um aumento na utilização de plantas medicinais para tratamento e prevenção de doenças [31].

Os medicamentos sintéticos atuam diretamente em um problema específico isso se deve ao fato destes apresentarem compostos isolados como único princípio ativo, enquanto que, as plantas medicinais, por possuírem uma variedade de moléculas de compostos diferentes podem atuar com efeito sinérgico, sobre um determinado alvo da complexa via celular [31,32]. Uma dessas plantas pertence à família Moringaceae, será abordada no tópico a seguir.

2.2 A família Moringaceae

A família Moringaceae é rica em compostos contendo o açúcar simples, ramnose, em compostos chamados glucosinolatos e isotiocianatos [33,34]. A essa família pertence um grupo de plantas comumente encontradas em parte da África, Ásia e Madagascar. Possui apenas um gênero que a representa, o gênero *Moringa* que será abordada no tópico seguinte. Nas plantas dessa família é comum a presença de troncos enormes, raízes tuberosas que armazenam água e nutrientes para a planta e flores actinomorfas, ou seja, com simetria bilateral em sua maioria, três espécies são árvores de caule delgado. A maioria das espécies pertencentes a essa família, são encontradas nas regiões do Quênia, Etiópia e Somália, onde se apresentam de forma endêmica. Mais detalhes sobre a família Moringaceae serão abordados no tópico que trata do gênero *Moringa*, já que este é o único representante da família [35].

2.3 O gênero *Moringa*

O gênero *Moringa* representa um grupo de árvores ou arbusto que podem ou não apresentar caule paucicálico e raízes tuberosas. As partes desse grupo de plantas apresentam características como: folhas caducas que apresentam pecíolo bi a tri-imparitinadas que se dispõem de forma alternada, folíolos mais ou menos opostos contendo ou não glândulas estipíticas na base do pecíolo ou pavilhões [36].

A inflorescência desse gênero apresenta-se pediceladas dispostas em uma raque ramificada ou não, com muitas flores (ver exemplo na Figura 2.1) de aroma agradável às vezes com simetria radiada ou com apenas um plano de simetria, são bissexuais e apresenta coloração branca, amarela ou vermelha em forma de taça ou tubular, dependendo da espécie [35].



Figura 2.1: Floração de *M. oleifera*.

Os frutos, em forma de vagem com três válvulas, exemplo na Figura 2.2a, apresentam sementes de forma arredondada, de coloração branca ou preta, aladas ou não, sem albumina e com embrião ereto (exemplo na Figura 2.2b) [36].



Figura 2.2: (a) Vagens e (b) Sementes da *M. oleifera*.

No gênero *Moringa* é o único representante da família *Moringaceae* catalogada até o momento, este gênero apresenta 13 espécies nomeadas como: *M. arborea*; *M. rivae*; *M. borziana*; *M. pygmaea*; *M. longituba*; *M. stenopetala*; *M. ruspoliana*; *M. ovalifolia*; *M. drouhardii*; *M. hildebrandti*; *M. peregrina*; *M. concanensis* e *M. oleifera* [35,37,38]. Estas plantas fazem parte da cultura nutricional e medicinal de muitos países tropicais, principalmente a *M. oleifera*, que tem se tornado a mais pesquisada no mundo, entre as espécies deste gênero [17,39]. Isso porque as espécies do gênero *Moringa* apresentam uma variedade de compostos bioativos com diversas funções no corpo humano, a exemplo os grupos: flavonoides, glucosinolatos, ácidos fenólicos, esteróis, terpenos, alcaloides, entre outros [40]. Hausiku et al. (2020) afirmam que “o conteúdo nutricional e o perfil de metabólitos secundários da planta da *Moringa* são específicos da espécie e são influenciados por fatores genéticos” [41].

Esse gênero apresenta uma grande importância econômica por ser potencialmente utilizada tanto na obtenção de novos fármacos, na medicina popular para tratar e prevenir doenças, na identificação de constituintes químicos nas pesquisas e indústrias farmacêuticas e na alimentação como fonte de nutrientes [38]. Apenas sete entre as treze espécies catalogadas, estão sendo estudadas, é o caso da *M. rivae*, *M. peregrina*, *M. stenopetala*, *M. concanensis*, *M. ovalifolia*, *M. drouhardii* e *M. oleifera*, esta última com o maior número de trabalhos publicados.

Através dos trabalhos publicados, percebe-se que o gênero apresenta várias atividades biológicas segundo a cultura popular, a exemplo, o gênero é utilizado como antioxidante, anticonvulsivante, anticâncer, antitripanossômico,

antileishmaniose, antiviral, anti-hiperglicêmico, anti-hiperlipidêmico, antiolesterolêmico, antifertilidade, anti-inflamatório, anti-hipertensivo, antiespasmódico, entre outras [40], atividades que se apresentam distribuídas em suas espécies. A *M. ovalifolia* é muito empregada como antimalárico e antiplasmódico. A espécie apresenta grupos fitoquímicos identificados, tais como: flavonoides, antraquinonas, cumarinas, terpenoides e alcaloides [40-42]. A *M. concanensis* tem sua aplicação na medicina popular para aliviar inchaço, gengivite, dores de cabeça, problemas dentários, suas folhas, cascas e sementes apresentam propriedades anticâncer, anti-inflamatória, imunomoduladora, antifúngico, cicatrizante e antibacteriano. Tais atividades são atribuídas à presença de compostos dos grupos: alcaloides, taninos, glicosídeos antracênicos, açúcares redutores de carboidratos, ácidos graxos, flavonoides e saponinas [40,42].

Outra espécie estudada que possui várias aplicações na cultura popular é a *M. stenopetala*. Segundo Habtimariam (2017), esta espécie é rica em diversos sais minerais, tais como: cálcio, fósforo, magnésio, potássio e sódio. Além de vitamina C, aminoácidos e compostos fitoquímicos dos grupos: fitosteróis, triterpenos, isotiocianatos, glucosinolatos e flavonoides, responsáveis pelas atividades: antibacteriana, antiprotozoários, antidiabéticos, anti-hipertensão, neuroprotetora, antioxidante, antiasma, entre outras [44]. Além do mais, suas folhas são consumidas, popularmente, para tratar a lepra; suas cascas mastigadas contra tosse; a fumaça das raízes para tratar epilepsia, entre outros problemas [40,44].

Para alguns autores, a *M. peregrina*, atua como fitoterápico por seus efeitos: antioxidantes, analgésicos, anti-inflamatório, anticâncer, anti-hipertensivo, antidiabético, neuroprotetor, redutor de lipídios, antibacteriano, antifúngico, antitripanossômico, antiespasmódico, entre outros. Na medicina popular, são utilizados os extratos das folhas para tratar feridas e paralisia; o óleo das vagens para tratar convulsões e paralisia infantil; as sementes para controlar o diabetes e tratar doenças relacionadas a ele; as cascas são usadas como desinfetantes, para tratar febre e dores de parto; as raízes para tratar males como asma, malária, problemas gastrointestinais e expelir placenta retida. Todas essas propriedades são atribuídas à presença, nessa planta, de alcaloides, taninos, fenólicos, saponinas, glicosídeos, flavonoides, cumarinas, entre outros [38,40,45].

Já a *M. rivae* é tradicionalmente usada na medicina popular contra artrite e fadiga dos músculos da coxa e panturrilha [8], possui atividades: anti-inflamatória,

antiartrítica e antioxidante. Segundo Saleen et al. (2020), essa espécie apresenta os grupos fitoquímicos alcaloides, glicosídeos, saponinas, flavonoides, fenóis e taninos [40,46]. De acordo com Olson (1999) a *M. drouhardii*, também, possui aplicações no tratamento e prevenção de doenças, suas cascas são usadas para combater resfriados e tosses [40]. Dentre as espécies, a que apresenta o maior número de compostos secundários é a espécie *M. oleifera* (será abordada no tópico seguinte).

As espécies já estudadas ainda necessitam de maiores investigações para comprovação de suas atividades biológicas no organismo humano, como também, para identificação dos compostos presentes nas partes dessas plantas. Apesar de muitos estudos estarem sendo desenvolvidos em torno das espécies da Moringa, ainda são poucos os estudos feitos em humanos acerca dos efeitos causados pelo consumo dessas plantas.

2.4 A espécie *Moringa oleifera* Lamark

A planta *Moringa oleifera* Lam. (Figura 2.3), apresenta uma infinidade de aplicações desde tratamento e prevenção de doenças, na alimentação e no tratamento de água [8]. Originária do noroeste da Índia, pertencente à família Moringaceae, ao gênero *Moringa* que apresenta 13 espécies e possui crescimento rápido. Difundiu-se pelo mundo devido à suas propriedades fármaco nutritivas, bem como, por sua facilidade de adaptação a qualquer tipo de clima, razão pela qual há, provavelmente, tanta variação nas quantidades e tipos de compostos secundários [9].

A *M. oleifera* é uma espécie que apresenta uma variedade de compostos fitoquímicos biologicamente ativos. Sendo utilizada para tratar mais de 300 doenças pelo mundo [11,17]. Essas atribuições se devem ao fato dessa planta apresentar, em todas as suas partes, sobretudo nas folhas, compostos como flavonoides, terpenoides, taninos, alcaloides, esteroides, fitoesteróis, glicosídeos, glucosinolatos, fenóis, saponinas, vitaminas, minerais, entre outros [2,9,12]. Esses compostos estão associados ao tratamento e prevenção de várias doenças, a exemplo de doenças relacionadas ao excesso de radicais livres no organismo [4,6,9,28].

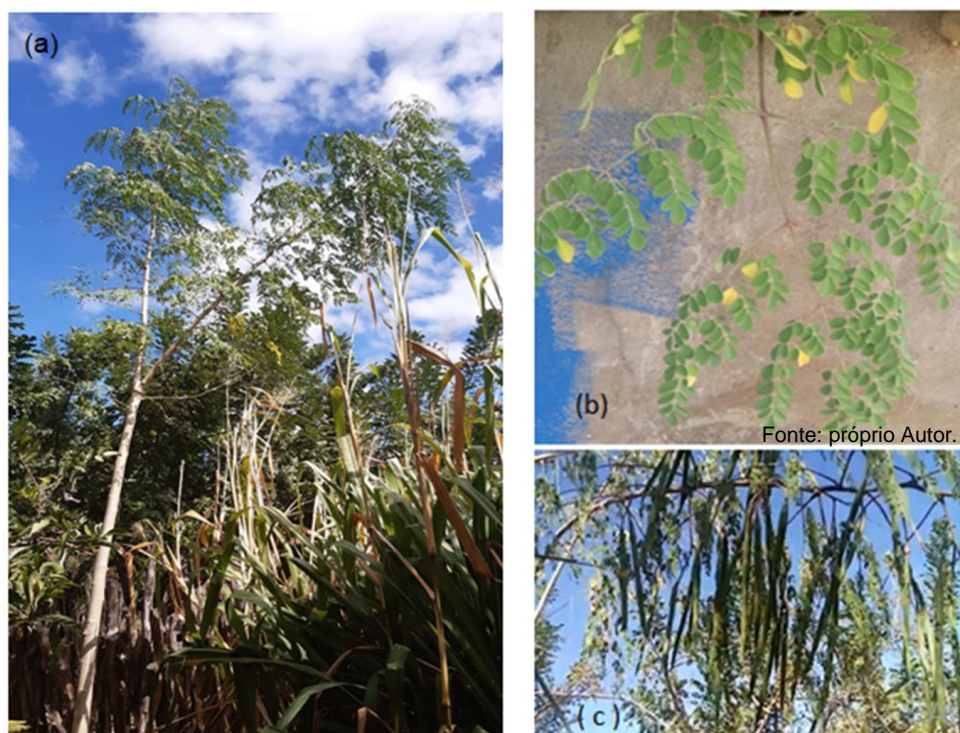


Figura 2.3: Espécie *M. oleifera*, (a) Árvore, (b) Folhas e (c) Vagens. (São João da Canabrava - PI)

Esta planta é conhecida em várias partes do mundo pelos nomes populares de Lírio-branco, Quiabo-de-quina, Benzolive, Saijha, Mulangay, Sajna Marango, Árvore de Rábano, Mlonge, entre outros [10]. É cultivada em muitos países, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, inclusive, no Brasil, estando adaptada à região nordeste [47,48,93].

É uma árvore de madeira macia de rápido crescimento que pode atingir de 12 a 15m de altura (Figura 2.3a). Encontrada como nativa ou cultivada em planícies, especialmente em sebes e pátios de casas, é abundante perto dos leitos arenosos de rios e riachos. Pode crescer bem nos trópicos úmidos ou terras quentes e secas, pode sobreviver a solos pobres e é pouco afetado pela seca [46]. Segundo Hasan *et al.* (2019), a *M. oleifera* está prontamente disponível e cresce bem em secas, solos relativamente áridos e outras condições ambientais difíceis, ela pode ser usada para fins econômicos e de saúde medicinal em países em desenvolvimento [15].

Essa espécie possui grande utilidade para a humanidade no campo medicinal por apresentar metabólitos secundários com atividades biológicas diversificadas para uso como: antioxidante, anticâncer, antidiabética, antiaterosclerótica, anti-inflamatória, antibacteriana, hepatoprotetora, hipoglicêmica, neuroprotetora, cicatrizante, cataplasma em feridas, uso em cefaleia, febre, dor de garganta,

hemorroidas, bronquite, infecção nos olhos e ouvidos, escorbuto, secreções, asma, dores, hipertensão, úlceras, diurético, colesterol, lesões de tecidos, antimicrobiana, antifúngica, entre outras [4,6,9,12-15].

Conforme pesquisa realizada por Seifu e Teketai (2020) no Botsuana-África, pessoas utilizam essa planta, na fitoterapia, para tratar, além das doenças já citadas, reumatismo, alívio de cólicas menstruais e estomacais, doenças renais, úlceras, HIV/AIDS, para estimular o sistema imunológico, facilitar a digestão, alívio de coceira nos olhos, tuberculose, dermatites e queimaduras, constipação, gripe, câncer, asma, reduzir a fadiga e o cansaço [16]. Como visto, a *M. oleifera* é uma espécie que apresenta uma variedade de compostos fitoquímicos biologicamente ativos com diversas atividades no organismo humano, sendo utilizada na fitoterapia para tratar e prevenir mais de 300 doenças pelo mundo [11,17].

Como fonte nutricional, é consumida, em diversos países do continente africano para combater a desnutrição e, em muitos outros países, para suplementação alimentar pela presença de vitaminas (retinol, β -caroteno, ácido ascórbico, α -tocoferol, vitaminas A e do complexo B - riboflavina, niacina, tiamina), fibras, sais minerais (cálcio, potássio, sódio, magnésio, ferro, zinco, cobre, manganês, fosforo, selênio, entre outros), carboidratos, lipídios e proteínas [10,19,20]. Em países como Índia, Paquistão, Filipinas, Havaí e parte da África, a *M. oleifera* é utilizada na alimentação. Folhas, flores, frutos e vagens imaturas são usados como vegetal altamente nutritivo [46].

As folhas da *M. oleifera* são consumidas como vegetal cozida ou frescas, adicionada a sopas, misturada com outros vegetais e cozida com ou sem leite de coco, chá [16], são ricas em flavonoides (miricetina, quercetina, kaempferol, isohamnetina, rutina, catequina), taninos, triterpenos, ácidos fenólicos (ácido caféico, ácido clorogênico, ácido *o*-cumárico, ácido elárgico, ácido ferúlico, ácido gálico) [17], saponinas, antocianinas, carotenoides, β -sitosterol, nicotina, ácido fólico, piridoxina e aminoácidos (metionina, cisteína, triptofano, lisina, histidina, valina, leucina, isoleucina, treonina, alanina, ácido aspártico, serina, prolina, ácido glutâmico, glicina, arginina e tirosinafenilalanina) [10,15,19,21-23], além de heterosídeos cardioativos, açúcar redutores (frutose, glucose, sucrose) e cumarina [4,9].

