



Universidade Federal do Sul da Bahia - UFSB
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - IFBA
Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais - PPGCTA

Leinah Silva Souza

**ESTUDO DE ESPÉCIES VEGETAIS BIOATIVAS DA MATA ATLÂNTICA
DO SUL DA BAHIA**

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lima

Co-orientadora: Prof(a). Dra. Daniela S. M. Hackenhaar

PORTO SEGURO - BA

FEVEREIRO – 2020

Leinah Silva Souza

**ESTUDO DE ESPÉCIES VEGETAIS BIOATIVAS DA MATA ATLÂNTICA
DO SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Sul da Bahia e Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais para obtenção do Título de Mestre em Ciências e Tecnologias Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Luciano da Silva Lima

Co-orientadora: Prof(a). Dra. Daniela S. M. Hackenhaar

PORTO SEGURO - BA

FEVEREIRO – 2020

Dados internacionais de catalogação na publicação (CIP)
Universidade Federal do Sul da Bahia - Sistema de Bibliotecas

S729e Souza, Leinah Silva, 1992 -
Estudo de espécies vegetais bioativas da Mata Atlântica do
Sul da Bahia. / Leinah Silva Souza. – Porto Seguro, 2020.
68 f.

Orientador: Luciano da Silva Lima
Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Sul da
Bahia. Campus Sosígenes Costa. Programa de Pós-graduação
em Ciências e Tecnologias Ambientais.

1. Ácidos Fenólicos. 2. Flavonoides. 3. Antioxidante. 4. Alfa-
glicosidase. I. Lima, Luciano da Silva. II. Título.

CDD:580.81

Elaborado por Lucas Sousa Carvalho - CRB-5/1883

**ESTUDO DE ESPÉCIES VEGETAIS BIOATIVAS DA MATA ATLÂNTICA
DO SUL DA BAHIA**

Comissão Julgadora

Prof.^a Dr.^a Floricéa Magalhães Araújo
UFBA

Prof. Dr. Jorge Costa
UFSB

Prof. Dr. Marcus Luciano Bandeira
IFBA

Aprovada em: dia mês ano (02 / 03 /2020)

Local da Defesa: Porto Seguro

Dedico este trabalho a todos
aqueles que contribuíram com
sua realização.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pois sem Ele jamais teria tido forças para chegar até aqui. E ao meu esposo Heyder Souza dos Santos, por renunciar aos seus sonhos para estar realizando o meu, te amo e muito obrigada! A minha filha Leticia Silva Souza, porque é por você que a mamãe não desisti. Aos meus pais Haniel Silva do Santos e Joelma Neres da Silva, por acreditarem em mim mais do que eu mesma e por todo o apoio que sempre me deram. Aos meus sogros, Ivonildo Pereira e Marivalda Souza, obrigada por sonharem junto comigo.

Ao meu querido orientador Luciano da Silva Lima. Sou grata a Deus por ter a honra de ser sua aluna, você é um excelente orientador e nesse período aprendi muito contigo; espero um dia conseguir escrever tão bem quanto você rsrsrs. Obrigada por toda a paciência, acessibilidade, atenção e ajuda, jamais teria conseguido sem você, muito obrigada! À minha querida co-orientadora Daniela Séfora de Melo Hackenhaar, em que gostaria de agradecer por ter aceitado o nosso convite. Obrigada por toda ajuda, dedicação e carinho que demonstrou, principalmente quando em férias pude contar com a sua ajuda. Levo comigo esse carinho e profissionalismo que aprendi com vocês, meus mais sinceros agradecimentos!

Às minhas colegas que se tornaram grandes amigas, Adriana Tiemi Okumura e Ana Luísa Carvalho, obrigada por terem sido amigas nos bons e maus momentos. E as minhas amigas de laboratório Tainara Castilho e Thamires Brito, principalmente a Thamires, obrigada por me ajudar em toda a fase da pesquisa, que você possa receber em dobro quando estiver no mestrado.

Agradeço também a todos os professores que contribuíram muito para a minha formação, especialmente à Alisson Gonçalves, Marcus Luciano Bandeira e Jorge Costa.

E jamais me esqueceria daqueles que sempre me davam suporte, meu muito obrigada à Leonardo Dias e Jardel Dias, por toda a ajuda no laboratório.

Meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram de alguma maneira!

Se você pode sonhar, você pode realizar.

Walt Disney

Sumário

| | |
|--|----|
| RESUMO GERAL..... | 9 |
| ABSTRACT..... | 10 |
| LISTA DE TABELAS..... | 11 |
| LISTA DE FIGURAS..... | 12 |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 13 |
| REFERÊNCIAS..... | 15 |
| ARTIGO 1..... | 18 |
| ANÁLISE POR CLASSE DE ACIDOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE ESPÉCIES VEGETAIS DA MATA ATLÂNTICA. INVESTIGAÇÃO DA SUA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA..... | 19 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 21 |
| 2. PARTE EXPERIMENTAL..... | 22 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 27 |
| 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 34 |
| 5. AGRADECIMENTOS..... | 34 |
| 6. REFERÊNCIAS..... | 34 |
| MATERIAL SUPLEMENTAR..... | 36 |
| ARTIGO 2..... | 38 |
| Plantas brasileiras com efeito inibitório <i>in vitro</i> sobre a α -glicosidase..... | 39 |
| Abstract..... | 39 |
| Resumo..... | 39 |
| 1. Introdução..... | 40 |
| 2. Método <i>in vitro</i> para a avaliação da inibição da enzima α -glicosidase em substratos orgânicos..... | 43 |
| 2.1. Fármacos inibidores comerciais para o tratamento da DM..... | 45 |
| 3. Plantas brasileiras com efeito inibitório sobre a α -glicosidase..... | 46 |
| 4. Considerações finais..... | 60 |
| 6. Referências..... | 61 |
| CONCLUSÃO GERAL..... | 68 |

Estudos de Espécies vegetais bioativas da Mata Atlântica do Sul da Bahia

RESUMO GERAL

O ser humano utiliza espécies vegetais para tratamentos medicinais há muito tempo e diversas substâncias já foram isoladas, entretanto, muitos compostos ainda se encontram desconhecidos diante da grande biodiversidade existente no reino vegetal. Tais compostos oriundos de vegetais podem ter ações benéficas sobre a saúde humana, como o de ação antioxidante e de inibição de enzimas como a α -glicosidase. Essa enzima, juntamente com a produção excessiva de radicais livres no organismo, está associada à processos patológicos como diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, infecções pelo HIV e tumores. Assim, esta dissertação apresenta um estudo dividido em dois artigos, onde o objetivo do primeiro artigo desta pesquisa é encontrar espécies vegetais bioativas da Mata Atlântica do Sul da Bahia que apresentem compostos fenólicos ou flavonoides com ação antioxidante. Com base nisso, amostras de *Copaifera lucens*, *Neomarica portosecurensis*, *Miconia albicans*, *Croton celtidifolius* e *Schnella angulosa*, foram analisadas quanto à atividade antioxidante através do método de sequestro com o radical livre DPPH, e avaliação dos teores de fenólicos e flavonoides totais, além de análise química em CLAE-DAD para identificação e quantificação de ácidos fenólicos. Os resultados indicam que as folhas das espécies *C. lucens* (branca) e *M. albicans*, o caule da *S. angulosa* e o látex da *C. celtidifolius* possuem forte atividade antioxidante. Além disso, foi possível identificar o ácido 2-hidroxi cinâmico em todos os extratos das espécies *S. angulosa*, *C. lucense* *M. albicans* através da análise em CLAE-DAD. O segundo artigo apresenta uma revisão acerca das plantas brasileiras com avaliação *in vitro* frente a enzima α -glicosidase no período de 2009 a 2019 utilizando as bases de dados da Scopus, Science Direct Journals e Scielo. As espécies que apresentaram valores de concentração mínima inibitória (IC₅₀) inferiores a 50 μ g/mL nos artigos publicados, foram definidas como inibidores mais intensas, revelando plantas brasileiras que podem atuar como candidatas para o tratamento do diabetes e no desenvolvimento de medicamentos.

Palavras-chave: Ácidos fenólicos. Flavonoides. Antioxidante. Alfa-glicosidase.

Studies of bioactive plant species in the Atlantic Forest of Southern Bahia

ABSTRACT

The human being has used plant species for medicinal treatments for a long time and several substances have already been isolated, however, many compounds are still unknown due to the great biodiversity existing in the plant kingdom. Such compounds from plants can have beneficial actions on human health, such as antioxidant action and inhibiting enzymes such as α -glycosidase. This enzyme, together with the excessive production of free radicals in the body, are associated with pathological processes such as diabetes, obesity, cardiovascular diseases, neurodegeneratives, HIV infections and tumors. Thus, this dissertation presents a study divided into two articles, where the objective of the first article of this research is to find bioactive plant species from the Atlantic Forest of the South of Bahia that present phenolic or flavonoid compounds with antioxidant action. Based on this, samples of *Copaifera lucens*, *Neomarica portosecurensis*, *Miconia albicans*, *Croton celtidifolius* and *Schnella angulosa*, were analyzed for antioxidant activity using the DPPH free radical scavenging method, and evaluation of total phenolic and flavonoid contents, in addition to chemical analysis in HPLC-DAD for identification and quantification of phenolic acids. The results indicate that the leaves of the species *C. lucens* (white) and *M. albicans*, the stem of *S. angulosa* and the latex of *C. celtidifolius* have strong antioxidant activity. In addition, it was possible to identify 2-hydroxy cinnamic acid in all extracts of the species *S. angulosa*, *C. lucense* *M. albicans* through analysis in CLAE-DAD. The second article presents a review about Brazilian plants with in vitro evaluation against the enzyme α -glycosidase in the period from 2009 to 2019 using the databases of Scopus, Science Direct Journals and Scielo. The species that presented values of minimum inhibitory concentration (IC₅₀) below 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$ in the published articles, were defined as more intense inhibitors, revealing Brazilian plants that can act as candidates for the treatment of diabetes and in the development of medications.

Keywords: Phenolic acids. Flavonoids. Antioxidant. Alpha-glycosidase.

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Gradiente utilizado na análise CLAE-DAD..... | 24 |
| Tabela 2 | Limites de Detecção, Limite de Quantificação, Equação da Reta, R^2 e Tempo de Retenção da curva por CLAE-DAD..... | 29 |
| Tabela 3 | Avaliação da repetibilidade do método para os padrões, com relação ao tempo de retenção..... | 29 |
| Tabela 4 | Concentração de ácidos fenólicos nos extratos das plantas..... | 30 |
| Tabela 5 | Capacidade antioxidante dos extratos..... | 31 |
| Tabela 1 | Descrição das espécies com maior atividade de inibição..... | 47 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1 | Representação das espécies (1) <i>C. lucens</i> , (2) <i>N. portotecurensis</i> , (3) <i>C. celtidifolius</i> , (4) <i>M. albicans</i> e (5) <i>S. angulosa</i> | 14 |
| Figura 1 | <i>Estrutura radicalar e estrutura estável do DPPH</i> | 22 |
| Figura 2 | <i>Teor de fenólicos e flavonoides totais</i> | 27 |
| Figura 3 | <i>Seletividade dos padrões (1) ácido cafeico ($t_{R8,963}$ min), (2) ácido cumárico ($t_{R9,530}$ min), (3) ácido 2-hidroxi cinâmico($t_{R10,395}$min) e (4) ácido trans cinâmico ($t_{R12,187}$ min)</i> | 28 |
| Figura 4 | <i>Correlação do índice de atividade antioxidante (IAA) e o teor de fenólicos totais e correlação do índice de atividade antioxidante (IAA) e teor de flavonoides totais dos extratos folhas e caules das <i>C. lucens</i> branca e vermelha (ECBC, ECBF, ECVC E ECVF)</i> | 33 |
| Figura 1 | <i>Número de artigos publicados com plantas brasileiras com investigação <i>in vitro</i> de inibição da enzima α-glicosidase em periódicos no período de 2009 a 2019 nas bases de dados Scopus, Science Direct Journals, Scielo e Google Acadêmico</i> | 42 |
| Figura 2 | <i>Esquema reacional da hidrólise do <i>p</i>-nitrofenil-α-D-glicopiranosídeo</i> | 44 |
| Figura 3 | <i>Estruturas dos compostos acarbose, 1-desoxinojirimicina, miglitol e voglibose</i> | 45 |
| Figura 4 | <i>Porcentagem de espécies vegetais coletados por estados do Brasil</i> | 46 |
| Figura 5 | <i>Porcentagem de famílias analisadas no Brasil</i> | 47 |
| Figura 6 | <i>Compostos isolados da <i>M. rubella</i> com potencial inibidor da enzima α-glicosidase</i> | 50 |
| Figura 7 | <i>Compostos, isolados de <i>Deguelia rufescens</i></i> | 53 |
| Figura 8 | <i>Compostos isolados da espécie <i>E. Crotonoides</i> com potencial inibitório da α-glicosidade</i> | 55 |
| Figura 9 | <i>Compostos identificados do extrato de <i>S. americanum</i> com forte potencial inibitório</i> | 58 |
| Figura 10 | <i>Estrutura do ácido ferúlico isolado de <i>V. venosa</i></i> | 60 |

INTRODUÇÃO GERAL

A Bioprospecção de moléculas pode ser compreendida como a busca sistemática de substâncias bioativas, enzimas, genes ou compostos oriundos de seres vivos, com o objetivo de desenvolver bioprodutos com potencial econômico, social e científico (SACCARO JUNIOR, 2011). Em vegetais podem ser encontrados metabólitos secundários, que possuem efeitos medicinais sobre a saúde humana, tornando as plantas em fontes naturais de biomoléculas, com potencialidade econômica.

O conhecimento e a utilização de vegetais para tratamentos medicinais existem há muito tempo e muitos compostos foram isolados de plantas e sintetizados para uso farmacêutico (VIELGAS JR, BOLZANI e BARREIRO, 2006). Como, por exemplo, forskolina, artemisinina e taxol, que são substâncias com ação antiinflamatória, no combate à malária e no tratamento de câncer, respectivamente (FILHO e YUNES, 1997). No entanto, o reino vegetal possui ainda grande biodiversidade, e novos compostos podem ser encontrados.

O Brasil é um país que possui uma imensa flora com grande diversidade de espécies vegetais, dispersos nos variados biomas, como o da Mata Atlântica. A Mata Atlântica possui alta biodiversidade, sendo composta por formações florestais e ecossistemas associados, distribuindo-se em larga extensão sobre o território brasileiro, somando aproximadamente 15 mil espécies vegetais, incluindo as endêmicas e ameaçadas de extinção (BFG, 2015). No entanto, toda essa variedade pode ser extinta, por fatores abióticos e bióticos, sem qualquer estudo (IBGE, 2012; DE ALMEIDA, 2011).

Diante do contexto apresentado e da ampla biodiversidade de espécies vegetais existentes, a Mata Atlântica do Sul da Bahia constituiu-se em uma área de grande interesse para a bioprospecção de molécula bioativas, uma vez que ainda nessa região podem ser encontradas plantas com grande potencial farmacológico.

O vegetal *Copaifera lucens* Dwyer (figura 1) pertence ao gênero *Copaifera* L., da família Fabaceae, é conhecido como “copaíba”. As espécies do gênero *Copaifera*, normalmente são árvores de grande porte, que apresentam em seu tronco um óleo líquido com cor que pode variar de amarelado a amarronzado e encontram-se na região da Mata Atlântica e Amazônia (PINTO et al., 2000; VEIGA JUNIOR et al., 2001). A espécie *C. lucens* Dwyer é um vegetal que não possui dados sobre sua atividade biológica e/ou composição química, pois somente um estudo foi encontrado, avaliando o potencial mutagênico através do teste de Ames, obtendo que essa espécie é segura para uso medicinal (DAMASCENO, et al., 2019). Além desse, nenhum outro estudo fitoquímico ou farmacológico foi descrito nas bases de dados dos periódicos Capes

e Google Acadêmico. Entretanto, é comum encontrar em espécies desse gênero como os sesquiterpenos e diterpenos (PATITUCCI et al., 1995).



Figura 1. Representação das espécies (1) *C. lucens*, (2) *N. portotecurensis*, (3) *C. celtidifolius*, (4) *M. albicans* e (5) *S. angulosa*.

A espécie *Neomarica portosecunresis* Chukr (Figura 1, item 1) pertencente ao gênero *Neomarica* Stronger, da família Iridaceae, é uma espécie endêmica da região da Mata Atlântica de Porto Seguro, conhecida popularmente como Íris e normalmente espécies de Iridaceae são utilizadas para fins ornamentais (JUNIOR, 2003). Até o presente, não existem relatos nas bases de dados, de quaisquer estudos fitoquímicos ou farmacológicos com a espécie. Estudos realizados por Indrusiak (2010) com espécies desse gênero, identificou metabólitos secundários pertencentes à classe dos flavonóis e isoflavonas.

A *Croton celtidifolius* Baill (Figura 1, item 3) pertence à família da Euphorbiaceae, é conhecida popularmente como pau-sangue, pois em seu caule encontra-se um látex avermelhado que possui efeitos citotóxicos contra células tumorais, devido a presença de compostos de flavonóis e flavan-3-ols (BISCARO, et al., 2013). Análises *in vivo*, demonstraram que extratos da espécie possui ação de neuroproteção contra a degeneração neuronal dopaminérgica e no tratamento da memória e sintomas psiquiátricos (MOREIRA, et al., 2010). Além de prevenção da oxidação de LDL e diminuição do estresse em células endoteliais pela fração rica em proantocianidina obtida dessa espécie (HORT, et al., 2012). Compostos como catequina, galocatequina e proantocianidinas condensadas foram obtidos do extrato acetato de etila e apresentaram atividade antioxidante e antiinflamatória (NARDI, et al., 2013).