As folhas (Figura 2.3b), raízes, sementes, casca, frutas, flores e vagens imaturas (Figura 2.3c) atuam como estimulantes cardíacos e circulatórios possuem

propriedades antitumorais, antipirético, antiepiléptico, anti-inflamatório, antiulceroso, antiespasmódico, diurético, anti-hipertensivo, redutor de colesterol, antioxidante, antidiabéticos, hepatoprotetores, antibacterianos e antifúngicos [46], redutor da absorção intestinal dos efeitos do colesterol dietético [4,17,27,28,50,51]. Quase todas suas partes foram usadas para várias doenças na medicina indígena do sul da Ásia, incluindo o tratamento de inflamações e doenças infecciosas com distúrbios cardiovasculares, gastrointestinais, hematológicos e hepatorreais [52].

As propriedades medicinais citadas são atribuídas à presença de compostos secundários biologicamente ativos que estão presentes em todas as partes da planta, sobretudo, nas folhas, como compostos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, esteroides, alcaloides, heterosídeos cardioativos, açúcares redutores, carotenoides, antocianinas, vitamina, ácidos orgânicos, hidrocarbonetos, minerais, entre outros fitocompostos que são citados em diversas pesquisas [9,12,17,18,53].

Muitas dessas pesquisas apresentam esses compostos em quantidades diferentes, mesmo sendo realizadas em plantas da mesma região. A presença, ausência e variação da quantidade desses compostos está diretamente relacionado às condições em que a planta se encontra, local onde é cultivada, tipo de solo, clima, incidência de raios solares, entre outros fatores [4,9,24,25], isso que torna a composição de uma planta, da mesma espécie, diferente da outra.

Fard (2015), cita que analisou os efeitos do extrato hidroetanólico das folhas da *M. oleifera* e concluiu que ela apresentou efeito anti-inflamatório inibindo a secreção e produção de óxido nítrico e marcadores inflamatórios como prostaglandina E, fator de necrose tumoral α , interleucina 6 e interleucina 1 β . Suprimiu, também, a expressão proteica de marcadores inflamatórios sintetase induzida de óxido nítrico, ciclo-oxigenase 2, fator nuclear potenciador da cadeia leve kappa de células B ativadas p65 em macrófagos induzidos por lipopolissacarídeos RAW264.7 de maneira dependente. Concluindo que as folhas da *M. oleifera* são úteis como anti-inflamatórios [54].

Estudos demonstraram que uma dieta enriquecida com ácidos graxos poli-insaturados n-3, provocaram efeitos anti-hipertensivos em humanos e animais experimentais. Demonstraram, também, que os níveis plasmáticos de triglicerídeos, LDL, colesterol total e níveis plasmáticos de glicose foram diminuídos em ratos tratados com o extrato da *M. oleifera*, mas que não tiveram seu peso corporal ou de

seus órgãos alterados pelo consumo dessa planta [55]. Isso mostra que ela apresenta propriedades anti-hipertensivas dependente da dose administrada. O estudo realizado por Attakpa *et al.* (2017), mostrou, também, que a presença desses ácidos graxos podem variar de uma planta para outra conforme sua localização em um mesmo país ou países diferentes, bem como a forma de cultivo e o estágio de desenvolvimento da planta, e isso é algo que requer muitas pesquisas quando o estudo for realizado em regiões diferentes [24,55].

Sabe-se que os compostos produzidos no metabolismo secundário não são obrigatórios em todas as plantas, isso se deve ao estresse pelo qual a planta estiver submetida podendo sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos e, com isso, produzir metabólitos como forma de se proteger das condições em que se encontra [56,57]. Tais metabólitos produzidos conferem à planta, suas propriedades farmacológicas.

Capítulo 3

METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e Reagentes

As folhas da *M. oleifera* foram coletadas de plantas adultas no Núcleo de Plantas Aromáticas e Medicinais (Nuplam) da Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Ministro Petrônio Portela, na cidade de Teresina-PI, com as seguintes coordenadas geográficas: latitude: 05° 05' 21"S e longitude: 42° 48' 07"W, no início da manhã no mês de julho de 2018. Uma exsicata da planta encontra-se depositada no Herbário Graziela Barroso da UFPI, em Teresina – PI, sob o número 31.150 e o projeto para realização desse trabalho foi cadastrado na plataforma Sisgen com o número: A7F3187.

As folhas foram lavadas e secas à sombra em temperatura ambiente (± 27 °C), por duas semanas, para total desidratação. Após esse processo, foram moídas em triturador industrial modelo JBM 30 de 2L de capacidade e separadas para preparo dos extratos etanólico e hexânico. Todos esses procedimentos para preparação dos extratos foram realizados no Núcleo de Pesquisa e Biotecnologia e Biodiversidade (NPBio) em Teresina-PI.

Para a produção do extrato etanólico foram utilizados 100g das folhas pulverizadas e diluídas em 1litro de etanol absoluto. Após 07 dias sob processo de maceração, o extrato etanólico (Figura 3.1a) foi encaminhado para o Núcleo Interinstitucional de Estudo e Geração de Novas Tecnologias (GERATEC), onde foi submetido à evaporação do solvente em evaporador rotativo FISATOM 80L, modelo 550, série 0946331, 230v, 60Hz, 1200w (Figura 3.1b), à temperatura de 45°C, até a obtenção de um concentrado verde-escuro.

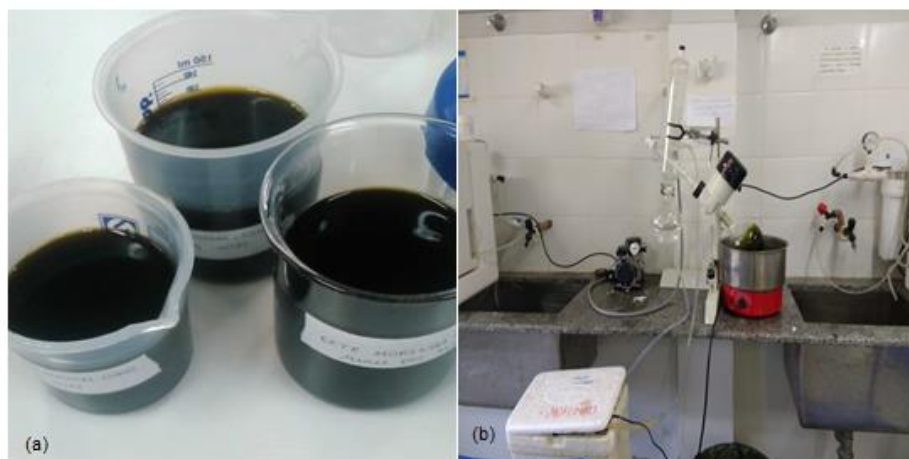


Figura 3.1: (a) Extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* (b) Extrato sendo rota-evaporado

O concentrado ainda foi submetido à liofilização, em equipamento ModulyoD Freeze Dryer da Thermo Electro Corporation com tambor coletor de 16 portas (Figura 3.2a), no Laboratório de Produtos Naturais (LPN) da UFPI, para retirada completa da umidade ainda restante e após esse processo, obtiveram-se o peso de 25,57g (~ 26 %) de extrato etanólico bruto (Figura 3.2b).



Figura 3.2: (a) Liofilizador ModulyoD Freeze Dryer, (b) Extrato etanólico após liofilização.

O extrato hexânico foi preparado, no NPBio, utilizando 100g de folhas secas pulverizadas e diluídas em 1litro de hexano. Após 07 dias sob processo de maceração o extrato (Figura 3.3a) foi encaminhado para o Geratec onde foi submetido à evaporação do solvente em evaporador rotativo, FISATOM 80L, modelo 550, série 0946331, 230v, 60Hz, 1200w, à temperatura de 45°C, até a obtenção do

extrato hexânico de cor verde-escuro, com aspecto graxoso (Figura 3.3b). Obtiveram-se o peso de 3,64g (~ 3,7 %) de extrato hexânico.

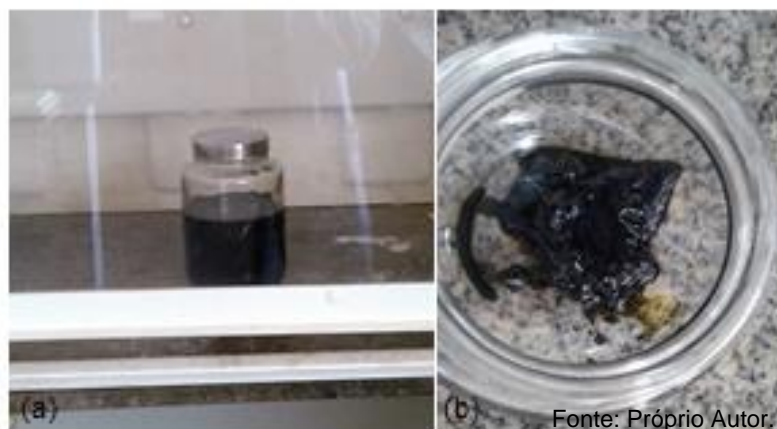


Figura 3.3: (a) Extrato hexânico antes da liofilização. (b) Extrato hexânico após liofilização.

3.2 Análise preliminar fitoquímica das folhas da *M. oleifera*

A prospecção fitoquímica preliminar foi realizada conforme Matos (1997), e os resultados obtidos baseiam-se nas reações qualitativas de precipitação e mudança de coloração, além das propriedades físico-químicas dos constituintes químicos que compõem a planta. Para determinação das classes de compostos fitoquímicos presentes foram realizadas as seguintes reações/testes.

3.2.1 Operações Preliminares

Inicialmente, separaram-se dez tubos de 2 mL de cada extrato previamente diluídos em hexano (cinco tubos) e etanol (cinco tubos) e numerados. Posteriormente, submeteu-se o conteúdo dos tubos de ensaios para os testes a seguir.

3.2.2 Teste para Taninos

Em tubos de ensaio contendo 2 mL de cada extrato, adicionou-se três gotas de solução alcoólica de FeCl_3 a 5% (5 g de Ácido Férrico em 100 mL de água) agitou-se a fortemente e observou-se se houve qualquer variação de cor, onde foi realizado um teste em branco ($\text{H}_2\text{O} + \text{FeCl}_3$) para comparação dos resultados.

- Precipitado de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis (Figura 3.4a), e verde, a presença de taninos condensados (Figura 3.4b).

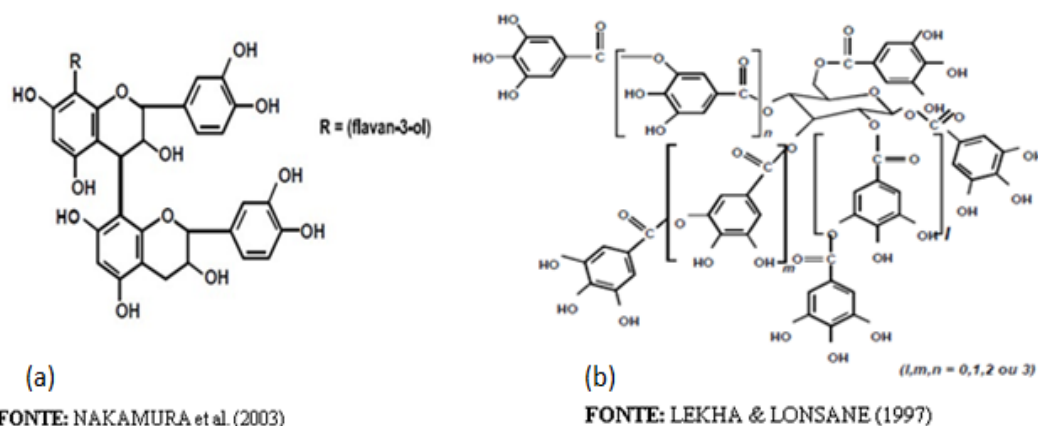


Figura 3.4: (a) Tanino condensado, (b) Tanino hidrolisável

3.2.3 Teste para Flavonoides

Em 2 mL dos extratos contidos em cada tubo de ensaio, adicionaram-se alguns centigramas de fita de magnésio e 2 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado, feito através do teste de Shinoda, o término da reação (Figura 3.5) foi indicada pelo fim da efervescência.

- Aparecimento de coloração que variou de parda a vermelha, indica a presença de flavonoides no extrato.



Figura 3.5: Reação para identificação de flavonoides.

3.2.4 Teste para Esteroides e Triterpenoides

Os testes para detecção de esteroides e triterpenoides foram feitos através da reação de Liebermann-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado). Em cada um dos tubos de ensaio contendo 2 mL de cada extrato (hexânico e etanólico), foi adicionado 3 mL de clorofórmio, com 2 mL de anidrido acético, este foi suavemente agitado e acrescentado de forma cuidadosa 3 gotas de H₂SO₄ concentrado, onde agitou-se repetidamente observando se ocorreu aparecimento de coloração.

- Coloração azul evanescente seguida de verde indica a presença de esteroides/triterpenoides (Figura 3.6), respectivamente.

- Coloração parda até a vermelha indica triterpenoides pentacíclicos livres.

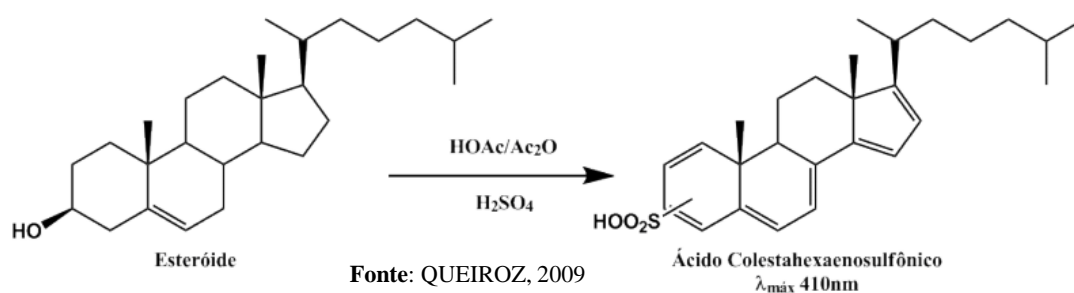
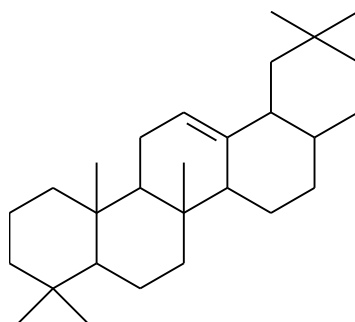


Figura 3.6: Equação para reação de identificação de esteroides e triterpenoides pela reação de Liebermann-Burchard.

3.2.5 Teste para Saponinas

Em 2 mL dos extratos, adicionaram-se 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada, filtrando-se logo após para outros tubos de ensaio. Posteriormente, a solução foi agitada permanentemente por 3 minutos até obtenção do resultado após reação.

-Espuma persistente e abundante (colarinho) indica a presença de saponinas (Figura 3.7).



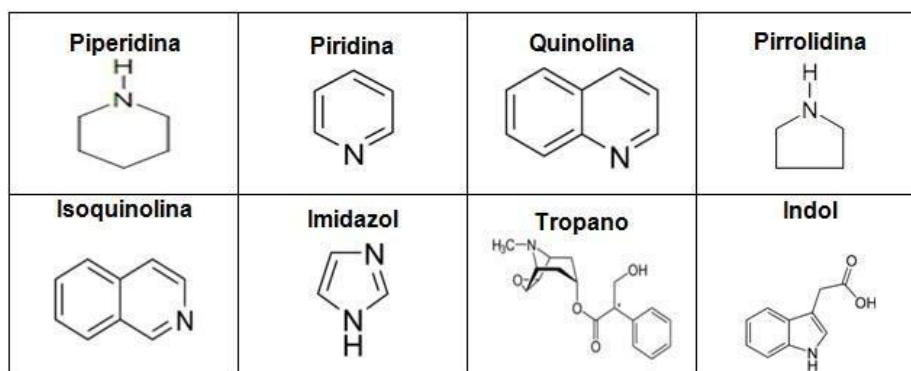
Fonte: CASTEJON, 2011

Figura 3.7: Saponina do tipo oleano (β -amirina).

3.2.6 Teste para Alcaloides

Em 2 mL de cada extrato, foram alcalinizados com quinze gotas de hidróxido de sódio a 1% (ou NH_4OH até pH 11), acrescentaram-se 2 mL de água e adicionaram-se 2 mL de clorofórmio. Foi desprezada a fração aquosa e acrescentada na fração clorofórmica quinze gotas de ácido clorídrico a 1%, em seguida foi extraída com 2 mL de água. A fração clorofórmica foi desprezada e os testes foram realizados com a fração aquosa ácida, onde se acrescentaram três gotas do reagente de Mayer (Cloreto de mercúrio + Iodeto de potássio) para a verificação da presença de alcaloides.

-A formação de precipitados insolúveis e floculoso confirmam a presença de alcaloides (exemplos Figura 3.8).



Fonte: HENRIQUES et al., 2000.

Figura 3.8: Estruturas de alguns alcaloides.

3.3 Análise por CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera*

As análises dos extratos etanólico e hexânico foram realizadas em um cromatógrafo a gás, acoplado a espectrômetro de massas *Shimadzu*, modelo GC/MS-GCMS-QP2010CN Ultra, equipado com injetor *split/splitless* (250°C), coluna cromatográfica capilar do tipo DB-1 (*Agilent Technologies*, Palo Alto, EUA), com fase estacionária composta de 100% dimetilpolissiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10 μm de espessura de filme. A programação de temperatura iniciou a 50°C onde permaneceu por 5 minutos, sendo elevada em seguida para 250°C com taxa de crescimento de 5°C/min, onde permaneceu por 35 minutos. A temperatura da câmara de ionização e da interface entre CG/EM foram 200°C e 250°C, respectivamente. Gás hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1,69 mL/min (100 kPa) e utilizado o modo *splitless*. Para a injeção, foi preparada uma solução de 1mg/L de cada extrato no seu respectivo solvente de extração, ou seja, em etanol e hexano grau HPLC. Posteriormente 1 μL dessa solução foi injetado no cromatógrafo. O espectrômetro de massas operou a 70 eV no modo SCAN (*Full Scan*). A quantificação dos compostos foi realizada por normalização de área.

3.4 Análise por CLAE dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera*

As análises por CLAE foram realizadas em cromatógrafo analítico, marca *Shimadzu* modelo LC-20 AT. Controlador CBM-20A, detector UV-Vis SPD-20 A, forno CTO-20A, auto injetor SIL-20A HT, *desgaseificador* DGU-20A 5R, coluna de

fase reversa (C₁₈) (Shim-pack VP-ODS, 4.6 mm x 150 mm, 4.6 μm). A solução aquosa dos extratos e as soluções padrões de ácido gálico (38), catecol (39), catequina (40), ácido clorogênico (41), ácido caféico (42), vanilina (43), seringaldeído (44), ácido cumárico (45), cumarina (46), rutina (47), miricitina (48) e quercetina (49) foram filtrados em cartucho de extração em fase sólida *chromabond*[®] C18-ec da *Macherey-nagel* e disco de filtro de 0,45 μm. As amostras foram filtradas em membrana filtrante *Chromafil*[®] Xtra PTFE- 20/25 de 25 mm e poro de 0,20 μm. A eluição foi realizada com uma solução de ácido acético a 0,1% em água (Solvente A) e metanol (Solvente B). As amostras e os padrões foram eluídos de acordo com o gradiente de variações do solvente B: de 0 a 5 min (7-11%); 5 a 10 min (11-16%); 10 a 15 min (16-25%); 15 a 30 min (25%); 30 a 34 min (25-38%); 34 a 38 min (38-50%); 42 a 46 min (60-65%); 46 a 50 min (65-70%); 54 a 58 min (75-85%); 58 a 62 min (85-25%); 62 a 63 min (25-7%); 63 a 80 min (7%), fluxo de 0,6 mL/min, volume de injeção de 20 μL para cada mg/L de padrões e amostras e temperatura do forno da coluna de 35°C. Os cromatogramas foram monitorados a 290 nm. A identificação de compostos no extrato foi realizada por comparação do tempo de retenção (t_R) com aqueles obtidos injetando padrões preparados sob as mesmas condições. Para quantificação foi construída uma curva analítica (10 pontos) a partir de uma solução contendo uma mistura de todos os padrões (Mix). Para isso, foram preparadas soluções com concentrações que variaram de 1 a 10 ppm (1 a 10mg/L) em solução água:etanol (70:30 v/v) e que foram analisadas todas em triplicata.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise fitoquímica preliminar dos extratos das folhas da *M. oleifera*

Na bioprospecção preliminar fitoquímica realizada nos extratos hexânico e etanólico das folhas da *M. oleifera*, pode-se constatar, possivelmente, os seguintes grupos de metabólitos: taninos condensados, flavonoides, esteroides livres, triterpenoides pentacíclicos livres, como mostra a Quadro 4.1.

Grupos de Metabólitos	Resultados dos extratos	
	Hexânico	Etanólico
Taninos hidrolisáveis	-	-
Taninos condensados	+	+
Fenóis	-	-
Flavonoides	+	+
Esteroides	+	+
Triterpenoides	+	+
Saponinas	-	-
Alcaloides	-	-

+ presente – ausente/traços pouco significativos

Quadro 4.1: Registro da identificação na prospecção preliminar dos metabólitos secundários nos extratos hexânico e etanólico das folhas da *M. oleifera*.

Observaram-se, pelos testes realizados, que os extratos hexânico e etanólico, apresentaram os mesmos possíveis metabólitos secundários em comum. A presença desses compostos é corroborada por estudos feitos por Santos A. *et al.* (2012) e Mahdi *et al.* (2017)[28,58]. Já Coppin *et al.* (2013), estudando o extrato

metanólico das folhas da *M. oleifera* coletadas em Gana, Zâmbia e Senegal - África, encontraram 12 tipos de flavonoides, justificando, em sua pesquisa, a atividade anti-inflamatória e antioxidante que essa planta apresenta [26]. Leoni *et al.* (2015), publicaram, em um estudo de revisão, que quase todos os compostos fitoquímicos se encontram nas folhas da *M. oleifera* tais como: vitaminas, carotenoides, polifenóis, ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides, glucosinolatos, isotiocianatos, taninos, saponinas, oxalatos e ftalatos [17]. Destes, apenas dois corroboram com esta pesquisa, os taninos e os flavonoides.

Um estudo com extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* realizado por Saraiva *et al.* (2018), apresentou somente taninos e flavonoides coincidentes [59]. Os demais compostos fitoquímicos estavam, possivelmente, ausentes ou apresentavam traços pouco significativos. Enquanto a pesquisa citada revelou a presença de alcaloides no extrato etanólico das folhas, a nossa pesquisa mostrou possível ausência desse grupo de metabólitos [59]. Isso se deve, provavelmente, às variações ambientais, pois estas influenciam diretamente na produção de metabólitos secundários, como por exemplo, a quantidade dos mesmos [4,25].

A variedade de compostos químicos, a ocorrência de pequenas quantidades de compostos interessantes, a grande quantidade de outros constituintes já conhecidos e de presença muito comum em determinados grupos de plantas bem como as variações que esses compostos apresentam diante de fatores ambientais, são algumas das dificuldades encontradas por pesquisadores quando tentam isolar e purificar algum composto específico [60].

Portanto, a prospecção fitoquímica é o estudo preliminar que irá detectar, por meio da aplicação de algumas técnicas, a presença de metabólitos secundários em determinada planta e caracterizá-los minimizando algumas dificuldades que o pesquisador possa encontrar ao tentar isolar compostos bioativos em partes de plantas. No entanto, essa técnica é um estudo básico, simples e de baixo custo que se baseia em reações qualitativas de precipitação e mudança de coloração conforme os grupos químicos presentes na planta [60], que se mostrou importante para orientar as etapas seguintes que foram realizadas na pesquisa para obtenção dos resultados que se buscava.

4.2 Análise por CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera*

A análise por CG-EM realizada nos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera*, revelou a presença de vinte e vinte e três compostos fitoquímicos, respectivamente.

Para o extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*, foram encontrados: oito compostos da classe dos álcoois, um cetona, um haleto organoclorado, um peróxido, um éter e oito hidrocarbonetos (Tabela 4.1). Enquanto que, no extrato hexânico das folhas, encontraram-se oito álcoois, dois cetonas, três ésteres, um aldeído, um haleto orgânico (clorado), dois peróxidos, um composto com função indefinida, dois éteres e três hidrocarbonetos (Tabela 4.2). Destes, apenas nove metabólitos são comuns aos dois extratos (Tabela 4.3).

Na Tabela 4.1, é possível visualizar, além de informações como o tempo de retenção de cada um dos compostos identificados, somente no extrato etanólico, na análise por CG-EM das folhas da *M. oleifera*, outras informações como fórmula e massa molecular, bem como o percentual relativo de área apresentado por cada metabólito.

Tabela 4.1: Compostos identificados na análise por CG-EM, somente no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* com seus respectivos: tempos de retenção, fórmulas e massas moleculares e percentuais relativos de áreas.

Nº	T _R (min)	Compostos	Fórmula molecular	Massa molecular (u)	Percentual relativo de área (%)
01	3,675	4,4-dimetil-3-hexenol	C ₈ H ₁₈ O	130	6,90
02	5,290	3,4-dimetil-2-penteno	C ₇ H ₁₄	98	6,87
03	5,632	5- (1-metiletilideno) 1,3-ciclopentadieno	C ₈ H ₁₁	106	9,82
04	6,210	2,5-Ciclooctadien-1-ol	C ₈ H ₁₂ O	124	1,08
05	6,788	1,5-dimetil-7-Oxabiciclo [4.1.0] heptano	C ₈ H ₁₄ O	126	1,87
06	7,734	2,2-dimetil-1-pentanol	C ₇ H ₁₁ O	116	6,54
07	8,665	Não Determinado	-	118	3,72
08	8,912	3,4-dimetil-2-Hexanol	C ₈ H ₁₈ O	130	1,28
09	10,426	4-metil-2,3-hexadien-1-ol	C ₇ H ₁₂ O	112	1,85
10	10,854	Tridecano	C ₁₃ H ₂₈	184	0,32
11	14,327	2,4-dimetil-1-decano	C ₁₂ H ₂₄	168	0,38
12	14,948	4,5-dietil-octano	C ₁₂ H ₂₆	170	0,34
Percentual de compostos identificados:			95,24%		

Alguns compostos apresentaram percentuais de áreas mais significativas e outros menos. No caso do extrato etanólico, os compostos: 1-cloro-3,4-dimetil-1-fenil-2,5-di-hidro-1H-germole (**7**), 2-etil 2-hexen-1-ol (**12**), e o, 4-aliloxi-2-metil pentan-2-ol (**9**) apareceram com um maior percentual relativo de área, sendo de 13,77%, 11,99% e 10,58%, respectivamente. Em menor quantidade estão os compostos: 3-benziloxi-1,2-diacetil-1,2-propanediol (**21**) com 0,15%, e tridecano (**17**) com 0,32% e o 4,5-dietiloctano (**20**) com 0,34%.

No extrato hexânico, os compostos presentes em maiores percentuais foram: o 3-heptafluorobutiroxipentadecano (**23**); o 2-etenil-biciclo [2.1.1] hexan-2-ol (**27**) e o 2-etil-2-hexen-1-ol (**33**), apareceram nas seguintes porcentagens na amostra analisada: 20,97%, 11,63% e 10,99%, respectivamente. Já os compostos que se mostraram em menor percentual foram: o 2-octil-1-decanol (**42**), e (E,E,Z)-1,3,12-nonadecatrieno-5,14-diol (**43**), com 0,07% cada; o (Z)-7-hexadecenal (**45**) com 0,10% e o 3-benziloxi-1,2-diacetil-1,2-propanodiol (**46**), com 0,16%, como representado no Tabela 4.2.

A cromato-espectroscopia da *M. oleifera* cultivada em Teresina-PI mostra uma diferença entre os compostos encontrados no extrato etanólico da planta cultivada nessa região e a planta cultivada no Rajastão-In [12], apresentada por Vats e Gupta (2017) como pode ser visto no cromatograma (Figura 4.1) do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*.