A *Miconia albicans* (SW.) Triana (Figura 1, item 4) é um vegetal da família Melastomaceae, conhecido popularmente como canela-de-velho e que possui intensas

atividades antioxidante, antifúngica e antibacteriana, além de efeitos protetores contra danos no DNA induzidos pela doxorrubicina e inibição da tirosinase. Já foram isolados os compostos α -amirina, β -amirina, β -sitosterol, ácido maslínico, quercetina-3-Oglycoside, rutina, quercetina, 3-(E)-p-coumaroil- α -amirina, ácido 3-epi-sumaresinólico, ácido sumaresinólico, ácido 3-O-cis-p-coumaroil-maslínico, ácido 3-O-trans-p-coumaroil-maslínico, ácido 3-O-trans-p-coumaroil-2-hidroxiidulcólico, ácido oleanólico e ácido ursólico. (DE CASSIA, et al., 2018; VASCONCELOS, et al., 2006; CELOTTO, et al., 2003; CREVELIN, et al., 2006; PIERONI, et al., 2011)

A *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin (Figura 1, item 5) é uma espécie da família Fabaceae, conhecida popularmente como escada de macaco, e no Brasil constam registrados 30 espécies desse gênero *Schnella* ou *Bauhinia* na Flora do Brasil 2020 (2019), sendo 20 endêmicos do país. Essa é uma espécie que não possui dados relatados sobre atividade química ou farmacológica, no entanto, já foram encontrados lactonas, flavonoides, terpenóides, esteróides, triterpenos, taninos e quinonas presentes em outras espécies pertencentes a esse gênero (DA SILVA, et al., 2002).

Assim, os vegetais *C. lucens*, *N. portosecurensis*, *M. albicans*, *C. celtidifolius* e *S. angulosa* constituem-se espécies encontradas na Mata Atlântica do Sul da Bahia que no primeiro artigo do presente estudo, foram investigadas quanto a sua capacidade antioxidante, os seus teores de fenólicos e flavonoides e a identificação de ácidos fenólicos cinâmicos.

O segundo artigo apresenta uma revisão dos últimos dez anos de espécies brasileiras que foram avaliadas quanto à atividade de inibição da α -glicosidase, pois a inibição dessa enzima é uma forma de tratamento da patologia *Diabetes mellitus*. Essa doença é muito antiga, descrita há mais de 3500 anos, sendo a principal causadora da cegueira, retinopatia, neuropatia, amputação dos membros inferiores, distúrbios cardiovasculares, hipertensão e infarto, levando aos portadores a um tempo de vida muito menor. Apesar de muito antiga, atualmente ainda afeta mais de 415 milhões de pessoas em todo o mundo. Sendo necessário o uso de compostos naturais com ação hipoglicêmica, com maior eficácia e menos efeitos colaterais que os já comercializados (CARVALHO, DINIZ e MUKHERJEE, 2005).

REFERÊNCIAS

BISCARO, F. et al. Anticancer activity of flavonol and flavan-3-ol rich extracts from *Croton celtidifolius* latex. **Pharmaceutical biology**, v. 51, n. 6, p. 737-743, 2013.

BFG - The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66: 1085-1113, 2015.

CARVALHO, A.C.B; DINIZ, M. F. F. M.; MUKHERJEE, R. Estudos da atividade antidiabética de algumas plantas de uso popular contra o diabetes no Brasil. **Ver. Bras. Farm.**, v. 86, n. 1, p. 11-16, 2005.

CELOTTO, A.C. et al. Evaluation of the in vitro antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 4, p. 339-340, 2003.

CREVELIN, E. J. et al. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. **Biomedical Chromatography**, v. 20, n. 8, p. 827-830, 2006.

DAMASCENO, J. L. et al. Investigation of Safety Profile of Four *Copaifera* Species and of Kaurenoic Acid by Salmonella/Microsome Test. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

DA SILVA, K.L.; FILHO, V. C. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 449-454, 2002.

DE ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. 3 ed., Salvador: EDUFBA, 2011, 221 p.

DE CÁSSIA, R. L. L. et al. High-resolution PTP1B inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of PTP1B inhibitors from *Miconia albicans*. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1755, 2018.

FILHO, V.C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1997.

HORT, M. A. et al. Cardioprotective effects of a proanthocyanidin-rich fraction from *Croton celtidifolius* Baill: focus on atherosclerosis. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 10, p. 3769-3775, 2012.

INDRUSIAK, M.S. Caracterização química e morfometria em *Sisyrinchiummicranthum* CAV.(Iridaceae). 2010. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/27509>>. Acessado em: 20 de outubro de 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2012. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Ed. 2 – revisada e ampliada. **Sér. Man. Técn. Geociências, No 1**. Rio de Janeiro: IBGE, 274p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv63011.pdf>

JÚNIOR, L.C. Espécies de *Neomaricas prague* (Iridaceae): potencial ornamental e cultivo. **Ornamental Horticulture**, v. 9, n. 1, 2003.

Myristicaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB169>>. Acesso em: 09 jul. 2019

MOREIRA, E. LG et al. Fracção rica em proantocianidina de *Croton celtidifolius* Baill confere neuroprotecção ao modelo intranasal da doença de Parkinson de rato 1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetra-hidropiridina. **Jornal de transmissão neural**, v. 117, n. 12, p. 1337-1351, 2010.

NARDI, G. M. et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* bark. **Phytomedicine**, v. 10, n. 2-3, p. 176-184, 2003.

PATITUCCI, M.L. et al. Use of chromatographic and spectrometric techniques to help the identification of volatile compounds. **Química Nova** 18, 262–266, 1995.

PIERONI, L. G. et al. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9439-9450, 2011.

PINTO, A.C. et al. Separation of acid diterpenes of *Copaifera* cearensis Huber ex Ducke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 4, p. 355-360, 2000.

SACCARO JUNIOR, N.L. **A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada: Brasília, 2011.

Schnella in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB129669>>. Acesso em: 09 jul. 2019

VASCONCELOS, M. A. L. et al. In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 61, n. 7-8, p. 477-482, 2006.

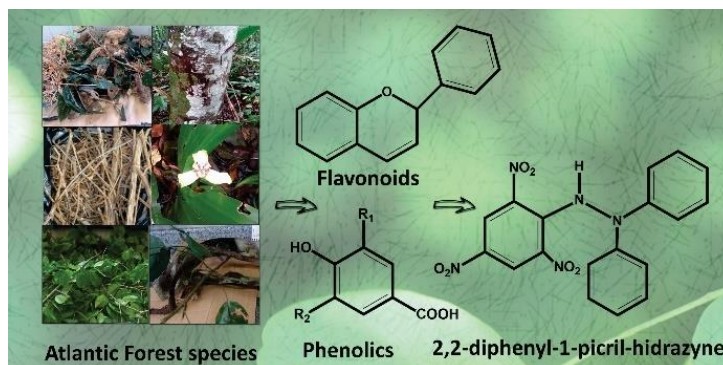
VEIGA JUNIOR, V. F. et al. Constituintes das sementes de *Copaifera officinalis* L. **Acta amazônica**, v. 37, n. 1, p. 123-126, 2007.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

Este artigo/capítulo está formatado segundo as normas da Revista Química Nova
Disponível no site: [site da revista](#)

ARTIGO 1

Graphical abstract



The analyzed species of the Atlantic Forest showed antioxidant activity, reacting with the free radical DPPH, forming 2,2-diphenyl-1-picric acid. The reducing capacity may be associated with the phenolic and total flavonoid contents found.

ANÁLISE POR CLAE-DAD DE ÁCIDOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE ESPÉCIES VEGETAIS DA MATA ATLÂNTICA. INVESTIGAÇÃO DA SUA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Leinah S. Souza^{a,b}, Jorge A. S. Costa^b, Daniela S. M. H.^a e Luciano S. Lima...^{a,*}

^a Instituto Federal da Bahia, 45810-000 Porto Seguro - BA, Brasil

^b Universidade Federal do Sul da Bahia, 45810-000 Porto Seguro - BA, Brasil

-----*marque uma alternativa, não apague o texto em azul*-----

--

(x) Manuscrito com material suplementar

() Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: lucianolima@ifba.edu.br

CLAE-DAD ANALYSIS OF PHENOLIC ACIDS IN EXTRACTS OF VEGETABLE SPECIES OF THE ATLANTIC FOREST. INVESTIGATION OF ITS ANTIOXIDANT CAPACITY AND CHEMICAL COMPOSITION

This article reports the evaluation of the antioxidant capacity, the content of phenolics and flavonoids and the optimization of a methodology for simultaneous determination of phenolic acids present in extracts of the species *Copaifera lucens* (white), *Copaifera lucens* (red), *Miconia Albicans*, *Neomarica portosecurensis*, *Croton celtidifolius* and *Schnella angulosa* collected in the Atlantic Forest of southern Bahia. The highest percentage of flavonoids found was for *N. portosecurensis* with $559.21 \pm 7.48 \mu\text{g EQ g}^{-1}$ of extract. In the fraction of the stem of *S. angulosa*, the highest content of total phenolics was obtained, with $483.24 \pm 51.42 \mu\text{g}$ of EAG g^{-1} extract. The extracts of the species *S. angulosa* stem, *S. angulosa* root, red leaf *C. lucens* and *M. albicans* stem were selected because they have the highest total phenolic content for HPLC-DAD evaluation and revealed the presence of coumaric acid phenols, 2-hydroxy cinnamic and trans-cinnamic. The species with the greatest emphasis on antioxidant activity were extracts from the leaves of *M. albicans*, on the stem of *S. angulosa*, on the latex of *C. celtidifolius* and on the leaves of *C. lucens* red which exhibited strong activity.

Keywords: antioxidant activity; extracts; plant species; atlanticforest.

1. INTRODUÇÃO

As espécies vegetais são ricas em metabólitos secundários, que na grande maioria, possuem efeitos medicinais. Dentre os efeitos, encontra-se a ação antioxidante que age inibindo ou impedindo a oxidação de moléculas presentes no organismo humano que são responsáveis por algumas patologias.¹

A oxidação de moléculas pode ser compreendida como um processo no qual determinada substância, após uma conversão química, passa por redução do número de elétrons ou densidade eletrônica.² Nas células, essa transferência ocorre continuamente e são fundamentais para os processos metabólicos e tais reações produzem compostos denominados de radicais livres (RL).³ Os RL apresentam diferentes funções, como a produção de energia e a síntese de substâncias biológicas. No entanto, quando em excesso, produz efeitos negativos, como danos ao DNA, proteínas e alterações nas células, e têm sido associados a diversas patologias, como as doenças cardiovasculares, degenerativas, neurológicas, câncer e envelhecimento precoce.⁴

Como a produção dos radicais é um processo comum no organismo, o corpo produz substâncias antioxidantes que agem na prevenção e regeneração dos danos causados por essas espécies químicas. Mas quando essa produção se torna em excesso, as substâncias antioxidantes produzidas são insuficientes, fazendo-se necessário o uso externo de produtos para reduzir os RL.⁵

A ação dos agentes antioxidantes pode retardar os danos provocados pelos RL, por meio de um ou mais mecanismos.⁶ Os compostos fenólicos, incluindo flavonoides e ácidos fenólicos, são os principais agentes responsáveis pela ação e são encontradas comumente em espécies vegetais.

O Sul do estado da Bahia se caracteriza por possuir uma grande área da vegetação preservada, onde se destaca o bioma da Mata atlântica. Esse bioma é constituído por formações florestais e ecossistemas associados, propiciando grande biodiversidade de espécies. Muitos dos vegetais existentes no bioma encontram-se desconhecidos do ponto de vista fitoquímico e/ou farmacológico, e essa diversidade de plantas com potencial antioxidante e outras atividades biológicas podem se perder com o crescimento urbano e conseqüentemente, a diminuição de áreas vegetais.^{7,8}

Diversas metodologias são descritas para avaliar a capacidade antioxidante, dentre elas a avaliação *in vitro* pelo sequestro do radical estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), que se destaca por sua aplicabilidade e fácil execução.³ A forma usual dessa atividade ocorre através do decaimento da absorbância e da solução etanólica de DPPH, no comprimento de onda entre

515 a 528 nm.⁹ O processo reacional ocorre através da doação de átomos de hidrogênio da espécie química em estudo para o radical DPPH (Figura 1), sendo percebida pela mudança de coloração, do violeta para o amarelo.

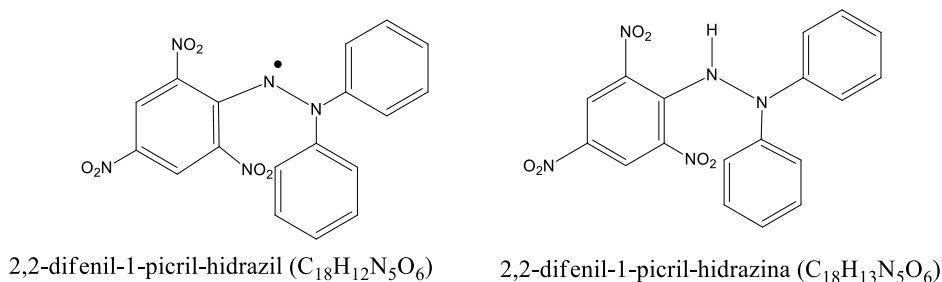


Figura 1. Estrutura radicalar e estrutura estável do DPPH

Este trabalho descreve a avaliação da capacidade antioxidante, o teor de fenólicos e flavonoides e a otimização de uma metodologia para determinação simultânea de ácidos fenólicos presente nos extratos das espécies *Copaifera lucens* (copaíba branca), *Copaifera lucens* (copaíba vermelha), *Miconia albicans*, *Neomarica portosecurensis*, *Croton celtidifolius* e *Schnella angulosa* coletadas na Mata Atlântica do sul Bahia. Os tipos “branca” e “vermelha” da *Copaifera* refere-se à coloração da “derme” da árvore que faz com que elas sejam conhecidas por esses nomes, popularmente: copaíba branca e copaíba vermelha ou pau-d’óleo-branco e pau-d’óleo-vermelho.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Materiais e Reagentes

As espécies *Copaifera lucens* Dwyer (família Fabaceae) (copaíba branca – GCPP 01056), *Copaifera lucens* Dwyer (família Fabaceae) (vermelha – GCPP 01055), *Schnella angulosa* (Vogel) Wunderlin (família Fabaceae) (GCPP 0919), *Miconia albicans* (SW.) Triana (família Melastomaceae) (GCPP 1110), *Neomarica portosecurensis* (Ravenna) Chukr (família Iridaceae) (GCPP 0663) e *Croton celtidifolius* Baill (família Euphorbiaceae) (GCPP 0664), foram coletadas na Estação Ecológica do Pau Brasil, pertencente à Comissão Executiva para o Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), e está localizada próximo à BR-367, KM - Porto Seguro-Eunápolis, no estado da Bahia, e exsiccatas das espécies foram identificadas pelo botânico Jorge

A. S. Costa e depositadas no herbário Geraldo Carlos Pereira Pinto (GCPP) da Universidade Federal do Sul da Bahia, na Cidade de Porto Seguro, Bahia, Brasil.

O reagente de Folin-Ciocalteu, etanol, DPPH, metanol com grau HPLC, e o ácido acético glacial, foram adquiridos da Sigma Aldrich® (Brasil). Os padrões analíticos, ácido cafeico (98 %), ácido cumárico (98%), ácido 2-hidroxi cinâmico (97 %) e ácido trans-cinâmico (97 %) também foram adquiridos da Sigma Aldrich® (Brasil). Toda água ultra-pura utilizada nas extrações e análises foi obtida pelo sistema de purificação de água Milli-Q® Millipore (EUA). As análises foram realizadas no laboratório de Química no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus de Porto Seguro, Bahia, Brasil.

2.2 Preparação dos extratos

O material vegetal (folhas, caules e raízes), após secos à temperatura ambiente, foi triturado em um moinho de facas. Posteriormente, 30 g foram submersos em Etanol P.A. por 48h e filtrados, realizando esse processo três vezes consecutivas, e então, o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida em um equipamento de rota-evaporação (Vacuum Pump V-100 BUCH), para ser obter o extrato bruto etanólico.

2.3 Determinação do teor de flavonoides e fenólicos totais

A determinação dos teores de flavonoides foi realizada através da metodologia descrita por Silva e colaboradores¹⁰, com adaptações. Nas cavidades de uma microplaca foram adicionados 150 µL das soluções dos extratos e látex das amostras e 150 µL de solução etanólica de cloreto de alumínio 5%. Após 15 minutos, foi realizada leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Thermo Scientific Multiskan Go) a 420 nm. O conteúdo de flavonoides totais foi determinado usando a equação da reta obtida na curva padrão de quercetina, preparada nas concentrações de 5,46 a 350 µg mL⁻¹. Os resultados foram expressos em µg de quercetina por g da amostra utilizada no preparo das soluções. Todas as amostras foram preparadas em concentrações de 700 µg mL⁻¹, exceto para o extrato etanólico da *N. portosecurensis* (350 µg mL⁻¹) e látex do *C. celtidifolius* (1000 µg mL⁻¹).

O teor de fenólicos totais foi obtido através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, adaptado de Mathew e Subramanian.¹¹ Nas análises, uma solução de carbonato de sódio a 8,5%

e soluções etanólicas das amostras a $700 \mu\text{g mL}^{-1}$, exceto para a solução etanólica do látex de *C. celtidifolius* à $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e extrato etanólico da *N. portosecurensis* à $350 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Em uma microplaca de 96 poços foram adicionadas $20 \mu\text{l}$ da amostra, $200 \mu\text{l}$ de água destilada, $20 \mu\text{l}$ do Folin-Ciocalteu e $60 \mu\text{L}$ carbonato de sódio, totalizando $300 \mu\text{l}$ ao poço. Foi incubada por 1 hora, à 45°C , procedida de leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Thermo Scientific Multiskan Go) no comprimento de onda em 760 nm . O ácido gálico foi utilizado como padrão, em concentrações que variaram entre $5,46$ a $350 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O branco da análise consistiu em $200 \mu\text{l}$ de água, $20 \mu\text{l}$ do Folin-Ciocalteu, $20 \mu\text{l}$ de etanol e $60 \mu\text{l}$ da solução de carbonato de sódio e o branco da amostra e padrões em $280 \mu\text{l}$ de água destilada e $20 \mu\text{l}$ da amostra ou padrão.

Os teores de fenólicos e flavonoides totais foram obtidos pela interpolação da absorbância das amostras em uma curva de calibração construída com os dados do padrão, ácido gálico e quercetina, respectivamente, e expressos como μg Equivalentes de Ácido Gálico (EAG) por g de extrato e μg Equivalentes de Quercetina (EQ) por g de extrato. Na validação do método, calculou-se (Equação 1) os Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ) a partir das equações abaixo:

$$LD = \frac{3,3 * s}{S} \text{ e } LQ = \frac{10 * s}{S} \quad (1)$$

Onde o s representa o desvio padrão da leitura do branco (8 réplicas) e S o coeficiente angular da curva de calibração do padrão.

2.4 Análise química por CLAE-DAD

As análises foram realizadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detector de Arranjo de Diodo (CLAE-DAD, Shimadzu), constituído por uma unidade de gaseificação DGU-20A, detector de arranjo de díodos série SPD-M20A, injeção manual e o controle do equipamento e aquisição dos dados foram feitos através do *software LC Solution* (Shimadzu). A otimização das condições da separação foi realizada em sistema de gradiente com a aplicação da fase móvel que compreendia dois solventes: solvente A (água e ácido acético glacial, 99:1) e solvente B (metanol) (Tabela 1). As injeções foram feitas em triplicata, em coluna analítica de fase reversa Shim-Pak C-18 ($150 \times 4,6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$ de diâmetro de partícula), com taxa de fluxo constante de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, volume de injeção de $20 \mu\text{L}$ e a detecção acompanhada com sistema de fotodiodos entre $230\text{-}330 \text{ nm}$.

Tabela 1. Gradiente utilizado na análise CLAE-DAD

| TEMPO (min) | A% | B% |
|-------------|----|-----|
| 0-4 | 90 | 10 |
| 4-10 | 40 | 60 |
| 10-15 | 5 | 95 |
| 15-20 | 0 | 100 |
| 20-22 | 90 | 10 |

A= ácido acético 2%; B= metanol

Na definição das condições cromatográficas para a separação dos ácidos fenólicos, foram utilizadas soluções dos padrões ácido cafeico, ácido cumárico, ácido 2-hidroxi cinâmico e ácido trans-cinâmico com concentração de 1 mg mL⁻¹. A solução foi previamente filtrada em membrana de 0,22 µm (Millipore). Os compostos fenólicos foram identificados de acordo com sua ordem de eluição e por comparação de seu tempo de retenção com aqueles de seus padrões puros, no comprimento de onda de 289 nm. A quantificação foi realizada pelo método de padronização externa, através da correlação da área (mAU) do pico do composto à curva padrão realizada com cada padrão avaliado e os resultados expressos em µg de composto por mg de extrato.

Os parâmetros de validação utilizados foi a seletividade, linearidade, precisão, e os limites de detecção e de quantificação, conforme Ribani e colaboradores.¹² A seletividade foi analisada pela comparação dos tempos de retenção dos picos dos compostos padrões injetados individualmente. Quanto à linearidade do método, foram construídas curvas analíticas de cada padrão, através da injeção em triplicata das suas respectivas soluções em concentrações que variaram de 3,96 a 62,5 µg mL⁻¹. A precisão do método foi verificada pela repetibilidade da mesma amostra analisada em seis replicas, com valores expressos através da média e desvio padrão relativo. Para o cálculo dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), utilizou-se a equação 2 abaixo.¹²

$$LD = \frac{3,3 * C}{B} \quad \text{e} \quad LQ = \frac{10 * C}{B} \quad (2)$$

Onde, C representa o desvio padrão do coeficiente linear da equação da curva de calibração e B a média do coeficiente angular da equação da curva de calibração.

2.5 Preparo das amostras para análise em CLAE-DAD

Para a determinação dos ácidos fenólicos, foram selecionadas as amostras que apresentaram maior teor de fenólicos totais, sendo preparadas soluções em concentrações de 1 mg mL⁻¹ água/metanol (1:1) e purificadas através da extração em fase sólida utilizando-se cartuchos de C18 Strata Phenomenex® acoplado a uma bomba peristáltica.

Inicialmente o cartucho de separação C18 foi acondicionado, passando-se um volume de 10 mL de água Milli-Q, 10 mL de água/metanol (1:1) e então ativado com 10 mL de metanol. Após, uma alíquota de 10 mL do extrato foi percolada no cartucho de separação. Os interferentes foram removidos por meio da passagem de 10 mL de água Milli-Q pelo cartucho, ficando os compostos de interesse adsorvidos no mesmo. O extrato, livre de interferentes, foi eluído do cartucho com 10 mL de metanol.

2.6 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante das espécies foi mensurada de acordo com o método da redução do radical livre DPPH, descrito por Furlan e colaboradores¹³ com modificações. Assim, nas cavidades de uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 50 µL de etanol e posterior diluição em série em concentração inicial de 175 µg mL⁻¹, exceto o látex e os extratos etanólico de *N. portosecurensis* e *M. albicans* (folhas) que foram utilizados na concentração inicial de 62,5 µg mL⁻¹, 75 µg mL⁻¹ e 25 µg mL⁻¹, respectivamente. Em seguida, foram adicionadas as cavidades, 250 µL da solução etanólica de DPPH (30 µg mL⁻¹). Após a incubação por 20 min foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Thermo Scientific Multiskan Go) no comprimento de 517 nm. Todos os testes foram realizados em quatro réplicas, sendo utilizado como padrão o ácido gálico e o hidroxitoluenobutilado (BHT).

A partir das absorvâncias obtidas, foram calculadas o percentual da atividade antioxidante (Equação 3):

$$AA\% = \frac{(Abs2 - Abs1)}{Abs2} \times 100 \quad (3)$$

Onde Abs 1 é a absorvância da amostra com abatimento do seu respectivo branco e a Abs2 é a absorvância correspondente ao controle negativo (etanol e DPPH).

A concentração efetiva média (CE₅₀)¹⁴ para decrescer a concentração do DPPH em 50%, foi obtida através da equação da reta do gráfico da AA% *versus* concentração da amostra, substituindo o y da equação por 0,5. O índice de atividade antioxidante¹⁵ foi obtido da equação 4:

$$IAA = \frac{[DPPH]}{CE_{50}} \quad (4)$$

Onde o CE_{50} corresponde ao valor obtido no cálculo anterior em $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o $[DPPH]$ é a concentração da solução de DPPH utilizada no teste, que foi de $30 \mu\text{g mL}^{-1}$.

2.7 Análises Estatísticas

Como análise estatística utilizou-se o ANOVA com número amostral igual a 4 e comparando os resultados do índice de confiança com o valor tabelado do *t-students* 2,36, com nível de 95%, e todos os resultados apresentados como média \pm desvio-padrão (DP). O coeficiente de correlação foi estabelecido entre os teores de fenólicos totais e atividade antioxidante (valores do IAA) e flavonoides totais e atividade antioxidante (valores do IAA) utilizando o software Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teores de flavonoides e fenólicos totais

O conteúdo de flavonoides e fenólicos totais encontrados nos extratos das plantas são expressos no gráfico da Figura 2. Os dados apresentam grande variação nos teores encontrados, o que demonstra uma diversidade na composição química dessas espécies.

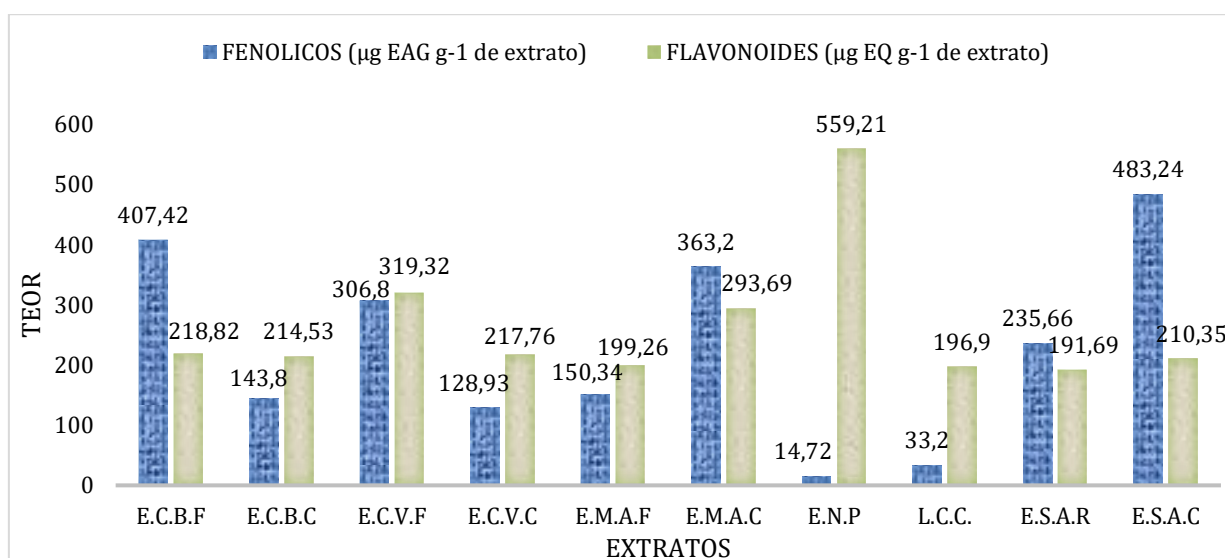


Figura 2. Teor de fenólicos e flavonoides totais. ECBF(extrato *C.lucens* branca folha); ECBC (extrato *C. lucens* branca caule); ECVF (extrato *C. lucens* vermelha folha); ECVC (extrato *C. lucens* vermelha caule); EMAF (extrato *M. albicans* folhas); EMAC (extrato *M. albicans*

caule); ENP (extrato *N. portosecurensis*); LCC (látex *C. celtidifolius*); ESAR (extrato *S. angulosa* raiz) e ESAC (extrato *S. angulosa* caule)

O maior percentual de flavonoides foram obtido para os extratos da *N. portosecurensis* (ENP), *C. lucens* vermelha folhas (ECVF) e *M. albicans* caule (EMAC). Na avaliação de fenólicos totais, os extratos das espécies *S. angulosa* caule (ESAC), *C. lucens* branca folhas (ECBF), *M. albicans* caule (EMAC) e *S. angulosa* raiz (ESAR) se destacaram com os maiores conteúdos. Desses vegetais, somente a *M. albicans* já foi analisada quanto a sua composição química, sendo identificado a quercetina-3-Oglycoside, rutina e quercetina, 3-(*E*)-p-coumaroil- α -amirina, α -amirina, ácido epi-betulínico, ácido ursólico e ácido epi-ursólico.¹⁶

Os valores encontrados para o LD e LQ na análise do teor de fenólicos totais foram de 0,16 e 0,51 μg , respectivamente, e na avaliação do teor de flavonoides totais o LD foi de 0,23 μg e LQ de 0,69 μg . Os valores obtidos para o LD indicam a menor concentração possível de ser detectada, e não necessariamente quantificado, enquanto o LQ indica a menor concentração possível de quantificada com exatidão e precisão,¹⁷ dessa forma, esses valores confirmam que o método analítico utilizado é adequado. As avaliações estatísticas demonstraram em nível de confiança à 95%, $n = 4$, CV (coeficiente de variação) $\leq 0,1$ e valores $\geq 2,36$ (valor de *t-student*).

3.2 Validação do método das análises por CLAE-DAD

A validação do método foi iniciada a partir da seletividade para os padrões dos ácidos cafeico, cumárico, 2-hidroxi cinâmico e trans-cinâmico. Após, a separação dos padrões (Figura 3), procedeu-se para a análise da faixa linear de trabalho, a partir da construção de curvas de calibração que podem ser visualizadas na Tabela 2. Através da linearidade (R^2) de cada curva, dos limites de detecção e quantificação foi possível perceber que o método apresentado se mostrou adequado e satisfatório para a determinação em concentrações baixas dos ácidos fenólicos (Tabela 2).

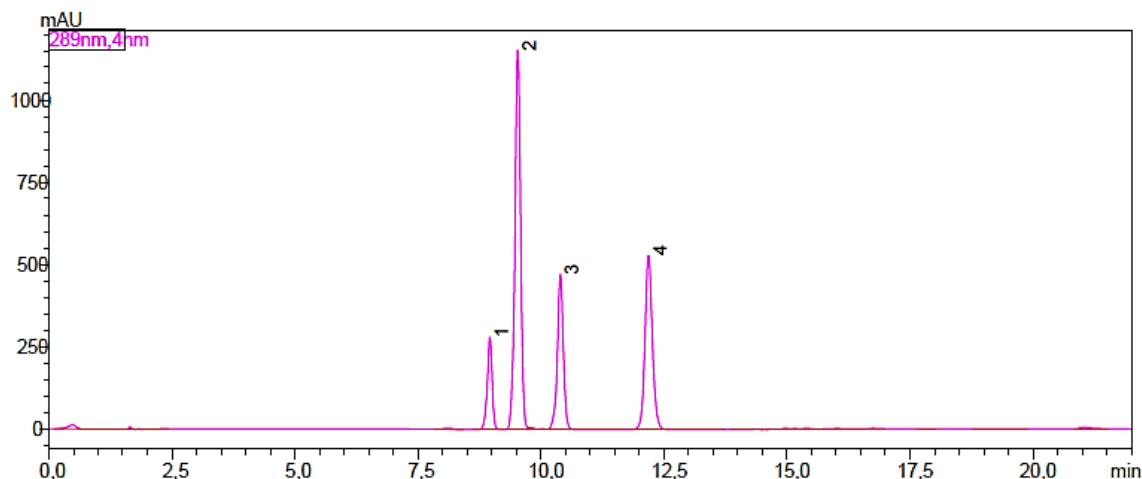


Figura 3. Seletividade dos padrões (1) ácido cafeico (t_R 8,963 min), (2) ácido cumárico (t_R 9,530 min), (3) ácido 2-hidroxi cinâmico (t_R 10,395min) e (4) ácido trans cinâmico (t_R 12,187 min)

Tabela 2. Limites de Detecção, Limite de Quantificação, Equação da Reta, R^2 e Tempo de Retenção da curva por CLAE-DAD

| ANALITO | LD ($\mu\text{g/mL}$) | LQ ($\mu\text{g/mL}$) | ER | R^2 | $t_{R\text{min}} \pm \text{DP}$ |
|--------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|--------|---------------------------------|
| Ácido cafeico | 0,4 | 1,2 | $Y = 31495 x + 39099$ | 0,9964 | $8,826 \pm 0,06$ |
| Ácido cumárico | 0,7 | 2,1 | $Y = 163014 x + 33336$ | 0,9943 | $9,528 \pm 0,10$ |
| 2-Hidroxi cinâmico | 0,5 | 1,4 | $Y = 65573 x + 87593$ | 0,9950 | $10,395 \pm 0,15$ |
| Trans-cinâmico | 0,7 | 2,0 | $Y = 94078 x + 114419$ | 0,9946 | $12,187 \pm 0,21$ |

ER = Equação da Reta; t_R = Tempo de Retenção; DP= Desvio Padrão

Para a avaliação da repetibilidade foram analisados consecutivamente e verificado o tempo de retenção dos analitos (Tabela 3). A obtenção do desvio padrão relativo (DPR) de cada composto padrão se encontram dentro dos limites aceitáveis¹² e os valores obtidos do índice de confiança se encontram abaixo do valor de *t-student* (2,57), indicando confiabilidade no método.

Tabela 3. Avaliação da repetibilidade do método para os padrões, com relação ao tempo de retenção

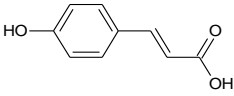
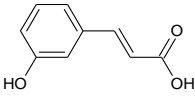
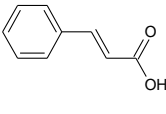
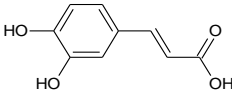
| ANALITO | $t_{R\text{min}}$ | DP | RSD (%) | IC |
|--------------------------|-------------------|------|---------|------|
| Ácido cafeico | 8,92 | 0,05 | 0,61 | 0,06 |
| Ácido cumárico | 9,49 | 0,07 | 0,73 | 0,07 |
| Ácido 2-hidroxi cinâmico | 10,35 | 0,10 | 0,95 | 0,10 |
| Ácido trans-cinâmico | 12,15 | 0,16 | 1,28 | 0,16 |

t_R = Tempo de Retenção; DP= Desvio Padrão; IC= Índice de Confiança; DPR= Desvio Padrão Relativo.

3.3 Análise química por CLAE – DAD

Os extratos das espécies *S. angulosa* caule, *S. angulosa* raiz, *C. lucens* (copaíba branca - folha) e *M. albicans* caule, selecionados por apresentarem o maior teor de fenólicos totais, foram avaliados por CLAE-DAD. As análises demonstraram a presença dos ácidos fenólicos cinâmicos, o cumárico, 2-hidroxi cinâmico e trans-cinâmico, entretanto, por causa dos valores de LQ para cada ácido padrão, foi possível quantificar apenas o ácido 2-hidroxi cinâmico para os extratos do caule da *M. albicans* (EMAC) e as folhas da *C. lucens* branca (ECBF), como expressos na Tabela 4.

Tabela 4. Concentração de ácidos fenólicos nos extratos das plantas

| Extrato | Concentração (µg/mg de extrato) | | | |
|---------|---|--|---|--|
| |  Ác. Cumárico |  Ác. 2-hid. cinâmico |  Ác. T. cinâmico |  Ác. Cafeico |
| ESAR | D* | D* | ND | ND |
| ESAC | D* | D* | D* | ND |
| ECBF | D* | 376,86 ± 88,02 | ND | ND |
| EMAC | ND | 143,68 ± 23,12 | ND | ND |

D* (detectável, mas não quantificável); ND (não detectável); ESAR (extrato *S. angulosa* raiz); ESAC (extrato *S. angulosa* caule); ECBF (extrato *C. lucens* branca folhas); ECAC (extrato *M. albicans* caule). Desvio padrão calculado com n=3

A espécie *Schnella angulosa*, de estudo inédito, demonstrou a presença dos ácidos cumárico, 2-hidroxi cinâmico e trans-cinâmico, sendo que no extrato da raiz não foi detectado o ácido trans-cinâmico.

No extrato das folhas da *Copaifera lucens* (copaíba branca) foi identificado os ácidos cumárico e 2-hidroxi cinâmico, sendo esse último quantificando em grande concentração. Essa também é uma espécie que não foi encontrado estudos sobre atividade biológica ou sobre sua composição química. Já o extrato do caule da *Miconia albicans* demonstrou apenas a presença do 2-hidroxi cinâmico.

Em todos os extratos das plantas foram identificadas concentrações dos ácidos fenólicos, com destaque para o 2-hidroxi-cinâmico que se encontra presente em todas os extratos, e em contra partida o ácido cafeico não foi detectado.