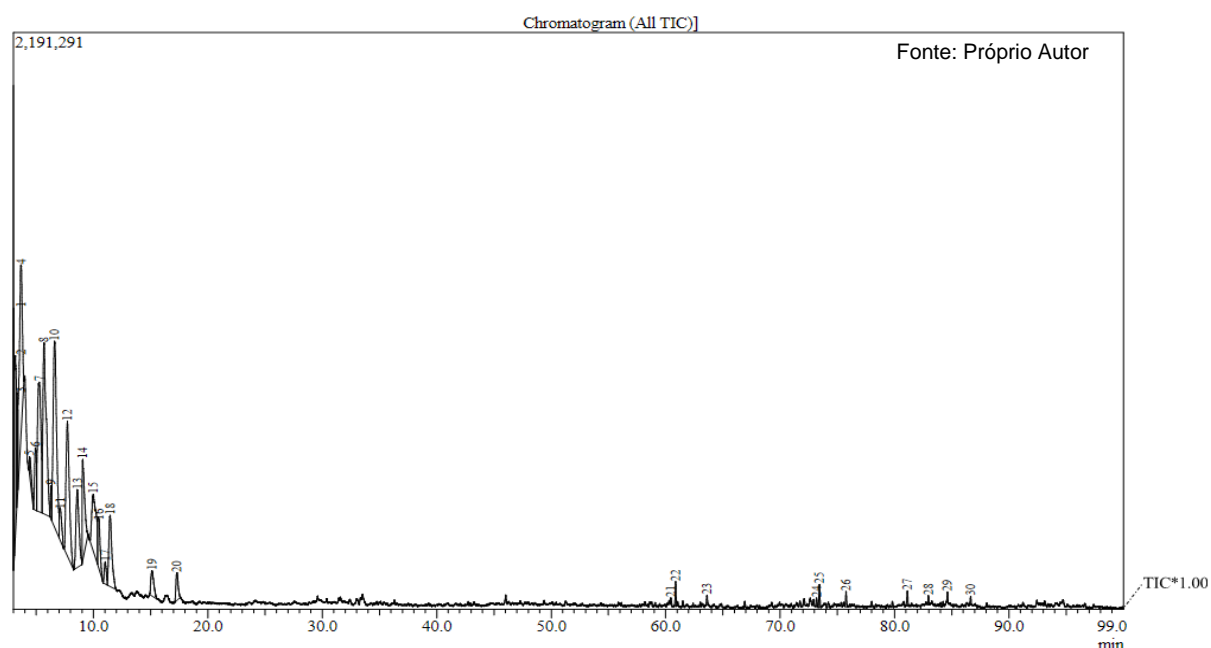
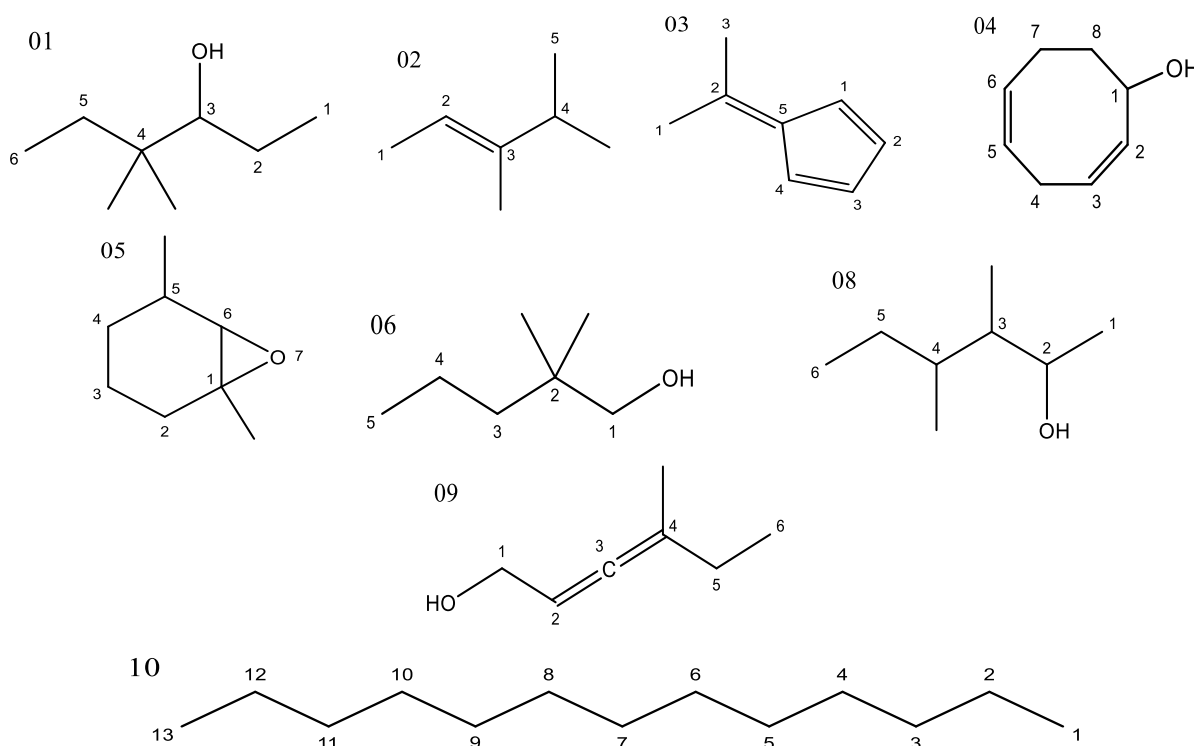
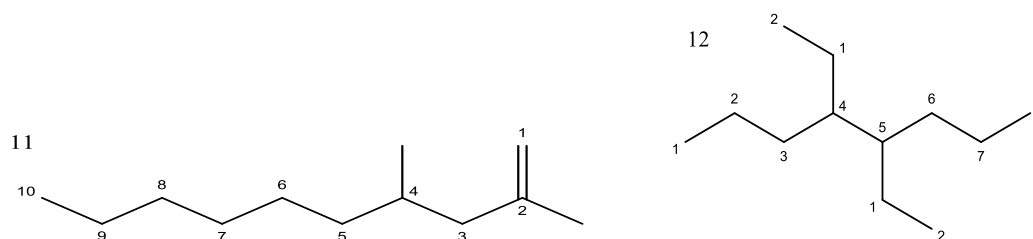


Figura 4.1: Cromatograma do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*.

Observa-se que os primeiros vinte compostos identificados no cromatograma do extrato etanólico se encontram nos primeiros 18 minutos e que há um intervalo até o próximo composto identificado por volta dos 60 minutos com um intervalo de aproximadamente 42 minutos, intervalo significativo sem identificar compostos, diferindo dos dados fornecidos por Vats e Gupta (2017), quando os 36 compostos identificados em seus estudos ocorreram entre os tempos de retenção de 4.319 e 38.344 [12], e dos resultados da CG-EM do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* analisado por Soltan *et al.* (2019) onde todos os 23 compostos foram identificados no intervalo de Tr entre 2.03 e 46.101min. [62], o que confirma a diferença na composição de metabólitos presentes no extrato analisado por Soltan *et al.* (2019) e no extrato analisado nessa pesquisa.

As fórmulas estruturais dos compostos presentes em ambos os extratos foram montadas utilizando o software ChemDraw 18.0 versão freeware, específico para esse tipo de atividade. Na Figura 4.2 é possível visualizar a estrutura de cada composto identificado no CG-EM do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*.





Fonte: Próprio Autor (ChemDraw).

Figura 4.2: Fórmulas estruturais dos compostos identificados por CG-EM somente no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*.

A seguir, tem-se a Tabela 4.2 onde se encontram relacionados os compostos identificados, somente, no extrato hexânico por análise CG-EM, com seus respectivos tempos de retenção (T_R), fórmula molecular, entre outras informações físicas de cada composto, bem como o cromatograma onde estes compostos foram identificados (Figura. 4.3).

Tabela 4.2: Compostos identificados na análise por CG-EM somente no extrato hexânico das folhas da *M. oleifera* com seus respectivos: tempos de retenção, fórmulas e massas moleculares e percentuais relativos de áreas.

Nº	T_R (min)	Compostos	Fórmula Molecular	Massa Molecular (u)	Percentual Relativo de área (%)
13	3,676	3-heptafluorobutiroxipentadecano	$C_{19}H_{31}F_7O_2$	424	20,97
14	4,476	1,1,2,3-tetrametilciclopropano	C_7H_{14}	98	2,36
15	4,949	2,5-dimetilfurano	$C_6H_{10}O$	98	2,13
16	5,264	2-metil-5-octin-4-ol	$C_9H_{16}O$	140	4,44
17	6,788	Não Determinado	-	98	1,56
18	7,734	2,5-dimetil-4-hidroxi-3-hexanona	$C_8H_{16}O_2$	144	5,07
19	8,933	1-metilpentil-hidroperóxido	$C_6H_{14}O_2$	118	1,14
20	10,041	Nao Determinado	-	118	0,98
21	10,435	2,2-dimetil-3,4-pentadien-1-ol	$C_7H_{12}O$	112	2,29
22	10,861	3-metil-4-heptanona	$C_8H_{16}O$	128	0,55
23	36,590	Éster etílico do ácido hexadecanoico	$C_{18}H_{36}O_2$	284	0,97
24	38,902	Fitol	$C_{20}H_{40}O$	296	0,55
25	39,351	2-octil-1-decanol	$C_{18}H_{38}O$	270	0,07
26	39,662	E,E,Z-1,3,12-nonadecatrieno-5,14-diol	$C_{19}H_{34}O_2$	294	0,07
27	39,738	Éster etílico do ácido 9,12,15-octadecatrienoico (Z,Z,Z)	$C_{20}H_{34}O_2$	306	0,56
28	39,838	(Z)-7-hexadecenal	$C_{16}H_{30}O$	238	0,10
Percentual de compostos identificados:			92%		

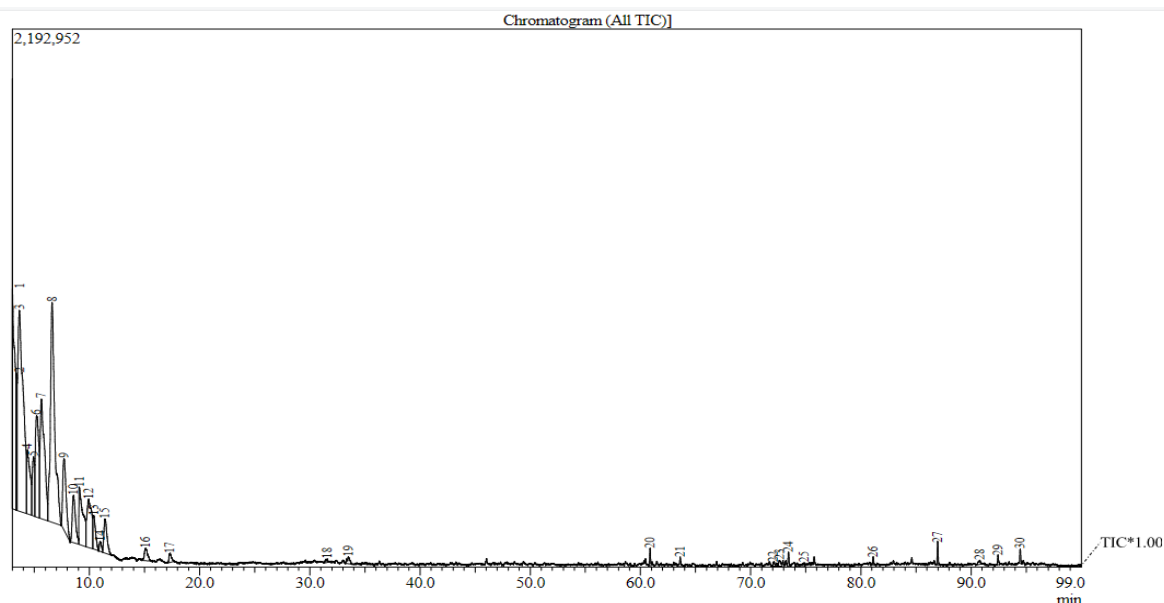
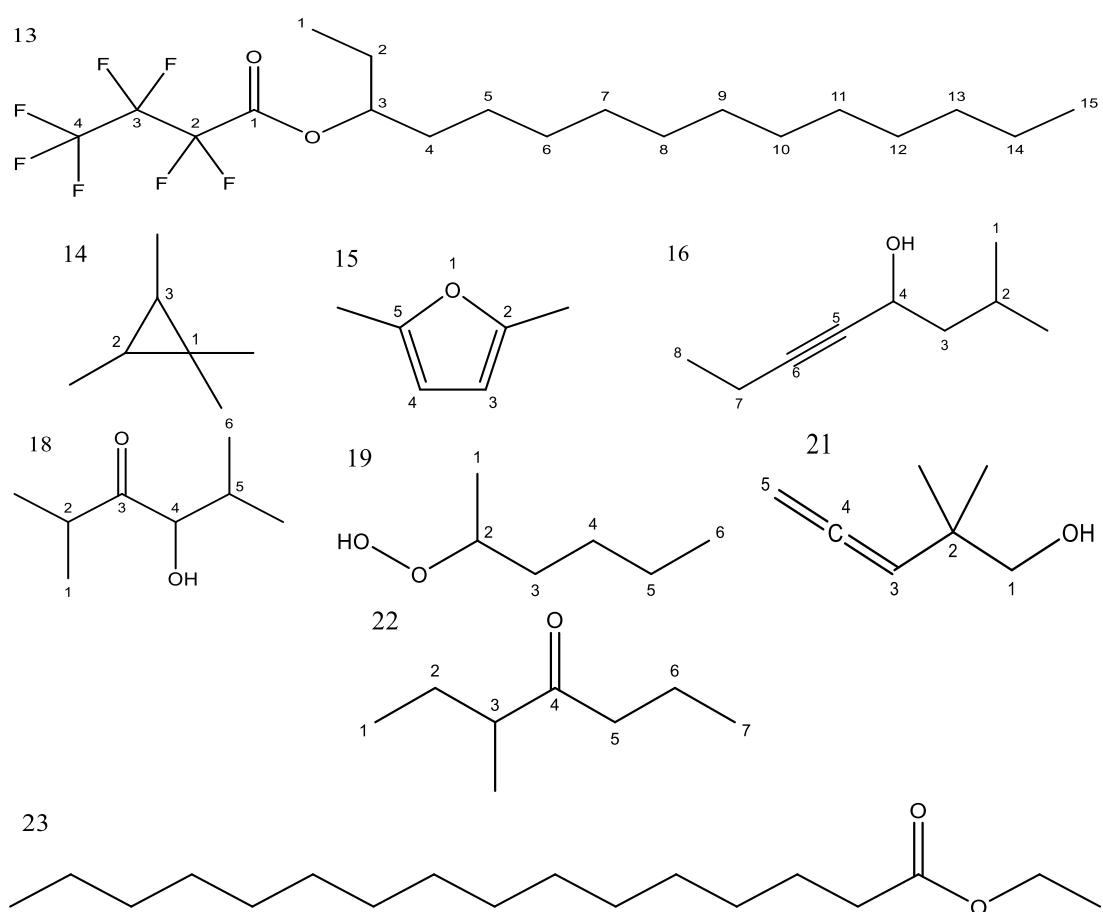
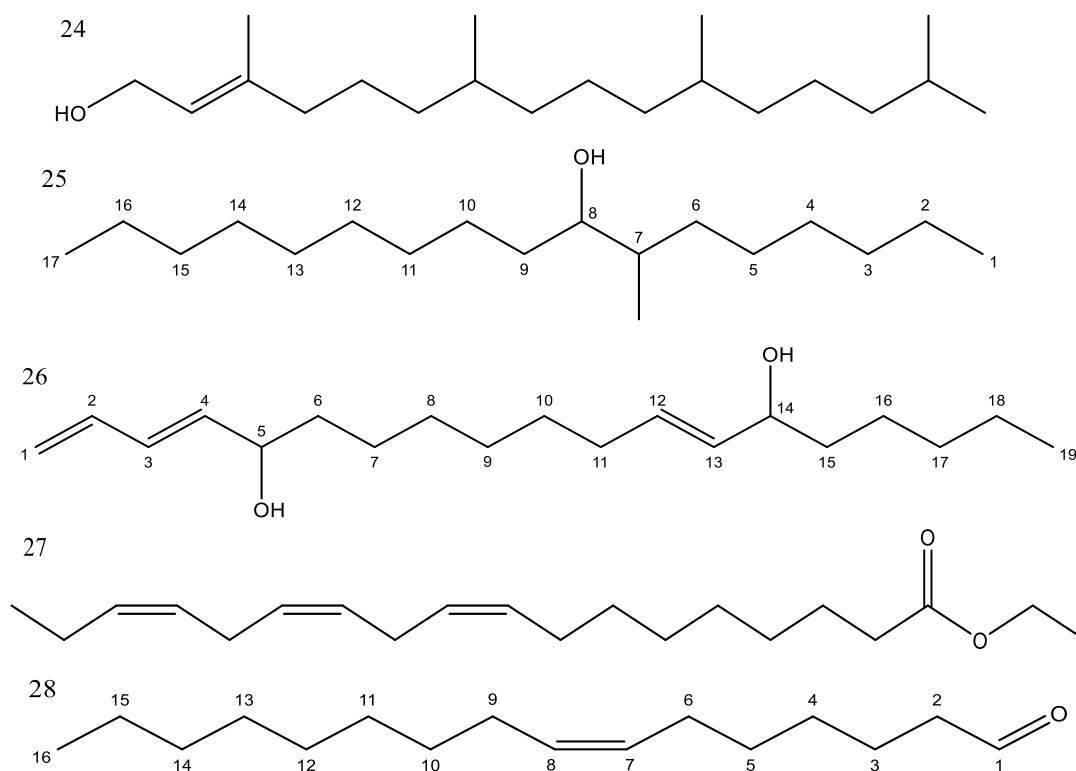


Figura 4.3: Cromatograma GC-MS do extrato hexânico das folhas da *M. oleífera*.

Na Figura 4.4 é possível visualizar a fórmula estrutural de cada composto identificado somente na análise por CG-EM do extrato hexânico das folhas da *M. oleífera*.