Os ácidos fenólicos são uma classe dentro do grupo de fenólicos, constituídos por anel benzênico, agrupamentos carboxílicos, hidroxilas e/ou metoxilas. Destaca-se que a posição e quantidade das ramificações e desses grupos conferem diferentes eficácias na atividade biológica. Essas características conferem as propriedades antioxidantes, vasodilatadoras e de prevenção ao câncer e outras atividades, comumente observados nos vegetais.¹⁸ Dessa forma, nessas espécies podem ser encontrados ácidos cinâmicos, com maior destaque para o extrato das folhas da *Copaifera lucens* (vermelha) que demonstrou o maior conteúdo.

3.4 Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante foi realizada através da redução do radical livre DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazila) pelos antioxidantes presentes nos extratos das plantas e expressos pela concentração efetiva CE_{50} e do índice de atividade antioxidante IAA. Reynertson, Basile e Kennelly¹⁵ relatam a relação do CE_{50} com o potencial antioxidante e descreve que os valores de CE_{50} acima de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados inativas, valores entre 200 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ são pouco ativas, entre 50 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ são moderadamente ativas e inferiores a $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, são intensamente ativas. Baseado na descrição, foi percebido que todos os extratos apresentaram atividade com valores de CE_{50} entre 15,23 a $153,38 \mu\text{g mL}^{-1}$, exceto as ENP que exibiu inatividade (Tabela 5).

Tabela 5. Capacidade antioxidante dos extratos

| EXTRATOS | CE_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ¹⁾ | FAIXAS DO CE_{50} | IAA | FAIXAS DO IAA |
|------------|---|---------------------|------|--------------------|
| BHT | 11,61 | | 2,58 | INTENSA ATIVIDADE |
| Ác. gálico | 9,17 | | 3,27 | |
| ECBF | 32,14 | | 1,03 | |
| ESAC | 21,76 | INTENSA ATIVIDADE | 1,42 | FORTE ATIVIDADE |
| EMAF | 15,23 | | 1,96 | |
| LCC | 39,44 | | 1,31 | |
| EMAC | 37,22 | | 0,80 | |
| ECVF | 55,16 | MODERADA ATIVIDADE | 0,54 | MODERADA ATIVIDADE |
| ECBC | 104,15 | | 0,30 | |
| ECVC | 124,26 | BAIXA ATIVIDADE | 0,24 | BAIXA ATIVIDADE |
| ESAR | 153,38 | | 0,20 | |

| | | | |
|-----|--------|---------|------|
| ENP | 364,35 | INATIVA | 0,08 |
|-----|--------|---------|------|

CE₅₀ (concentração efetiva média); IAA (índice de atividade antioxidante); BHT (hidroxitoluenobutilado); ECBF (extrato *C. lucens* branca folha); ECBC (extrato *C. lucens* branca caule); ECVF (extrato *C. lucens* vermelha folha); ECVC (extrato *C. lucens* vermelha caule); EMAF (extrato *M. albicans* folhas); EMAC (extrato *M. albicans* caule); ENP (extrato *N. portosecurensis*); LCC (látex *C. celtidifolius*); ESAR (extrato *S. angulosa* raiz) e ESAC (extrato *S. angulosa* caule).

O IAA, descrito por Scherer e Godoy¹⁴, relaciona a influência da concentração da solução de DPPH com os o valor de CE₅₀ obtido nas análises, demonstrando que o aumento do índice está associado a maior capacidade dos extratos em estabilizar o radical. Portanto, com base na faixa de valores descrita pelos referidos autores, as amostras ECBF, ESAC, EMAF e LCC (IAA 1,0 e 2,0) são mais eficientes em reduzir o DPPH que as demais.

As avaliações da capacidade antioxidante demonstraram estatisticamente que possui confiabilidade em nível de confiança de 95%, n= 4, CV ≤ 0,1 e com os valores do índice abaixo do valor de *t-student* (2,36) (ANOVA).¹⁷

Quando comparado a capacidade antioxidante dos extratos com as referencias, ácido gálico e o BHT, as folhas da *M. albicans* (EMAF) foi o extrato que mais se aproximou da atividade. Pires e colaboradores¹⁹ em seu estudo isolaram a quercetina do extrato da *M. albicans* e avaliou a capacidade antioxidante desse composto frente ao radical DPPH, obtendo um CE₅₀ de 2,97 µg mL⁻¹. Assim, deve-se investigar a possível presença da quercetina no conteúdo de flavonoides totais (199,26 ± 1,70µg EQg⁻¹ de extrato) encontrados para essa espécie, que justificaria a forte atividade antioxidante observada.

O látex da espécie *C. celtidifolius* (LCC) também exibiu forte atividade antioxidante, com CE₅₀ de 39,44 µg mL⁻¹ e IAA 1,31. Essa espécie também foi analisada por Biscaro e co-autores²⁰, em que identificaram flavonóis e flavan-3-ols no látex da LCC, assim a forte atividade antioxidante obtida neste estudo, pode ser associada a ação desses compostos presentes nos 196,90 ± 2,79 (µg EQ g⁻¹ de extrato) quantificados no teor de flavonoides.

As folhas da espécie *M. albicans* e o látex da *C. celtidifolius* exibiram em sua composição maiores teores de compostos flavônicos do que de fenólicos, e ambas apresentaram forte atividade antioxidante. Os flavonoides pertencem ao grupo dos polifenóis, e assim como os fenólicos, possuem a capacidade doadora de elétrons que explicam sua atividade antioxidante *in vitro*.²¹ Assim, essas espécies devem ser investigadas quanto a identificação e quantificação de compostos flavônicos, por exemplo, através da técnica CLAE-DAD.

Além dessas espécies, a ESAC também apresentou forte atividade antioxidante e essa capacidade observada, pode estar associada a presença majoritária de fenólicos totais ($483,24 \pm 51,42 \mu\text{g EAGg}^{-1}$ de extrato), e no estudo por CLAE-DAD, em que foi identificado os ácidos cumárico, 2-hidroxi cinâmico e trans-cinâmico.

Foi encontrada baixa correlação significativa entre os conteúdos de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante para os extratos em estudo ($r = 0,26$), exibindo baixo coeficiente linear entre resultados das atividades. E na correlação de Flavonoides Totais e Atividade Antioxidante, foi encontrado $r = -0,44$, existindo pouca linearidade entre as atividades. Esses resultados indicam que não existe relação de tendência linear da atividade antioxidante e o teor de fenólicos ou flavonoides, afinal são espécies vegetais diferentes e podem apresentar diferentes tipos de constituintes dentro dessas classes.

Apesar desses métodos quantitativos na determinação desses compostos, essas técnicas não distinguem a composição fenólica ou de flavonoide, devido às suas limitações. Portanto, o Folin-Ciocalteu, é um reagente que pode sofrer interferências de outros compostos como ácido ascórbico, proteínas e açúcares redutores e a complexação por cloreto de alumínio, sendo considerado um método mais específico para flavonas e flavonóis. De maneira semelhante, a atividade antioxidante varia conforme a estrutura molecular, assim, a capacidade antioxidante de um extrato não pode ser prevista com base no conteúdo de fenólicos totais e flavonoides totais, sendo essas atividades intrínsecas a cada espécie.^{11,21,22}

No entanto, os extratos das espécies *C. lucens* apresentaram correlação significativa para o conteúdo de Fenólicos Totais e Atividade Antioxidante ($R = 0,96$) (Figura 4), mas baixa correlação quanto ao teor de Flavonoides e Atividade Antioxidante, com $R = 0,04$ (Figura 4). Esses resultados indicam que o crescimento da capacidade antioxidante se encontra associado ao acréscimo do teor de fenólicos totais. Já a correlação é praticamente nula entre o conteúdo de flavonoides totais e a atividade antioxidante.

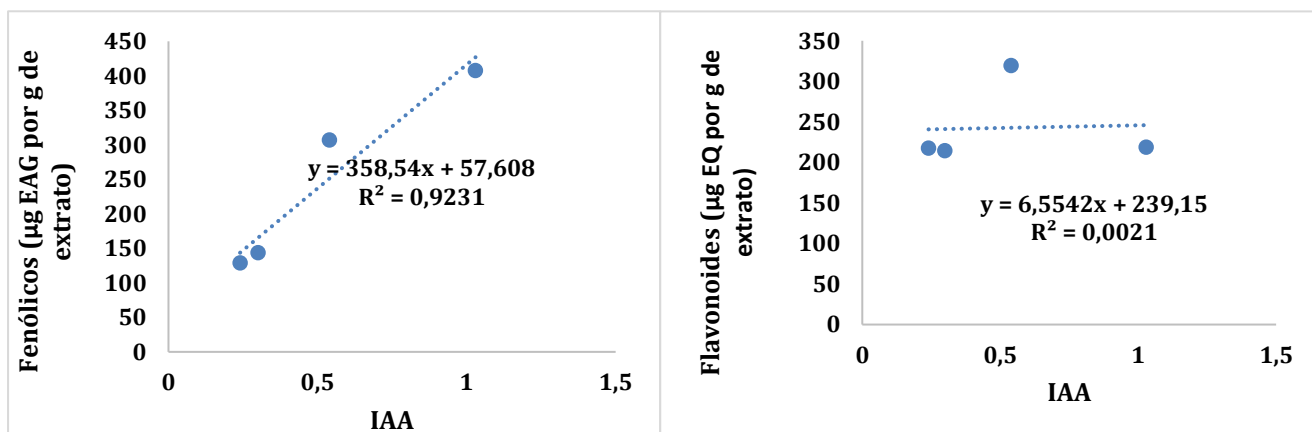


Figura 4. Correlação do índice de atividade antioxidante (IAA) e o teor de fenólicos totais e correlação do índice de atividade antioxidante (IAA) e teor de flavonoides totais dos extratos folhas e caules das *C. lucens* branca e vermelha (ECBC, ECBF, ECVF E ECVF)

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies avaliadas exibiram atividade antioxidante, exceto a *N. portosecurensis*, com destaque para as folhas das espécies *C. lucens* (branca) e *M. albicans*, o caule da *S. angulosa* e o látex da *C. celtidifolius*, que foram classificadas como forte atividade, levando em consideração os resultados obtidos no índice de atividade antioxidante (IAA). Além disso, variados teores de fenólicos e flavonoides foram quantificados em cada extrato e látex, sendo possível identificar o ácido 2-hidroxi cinâmico em todos os extratos das espécies *S. angulosa*, *C. lucense* *M. albicans* através da análise em CLAE-DAD. Estudos posteriores devem ser realizados utilizando outros ácidos fenólicos e compostos flavônicos a fim de quantificar e identificar esses componentes, principalmente com as espécies *C. lucens* (branca e vermelha), *N. portosecurensis* e *S. angulosa*, pois este é o primeiro estudo do ponto de vista farmacológico e fitoquímico. Portanto, este estudo se constitui na primeira contribuição do aspecto, para o conhecimento quimiotaxonômico dessas espécies que medram o bioma da Mata Atlântica. Considerando os teores de fenólicos e flavonoides e da ação antioxidante *in vitro* observada, o isolamento desses constituintes nessas espécies pode ser de grande relevância e potencial também para a avaliação com outras atividades biológicas.

5. AGRADECIMENTOS

Ao IFBA, a UFSB, a Estação Ecológica Pau-Brasil localizada em Porto Seguro, ao Herbário GCPP e ao CNPq e a FAPESB pelos auxílios financeiros e bolsas.

6. REFERÊNCIAS

1. de Melo, E. B.; da Silveira Gomes, A.; Carvalho, I. *Tetrahedron* (2006), doi: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.08.055>.
2. Larson, R. A. *Phytochemistry* (1988), doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80254-1](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80254-1)
3. Alves, C. Q.; David, J. M.; David, J. P.; Bahia, M. V.; Aguiar, R. M.; *Quím. Nova*, **2010**, *33*, 2202.
4. Bianchi, M. D. L. P.; Antunes, L. M. G.; *RevNutr*, **1999**, *12*, 123.

5. Barbosa, K. B. F.; Costa, N. M. B.; Alfenas, R. D. C. G.; De Paula, S. O.; Minim, V. P. R.; Bressan, J. *Rev. Nutr.* (2010), doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
6. Pietta, PG. *Journal of natural products* (2000), doi: <https://doi.org/10.1021/np9904509>
7. Silverio, M. D. O.; Castro, C. F. S.; Miranda, A. R.; *Rev. Bras. Plantar. Med.*, **2013**, *15*, 59.
8. Dornas, W. C.; Oliveira, T. T. D.; Rodrigues-das-Dores, R. G.; Santos, A. F. D.; Nagem, T. J. *Rev. Cienc. Fazenda. Basica Apl.*, **2009**, *28*, 241.
9. Prado, A. D.; Aragão, A. M.; Fett, R.; Block, J. M. *Brasiliannjournalof food technology, Campinas* (2009), doi: 10.4260/BJFT2009800900028
10. Silva, J. B.; Costa, K. M.; Coelho, W. A.; Paiva, K. A.; Costa, G. A.; Salatino, A.; ... Batista, J. S.; *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **2016**, *36*, 874.
11. Mathew, M.; Subramanian, S. *PloSone* (2014), doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086804>
12. Ribani M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. *Química Nova*, **2004**, *27*, 771.
13. Furlan, C. M.; Santos, K. P.; Sedano-Partida, M. D.; da Motta, L. B.; Santos, D. Y. A.; Salatino, M. L. F.; ... Salatino, A.; *Braz. J. Bot.*, **2015**, *38*, 693.
14. Scherer, R.; Godoy, H. T; *Food chemistry* (2009), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>
15. Reynertson, K. A.; Basile, M. J.; Kennelly, E. J.; *Ethnobotany Research and Applications*, **2005**, *3*, 025.
16. Pieroni, L. G.; Rezende, F. M. D.; Ximenes, V. F.; Dokkedal, A. L.; *Molecules* (2011), doi: <https://doi.org/10.3390/molecules16119439>.
17. Pimentel-Gomes, F. *Curso de estatística experimental*, 13th ed., Piracicaba: Nobel, 1990.
18. Mattila, P.; Kumpulainen, J. *Journal of agricultural and food chemistry*, **2002**, *50*, 3660.
19. Pires, J.; Torres, P. B.; Santos, D. Y. A. C.; Chow, F. *Instituto de Biociências*, **2017**, *1*, 1.
20. Biscaro, F.; Parisotto, E. B.; Zanette, V. C.; Günther, T. M. F.; Ferreira, E. A.; Gris, E. F.; ... Pedrosa, R. C.; *Pharm. Biol.* (2013), doi: <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.764331>
21. Rosa, E. A.; Silva, B. C.; Silva, F. M.; Tanaka, C. M. A.; Peralta, R. M.; Oliveira, C. M. A.; ... Silva, C. C. *Rev. Braz. Farmacognosia* (2010), doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2010000400004>
22. Kähkönen, M. P.; Hopia, A. I.; Vuorela, H. J.; Rauha, J. P.; Pihlaja, K.; Kujala, T. S.; Heinonen, M. *Journal of agricultural and food chemistry*, **1999**, *47*, 3954.

ANÁLISE POR CLAE-DAD DE ÁCIDOS FENÓLICOS EM EXTRATOS DE ESPÉCIES VEGETAIS DA MATA ATLÂNTICA. INVESTIGAÇÃO DA SUA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Leinah S. Souza^{a,b}, Jorge A. S. Costa^b, Daniela S. M. H.^a e Luciano S. Lima...^{a,*}

^a Instituto Federal da Bahia, 45810-000 Porto Seguro - BA, Brasil

^b Universidade Federal do Sul da Bahia, 45810-000 Porto Seguro - BA, Brasil

MATERIAL SUPLEMENTAR

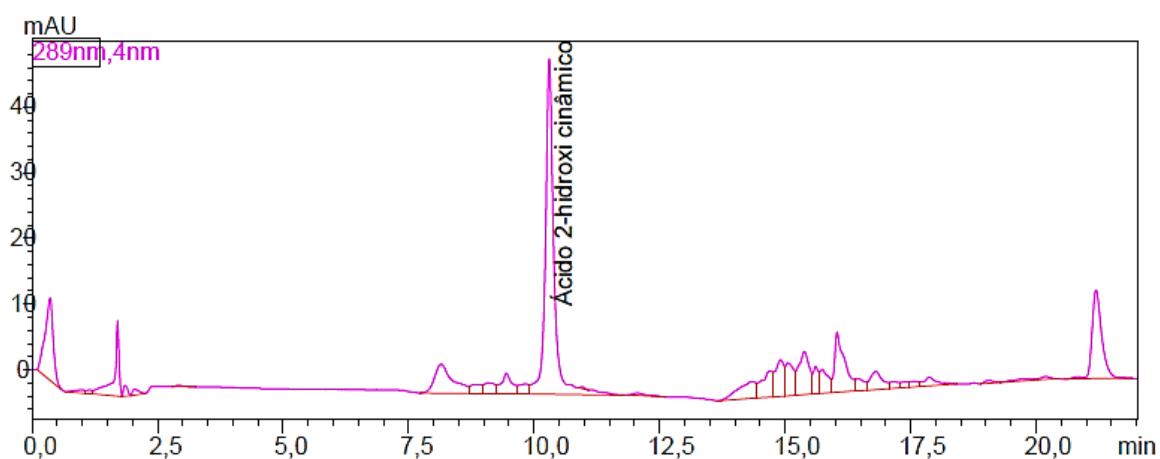


Figura S1. Análise do extrato EMAC em CLAE-DAD com a identificação do ácido 2-hidroxi-cinâmico (t_R 10,303min)

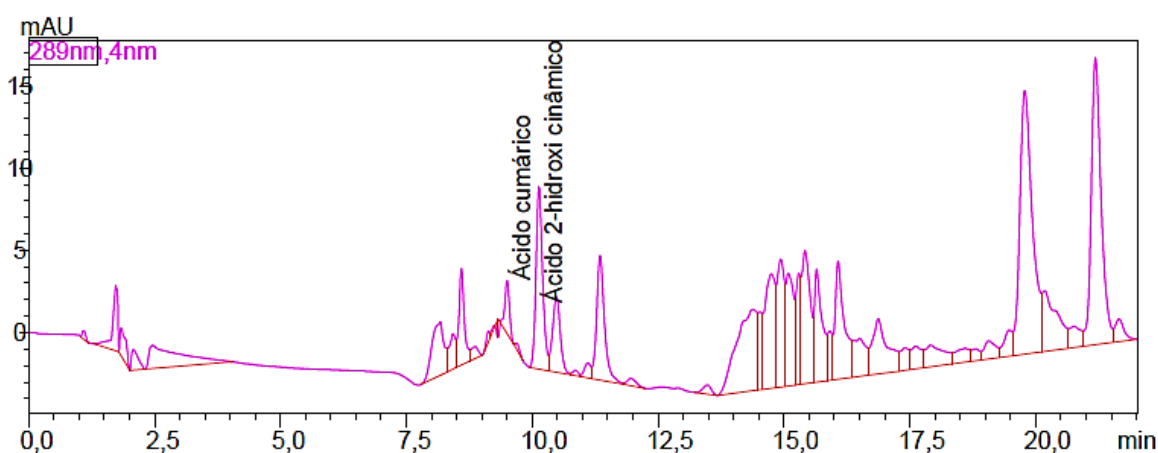


Figura S2. Análise do extrato ECBF em CLAE-DAD com identificação do ácido cumárico (t_R 9,414min) e ácido 2-hidroxi cinâmico (t_R 10,254min)

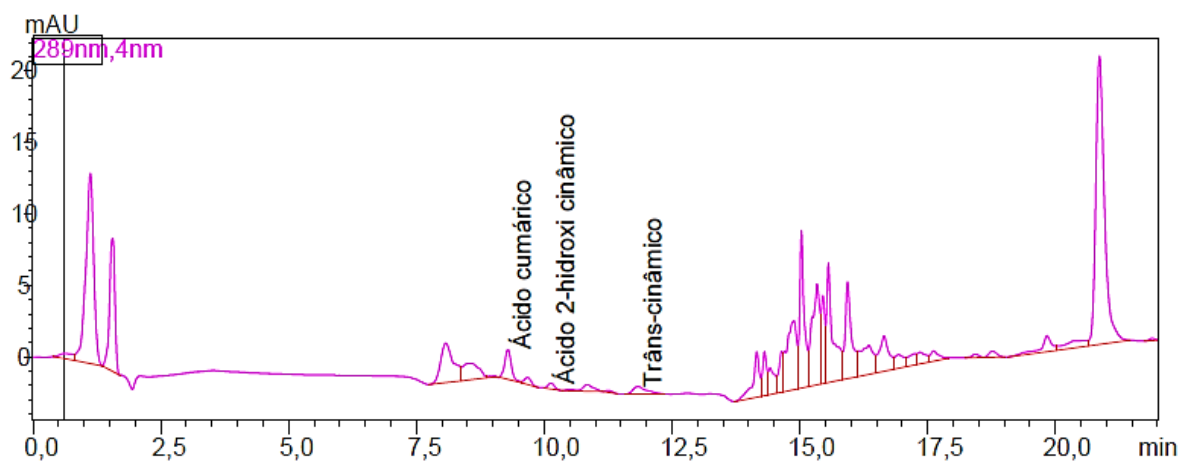


Figura S3. Análise do extrato ESAC em CLAE-DAD com identificação do ácido cumárico (t_R 9,443 min), ácido 2-hidroxi cinâmico (t_R 10,276 min) e ácido trans-cinâmico (t_R 12,015 min)

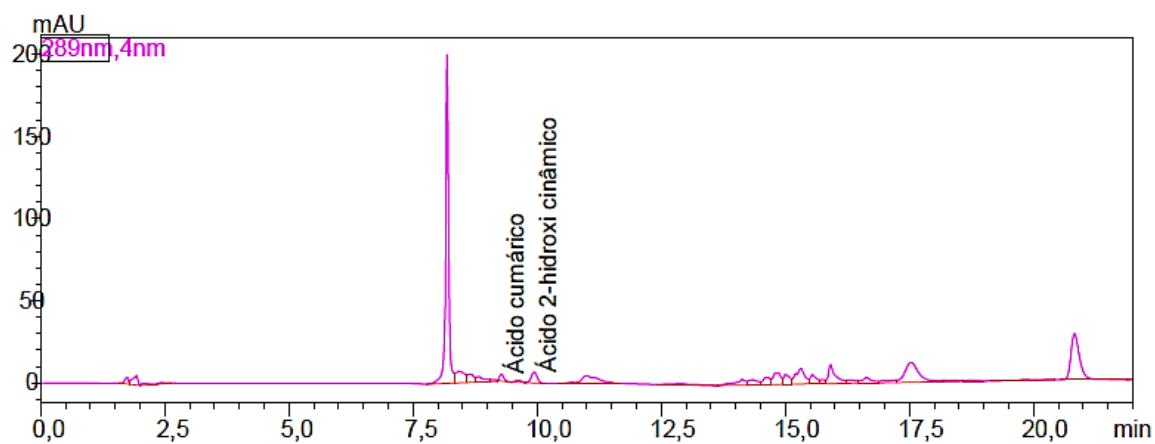


Figura S4. Análise do extrato ESAR em CLAE-DAD com identificação do ácido cumárico (t_R 9,281 min) e ácido 2-hidroxi cinâmico (t_R 9,940 min)

Este artigo/capítulo está formatado segundo as normas da Revista Virtual da Química
Disponível no site: [site da revista](#)

ARTIGO 2

Plantas brasileiras com efeito inibitório *in vitro* sobre a α -glicosidase

Souza, L.S.; Hackenhaar, D. S. M.; Bandeira, M.L.S.F. e Lima, L.S.*

Brazilian plants with in vitro inhibitory effect on α -glycosidase

Abstract:

Glycosidases are enzymes present in living organisms and perform essential functions in digestive processes and. Plant-extracted inhibitors offer an effective strategy to regulate carbohydrate breakdown by reducing hyperglycemia and consequently assist in treating conditions such as diabetes mellitus, inflammation, obesity and cancer. The present study presents a review about Brazilian plants with *in vitro* evaluation against the α -glucosidase enzyme from 2009 to 2019 using the Scopus, Science Direct Journals and Scielo databases. Half inhibitory concentrations (IC₅₀) value of 50 μ g/mL were defined as the most intense inhibitors, which demonstrated Brazilian plants that can act as candidates for the treatment of diabetes, and the development of medicines, nutraceuticals, or functional foods.

Keywords: Brazilian plants; Diabetes; Glycosidase; Enzyme inhibitor.

Resumo: As glicosidases são enzimas presente nos organismos vivos e desempenham funções essenciais nos processos digestivos e. os inibidores extraídos de plantas oferecem uma estratégia eficaz para regular a quebra do carboidrato reduzindo hiperglicemia e consequentemente auxilia no tratamento de patologias como a diabetes mellitus, inflamações, obesidade e câncer. O presente estudo apresenta uma revisão acerca das plantas brasileiras com avaliação *in vitro* frente a enzima α -glicosidase no período de 2009 a 2019 utilizando as bases de dados da Scopus, Science Direct Journals, Scielo e Google Acadêmico. Os valores de concentração mínima inibitoria (IC₅₀) inferiores a 50 μ g/mL foram definidas como inibidores mais intensas, que revelou plantas brasileiras que podem atuar como candidatas para o tratamento do diabetes, e o desenvolvimento de medicamentos, nutracêuticos ou alimentos funcionais.

Palavras-chave: Plantas brasileiras; Diabetes; Glicosidase; Inibidor enzimático.

Instituto Federal da Bahia, Campus Porto Seguro, 45810-000, Porto Seguro - BA, Brazil.
lucianolima@ifba.edu.br

Plantas brasileiras com efeito inibitório *in vitro* sobre a α -glicosidase.

Leinah Silva Souza^{a,b}, Daniela Séfora de Melo Hackenhaar^b, Marcus Luciano S. F. Bandeira^b e Luciano da Silva Lima^{b,*}.

^a Universidade Federal do Sul da Bahia, Campus Sosígenes Costa, 45810-000, Porto Seguro - BA, Brazil.

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus de Porto Seguro, 45810-000, Porto Seguro - BA, Brazil.

*lucianolima@ifba.edu.br

1. Introdução
2. Método *in vitro* para a avaliação da inibição da enzima alfa-glicosidase em substratos orgânicos
 - 2.1 Fármacos comerciais para o tratamento da *diabetes mellitus* (DM)
3. Plantas brasileiras com efeito inibitório sobre a α -glicosidase
 - 3.1 Myrtaceae
 - 3.2 Malpighiaceae
 - 3.3 Anacardiaceae
 - 3.4 Annonaceae
 - 3.5 Fabaceae
 - 3.6 Asteraceae
 - 3.7 Passifloraceae
 - 3.8 Apocynaceae
 - 3.9 Sapotaceae
 - 3.10 Lamiaceae
 - 3.11 Theaceae
 - 3.12 Solanaceae
 - 3.13 Malvaceae
 - 3.14 Meliaceae
 - 3.15 Moraceae
 - 3.16 Rubiaceae
 - 3.17 Myristicaceae
 - 3.18 Outras famílias
4. Agradecimentos
5. Considerações finais

1. Introdução

As glicosidases são encontradas em microrganismos, plantas e animais que participam de diversos processos metabólicos como resposta imune, reconhecimento intercelular,

diferenciação celular, estabilidade das proteínas. No organismo humano as enzimas possuem a função essencial na digestão de carboidratos complexos no processo digestivo e quando o indivíduo, desenvolve ou possui defeitos, ou deficiências genéticas, a inibição dessa enzima auxilia no tratamento de processos patológicos, como inflamações, obesidades, cânceres e infecções virais.^{1,2}

A *Diabetes mellitus* (DM) é uma patologia que tem como tratamento à inibição da α -glicosidase e os indivíduos portadores deste distúrbio utilizam inibidores orais (antidiabéticos) como medicação. Uma das principais vias de ação desses medicamentos é a inibição enzimática da hidrólise final dos carboidratos complexos provenientes da dieta alimentar, retardando a absorção da glicose e reduzindo os picos glicêmicos no organismo.¹ Atualmente os remédios mais utilizados no tratamento atuam como antagonistas enzimáticos da α -glicosidas. Entretanto, estudos relatam que esses compostos apresentam efeitos colaterais como flatulência, diarreia e dores abdominais.³

A DM apesar ser uma patologia antiga, ainda é uma das principais causadoras da cegueira, retinopatia, neuropatia, amputação dos membros inferiores, distúrbios cardiovasculares, hipertensão e infarto, e por consequência, a redução do tempo de vida dos portadores da doença. Dados de 2015 apontam a existência de 415 milhões de pessoas portadoras da doença em todo o mundo, gerando um gasto total de 673 bilhões de dólares e a previsão é que até 2040 o número de indivíduos com a doença aumente para 642 milhões. Ainda conforme os autores, a quantidade de mortes e de gastos com a saúde devido a essa patologia tende a aumentar em todo o mundo, causando grandes impactos sociais e econômicos.⁴

Em face da situação, inibidores da enzima α -glicosidase mais eficazes, seguros, de baixo custo e com menores efeitos colaterais, precisam ser identificados e o reino vegetal constitui-se em uma promissora fonte de novos inibidores.

O Brasil é um país que apresenta grande biodiversidade e variedade ecológica distribuída nos biomas da Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pantanal e Pampa.⁶ No ano de 2015, o Grupo da Flora do Brasil, destacou através de dados que o Brasil possui a maior riqueza vegetal do mundo, com aproximadamente 46 mil espécies de plantas catalogadas.⁷

Diante do contexto e da importância da identificação de inibidores mais eficazes para o tratamento de doenças como a *Diabetes mellitus*, o presente estudo objetivou a realização de um levantamento de espécies vegetais brasileiras com efeito inibitório *in vitro* da enzima α -glicosidase.

Este trabalho apresenta um estudo sistemático de plantas brasileiras com avaliação do potencial inibitório *in vitro* da enzima α -glicosidase, através do levantamento de artigos científicos publicados no período entre 2009 a 2019 a partir das palavras chaves “*alpha glucosidase*” AND Brazil e “*antidiabetic activity*” AND Brazil”, nas bases de dados da Scopus, Science Direct Journals, Scielo e Google Acadêmico (Figura 1). Foram encontrados 2952 artigos nas bases de dados pesquisadas, entretanto apenas 36 fazem parte desta revisão, os demais descreviam a avaliação *in vivo* e/ou com espécies vegetais de outros países. Além disso, havia artigos repetidos por constar em mais de uma base de dados.

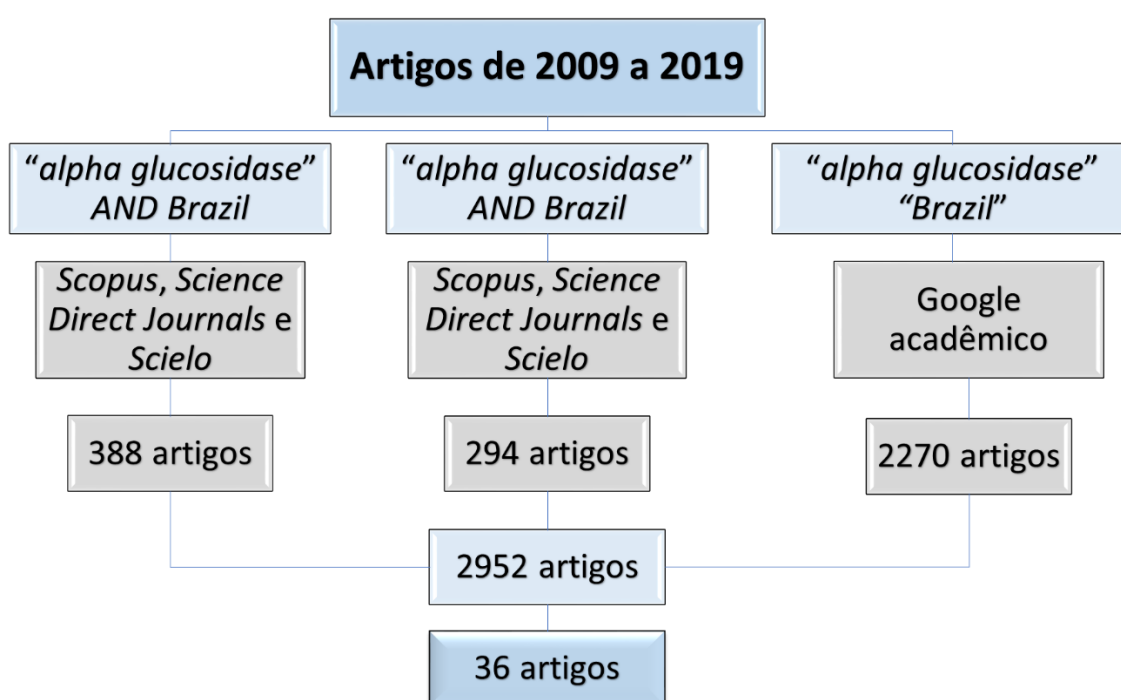


Figura 1. Representação das palavras chaves utilizadas em cada base de dados, com as respectivas quantidades de artigos encontrados

A Figura 2 mostra a quantidade de artigos publicados nos últimos 10 anos, seja para simples avaliação *in vitro* dos extratos e/ou para avaliação das substâncias isoladas de plantas brasileiras frente à enzima α -glicosidase. Percebe-se no geral que não há linearidade de publicações ao longo desses anos. No ano de 2009 não foi encontrado nenhum artigo publicado dentro desse scopus, e enquanto no período de 2010 a 2012 foram encontrados 6 artigos, sendo que 4 foram em 2012. O intervalo de 2013 a 2017 apresentou aumento crescente, conseguindo alcançar 7 artigos publicados. E mesmo esse número tendo tão poucos estudos publicados, ainda houve uma diminuição de 2017 a 2019. Dado interesse para a descoberta de agentes

inibidores mais eficazes diante do crescimento de indivíduos portadores de DM e a rica biodiversidade brasileira, esses números demonstram a necessidade de mais pesquisas nessa área.



Figura 2. Número de publicações de artigos relacionados à avaliação *in vitro* de extratos e/ou substâncias isoladas de plantas brasileiras quanto à capacidade de inibição da enzima α -glicosidase, no período de 2009 a 2019, em periódicos disponíveis nas bases de dados *Scopus*, *Science Direct Journals*, *Scielo* e *Google Acadêmico*

2. Método *in vitro* para a avaliação da inibição da enzima α -glicosidase em substratos orgânicos

A avaliação *in vitro* de inibição da enzima α -glicosidase foi relatada primeiramente por Kameda em 1980.⁸ Nesse relato os autores apresentaram um método de análise que consistia numa mistura reacional contendo 0,25 mL solução da alfa-glicosidase dissolvida em tampão fosfato 0,02 mol/L, em pH 6,8 (acetato no pH 5,5), 0,25 mL da solução do substrato em 0,01 mol/L de *p*-nitrofenil- α -D-glicosídeo e 0,5 mL da solução da amostra/inibidor em tampão, e incubação do meio reacional a 40 °C durante 15 minutos.

Em 1993 um método cromogênico em microplaca foi desenvolvido por Walker, Winder e Kellam⁹ a partir de um meio reacional contendo 50 μ L do tampão citrato de sódio 0,5 mol/L em pH 6,8 com 3 mmol/L $MgCl_2$, 100 μ L da amostra, 50 μ L da enzima em 0,1 U/mL em tampão e 50 μ L do substrato, o *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo, em concentração de 0,5 mg/mL. Esta metodologia orienta a dois momentos de incubação. O primeiro, ocorrendo após a adição do tampão, amostra e enzima a 37 °C por 30 min e o segundo momento, após adicionar o substrato, por 1 hora à 37 °C ou 2 horas na temperatura ambiente para a posterior adição da

solução do substrato, ou amostra. Watanabe e colaboradores (1997)¹⁰ propuseram uma modificação dessa metodologia com a pré-incubação e incubação em 5 min a temperatura ambiente, com baixos volumes e análise simultânea de diferentes amostras utilizando microplaca de 96 poços.

O pH é um fator determinante para o sucesso e eficiência reacional, e dados demonstram que o pH ideal para a atividade é entre 6 e 7,8. Neste contexto, em condições levemente alcalinas a reação ocorrerá mais rapidamente do que em meio muito ácido ou muito básico. Entretanto, a inibição em pH alcalino poderá ser revertida quando o substrato estiver em excesso.¹¹

Em 2008 Shinde e colaboradores¹² baseado em parâmetros descritos por Pistia-Brueggeman e Hollingsworth,¹³ utilizaram solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) para a finalização reacional da enzima com a amostra. Todavia, os autores referenciados descrevem o uso apenas nas avaliações com a enzima β -glicosidase para efeito de basificação, não sendo registrado para a α -glicosidase. Shinde e colaboradores¹² adaptaram a metodologia utilizando o Na_2CO_3 também para interromper o meio reacional com a α -glicosidase, objetivando a diminuição do erro no registro do tempo e leitura no espectrofotômetro. No entanto, alerta-se que a solução de carbonato de sódio pode aumentar o pH do meio, e como a alfa-glicosidase reage melhor em meio levemente básico, o uso dessa solução em elevadas concentrações pode causar a inativação da enzima.