Fonte: Próprio Autor (ChemDraw).

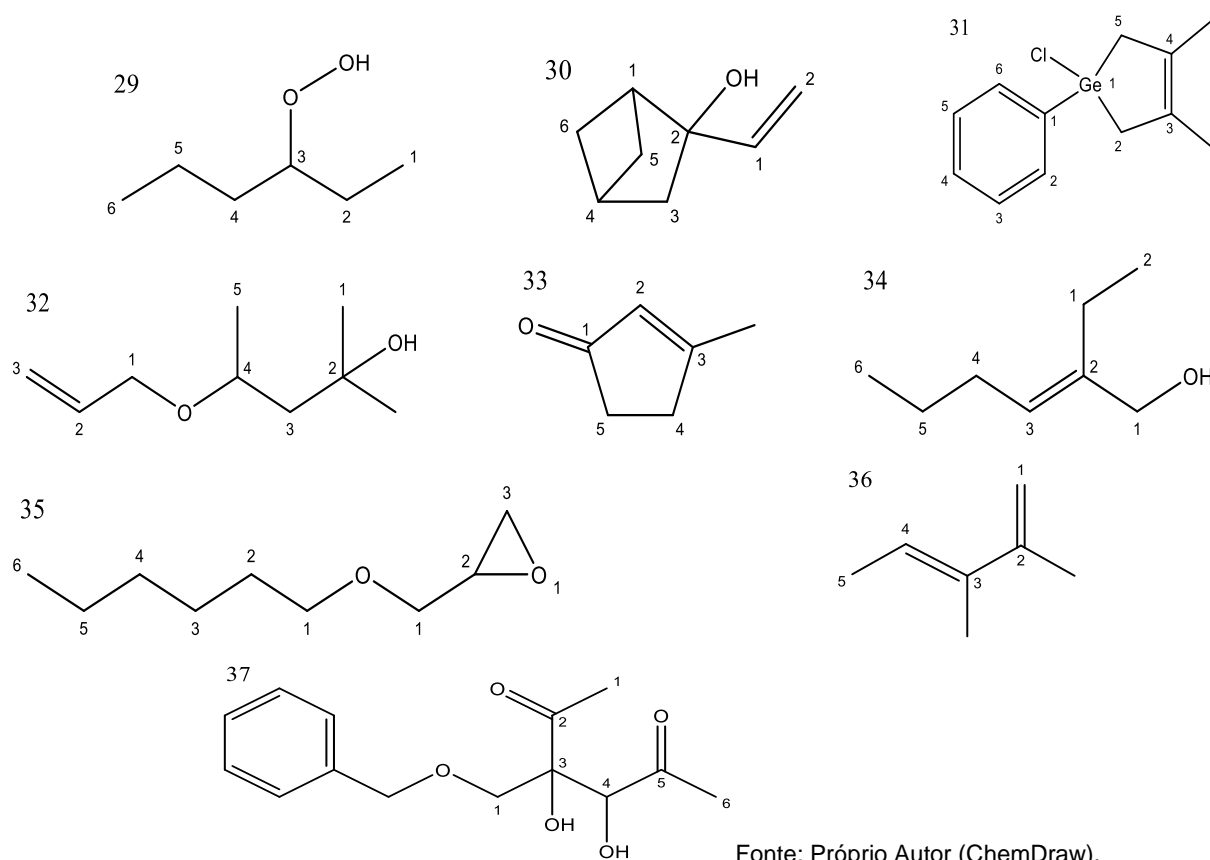
Figura 4.4: Fórmulas estruturais dos compostos identificados na análise por CG-EM somente no extrato hexânico das folhas da *M. oleifera*.

Os compostos identificados em ambos os extratos, estão listados na Tabela 4.3, a seguir e suas respectivas fórmulas se encontram na Figura 4.5.

Tabela 4.3: Compostos orgânicos identificados em comum em ambos os extratos.

Nº T _R (min)	Compostos	Fórmula molecular	Massa molecular (u)	Percentual relativo de área (%)
29 3,032	1-etilbutil-hidroperóxido	C ₆ H ₁₄ O ₂	118	2,82
30 5,865	2-etenil-biciclo[2.1.1]hexan-2-ol	C ₈ H ₁₂ O	124	4,51
31 6,409	1-Cloro-3,4-dimetil-1-fenil-2,5-di-hidro-1H-germole	C ₁₂ H ₁₅ ClGe	268	13,77
32 7,203	4-aliloxi-2-metil-pentan-2-ol	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	10,58
33 8,076	3-metil-2-ciclopenten-1-ona	C ₆ H ₈ O	96	9,29
34 8,457	2-etil-2-hexen-1-ol	C ₈ H ₁₆ O	128	11,99
35 9,145	[(hexiloxi)metil]-oxirano	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	4,58
36 11,046	2,3-dimetil-1,3-Pentadieno	C ₇ H ₁₂	96	1,34
37 44,172	3-benziloxi-1,2-diacetil-1,2-Propanodiol	C ₁₄ H ₁₈ O ₅	266	0,15

Os compostos **(01)**, **(02)**, **(06)**, **(11)** e **(12)**, identificados no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*, conforme Tabela 4.1, os compostos **(14)**, **(16)**, **(19)**, **(21)**, **(22)** e **(25)**, identificados no extrato hexânico das folhas da *M. oleifera*, conforme Tabela 4.2, e os compostos **(31)**, **(35)**, **(36)** e **(37)**, identificados tanto no extrato etanólico quanto no extrato hexânico e enumerado na Tabela 4.3, foram relatados pela primeira vez nos extratos das folhas da *M. oleifera*, o que sugere a necessidade de maiores estudos em torno desses compostos para qualificá-los e determinar suas bioatividades.



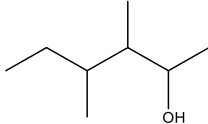
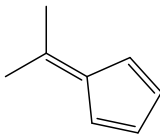

Fonte: Próprio Autor (ChemDraw).

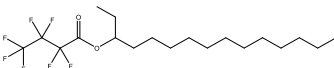
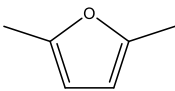
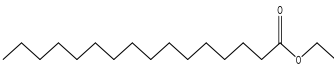
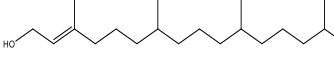
Figura 4.5: Fórmulas estruturais dos compostos identificados por CG-EM tanto no extrato etanólico quanto no extrato hexânico das folhas da *M. oleifera*.

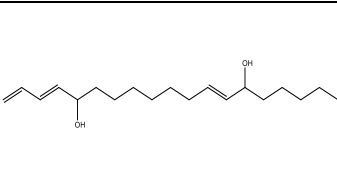
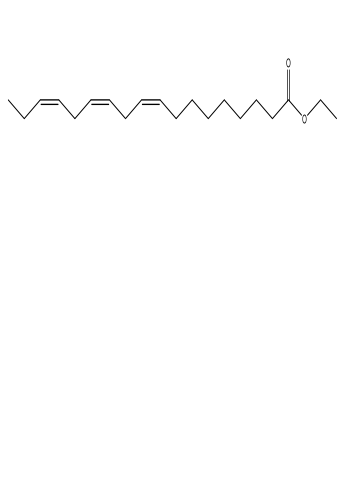
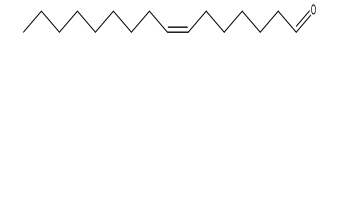
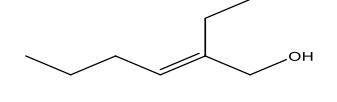
Já os compostos fitoquímicos: o 1-etilbutil-hidroperóxido **(29)** encontrado no extrato bruto das folhas da espécie *Moringa peregrina* e no óleo das partes aéreas da *Hyptis verticillata* [63,64], o 2-etenil-biciclo[2.1.1]-hexan-2-ol**(30)** presente na *Thuja koraiensis* [65], o 2,5-Ciclooctadien-1-ol**(04)** presente no óleo da fruta da *Forsythia suspense* [66], o 1,5-dimetil-7-oxabicyclo[4.1.0]-heptano **(05)** identificado no óleo essencial tanto da *Rhizophora mucronata* quanto da *Cytisus triflorus* L.'Her [67,68], o 4-aliloxi-2-metil-pentan-2-ol**(32)** encontrado no extrato hexânico das folhas da *Azima tetraacantha* e no óleo do eucalipto [69], o 3-metil-2-ciclopenten-1-ona**(33)**

identificado na fumaça do cigarro [70], 3-benziloxi-1,2-diacetil-1,2-propanodiol (**37**) mostrou-se presente no extrato etanólico das folhas da *Asclepia curassavica* L. [71], presentes, nos quadros 1, 2 e 3, como referenciados, foram identificados em plantas de outras espécies, mas não foi relatada a atividade biológica específica destes. Sendo citada a bioatividade da *M. oleifera*, mas não dos compostos isoladamente.

Percebe-se, com isso, que a espécie estudada, apresenta uma variedade de compostos fitoquímicos que não foram identificados, ainda, nas folhas da *M. oleifera*. No entanto, os demais compostos fitoquímicos, apresentados no Quadro 4.3, estão presentes tanto na *M. oleifera* como em outras plantas, e todas possuem atividade biológica já descrita na literatura.

Nº	Compostos	Fórmula estrutural	Grupo fitoquímico	Atividade Biológica
02	3,4-dimetil-2-hexanol		Álcool	Uso relacionado a distúrbios dermatológicos, distúrbios dos sentidos, antineoplásico, limpar os cabelos, preparação para tratamento de dente, cavidade bucal, cuidar da pele contra raios solares [73].
03	5-(1-metiletilideno)-1,3-Ciclopentadieno		Hidrocarbureto	Artrite e reumatismo, aumento da potência excretora da bexiga urinária, tratamento de infecções virais e câncer, modulando os níveis de ácido úrico, agonista para o tratamento de dislipidemia, hipercolesterolemia, diabetes, doenças cardiovasculares, ensaios biológicos [75].
10	Tridecano		Hidrocarbureto	Antimicrobiana, aumenta a quantidade total de colágeno dos fibroblastos da pele, promove a regeneração da pele, melhora as

				rugas, exibe efeitos antioxidantes, eliminando os radicais livres e inibe a produção de óxido nítrico (NO). Mostra efeito anti-inflamatório [12,74].
13	3-Heptafluorobutiroxipentadecano		Éster	Em associação com outros compostos voláteis atua como biomarcador em doenças respiratórias [42,76].
15	2,5-dimetilfurano		Furano	Atividade biológica negativa (pode causar irritação na pele, olhos e mucosas, conjuntivite, dano da córnea, náusea, vômito, dor abdominal, dor de cabeça, tontura, cianose, dermatite, colapso, dificuldade respiratória, convulsões, formação de bolhas e ulceração da pele, gangrena, eritema, vertigem, temperatura corporal reduzida, doença pulmonar crônica, danos nos rins e fígado e coma) [77].
23	Éster etílico do ácido hexadecanoico		Ácido graxo	Antioxidante, hipocolesterolêmico, nematicida, Pesticida, lubrificante, antiandrogênico, hemolítico, inibidor da 5-alfa redutase, antifúngico, flavor [12.77-82].
24	Fitol		Álcool Diterpenoi de	Esquistossomicida, anti-inflamatória, antimicrobiano, anticâncer, diurético; antifúngico, antinociceptivo, antidiabético, imunoestimulador [12,75,79-83].

26	E,E,Z-1,3,12-nonadecatrieno-5,14-diol		Álcool insaturado	Antioxidante, anti-inflamatório, antidiabético, antimicrobial [78,83,84].
27	Éster etílico do ácido 9,12,15-octadecatrienoico (Z,Z,Z)		Ácido graxo	Antitumoral, anti-hemangioma, Hipocolesterolêmico, nematocida, antiartrítico, hepatoprotetor, antiandrogênico, hipocolesterolêmico, inibidor da 5-alfa redutase, anti-histamínico, anticorpo, antifúngico, anti-asma, antieczêmico, antiacne, anticoronario [79,85-90].
28	(Z)-7-hexadecenal		Aldeído insaturado	Pesticida, feromônio sexual de insetos, antiviral, fertilizante orgânico, antimicrobial, anti-inflamatório [91,92].
34	2-etil-2-hexen-1-ol		Álcool	Antifúngico, antisséptico [72].

Quadro 4.2: Compostos identificados na CG-EM dos extratos etanólico e hexânico das folhas da *M. oleifera* com suas respectivas atividade biológica.

Verificou-se que, os extratos hexânico e etanólico das folhas da *M. oleifera*, apresentaram uma composição bem peculiar em comparação com os resultados apresentados por outras pesquisas, realizadas com essa planta, em diversas partes do mundo, inclusive em outros estados brasileiros [93-95], como mostram as Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3, dos metabólitos secundários encontrados nos extratos etanólico e hexânico. Alguns dos compostos presentes se repetem em quase todas as plantas referenciadas, não só nas folhas, mas também, em outras partes, como flores, raízes, cascas, vagens e sementes [93].

Na análise por CG-EM foi observado o aparecimento de compostos fitoquímicos ainda não citados em outros trabalhos, o que, provavelmente, significa que os extratos hexânico e etanólico da *M. oleifera*, podem apresentar composição química diferente da mesma espécie em outras regiões. A quantidade de compostos fitoquímicos também varia de uma pesquisa para outra. Apenas os compostos:

éster etílico do ácido hexadecanoico, fitol e éster etílico do ácido 9,12,15-octadecatrienoico (Z, Z, Z) [12,93,95] presentes nas folhas da *M. oleifera* estudada, aparecem citadas em outras referências, todos os demais compostos identificados ainda não foram relatados nas folhas dessa espécie.

Observou-se a presença de vinte compostos fitoquímicos no extrato etanólico e vinte e três no hexânico, destes somente nove estão presentes nos dois extratos, portanto a quantidade de compostos encontrados difere de outras pesquisas. Folowo *et al.* (2017), realizou a análise no extrato etanólico da *M. oleifera* e encontrou-se treze compostos fitoquímicos, destes apenas o éster etílico do ácido hexadecanoico (éster do ácido palmítico), o fitol e o éster etílico do ácido 9,12,15-octadecatrienoico (éster do ácido linolênico), estão presentes no extrato hexânico [96]. Dos trinta e seis compostos fitoquímicos, encontrados no CG-EM do extrato hidroetanólico das folhas da *M. oleifera* de Vats e Gupta (2017), apenas o fitol e o éster etílico do ácido hexadecanoico coincidem com nossa pesquisa [12].

Dentre os compostos fitoquímicos presentes, em ambas as análises, o éster etílico do ácido hexadecanoico e o fitol, estavam presentes nos extratos hexânico da *M. oleifera* pesquisado no Rajastão - Índia, no extrato etanólico das folhas pesquisado na Malaysia [58], e no Ceará, Brasil [93], e o fitol, nos extratos do caule e das folhas pesquisados nas Filipinas [61]; o éster etílico do ácido hexadecanoico, apresentando atividade antioxidante, e o fitol com as atividades: antioxidante, antimicrobiana, anticâncer, anti-inflamatória e diurética [12].