O método de avaliação da inibição da α -glicosidase se baseia na hidrólise da ligação α -1,6 glicosídica do substrato *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo ocasionado pela enzima, com a produção do *p*-nitrofenil e a α -D-glicose, ilustrado na Figura 3.¹⁴ Todo processo reacional é monitorado pelo acréscimo da absorbância no comprimento de onda em 410 nm.

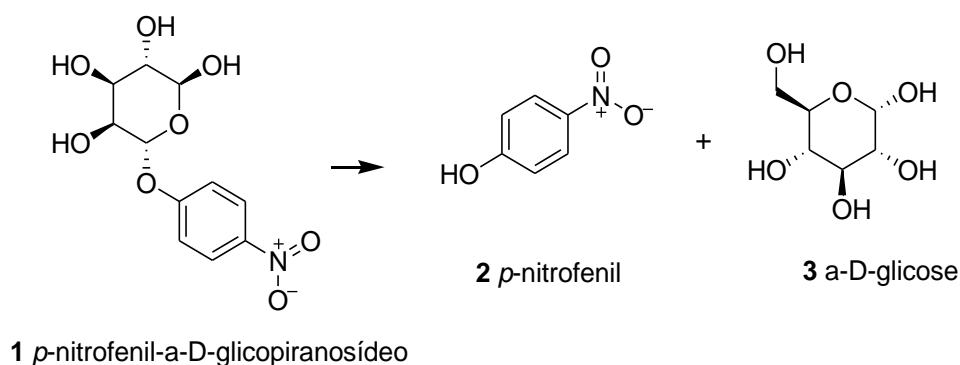


Figura 3. Esquema reacional da hidrólise do *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo

Normalmente a enzima é inibida por compostos que apresentam a histidina e/ou aminas.¹² Todo o processo é mensurada através da concentração inibitória média 50% (IC_{50}),

que é obtida pela equação da reta do gráfico da atividade de inibição (%) *versus* as concentrações. Em geral,¹⁵ são considerados inativos as espécies que apresentam $IC_{50} > 200$ $\mu\text{g/mL}$, pouco ativas IC_{50} 200 - 100 $\mu\text{g/mL}$, moderadamente ativas IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/mL}$ e intensamente ativas os $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/mL}$.

2.1.Fármacos inibidores comerciais para o tratamento da DM

Os principais fármacos comercializados para o tratamento da DM são a acarbose (**4**), desoxinojirimicina (**5**), o miglitol (**6**) e a voglibose (**7**) (Figura 4), e apresentam como mecanismo de ação a inibição da α -glicosidase. Essas substâncias são pseudo carboidratos que agem impedindo a degradação de carboidratos complexos em glicose, sendo normalmente indicados para tratamento da doença.^{2,5,16,17}

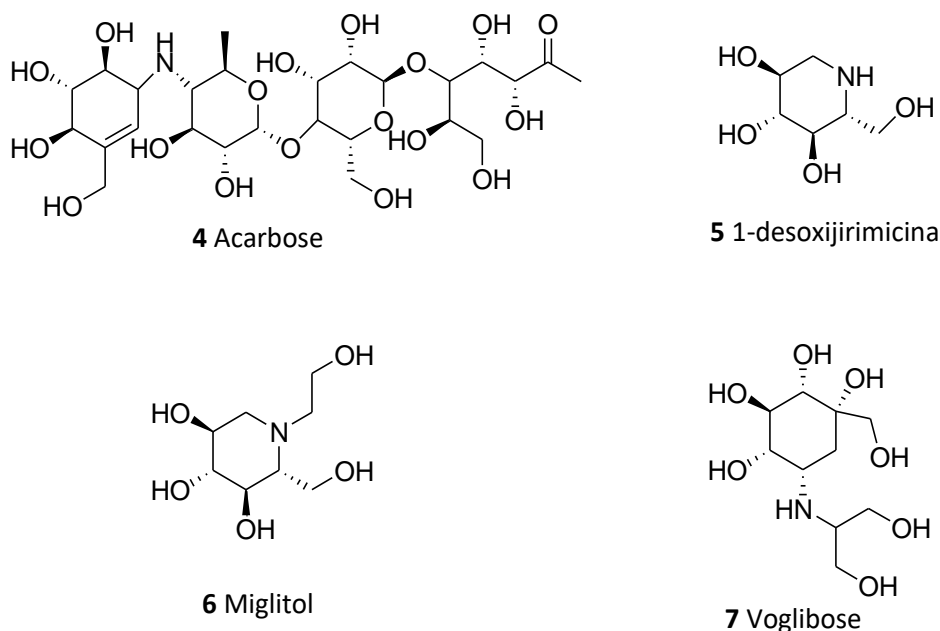


Figura 4. Estruturas dos compostos acarbose, 1-desoxinojirimicina, miglitol e voglibose

A acarbose (**4**), introduzida no mercado na década de 90,¹⁶ é um pseudotetrassacarídeo extraído do microorganismo *Actinoplane sutahensis* que possui grande afinidade pelos centros ativos das enzimas α -glicosidases, como a glicoamilase e a α -amilase, no entanto, não tem ação sobre as β -glicosidases. Alguns efeitos colaterais como problemas gástricos, flatulência, diarreia e dores abdominais são relatados ocasionado pela baixa absorção do medicamento no organismo.¹⁸

O miglitol (**6**) e a voglibose (**7**) foram comercializados a partir do ano de 1999,⁵ são análogos sintéticos da 1-desoxinojirimicina (**5**) que foi obtido das folhas de *Morus alba* L.,

planta conhecida popularmente no Brasil como Amora. Estes medicamentos apresentam absorção lenta e excreção rápida, ocorrendo pelas fezes ou pelos rins com a forma inalterada.^{19,20}

A ação dos inibidores no organismo humano caracteriza pelo retardo da digestão de carboidratos complexos e a eficácia está associada diretamente a dieta alimentar do indivíduo com baixo teor de carboidratos. Apesar da indicação desses fármacos, seu uso é bastante restrito, pois o acúmulo desses compostos no organismo provoca intensos efeitos colaterais.¹⁶

Atualmente ainda os preços comerciais dos inibidores apresentam valores elevados, e geralmente dificulta o acesso do medicamento a boa parte da população. Levantamento recente nas drogarias brasileiras locais foi constatado que a caixa contendo 30 comprimidos dos inibidores é comercializada com os valores médios de R\$ 38,45 para o acarbose, R\$ 345,92 para o miglitol e R\$ 133,30 a voglibose.

3. Plantas brasileiras com efeito inibitório sobre a α -glicosidase

O levantamento realizado nas bases de dados reporta a descrição da avaliação de inibição da α -glicosidase para 97 estudos referentes a 75 espécies distribuídas nos biomas brasileiros, e considerando o grande número de espécies já descritas na área territorial e biodiversidade brasileira, aproximadamente 46 mil espécies de plantas, é possível verificar a necessidade de estudos direcionados à busca e descoberta desses inibidores na flora brasileira.

Os estados do Amazonas, São Paulo e Minas Gerais (Figura 5) se destacaram com o maior número de espécies coletadas para a investigação da avaliação de inibição *in vitro* da enzima glicosidase. Todavia, estes dados em comparação com BFG⁷, percebe-se que a quantidade de espécies estudadas é muito baixa em relação aos números existentes nos estados. A Bahia, apesar da grande área da biodiversidade preservada e de ser o segundo estado com maior diversidade de angiospermas⁷, nenhuma espécie foi registrada para estudo dessa natureza. Algumas plantas não teve o Estado de origem descritas, sendo denominado de Estado indefinido, e no gráfico da Figura 5, seus dados foram associados a quantidade de angiospermas existentes no bioma de coleta, o Cerrado. Um aspecto importante na investigação foi à predominância de vegetais pertencentes às famílias Myrtaceae, onde 20% das espécies coletadas pertencem a essa família, seguida das famílias Fabaceae e Arecaceae que representam 6%, as demais variam entre 5% e 1% (Figura 6).

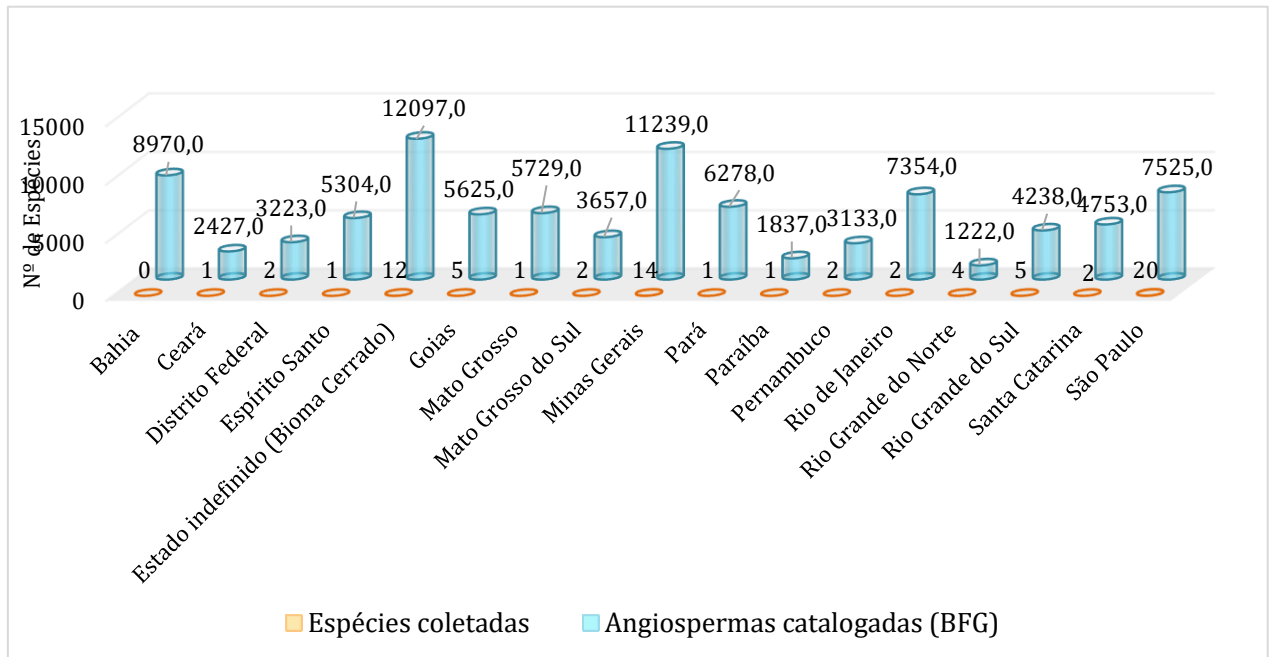


Figura 5. Números de espécies vegetais estudadas para a inibição *in vitro* da α -glicosidase por estados do Brasil em comparação com as angiospermas catalogadas em cada estado (dados BFG, 2015)

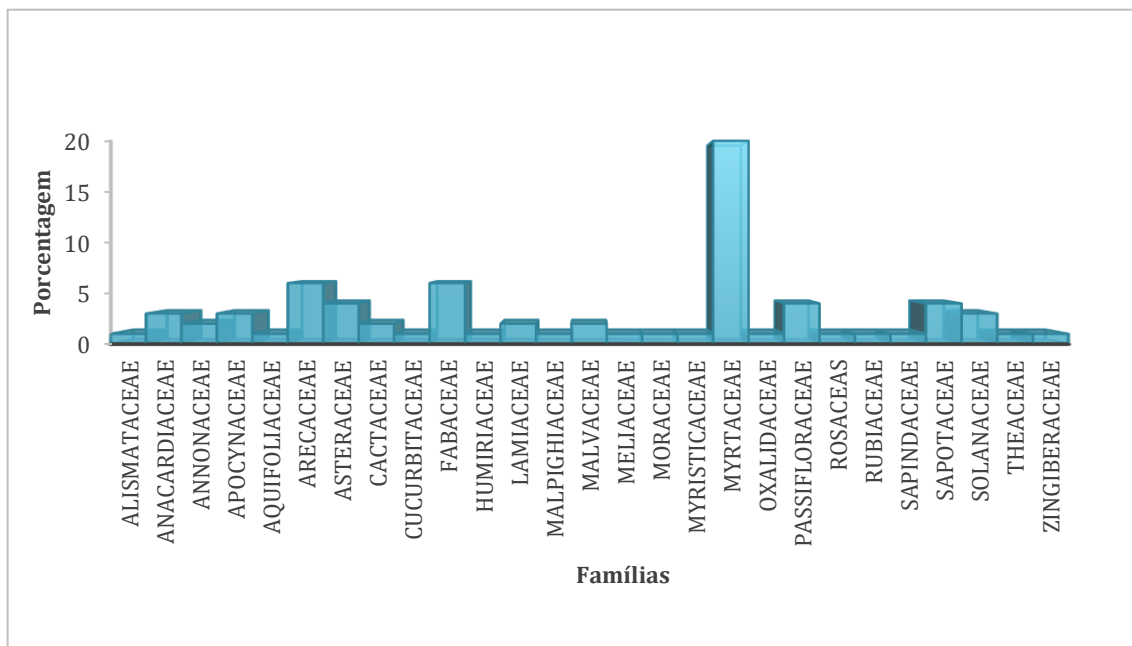


Figura 6. Porcentagem de espécies por famílias analisadas no Brasil para estudos realizados sobre a inibição da α -glicosidase

A Myrtaceae apresentar o maior quantitativo de espécies coletadas nos estudos desta revisão, apesar disso, ela não representa a principal família do Brasil. Segundo dados da BFG⁷, a Myrtaceae é a oitava família em maior proporção no país, sendo a primeira a família Fabaceae.

Neste contexto, embora muitos extratos das espécies das famílias tenham demonstrado atividade forte ou moderada¹⁵ merecem destaques no estudo, a *Eugenia dysenterica*, *Eugenia uniflora*, *Stryphnodendron adstringens* e *Hancornia speciosa* com inibição (IC₅₀) menor que 1 µg/mL (Tabela 1), todas sendo promissoras no auxílio do tratamento de doenças associadas à inibição da enzima.

Tabela 1. Descrição das espécies com maior atividade de inibição na avaliação com a enzima α-glicosidase

| Família | Espécie | Nome popular | IC ₅₀ (µg/mL)* | Referência | |
|----------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------|------------|----|
| Anacardiaceae | <i>Schinus terebinthifolia</i> | Aroeira vermelha | 16,13 | 42 | |
| Apocynaceae | <i>Hancornia speciosa</i> | Mangabeira | 0,4 | 31 | |
| | <i>Allamanda blanchetti</i> | Alamanda-roxa | 13,53 | 31 | |
| Asteraceae | <i>Eremanthus crotonoides</i> | - | 34,5 | 53 | |
| | <i>Stryphnodendron adstringens</i> | Barbatimão | 0,61 | 31 | |
| Fabaceae | <i>Arachis hypogaea</i> | Amendoim | 26,2 | 47 | |
| | <i>Virola venosa</i> | - | 11 | 64 | |
| Myristicaceae | <i>Eugenia dysenterica</i> | Cagaiteira | 0,77 | 31 | |
| | <i>Eugenia uniflora</i> | Pintangeira | 0,26 | 33 | |
| | <i>Eugenia punicifolia</i> | Cereja do cerrado | 2,9 | 36 | |
| | <i>Myrcia rubella</i> | - | 4,36 | 29 | |
| | Myrtaceae | <i>Myrcia guianensis</i> | Guamirim | 7,8 | 29 |
| | | <i>Myrcia virgata</i> | - | 6,29 | 29 |
| | | <i>Myrcia vestita</i> | - | 13,6 | 29 |
| | | <i>Myrcia torta</i> | - | 5,31 | 29 |
| Passifloraceae | <i>Myrcia variabilis</i> | - | 3,17 | 29 | |
| | <i>Passiflora nitida</i> | Maracujá-de-cheiro | 6,78 | 54 | |
| Sapotaceae | <i>Pouteria caimito</i> | Abiu | 6,42 | 31 | |
| | <i>Pouteria torta</i> | Abiu amarelo | 0,22 | 31 | |
| | <i>Pouteria gardneri</i> | Guapevinha | 4,03 | 31 | |
| | <i>Pouteria ramiflora</i> | Abiu do cerrado | 2,64 | 31 | |
| Theaceae | <i>Camellia sinensis</i> | Chá ou chá-verde | 10,68 | 33 | |

*IC₅₀= Concentração inibitória média.

3.1. Myrtaceae

A Myrtaceae é uma família de predominância de árvores, arbustos ou ervas, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, com cerca de 140 gêneros e 5600 espécies, sendo os gêneros mais comuns o *Eucalyptus*, *Syzygium*, *Eugenia*, *Myrcia*, *Melaleuca*, *Corymbia*, *Psidium*, *Campomanesia* e *Calyptanthus*. Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como a pitanga e a goiaba. No Brasil, já foram descritos 23 gêneros e 1028 espécies, sendo 4 gêneros e 790 espécies são consideradas endêmicas.²¹ As

espécies da família são ricas em metabólitos secundários da classe dos terpenos que geralmente estão presentes em óleos.²²

A *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum conhecida popularmente como "cambuci" ou "cambucizeiro", apresentou efeito inibitório sobre a α -glicosidase com IC₅₀ 1,1 μ g equivalente a catequina/mL para o extrato purificado da polpa da fruta em poliamida e 1,1 μ g equivalente de catequina/mL para o extrato purificado em cartucho C₁₈.²³ Foi obtido por outros autores²⁴ o IC₅₀ 0,3 mg/mL para o extrato da polpa de fruta e 0,2 mg/mL para o extrato purificado em cartuchos de poliamida.

Os extratos de *Myrcia riasstrigipes* (cambucá de praia), *Myrcia cauliflora* (jaboticaba) e *Myrcia dúbia* (camu-camu) também demonstraram atividade de inibição. O extrato etanólico da *M. strigipes*²⁵ exibiu IC₅₀ igual a 40,66 μ g/mL, enquanto os extratos das polpas de fruta de *M. cauliflora* e *M. dubia* apresentaram IC₅₀ 10,7 e 1,67 μ g equivalente de catequina/mL, respectivamente.²³ Os extratos de *M. dubia* coletadas na Amazonas e em São Paulo apresentaram o mesmo valor de IC₅₀ 50 μ g/mL, não apresentando diferenças de potenciais mesmo em regiões diferentes.²⁶ Outros autores^{24,27} avaliaram o resíduo despulpado e as frutas da espécie sendo obtido baixa atividade de inibição.

Alezandro e coautores²⁸ investigaram os frutos, frações da pele, polpa e sementes dos frutos da espécie *M. cauliflora* (jaboticaba) em fase de maturação elevada e consequente teores de antocianinas altos e reportaram que os extratos apresentaram forte potencial inibitório frente a enzima α -glicosidase com os valores de IC₅₀ 0,5, 0,8, 0,3 e 0,2 μ g equivalente de catequina/ μ L de reação, respectivamente. Diante dos dados expostos, pode ser destacar a espécie *M. jaboticaba* como promissora fonte de compostos inibitórios da enzima.

Os extratos de acetato de etila de seis espécies do gênero *Myrcia*, *M. guianensis* (guamirim), *M. virgata*, *M. vestita*, *M. rubella*, *M. torta* e *M. variabilis*, foram avaliados e apresentaram potencial inibidor IC₅₀ 7,80, 6,29, 13,60, 4,36, 5,31 e 3,17 μ g/mL, respectivamente.²⁹ Os autores também desenvolveram uma metodologia em HPLC-HRMS-SPE-NMR para a identificação dos constituintes antidiabéticos do extrato acetato de etila da *M. rubella*. Dos 31 compostos identificados, os compostos ácido 4,5-dicafeoilquinico (**8**), Isoquercitrina (**9**), Quercetina-3-*O*- β -D-glucoronídeo (**10**), Kaempferol-3-*O*-(6''-*O*-galoil)- β -D-glicopiranosídeo (**11**), Quercetina-3-*O*-malonilglicosídeo (**12**), Quercetina-3-*O*-(6''-*O*-*E*-*p*-feruloil)- β -D-glicopiranosídeo (**13**) e Quercetina-3-(2-*E*-sinapoil)-*O*-glicopiranosídeo (**14**) (**Figura 7**) apresentaram potencial inibitório mais efetivo que o composto de referência acarbose (IC₅₀ 594 μ M) diante da enzima, com valores de IC₅₀ entre 1,98 e 22,40 μ M.

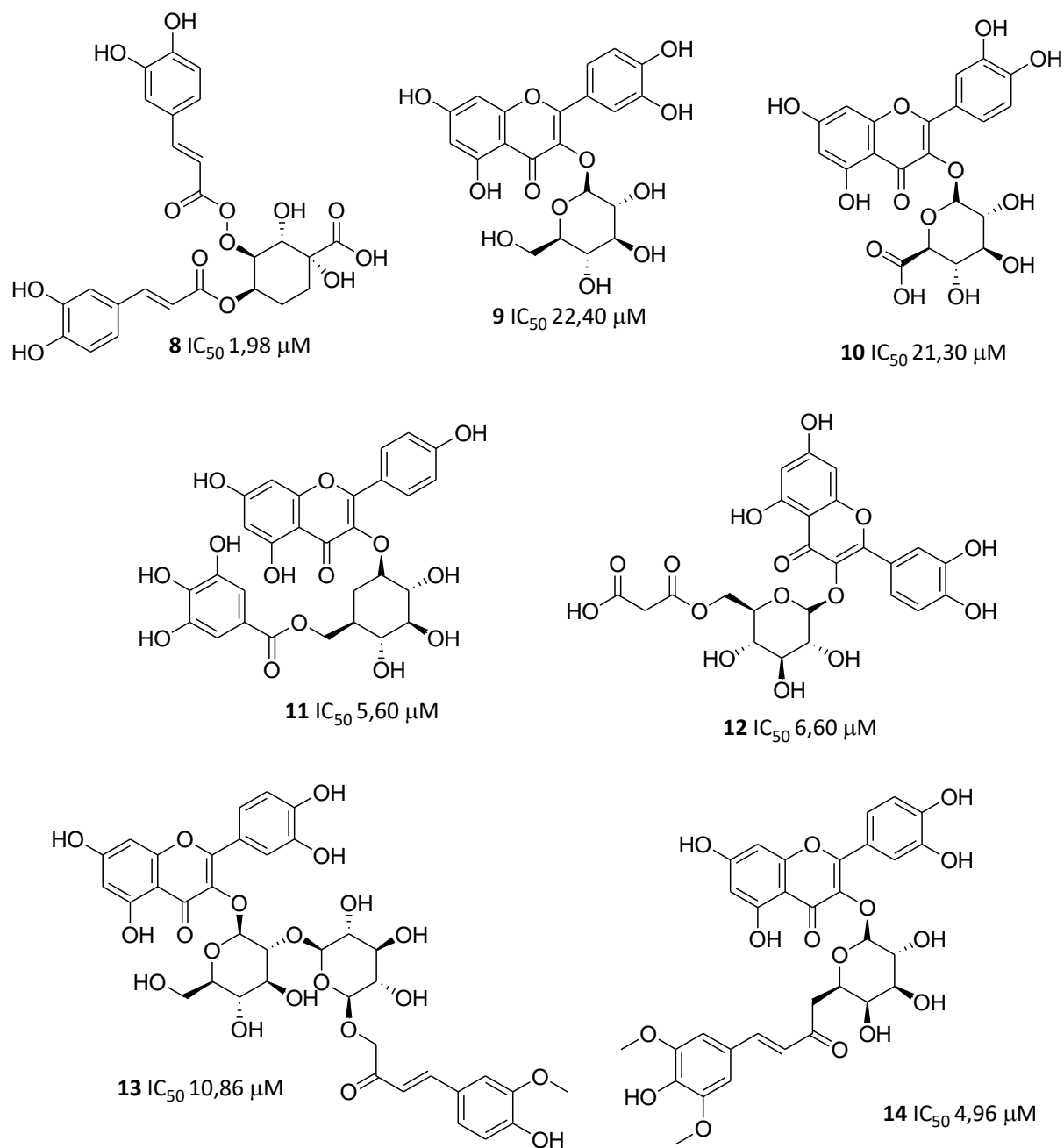


Figura 7. Compostos isolados da *M. rubella* com potencial inibidor da enzima α -glicosidase

Wubshet e colaboradores³⁰ através de metodologia também desenvolvida em HPLC–HRMS–SPE–NMR identificaram dos extratos das folhas de *Myrcia palustres* (pitangueira do mato) a casuarinina, o miricetina, ambos com inibição de entorno de 80%, a quercetina, a miricetina 3-*O*- β -D-(6''-galloil)-galactopiranosídeo e o kaempferol 3-*O*- β -D-galactopiranosídeo, com 40% em atividade de inibição da enzima digestiva.

As espécies do gênero *Eugenia*, a *E. dysenterica* (cagaita), *E. stipitata* (araçá-boi), *E. puniceifolia* (cereja do cerrado) e *E. uniflora* (pitanga) foram avaliados quanto a inibição da enzima α -glicosidase. A *E. dysenterica* apresentou forte inibição (IC_{50} 0,77 μ g/mL)³¹, porém

no estudo realizado por outros autores foram observados menor capacidade de inibitória.^{23,24,32} Os extratos da *E. uniflora* e *E. puniceifolia* também exibiram intensa capacidade, com IC₅₀ de 0,26 e 2,9 µg/mL, respectivamente. Sendo que a *E. uniflora* mesmo em concentrações baixas demonstrou quase 100% de inibição da alfa-glicosidase.³³⁻³⁶ Já a espécie *E. stipitata*²⁴ demonstrou valores altos para o IC₅₀ indicando baixo potencial inibitório.²⁴

Os extratos de *Psidium guineenses* (araçá do campo), *Psidium cattleianum* (araçá do vermelho) e *Syzygium cumini* (jamboleiro) apresentaram valores altos IC₅₀, indicando baixa atividade de inibição da enzima.^{27,34-38}

Portanto, a maioria das plantas da família Myrtaceae, apresentaram potencial inibitório forte para a α-glicosidase e conseqüente são promissoras para o tratamento de doenças associadas a enzima.

3.2. Malpighiaceae

A Malpighiaceae é uma família composta por árvores, arbustos ou ervas, representada por 75 gêneros e aproximadamente 1300 espécies. Os gêneros mais comuns são o *Malpighia*, *Byrsonima* e *Galphimia*.³⁹ Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como a acerola e o mucuri. No Brasil já foram descritos 45 gêneros e 574 espécies, sendo que 3 gêneros e 349 espécies são endêmicas e se encontram distribuídas nos biomas da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal.²¹

O extrato metanólico da farinha do bagaço de *Malpighia marginata* (acerola) apresentou atividade inibitória de 78,51 µmol.min⁻¹.g⁻¹ de matéria seca.⁴⁰ A atividade foram associadas a presença dos compostos fenólicos como o ácido gálico (3,32 mg/L), catequina (11,33mg/L), epigalocatequinagalato (9,13 mg/L), epicatequina (91,86 mg/L), ácido sirínico (37,16 mg/L), ácido *p*-ocamarico (2,41 mg/L) e quercetina (0,29 mg/L) identificados por UHPLC-UV.

3.3. Anacardiaceae

A família Anacardiaceae presente em áreas tropicais ou subtropicais, com cerca de 80 gêneros e 800 espécies, se apresenta na forma de árvores, arbustos e lianas.⁴¹ Os gêneros mais comuns são *Antrocaryon*, *Cotinus*, *Pistacia*, *Schinus* e *Spondias*. Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como a aroeira e o caju. No Brasil foram relatados cerca de 14 gêneros e 56 espécies, com 1 gênero e 16 espécies endêmicas.²¹ As plantas da família são ricas em metabólitos secundários com grande potencial medicinal.

A avaliação dos extratos da espécie *Schinus terebinthifolia* (aroeira-vermelha) frente a enzima α -glicosidase apresentou potencial elevado para a fração das folhas (IC₅₀ de 16,13 μ g/mL), raiz (31,16 μ g/mL) e caule (33,01 μ g/mL). Ainda nos dados apresentando pelos autores, o ácido gálico e seus derivados, galotaninos e flavonóis glicosilados de miricetina, quercetina e kaempferol foram identificados na fração das folhas.⁴² Enquanto a *Spondias sp.* (umbu-cajazeira) e *Spondias tuberosa* (umbuzeiro), pertencentes a mesma família, não apresentaram atividades significativas na avaliação.^{24,35}

3.4. Annonacea

A família Annonaceae possui 119 gêneros e mais de 2.000 espécies presente em zonas tropicais e subtropicais.⁴³ Os gêneros mais comuns da família são *Guatteria*, *Xylopia*, *Uvaria*, *Annona*, *Polyalthia*, *Artabotrys* e *Rollinia*. Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como a pinha e a graviola. No Brasil, foram registrados 29 gêneros e 372 espécies, sendo que 3 gêneros e, 145 espécies são endêmicas e se encontram distribuídos nas áreas da Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado.²¹ As espécies são ricas em metabólitos como terpenóides aromáticos, alcaloides do tipo benzilisoquinolínico e taninos.²²

Os extratos acetato de etila e butanólico da espécie *Annona muricata* (graviola) foram investigados o potencial frente à enzima α -glicosidase e apresentaram atividade moderada com IC₅₀ igual a 413,1 e 817,4 μ g/mL, respectivamente. Ainda, foram identificados nas frações compostos como o ácido clorogênico e cafeico, procianidinas B2 e C1, catequina, quercetina, quercetina-hexosídeos e kaempferol.⁴⁴ Em outro estudo, os extratos da espécie também foram avaliados por Goncalves e colaboradores^{24,37} e apresentaram baixa taxa de inibição e os valores de IC₅₀ não foram expostos pelos autores.

A análise do extrato acetato de etila e butanólico da casca da fruta da *Annona cassiflore* (pinha) exibiram atividade moderada (IC₅₀ 554,5 e 787,8 μ g/mL).⁴⁵ Já a polpa da fruta dessa espécie exibiu melhores resultados para o extrato metanólico (IC₅₀ de 1,3 mg/mL) e também para o extrato purificado com poliamida (IC₅₀ 1,8 mg/mL).²⁴ A divergência nos dados encontrados, pode está associada à diferentes partes da planta utilizada nos estudos, visto que os primeiros autores utilizaram a casca da fruta, enquanto que os outros a polpa da fruta, além disso, as plantas foram coletadas em diferentes localidades.

3.5. Fabaceae

A Fabaceae ou Leguminosae é uma família extensa com cerca de 770 gêneros e 19.500 espécies. É considerada a terceira maior família das angiospermas.⁴⁶ Algumas espécies da família são conhecidas e consumidas em todo o mundo, como o feijão e a soja. No Brasil já foram catalogados 223 gêneros e 2844 espécies, com 16 gêneros e 1540 espécies de ocorrência exclusiva e distribuída nos ecossistemas da Amazônia, Mata Atlântica, Caatinga, Cerrado, Pantanal e Pampa.²¹ Normalmente as espécies da família se apresentam como ervas, árvores, arbustos ou lianas, que são encontrados taninos, alcaloides e/ou compostos cianogênicos.²²

O Extrato da casca da semente de *Arachis hypogaea* (amendoim), o extrato hidrometanólico da *Bauhinia fortificata* (pata-de-vaca), a fração etanólica da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão-verdadeiro) e o extrato de *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá do cerrado) foram avaliados frente a enzima digestiva e exibiram atividades com IC₅₀ igual a 26,2 µg/mL,⁴⁷ 298,34 µg/mL,⁴⁸ 0,61 µg/mL³¹ e 31 µg equivalente de ácido gálico /mL,⁴⁹ respectivamente. Os extratos etanólico e hexânico da *B. fortificata*, apresentaram menores atividades do que o extrato hidrometanólico da espécie, com percentual inibitório inferior a 40%.³⁷

O Lonchocarpeno (15) e 3,5-dimetoxi-4'-*O*-prenil-trans-estilbeno (16) (Figura 6), compostos isolados da espécie *Deguelia rufescens*, coletadas na Amazônia, demonstraram após investigação ser inativas para a inibição da enzima,⁵⁰ embora apresentem ação dependente da concentração sobre a atividade da enzimática, com valores de IC₅₀ 0,75 M (750000 µM) para o lonchocarpene (15) e 0,76 M (760000 µM) para o 3,5-dimetoxi-4'-*O*-prenil-trans-estilbeno (16) (Figura 8).

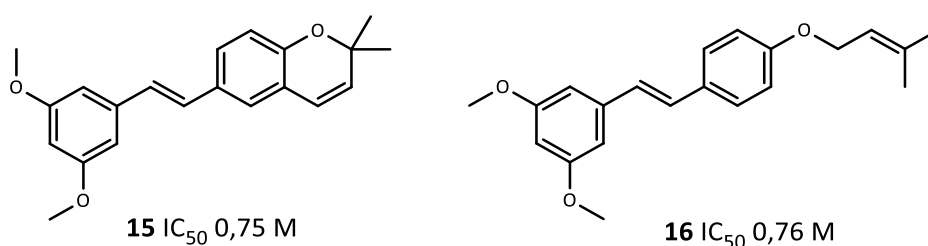


Figura 8. Compostos, isolados de *Deguelia rufescens*

O potencial da espécie *Tamarindus indica* (tamarindo) também foi investigada, porém não apresentou inibição significativa.^{23,49}

3.6. Asteraceae

A Asteraceae é a maior família de Eudicotiledônea, com cerca de 1700 gêneros e 24000 espécies.⁵¹ Algumas espécies desta família são bem conhecidas em todo o mundo, como o girassol e a margarida. No Brasil, possui 290 gêneros e 2099 espécies, sendo endêmicos 70 gêneros e 1328 espécies consideradas endêmicas, no qual podem ser encontradas em forma de ervas, arbustos ou árvores nos ecossistemas da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal.²¹ Os gêneros como *Senecio*, *Vernonia*, *Cousinia*, *Eupatorium*, *Centaurea* e *Artemisia* se destacam por ser comum encontrar poliacetilenos, óleos aromáticos, terpenóides e/ou lactonas sesquiterpênicas.²²

Na família foram avaliadas o potencial frente a enzima digestiva, as espécies *Arctium lappa* (bardana), *Chamomilla recutita* (camomila), *Baccharis trimerae* (carqueja) e *Eremanthus crotonoides*. Contudo, apenas a *E. crotonoides*, avaliada por Silva e colaboradores, exibiu atividade de inibição significativa, com valor de IC₅₀ de 34,5 µg/mL.^{37,52,53}

Os compostos quercetina (**17**), luteolina (**18**), 3'4',5,7-Tetrahidroxi-3-metoxiflavona (**19**), éster butílico do ácido 3,5-di-*O*-cafeoilquinóico (**20**) e éster butílico do ácido 4,5-di-*O*-cafeoilquinóico (**21**) (Figura 9) obtidos do extrato acetato de etila de *E. crotonoides* foram submetidos também a avaliação da inibição da α-glicosidase, e demonstraram intensa atividade com os valores do potencial inibitório superiores ao do padrão acarbose (IC₅₀ 859,79 µM), com IC₅₀ de 7,19, 59,64, 20,36, 5,93, 5,20 µM, respectivamente.⁵³ Diante disso, os autores afirmaram que a espécie apresenta grande potencial para o tratamento fitoterápico antidiabético.