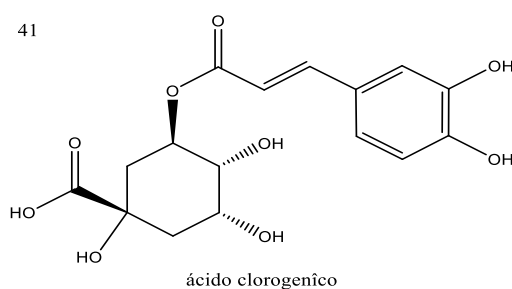
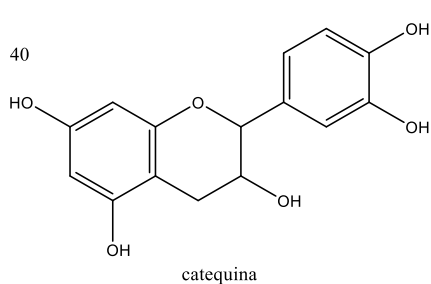
Sriram *et al.*(2018), identificaram dezessete principais fitocompostos pelo método CG-EM do extrato aquoso das folhas da *M. oleifera*, cultivadas em Kakinada – Índia [92]. Nenhum composto fitoquímico coincide com os encontrados nos extratos etanólico e hexânico da planta cultivada em Teresina-PI. No artigo publicado por Tahir *et al.*(2018), os pesquisadores encontraram um total de quarenta e seis compostos, destes, apenas o fitol coincide com nosso estudo [95].

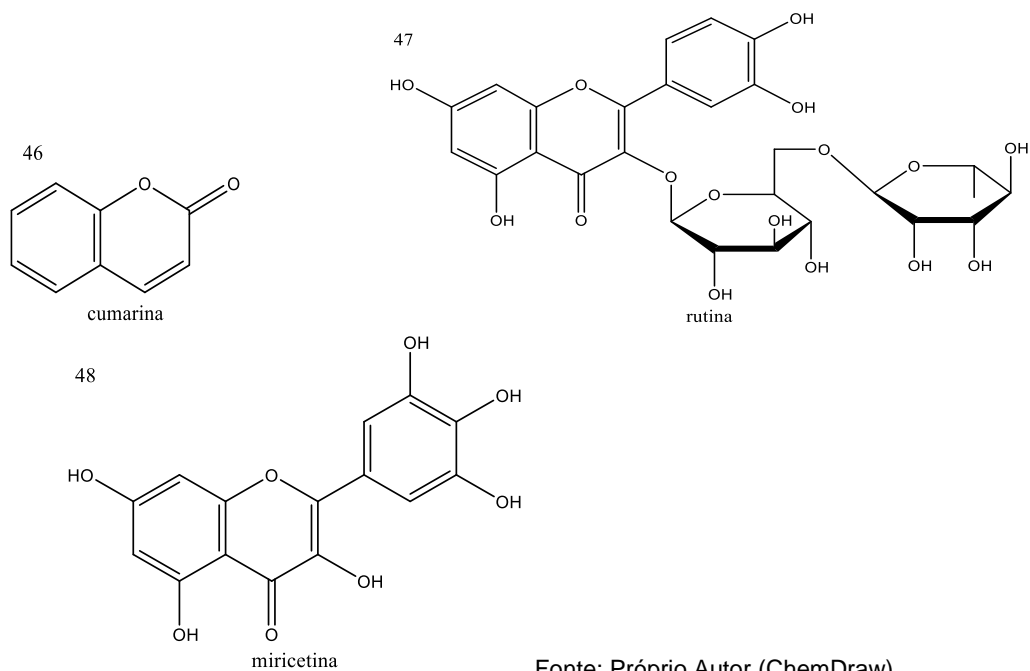
Comparando-se a análise CG-EM, publicada por Chelliah *et al.* (2017) e a análise realizada por nossa equipe, ambos os trabalhos apresentam, apenas, 02 compostos fitoquímicos em comum, o fitol e o éster etílico do ácido 9,12,15-octadecatrienoico [97]. A comparação entre os extratos etanólico da *M. oleifera* colhidas nas cidades Madurai e Chennai - Índia, revelou que, apesar de pertencer ao mesmo país os constituintes da planta variam em tipos e quantidades de um lugar

para outro, corroborando com Ziane *et al.* (2019), quando propõem que as diferenças observadas nessas análises podem ser atribuídas a algumas condições ambientais ou bióticas o que poderia tornar o consumo das folhas da *M. oleifera*, mais eficiente para algumas situações e menos para outras [4].

4.3 HPLC dos extratos hexânico e etanólico das folhas da *M. oleifera*

Na análise por CLAE, foi possível identificar a presença dos metabólitos secundários catequina (40), ácido clorogênico (41), cumarina (46), rutina (47) e miricetina (48) no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*, os quais apresentam suas fórmulas estruturais dispostas na Figura 4.6, por coinjeção dos padrões individuais entre os doze padrões comparados: ácido gálico (38), catecol (39), catequina (40), ácido clorogênico (41), ácido caféico (42), vanilina (43), seringaldeído (44), ácido cumárico (45), cumarina (46), rutina (47), miricetina (48) e quercetina (49), respectivamente (Figura 4.7) e por comparação com o cromatograma dos padrões analíticos no Mix (Figura 4.8) Já no extrato hexânico das folhas da *M. oleifera* não foi identificado nenhum dos 12 padrões relacionados anteriormente. Isso se deve, provavelmente, ao fato desses compostos não terem sido extraídos pelo hexano devido à sua baixa polaridade, bem como pela baixa seletividade da coluna cromatográfica [127].





Fonte: Próprio Autor (ChemDraw).

Figura 4.6: Fórmulas estruturais dos compostos identificados na análise CLAE do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*.

As concentrações obtidas, a partir da construção de uma curva analítica de 10 pontos do extrato etanólico *M. oleifera*, apresenta que os compostos fitoquímicos identificados foram quantificados demonstrando as seguintes concentrações: rutina (15,97 mg/g); catequina (13,98 mg/g); ácido clorogênico (7,63 mg/g); miricetina (7,10 mg/g) e cumarina (2,21 mg/g).

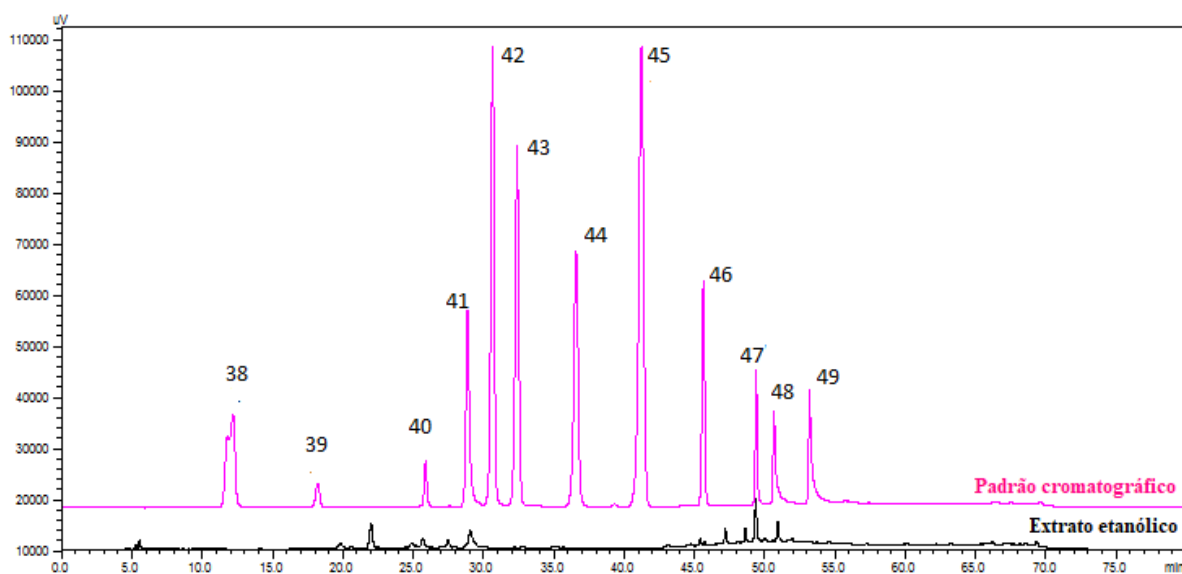


Figura 4.7: Comparação dos cromatogramas do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* em 290 nm e padrões cromatográficos: (40) catequina ($t_R = 25,658$ min), (41) ácido clorogênico ($t_R = 29,062$ min), (46) cumarina ($t_R = 45,412$ min), (47) rutina ($t_R = 49,361$ min) e (48) miricetina ($t_R = 50,932$ min).

Quando sobrepostos os picos relativos a cada padrão comparado, percebe-se que estes aparecem, também, no cromatograma da amostra pura, como visto na Figura 4.8 a seguir.

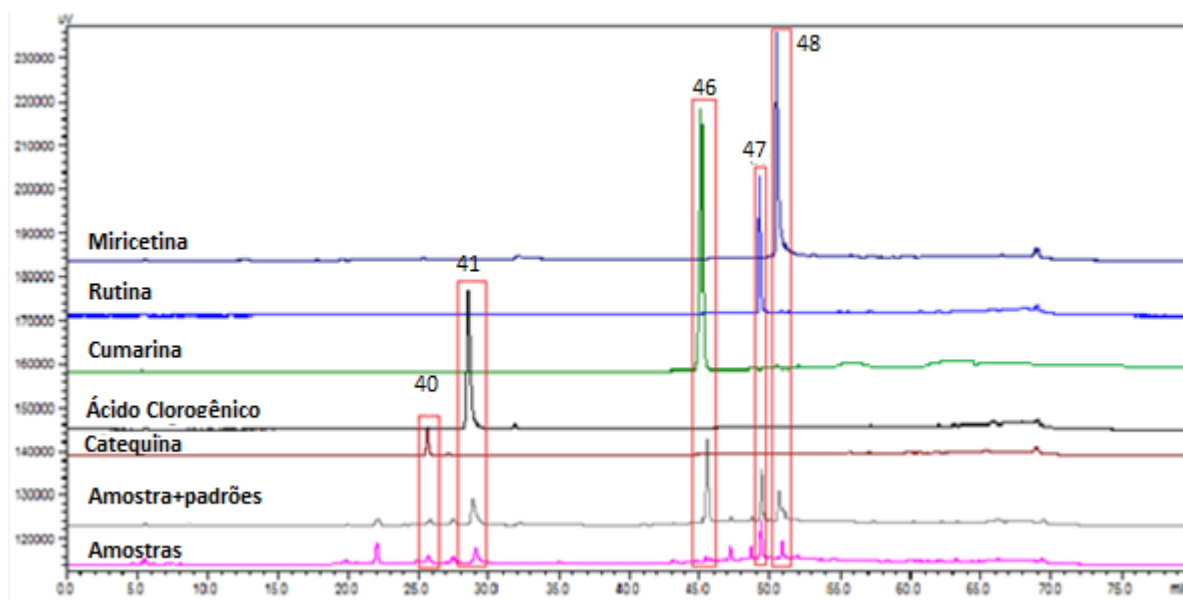


Figura 4.8: Cromatograma do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*, co-injeção do extrato com os padrões (40) catequina, (41) ácido clorogênico, (46) cumarina, (47) rutina e (48) miricetina.

Al Juhaimi *et al.* (2017), realizando um estudo comparativo entre as espécies *Sonchus oleraceus*, *Moringa peregrina* e *Moringa oleifera* verificou que a *M. oleifera* apresentou os compostos fitoquímicos catequina, rutina e ácido clorogênico, que apresentam tanto a atividade antioxidante quanto a anti-inflamatória, que foram, também, encontrados no extrato etanólico estudado [2]. Leone *et al.* (2015), também conseguiu identificar no extrato etanólico das folhas da moringa alguns flavonoides, incluindo a miricetina e a rutina, e alguns ácidos fenólicos, incluindo o ácido clorogênico, corroborando em parte com este resultado [17]. O estudo que foi semelhante a este foram os realizados por Devisetti *et al.* (2015), que encontraram ácido clorogênico, rutina, catequina e miricetina, sendo a catequina o composto majoritário da amostra seguido da rutina, contrário dos nossos estudos que apresentaram a rutina como majoritário seguido da catequina [53].

Outras pesquisas relatam a presença de vários outros compostos como kaempferol, luteína, zeaxantina, β -caroteno, ácido gálico, luteolina, apigenina, ácido etacônico, catecol, além dos encontrados no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* estudado, mas coincidentes com nossa pesquisa, ocorrem apenas os 05 compostos identificados nesta pesquisa [19,20,98].

Um número expressivo de efeitos terapêuticos de muitos medicamentos tradicionais pode ser atribuído à presença de grupos como os flavonoides e, como consequência, pesquisas sobre as propriedades farmacológicas destes compostos fitoquímicos ganharam um interesse recente [99].

Os flavonoides são compostos polifenólicos que quando consumidos tem efeito anti-inflamatório atuando contra infecções bacterianas e virais, doenças degenerativas, doenças cardiovasculares e cânceres. Atua, também, como antioxidante, anti-hemorrágico, antialérgico, doença pulmonar obstrutiva crônica [99], entre outras atividades [17]. Sabe-se que a estrutura base dos flavonoides, por apresentar hidroxilas posicionadas estrategicamente nos anéis A e B, uma carbonila e uma dupla ligação no anel C, como mostrado na Figura 4.9, favorecem o processo de captura de radicais livres, atuando, no geral, como um antioxidante e favorecendo a atividade anti-inflamatória [30].

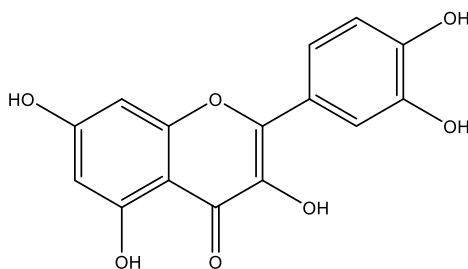


Figura 4.9: Estrutura padrão e requisitos estruturais observados para atividade anti-inflamatória de flavonoides.

Flavonoides como: a miricetina atua diminuindo a produção de NO, a expressão de iNOS, na inibição da enzima lipo-oxigenase e da fosfolipase A2; a rutina atua na inibição da enzima ciclo-oxigenase e da secreção de citocinas pró-inflamatórias (TNF α e IL-1) e apresenta mecanismos de ação potenciais muito além dos efeitos antioxidantes, como supressão da liberação de mediadores pró-inflamatórios e expressão de proteínas inflamatórias, favorecendo o processo anti-inflamatório. Embora a glicosilação da rutina reduza a atividade anti-inflamatória [30, 44].

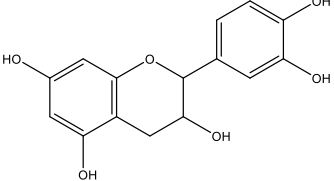
A catequina pode regular a infiltração e proliferação de células relacionadas ao sistema imunológico, como neutrófilos, células epiteliais do cólon, macrófagos e linfócitos T, ajudando a reduzir as relações inflamatórias. Além disso, podem exercer suas propriedades anti-inflamatórias significativas, regulando a ativação ou desativação das vias de sinalização celular relacionadas ao estresse oxidativo e à

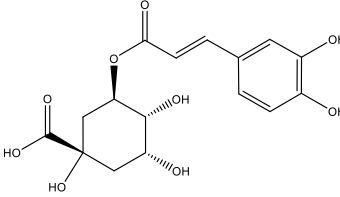
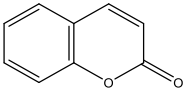
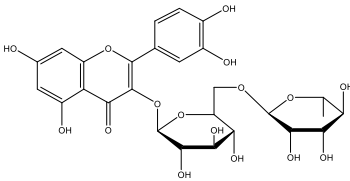
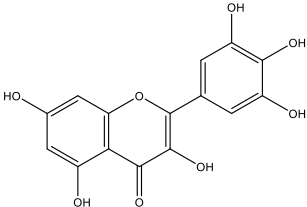
inflamação, como fator-kappa nuclear B (NF- κ B), proteínas cinases ativadas por mitogênio (MAPKs), fator de transcrição nuclear (derivado do eritroide 2) tipo 2 (Ntf2), transdutor de sinal e ativador das vias de transcrição 1/3 [100].

O ácido clorogênico é um polifenol importante e biologicamente ativo da dieta, desempenhando diversos papéis terapêuticos importantes. Por modular o metabolismo lipídico e a glicose em distúrbios metabólicos, esse composto pode ajudar a tratar muitos distúrbios no organismo. Além disso, esse ácido fenólico causa efeitos hepatoprotetores protegendo os animais de lesões químicas ou induzidas por lipopolissacarídeos [101,102].

As cumarinas, também conhecidas como benzopironas, são compostos fenólicos heterocíclicos presentes em muitos vegetais na forma de cumarina ou de seus análogos [103]. Possuem diversas atividades biológicas, entre elas: anticoagulante, antitumorais, antivirais e atua sobre o vitiligo. Esse composto exibe permeabilidade à membrana celular, podendo apresentar níveis de toxicidade significativa em humanos a depender da espécie na qual for encontrada [104].

Essas substâncias encontradas no extrato etanólico das folhas da *M. oleifera*, com seus potenciais efeitos biológicos no organismo como os flavonoides rutina, miricetina e catequina, do heterosídeo cumarina e do ácido clorogênico (ácido fenólico), encontram-se descritas no Quadro 4.3.

Nº	Composto	Fórmula molecular	Classe química	Atividade biológica
40	Catequina		Flavonoide	Antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antimicrobiana, pode reduzir a proliferação da linha celular de linfoma murino LB02, efeitos antidiabéticos e antiateroscleróticos, antiobesidade, melhora a pressão sanguínea, anticarcinogênica, neuroprotetora [100,106-112].

41	Ácido clorogênico		Ácido cafeico	Antioxidantes, anti-inflamatórias, anticarcinogênicos, preventivos nas doenças coronárias, antiobesidade, estimulador do sistema nervoso central, esteatose hepática, diabetes, doenças cardiovasculares [101,102,105].
46	Cumarina		Cumarina simples	Antimicrobiana, antiviral, anticâncer, anti-inflamatória, antioxidante, anticoagulante, antitumorais, hepatoprotetora, inibição enzimática [8, 79,103,104].
47	Rutina		Flavonoide	Antioxidante, anti-inflamatória, antinociceptivo; tem efeito preventivo na neuropatia periférica dolorosa; analgésico, tratar inchaço e dor nos olhos, hipertensão e hiperlipidemia, mastite, prevenção do carcinoma hepático, anticâncer, hepatoprotetor [30,113-119].
48	Miricetina		Flavonoide	Antioxidante, anti-inflamatória, inibidora de citocinas inflamatórias (IL-8, MCP-1, NFkB, NOS etc.), reduz o dano oxidativo, regula a atividade da superóxido dismutase (SOD) e da catalase, diminui o crescimento da endometriose, antiproliferativo, anticâncer ginecológico, antitumoral,

				provável efeito protetor no <i>diabetes mellitus</i> 2, pode inibir a atividade hemolítica da suilisina, neuroprotetor, alivia a osteoporose induzida por dexametasona [30,44,106,120-125].
--	--	--	--	---

Quadro 4.3: Compostos identificados na CLAE do extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* e suas respectivas atividades biológicas no organismo

Pode-se perceber que os cinco compostos identificados no CLAE, apresentam as atividades antioxidante, anti-inflamatória e anticâncer. Os compostos **40** e **48** apresentam atividade neuroprotetora, os compostos **46**, **47** e **48** apresentam atividades hepatoprotetora.

Capítulo 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente estudo, concluiu-se:

- ✓ A bioprospecção preliminar fitoquímica, mostrou a presença de metabólitos secundários: taninos, flavonoides, esteroides e triterpenoides nos extratos hexânico e etanólico das folhas da *M. oleifera*.
- ✓ A análise por CG-EM revelou que o extrato etanólico das folhas da *M. oleifera* possui vinte compostos e o extrato hexânico possui vinte e três compostos fitoquímicos. Sendo que nove destes compostos são comuns a ambos os extratos, somente onze possuem atividade biológica relatada na literatura.
- ✓ A análise por CLAE identificou e quantificou cinco compostos no extrato etanólico, a rutina (15,97 mg/g), a catequina (13,98 mg/g), o ácido clorogênico (7,63 mg/g), a miricetina (7,10 mg/g) e a cumarina (2,21 mg/g). Sendo três flavonoides, um ácido fenólico, uma cumarina simples e todos apresentam atividade anti-inflamatória, antioxidante e anticâncer em comum.
- ✓ As mudanças na composição fitoquímica das folhas da *M. oleifera* cultivadas em Teresina-PI, podem estar relacionadas a fatores ambientais e fatores biológicos. Portanto, o estudo demonstra a necessidade de um estudo mais aprofundado em busca de outros metabólitos secundários.

REFERÊNCIAS

1. SINGH, A. K. et al. Phytochemical, nutraceutical and pharmacological attributes of a functional crop *Moringa oleifera* Lam: An overview. **South African Journal of Botany**, vol. 129, p. 209-220, 2019.
2. AL JUHAIMI, F. et al. Comparative Study of Mineral and Oxidative Status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* Leaves. **Food Measure – Springer**, vol. 11, p.1745, 2017.
3. JAMSHIDI-KIA, F. et al. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of Hermed Pharmacology**, vol. 7, n. 1, p. 1, 2018.
4. ZIANE, B. E. C. et al. Detailed Chemical Composition and Functional Properties of *Ammodaucus leucotrichus* Cross. & Dur. and *Moringa oleifera* Lamarck. **Journal of Functional Foods**, vol. 53, p. 237, 2019.
5. SOARES, N. P. et al. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o Estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera - Centro Científico Conhecer**, vol. 13, n. 24, p. 991, 2016.
6. MISHRA, G. et al. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant: Na overview. **Scholars Research Library**. Magazine on line, vol. 3, n. 2, p. 141-164, 2011.
7. FERNANDES, E. E. et al. Probing Regenerative Potential of *Moringa oleifera* Aqueous Extracts Using In vitro Cellular Assays. **Pharmacognosy Research**, vol. 8, n. 4, p. 231, 2016.
8. PADAYACHEE, B.; BAIJNATH, H. An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. **South African Journal of Botany**, vol. 1, 2019.
9. PINA, J. C. et al. Influence of Diferente Substrates on the Production of Phytoconstituents of *Moringa oleifera* Lam. Grown in Full Sun. **Ciência Florestal**, Santa Maria, vol. 28, n. 3, p. 1076, 2018.
10. DHAKAR, R. et al. *Moringa*: The herbal gold to combat malnutrition. **Chronicles of Young Scientists**, vol. 2, n. 3, p. 119, 2011.
11. GOPALAKRISHNAN, L. et al. *Moringa oleifera*: A Review on Nutritive Importance and its Medicinal Application. **Food Science and Human Wellness**, vol. 5, p. 49, 2016.
12. VATS, S.; GUPTA, T. Evaluation of Bioactive Compounds and Antioxidante Potential of Hydroethanolic Extract of *Moringa oleifera* Lam. From Rajasthan, India. **Physiology and Molecular Biology of Plants – Springer**, vol. 23, n. 1, p. 239, 2017.
13. MAKONNEN, E. et al. Hypoglycaemic effect of *Moringa stenopetala* aqueous extract in rabbits. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products**, vol. 11, n. 2, p. 147, 1997.

14. MUHAMMAD, A. A. et al. In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from *Moringa oleifera* Lam. **BioMed Research International**, vol. 2013, p. 1, 2013.
15. HASAN, M. M. et al. Evidence-Based Assessment of *Moringa oleifera* Used for the Treatment of Human Ailments. **Plant and Human Health**, vol. 2, p. 121, 2019.
16. SEIFU, E.; TEKETAY, D. Introduction and expansion of *Moringa oleifera* Lam. in Botswana: Current status and potential for commercialization. **South African Journal of Botany**, vol. 000, p. 1, 2020.
17. LEONE, A. et al. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 16, p. 12791, 2015.
18. RODRÍGUEZ-PÉREZ, C. et al. Optimization of Extraction Method to Obtain a Phenolic Compounds-rich Extract from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. **Industrial Crops and Products**, vol. 66, p. 246, 2015.
19. EL SOHAIMY, S. A. et al. Biochemical and proprieties of *Moringa oleifera* Leaves and their Potential as a Functional Food. **Global Advanced Research Journal of Agricultural Science**, vol. 4, n. 4, p. 188, 2015.
20. LALAS, S. et al. Nutritional characterization of leaves and herbal tea of *Moringa oleifera* cultivated in Greece. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, 2017.
21. MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. **Animal Feed Science and Technology**, vol. 63, n. 1, p. 211, 1996.
22. DILLARD, C. J. et al. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 80, n. 12, p. 1744, 2000.
23. SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 51, n. 8, p. 2144, 2003.
24. VÁSQUEZ-LEÓN, L. A. et al. Variation in Bioactive Compounds and Antiradical Activity of *Moringa oleifera* Leaves: Influence of Climatic Factors, Tree Age, and Soil Parameters. **European Food Research and Technology – Springer**, vol. 243, p. 1593-1608, 2017.
25. MOHAMMED, S. Y. et al. Proximate Composition of *Moringa oleifera* Lam. From Different Regions in Sudan. **International Invention of Scientific Journal**, vol. 02, n. 07, p. 268, 2018.
26. COPPIN, J. P. et al. Determination of Flavonoids by LC/MS and Anti-inflammatory Activity in *Moringa oleifera*. **Journal of Functional Foods**, vol. 5, p. 1892, 2013.
27. BRILHANTE, R. S. N. et al. Research Advances on the Multiple Uses of *Moringa oleifera*: A Sustainable Alternative for Socially Neglected Population. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, vol. 10, n. 7, p. 621-630, 2017.

-
- 28.SANTOS, A. F. S. et al. Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Tissue Extracts. ***Phytotherapy Research***, vol. 26, p. 1366-1370, 2012.
 - 29.ATKINS, P.; JONES, L. Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente; Tradução técnica: Ricardo Bicca de Alencastro. – 5ª ed. – Porto Alegre: **Bookman**, p. 381-382, 2012.
 - 30.COUTINHO, M. A. S. et al. Flavonoids: Potential Therapeutic Agents for the Inflammatory Process. ***Revista Virtual de Química***, vol. 1, n. 3, p. 241, 2009.
 - 31.MAJALI, I. S. et al. Antimicrobial and Immunomodulatory activities of *Moringa peregrina* - minireview. ***Journal of Basic and Applied Research***, vol. 1, n. 2, p. 55-61, 2015
 - 32.KARIMI, A. et al. Herbal versus synthetics drugs; beliefs and facts. ***Journal Nephro pharmacology***, vol. 4, nº 1, p. 27-30, 2015.
 - 33.BENNETT, R. et al. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of multi purpose trees *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, vol. 51, p. 3546-5553, 2003.
 - 34.FAHEY, J.W. et al. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. ***Phytochemistry***, vol. 56, n. 1, p. 5-51, 2001.
 - 35.OLSON, M.E. Combining data from DNA sequences morphology for a phylogeny of Moringaceae (Brassicales). ***Systematic Botany***, vol. 27, n. 1, p. 55-73, 2002.
 - 36.OLSON, M. E. Ontogenetic origins of floral bilateral symmetry in Moringaceae (Brassicales). ***American Journal of Botany*** vol. 90, n. 1, p. 49–71, 2003.
 - 37.MRIDHA, M. A. U.; AL-BARAKAH, F. N. Green cultivation of moringa on arid agricultural land in Saudi Arabia. ***Acta Horticulturae – ISHS, Proc. I Symposium on Moringa***, vol. 1180, p. 143-148, 2017.
 - 38.SENTHILKUMAR, A. et al. Traditional Uses, Pharmacological Efficacy, and Phytochemistry of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori. —A Review. ***Frontiers in Pharmacology***, vol. 9, n. 465, p. 1-17, 2015.
 - 39.PALIVAL, R. et al. A Review on Horse Radish Tree (*Moringa oleifera*): A Multipurpose Tree with High Economic and Commercial Importance. ***Asian Journal of Biotechnology***, vol. 3, n. 4, p. 317-328, 2011.
 - 40.ABD RANI, N. Z. A. et al. *Moringa* Genus: A Review of Phytochemistry and Pharmacology. ***Frontiers in Pharmacology***, vol. 109, n. 108, p. 1-26, 2018.
 - 41.HAUSIKU, M. K. et al. Assessment of species boundaries of the *Moringa ovalifolia* in Namibia using nuclear its DNA sequence data. ***South African Journal of Botany***, vol. 131, p. 335-341, 2020.
 - 42.DU PREEZ, I. et al. Avaliação das Propriedades Antiplasmódicas de Espécies de Plantas Medicinais da Namíbia, *Moringa ovalifolia* . ***Research Journal of Medicinal Plants***, vol. 11, p. 167-173, 2017.
 - 43.BALAMURUGAN, V.; BALAKRISHNAN, V. Evaluation of phytochemical, Pharmacognostical and antimicrobial activity from the bark of *Moringa*

- concanensis* Nimmo. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, vol. 2, n. 4, p. 117-125, 2013.
44. HABTEMARIAM, S.; BELAI, A. Natural Therapies of the Inflammatory Bowel Disease: The Case of Rutin and its Aglycone, Quercetin. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, vol. 18, n. 3, p. 234, 2018.
45. SALAHELDEEN, M. et al. Physicochemical characterization and thermal behavior of biodiesel and biodiesel-diesel blends derived from crude *Moringa peregrina* seed oil. **Energy Conversion and Management**, vol. 92, p. 535-542, 2015.
46. ANWAR, F. et al. H. *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. **Phytotherapy Research**, vol. 21, p. 17-25, 2006.
47. LORENZI, H.; MATOS, F. J. Plantas medicinais no Brasil – Nativas e exóticas cultivadas. **Nova Odessa, Instituto Plantarum**, p.346-347, 2002.
48. OLSON, M. E.; FAHEY, J. W. *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v.82, n.4, p.1071-1082, 2011.
49. SALEEM, A. et al. *Moringa rivae* leaf extracts attenuate Complete Freund's adjuvant-induced arthritis in Wistar rats via modulation of inflammatory and oxidative stress biomarkers. **Inflammopharmacology**, vol.28, p. 139-151, 2020.
50. PADAYACHEE, B.; BAIJNATH, H. Na overview of the medicinal importance of Moringaceae. **Journal Medicinal of Plants Research**, vol. 6, p. 5831–5839, 2012.
51. OMODANISI, E. I. et al. Assessment of the Anti-Hyperglycaemic, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of the Methanol Extract of *Moringa oleifera* in Diabetes-Induced Nephrotoxic Male Wistar Rats. **Molecules**, vol. 22, n. 439, p. 1-16, 2017.
52. SHARMA, V. et al. Phytochemical Analysis and Evaluation of Antioxidant Activities of Hydro-ethanolic Extract of *Moringa oleifera* Lam. Pods. **Journal of Pharmacy Research**, vol. 4, n. 2, p. 554-557, 2011.
53. DEVISETTI, R. et al. Processing Effects on Bioactive Componentes and Funcional Properties of *Moringa* Leaves: Development of a Snack and Quality Evaluation. **Journal of Food Science and Technology – Springer**, vol. 5, n. 4, p. 1892, 2015.
54. FARD, M. T. et al. Bioactive Extract from *Moringa oleifera* Inhibits the Pro-inflammatory Mediators in Lipopolysaccharide Stimulated Macrophages. **Pharmacognosy Magazine**. Malaysia, vol. 11, n. 4, p. S556-S563, 2015.
55. ATTAKPA, E. S. et al. *Moringa oleifera* – Rich Diet and T Cell Calcium Signaling in Hypertensive Rats. **Physiological Research**, vol. 66, p. 753-767, 2017.
56. VALLI, M.; BOLZANI, V. Natural Products: Perspectives and Challenges for use of Brazilian Plant Species in the Bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 9,1(Suppl. 3), p. e20190208, 2019.

-
57. BARBOSA, C. A. Variação temporal de aspectos morfofisiológicos da *Moringa oleifera* Lam. cultivada em área degradada. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - **Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano**, Petrolina, 2017.
58. MAHDI, H. J. et al. LC/MS, GC/MS Screening and in vivo Anti-inflammatory Activity of Malaysian *Moringa oleifera* Lam. Leaf extracts and fractions against Carrageenan-induced Paw Oesema in Rats. **Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS)**, vol 4, n. 3, p. 48-54, 2017.
59. SARAIVA, L. C. F. et al. Phytochemical Screening of *Moringa oleifera* Leaves. **Boletim Informativo Geum**, vol. 9, n. 2, p. 12, 2018.
60. MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2 ed. **EUFC**. Fortaleza: Edições UFC, 1997.
61. LAGURIN, L. G. et al. Chemical profiling of Philippine *Moringa oleifera* leaves. **International Society for Horticultural Science: ISHS – Proc. I International Symposium on Moringa**, 257, 2017.
62. SOLTAN, Y. A. et al. Impact of supplementary *Moringa oleifera* leaf extract on ruminal nutrient degradation and mitigating methane formation in vitro. **Egyptian J. Nutrition and Feeds**, vol. 22, n. 1, p. 55-62, 2019.
63. FACEY, P. C. et al. Biological Activity and Chemical Composition of the Essential Oil from Jamaican *Hyptis verticillata* Jacq. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, vol. 53, p. 4774, 2005.
64. AL-OWAISI, M. et al. GC-MS analysis, determination of total phenolics, flavonoid content and free radical scavenging activities of various crude extracts of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, vol. 4, n.12, p. 964, 2014.
65. CHUNG, I. M. et al. Composition of the Essential Oil and Antioxidant Activity of Petroleum Ether Extract of *Thuja koraiensis*. **Asian Journal of Chemistry**, vol. 23, n. 8, p. 3703, 2011.
66. LEE, H. W.; LEE, H. S. Acaricidal Abilities and Chemical Composition of Forsythia suspense Fruit Oil against Storage and Pyroglyphid Mites. **Journal of Applied Biological Chemistry**, vol. 58, n. 2, p. 105, 2015.
67. AOURAHOUM, K. et al. Essential oil of *Cytisus triflorus* L' Her. **Scholars Research Library**, vol. 5, n. 5, p. 276, 2013.
68. SARANYA, J. et al. Essential oil Composition of Whole Flowers of *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata* and *Rhizophora x annamalayana* from Pichavaram, India. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, vol. 18, n. 3, p. 728, 2015.
69. HARIHARAN, A. et al. Chemical composition of the hexane extract of leaves of *Azima tetraacantha* (lam). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, vol. 7, n. 5, p. 340, 2015.
70. RIVELES, K. et al. Phenols, Quinolines, Indoles, Benzene, and 2-Cyclopenten-1-ones are Oviductal Toxicants in Cigarette Smoke. **Toxicological Sciences**, vol. 86, n. 1, p. 141, 2005.

-
71. SHELKE, V.; BHOT, M. GC-MS Analysis of Bio-active Compounds in Ethanolic Extract of Leaf and Stem of *Asclepias curassavica* L. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, vol. 9, n. 2, p. 67, 2019.
72. VOEGTLE, H. L. et al. E-2-Ethylhexenal, E-2-Ethyl-2-Hexenol, Mellein, and 4-Hydroxymellein in *Camponotus* Species from Brunei. **Journal of Chemical Ecology – Springer**, vol. 34, p. 215, 2008.
73. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. 3,4-Dimethyl-2-hexanol, CID=140547, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3_4-Dimethyl-2-hexanol (accessed on Feb. 24, 2020)
74. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Tridecane, CID=12388, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tridecane> (accessed on Feb. 26, 2020)
75. KULKARNI, A. et al. GC-MS analysis of methanol extract of *Cassia fistula* and its *in vitro* anticancer activity on human prostate cancer cell line. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, vol. 5, n. 2, p. 937, 2015.
76. SETHI, S. et al. Clinical Application of Volatile Organic Compound Analysis for Detecting Infectious Diseases. **Clinical Microbiology Research**, vol. 26, n. 3, p. 462, 2013.
77. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. 2,5-Dimethylfuran, CID=12266, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_5-Dimethylfuran (accessed on Feb. 24, 2020)
78. ELAIYARAJA, A.; CHANDRAMOHAN, G. Comparative phytochemical profile of *Indoneesiella echioides* (L.) Nees leaves using GC-MS. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, vol. 5, n. 6, p. 158, 2016.
79. KUMAR, P. P. et al. Screening of antioxidant activity, total phenolics and GC-MS study of *Vitex negundo*. **African Journal of Biochemistry Research**, vol. 4, n. 7, p. 191, 2010.
80. JEGADEESWARI, P. et al. GC-MS analysis of bioactive components of *Aristolochia krysagathra* (Aristolochiaceae). **Journal of Current Chemical & Pharmaceutical Sciences**, vol. 2, n. 4, p. 226, 2012.
81. SHEELA, D.; UTHAYAKUMARI, F. GC-MS analysis of bioactive constituents from coastal sand dune taxon – *Sesuvium portulacastrum* (L.). **Bioscience Discovery**, vol. 4, n. 1, p. 47, 2013.
82. PRABHADEVI, V. et al. Phytochemical studies on *Allamanda cathartica* L. using GC-MS. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, vol. 2, n. 2, p. S550, 2012.
83. AHMADI, A. et al. The effects of solvent polarity on hypoglycemic and hypolipidemic activities of *Vaccinium arctostaphylos* L. unripe fruits. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, vol. 50 n. 11, p. 746, 2017.
84. HADI, M. Y. et al. Analysis of bioactive chemical compounds of *Nigella sativa* using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, vol. 8, n. 2, p. 8, 2016.

-
85. SUDHA, T. et al. GC-MS analysis of bioactive components of aerial parts of *Kirganelia reticulata* poir (Euphorbiaceae). **Journal of Current Chemical & Pharmaceutical Sciences**, vol. 3, n. 2, p. 113, 2013.
86. DEVI, J. A. I.; MUTHU, A. K. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *Saccharum spontaneum* Linn. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, vol. 6, n. 2, p. 755, 2014.
87. RANI, J. M, J. et al. Antioxidant activity, preliminary phytochemical investigation and GC-MS Study of *Bougainvillea glabra choicy* leaves. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, vol. 4, n. 2, p. 12, 2012.
88. BHARATHY, V.; UTHAYAKUMARI, F. Bioactive Components in leaves of *Jatropha tanjorensis* J.L. Ellis & Saroja by GC-MS Analysis. **International Journal of PharmTech Research**, vol. 5, n. 4, p. 1839, 2013.
89. GUERRERO, R. V. et al. Chemical compounds and biological activity of an extract from *Bougainvillea X Buttiana* (var. Rose) holttum and standl. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, vol. 9, n. 3, p. 42, 2017.
90. TYAGI, T.; AGARWAL, M. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis Of Bioactive Constituents In The Ethanolic Extract Of *Pistia stratiotes* L. **International Journal of Basic and Applied Medical Sciences**, vol. 7, n. 1, p. 14, 2017.
91. DEVAKUMAR, J. et al. Identification of bioactive compounds by gas chromatography-mass spectrometry analysis of *Syzygium jambos* (l.) Collected from western ghats region Coimbatore, Tamil Nadu. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, vol. 10, n. 1, p. 364, 2017.
92. KUMARAVEL, S. et al. GC-MS and ft-ir analysis of the spice ajwain (*Trachyspermum ammi*). **International Journal of Modern Research and Reviews**, vol. 4(3), 1114, 2016.
93. BARRETO, M. B. et al. Constituintes Químicos Voláteis e Não-voláteis de *Moringa oleifera* Lam., *Moringaceae*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 19, n. 4, p. 893, 2009.
94. SRIRAN, S. V. A.; SARVAMANGALA, DR. D. Brown. Pigment Production by *Penicillium purpurogenum* Using *Moringa oleifera* Leaves and Identification of Phytochemicals by Analytical Techniques. **Journal de Pharmacognosy and Phytochemistry**, vol. 7, n. 6, p. 1537, 2018.
95. [95] TAHIR, N.A. et al. Inhibitory Allelopathic Effects of *Moringa oleifera* Lamk Plant Extracts on Wheat and *Sinapis arvensis* L.. **International Allelopathy Foundation- Allelopathy Journal**, vol. 44, n. 1, p. 35, 2018.
96. FOLOWO, A. B. et al. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage. **CyTA – Journal of Food**, vol. 15, n. 2, p. 249, 2017.

-
97. CHELLIAH, R. et al. Nutritional Quality of *Moringa oleifera* for its Bioactivity and Antibacterial Properties. **International Food Research Journal**, vol. 24, n. 2, p. 825, 2017.
 98. VALDEZ-SOLANA, M. A. et al. Nutritional Content and Elemental and Phytochemical Analyses of *Moringa oleifera* Grown in Mexico. **Journal of Chemistry**, vol. 2015.
 99. SOUSA CARVALHO, G. F. et al. Phytochemical study, molecular docking, genotoxicity and herapeutic efficacy of the aqueous extract of the stem bark of *Ximenia americana* L. in the treatment of experimental COPD in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 247, p. 112259, 2020.
 100. FAN, F. Y. et al. Catechins and Their Therapeutic Benefits to Inflammatory Bowel Disease. **Molecules**, vol. 22, n. 3, p. E484, 2017.
 101. YUN, N. et al. Protective effects of chlorogenic acid against ischemia/reperfusion injury in rat liver: molecular evidence of its antioxidant and anti-inflammatory properties. **Journal of Nutritional Biochemistry - SciVerse ScienceDirect**, vol. 23, p. 1249, 2012.
 102. NAVEED, M. et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 97, p. 67, 2018.
 103. BORGES, F. et al. Simple Coumarins and Analogues in Medicinal Chemistry: Occurrence, Synthesis and Biological Activity. **Current Medicinal Chemistry**, vol. 12, p. 887, 2005.
 104. RIVEIRO, M. E. et al. Coumarins: Old Compounds with Novel Promising Therapeutic Perspectives. **Current Medicinal Chemistry**, vol. 17, p. 1325, 2010.
 105. LOU, Z. et al. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid. **Journal of Food Science**, vol. 16, n. 6, p. 398, 2011.
 106. NEIVA, T. J. C. et al. Evaluation of platelet aggregation in platelet concentrates: storage implications – Efeito das catequinas (catequina e epicatequina) na agregação plaquetária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, vol. 25, n. 4, p. 207, 2003.
 107. PAPADEMETRIO, D. L. et al. The catechin flavonoid reduces proliferation and induces apoptosis of murine lymphoma cells LB02 through modulation of antiapoptotic proteins. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, vol. 23, n. 3, p. 455, 2013.
 108. HIBI, M. et al. Efficacy of tea catechin-rich beverages to reduce abdominal adiposity and metabolic syndrome risks in obese and overweight subjects: a pooled analysis of 6 human trials. **Nutrition Research**, vol. 55, p. 1, 2018.
 109. FATHIMA, A.; RAO, J. R. Selective toxicity of Catechin—a natural flavonoid towards bactéria. **Applied Microbial And Cell Physiology**, publish online, vol. 1, 2016.
 110. SCALIA, S. et al. Comparative inflammatory evaluation of different co-antioxidants on the photochemical and functional stability of Epigallocatechin-

- 3-gallate in topical creams exposed to simulated sunlight. **Molecules**, vol. 18, p. 574, 2013.
111. OHISHI, T. et al. Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry – Anti-inflammatory Action of Green Tea. **Bentham Science**, vol. 15, p. 74, 2016.
112. PERVIN, M. et al. Beneficial Effects of Green Tea Catechins on Neurodegenerative Diseases. **Molecules**, vol. 23, p. 2, 2018.
113. MODI, F. D. et al. Pharmacokinetic profile of rutin after intramuscular administration in rats favours its in vivo anti-inflammatory activity in carrageenan-induced rodent model of inflammation. **Annals of Phytomedicine: An International Journal**, vol. 8, n. 1, p. 185, 2019.
114. EMIM, J.A.S. et al. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. **Journal Pharmacy Pharmacology**, vol. 46, p.118, 1994.
115. AZEVEDO, M. I. et al. The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. **Molecular Pain**, vol. 9, n. 53, p. 1, 2013.
116. SU, S. et al. Rutin protects against lipopolysaccharide-induced mastitis by inhibiting the activation of the NF- κ B signaling pathway and attenuating endoplasmic reticulum stress. **Inflammopharmacology**, vol. 27, p. 77, 2018.
117. CHANDRA, Y. P.; VISWANATHSWAMY, A. H. M. Chemo Preventive Effect of Rutin Against N-Nitrosodiethylamine-Induced and Phenobarbital-Promoted Hepatocellular Carcinoma in Wistar Rats. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, vol. 52, n. 1, p. 78, 2018.
118. THAO, D. T. et al. Potential Anticancer Activities of a Combination of Curcumin, Ginger Oleoresin, and Rutin Solid Lipid Nanoparticles (Vietlife-Antican) in LLC Tumor-Bearing Mice. **Natural Product Communications**, vol. 2019, n. 1, p. 1-7, 2019.
119. RAVI, G. S. et al. Nano-lipid Complex of Rutin: Development, Characterisation and In Vivo Investigation of Hepatoprotective, Antioxidant Activity and Bioavailability Study in Rats. **AAPS American Association of Pharmaceutical Scientists**, vol. 19, n. 8, p. 3631, 2018.
120. SANG VO, T. et al. Myricetin from *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk fruits attenuates inflammatory responses in histamine-exposed endothelial cells. **Process Biochemistry**, vol. 1, 2020.
121. YANG, X. et al. Possible osteoprotective effects of myricetin in STZ induced diabetic osteoporosis in rats. **European Journal Pharmacology**, vol. 866, p.1, 2020.
122. PARK, S. et al. Myricetin inhibits Endometriosis growth through Cyclin E1 Downregulation In Vitro and In Vivo. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 78, p. 1, 2020.
123. JIANG, M. et al. Anti-tumor effects and associated molecular mechanisms of myricetin. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 120, p. 1, 2019.

-
124. YAO, Z. et al. Dietary myricetin intake is inversely associated with the prevalence of type 2 *Diabetes mellitus* in a Chinese population. **Nutrition Research - Science Direct**, vol. 68, p. 82, 2019.
 125. LI, G. et al. Inhibition of suilysin activity and inflammation by myricetin attenuates *Streptococcus Suis virulence*. **Life Science**, vol. 223, p. 62, 2019.
 126. HUANG, B. et al. Myricetin prevents dopaminergic neurons from undergoing neuroinflammation-mediated degeneration in a lipopolysaccharide-induced Parkinson's disease model. **Journal of Functional Foods**, vol. 45, p. 452, 2018.
 127. MALDANER et al. Fases estacionárias modernas para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. **Revista Química Nova**, vol. 33, nº 7, 1559-1568, 2010.