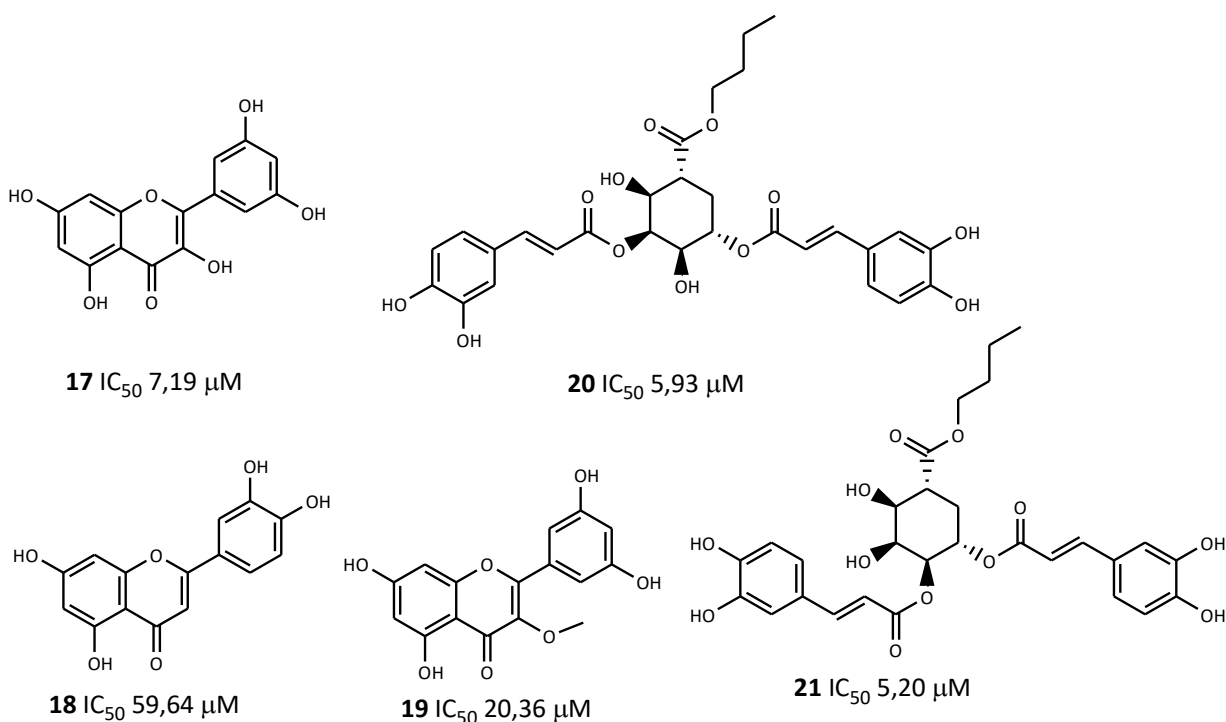


Figura 9. Compostos isolados da espécie *E. Crotonoides* com potencial inibitório da α -glicosidade

3.7. Passifloraceae

A família Passifloraceae possui 18 gêneros e 630 espécies em áreas tropicais e subtropicais, como América e África.²² Em forma de árvores ou arbustos, no Brasil, estão distribuídos pelos ecossistemas Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal e já foram relatados 4 gêneros e 154 espécies, sendo 89 espécies endêmicas.²¹ Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como o maracujá. Seus principais gêneros são *Passiflora* e *Adenia*. Normalmente as plantas da família apresentam compostos como glicosídeos cianogênicos, com anel ciclopentenóide e alcalóides.²²

Quatro espécies do gênero *Passiflora* foram investigados quanto ao potencial frente a enzima α -glicosidase, a *Passiflora ligularis* (maracujá-doce), *Passiflora alata* (maracujá de frescos), *Passiflora nitida* (maracujá de cheiro) e *Passiflora tenuifila* (maracujá-silvestre). O extrato hidroetanólico das folhas de *P. nitida* demonstrou intensa atividade de inibição (IC₅₀ de 6,78 $\mu\text{g/mL}$).⁵⁴ Já o extrato da polpa da fruta de *P. tenuifila* apresentou IC₅₀ 2,6 μg equivalente de catequina/mL para a fração purificada com poliamida e 1,4 μg equivalente de catequina/mL para a fração extraída com cartuchos C₁₈.²³ As demais espécies não exibiram IC₅₀ com atividade significativa.²⁴

3.8. Apocynaceae

A família Apocynaceae apresenta 355 gêneros e 3700 espécies.²² No Brasil, possui aproximadamente 78 gêneros e 782 espécies, sendo 6 gêneros e, 425 espécies são consideradas endêmicas, e estão distribuídas nas regiões da Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pampa e Pantanal.²¹ Algumas espécies desta família são bem conhecidas em todo o mundo, como a mangaba e a peroba. Os gêneros mais comuns são a *Asclepias*, *Tabernaemontana*, *Cynanchum*, *Ceropegia*, *Hoya*, *Matelea* por apresentar compostos bioativos como os cardioglicosídeos, alcalóides e iridóides. As espécies da família também são conhecidas por apresentar toxicidade elevada.²²

Os extratos, etanólico e hexânico, das folhas de *Hancornia speciosa* (mangaba) foram investigados e apresentaram potencial inibitório forte com valores de IC₅₀ 10,41 e 15,56 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.³¹ Outras frações da espécie também foram analisadas e apresentaram os seguintes potenciais de IC₅₀ 0,4 $\mu\text{g/mL}$ para a fração de acetato de etila, 0,68 $\mu\text{g/mL}$ para a fração diclorometano/acetato de etila, 0,69 $\mu\text{g/mL}$ para fração diclorometano, 0,7 $\mu\text{g/mL}$ para

a fração acetato de etila/metanol, 0,73 µg/mL para extrato etanólico e 0,74 µg/mL para o metanólico.⁵⁵

Outras duas espécies da família foram analisadas, a *Allamanda blanchetti* (alamanda-roxa) e a *Tabernaemontana solanifolia* (leiteira). Onde os extratos hexânico das frutas e das folhas de *A. Blanchetti* expressaram valores de IC₅₀ 13,53 e 103,20 µg/mL, respectivamente. No extrato hexânico das folhas de *T. Solanifolia* demonstrou menor potência de inibição (IC₅₀ 295,80 µg/mL).³¹

3.9. Sapotaceae

A família Sapotaceae se distribui em áreas tropicais, sendo composta por 53 gêneros e 1100 espécies.²² Em forma de árvores ou arbustos, no Brasil encontra-se nas regiões Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, com aproximadamente 12 gêneros e 235 espécies, sendo 104 espécies são consideradas endêmicas.²¹ Os gêneros *Pouteria*, *Palaquium*, *Machuca*, *Sideroxylon*, *Chrysophyllum* *Mimusops* pertecem a família e normalmente encontra-se compostos como taninos, triterpenóides e cianogênicos²². Algumas espécies desta família são bem conhecidas em todo o mundo, como o sapotí e a mçaranduba.

As espécies *Pouteria caimito* (abiu), *Pouteria gardneri* (guapevinha), *Pouteria ramiflora* (abiu do cerrado) e *Pouteria torta* (abiu amarelo), foram investigadas frente a inibição da enzima α-glicosidase. Onde o extrato etanólico das folhas de *P. caimito* apresentou IC₅₀ 6,42 µg/mL.³⁰ Outros autores²⁴ investigaram a espécie, através da análise da polpa de fruta que demonstrou inativa.

As demais espécies do gênero avaliadas demonstraram potencial inibitório intenso, onde é possível destacar: O extrato aquoso das folhas e o etanólico das cascas do fruto de *P. torta* com IC₅₀ 0,22 µg/mL e 1,85 µg/mL, respectivamente. E os extratos etanólicos das folhas de *P. gardneri* e *P. Ramiflora* apresentaram inibição de IC₅₀ 4,03 e 2,64 µg/mL, respectivamente.³¹ Estes resultados demonstram que o gênero apresenta propriedades importantes na inibição da enzima digestiva e, necessita de estudos mais profundos para o isolamento dos constituintes químicos, bem como, a investigação em outras espécies do gênero.

3.10. Lamiaceae

A família Lamiaceae apresenta 7200 espécies em 236 gêneros,⁵⁶ em forma de árvores, arbustos ou ervas. No Brasil é possível encontrar 45 gêneros e 527 espécies, sendo que 6 gêneros e 346 espécies são consideradas endêmicas e se encontram distribuídas na Amazônia,

Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal.²¹ Os gêneros são *Salvia*, *Hyptis*, *Clerodendrum*, *Thymus*, *Plectranthus*, *Scutellaria* destacam-se por apresentar espécies ricas em óleos aromáticos.²² Algumas espécies desta família são bem conhecidas em todo o mundo, como a hortelã e o alecrim.

As espécies *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Plectranthusneo chilus* (boldo) foram investigadas frente ao potencial inibitório da enzima digestiva, porém, somente a *Plectranthusneo chilus* apresentou atividade significativa. Os extratos aquosos e hexânicos da espécie inibiram atividade com IC₅₀ 48,11 e 30,63 µg/mL, respectivamente,³¹ e enquanto os da *Rosmarinus officinalis* apresentou inibição inferior a 40%.³⁷

3.11. Theaceae

A família Theaceae possui cerca de 9 gêneros e 195 espécies,⁵⁷ na forma de árvore ou arbustos. Os gêneros mais conhecidos são *Camellia*, *Gordonia*, *Pyrenaria*, *Polyspora*, *Laplaceae* *Stewartia*, e podem conter compostos como taninos.²² Algumas espécies desta família são bem conhecidas em todo o mundo, como a camélia e o chá-preto.

A *Camellia sinensis* (chá-verde) foi a única espécie da família Theaceae com registro da avaliação frente a enzima glicosidase. Em um dos estudos, os sachês obtidos comercialmente de chá foram avaliados e não apresentaram inibição forte.⁵⁸ Franco e colaboradores³⁷ analisaram o extrato etanólico e hexânico das folhas da espécie e obteve de inibição menor que 40%. Todavia, o extrato etanólico das folhas analisado por Vinholes e Vizzotto³³ exibiu IC₅₀ 10,68µg/mL, sugerindo que as substâncias podem ter se degradado nos sachês de chás comerciais e/ou as plantas sofreram influência dos locais de coleta.

3.12. Solanaceae

Solanaceae é uma família com cerca de 90 gêneros e 3000 espécies,⁵⁹ distribuída como ervas, arbustos e árvores. No Brasil já foram registrados 4 gêneros endêmicos e 488 espécies, do qual 288 são consideradas endêmicas.²¹ O *Solanum*, *Lycianthes*, *Cestrum*, *Nicotiana*, *Physalise* *Lycium* são tidos como os principais gêneros e comumente são identificadas diversas classes de alcaloides em espécies da família.²² Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como o tomate e a pimenta.

O extrato acetato de etila da espécie *Solanum americanum* (maria-pretinha) exibiu IC₅₀ 103,34 µg/mL frente à inibição da enzima glicosidase. Frações do extrato obtidas por método otimizado em HPLC-HRMS-SPE-NMR apresentaram atividade. As frações foram identificadas como (Figura 10): N-trans-*p*-coumaroilactopamina e apresentou 87% de atividade

inibitória (IC_{50} 2,3 μ M); N-trans-*p*-feruloilactopamina exibiu 5% de atividade de inibição (IC_{50} 198,6 μ M); N-Trans-*p*-coumaroil tiramina com 95% de atividade (IC_{50} 2,7 μ M) e o N-trans-*p*-feruloil-estilina apresentou 25% de atividade de inibição (IC_{50} 234,1 μ M).⁶⁰

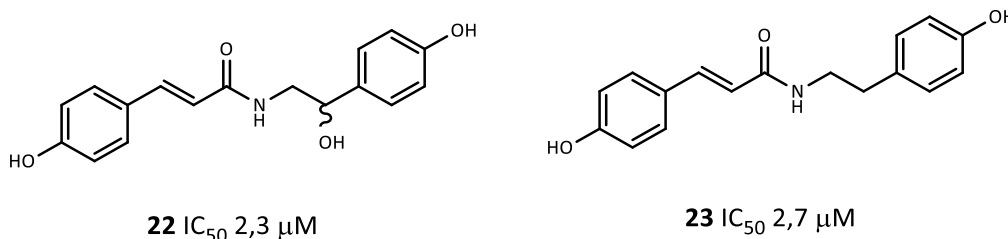


Figura 10. Compostos identificados do extrato de *S. americanum* que apresentaram destaque pela forte atividade de inibição da enzima α -glicosidase

Outra espécie do gênero também foi investigada, *Solanum sessiliflorum* (tomate de índio), porém não apresentou atividade de inibição.²⁴

3.13. Malvaceae

A família Malvaceae é distribuída por áreas tropicais e subtropicais, possuindo cerca de 244 gêneros e 4225 espécies.⁶¹ No Brasil encontram-se em ecossistemas como Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantana, com aproximadamente 73 gêneros e 791 espécies, sendo que 7 gênero e 422 espécies são endêmicas.²¹ Podem-se destacar os gêneros na família, *Hibiscus*, *Sterculia*, *Dumbeya*, *Sida*, *Pavonia*, *Grewia*, *Cola*, *Abutium* e *Triumfetta*.²² Algumas espécies da família são conhecidas em todo o mundo, como a malva e o cacau.

Apenas a espécie *Theoboma grandiflorum* pertencente a família e foi investigada o potencial de inibir a enzima digestiva. Conhecida popularmente como cupuaçu, a polpa de fruta da espécie foi analisada, e foi obtido IC_{50} 2,1 μ g equivalente de catequina/mL para o extrato purificado com poliamida e 1,6 μ g equivalente de catequina/mL para fração extraída a partir de cartuchos C₁₈.²³ Outros autores também avaliaram polpa de fruta dessa espécie e não registraram potencial de inibição.²⁴

3.14. Meliaceae

É uma família com cerca de 90 gêneros e 575 espécies⁶² distribuídas por áreas tropicais e subtropicais. No Brasil são descritas em 10 gêneros e 92 espécies, sendo 33 são consideradas endêmicas, distribuídas pelos ecossistemas de Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga e

Amazônia.^{21,22} Algumas espécies desta família são bem conhecidas em todo o mundo, como o mogno e o cedro.

O extrato etanólico da espécie *Cedrela odorata* (cedro), pertencente a família, foi investigado quanto ao potencial de inibir a enzima glicosidase e apresentou forte atividade, com IC₅₀ para o extrato de 84,7 µg/mL, sendo mais efetiva do que o padrão acarbose (IC₅₀ = 515,5 µg/mL).⁶³

3.15. Moraceae

A família Moraceae é formada por árvores, arbustos ou lianas e encontra-se distribuída por áreas tropicais e temperada, com 53 gêneros e 1500 espécies.²² No Brasil já foram registrados 19 gêneros e 214 espécies, com 70 endêmicas.²¹ Os gêneros *Ficus*, *Morus* e *Dorstenia* pertencem a família e normalmente as espécies possuem metabólitos secundários da classe dos taninos.²² Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como a figueira e a jaca.

Da família somente a espécie *Morus nigra* (amora-preta) foi investigada quanto à inibição da enzima digestiva α-glicosidase. Os extratos aquosos, etanólicos e hexânicos das folhas da espécie exibiram atividade moderada para todos os extratos com IC₅₀ 297,50, 188,30 e 448,70 µg/mL, respectivamente.³¹

3.16. Rubiaceae

A Família Rubiaceae é distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, possuindo 9000 espécies em 550 gêneros.²² No Brasil são reportados 126 gêneros e 1404 espécies, sendo 16 gêneros e 731 espécies são descritas como endêmicos.²¹ Os gêneros com maior diversidade de espécies são os *Psychotria*, *Galium*, *Ixora*, *Pavetta* e *Hedyotis*, sendo ricas em metabólitos da classe iridóides e alcalóides.²² Algumas espécies da família são conhecidas e consumidas em todo o mundo, como o café.

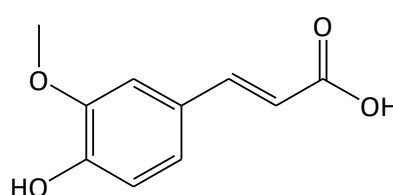
A espécie *Genipa americana* (jenipapo) faz parte da família exibiu inibição frente a enzima. Os Extratos, etanólico e hexânico, das folhas apresentaram o IC₅₀ de 43,49 e 167,60 µg/mL, respectivamente e o extrato hexânico das frutas, exibiu atividade com o IC₅₀ 84,36 µg/mL.³¹

3.17. Myristicaceae

A família Myristicaceae está distribuída por regiões tropicais e possui 17 gêneros e 370 espécies.²² No Brasil são descritos 5 gêneros e 64 espécies, sendo 12 endêmicas.²³ Nas espécies

da família pode ser encontrado terpenóides, compostos fenólicos, alcalóides indólicos, miristicina e taninos.²² Algumas espécies desta família são bem conhecidas e consumidas em todo o mundo, como a noz-moscada.

A *Virola venosa* (ucuuba-da-mata) é a única espécie da família reportada a investigação. No estudo as frações acetato de etila/metanol (1:1), acetato de etila/metanol (2:8) e metanólica exibiram IC₅₀ 15 µg/mL, 12,3 µg/mL e 11,0 µg/mL, respectivamente. Foram isolados a quercitrina, quercetina e os ácidos *p*-cumárico e ferúlico. No entanto, apenas o ácido ferúlico (Figura 11) apresentou potencial inibitório da enzima glicosidade (IC₅₀ de 1630 µM).⁶⁴



$$\text{IC}_{50} = 1630 \mu\text{M}$$

Figura 11. Estrutura do ácido ferúlico isolado de *V. venosa*

3.18. Outras famílias

As espécies *Euterpe oleraceae*, *Scheelea phalerata*, *Astrocaryum aculeatum*, *Butia odorata*, *Butia capitata* (família Arecaceae), *Opuntia ficus-indica*, *Pilosocereus pachycladus* (família Cactaceae), *Solanum americanum*, *Solanum sessiliflorum* (família Solanaceae), *Fragaria X ananassa* (família Rosaceae), *Echinodorus grandiflorus* (família Alismataceae), *Momordica charantia* (família Cucurbitaceae), *Zingiber officinale* (família Zingiberaceae), *Ilex paraguariensis* (família Aquifoliaceae), *Paullinia cupana* (família Sapindaceae), *Averrhoa carambola* (família Oxalidaceae) e *Endopleura uchi* (família Humiriaceae) foram investigadas quanto ao potencial de inibir a enzima α -glicosidase apresentaram altos valores de IC₅₀, indicando baixa atividade de inibição.^{24,31,37,38,58,65-68}

4. Considerações finais

Os resultados dos diversos artigos levantados sobre plantas brasileiras com potencial inibitório *in vitro* da enzima α -glicosidase demonstraram que apesar da grande biodiversidade de espécies vegetais brasileiras, incluindo o quantitativo enorme de espécies endêmicas, ainda é percebido a existência de poucos artigos de investigação do potencial das plantas frente a enzima α -glicosidase, nas bases de dados consultadas. Também fica claro no estudo, a importância e a necessidade da descoberta de inibidores enzimáticos mais eficazes, com baixos

efeitos colaterais e mais baratos para o tratamento da diabetes, principalmente, pelo aumento da quantidade de indivíduos portadores desse distúrbio em todo o mundo.

Muitas plantas brasileiras ou substâncias naturais investigadas e relatadas nesta revisão demonstraram ser promissoras para o tratamento, ou auxílio dos sintomas da diabetes e em muitos casos, apresentam potenciais maiores que a dos inibidores que são atualmente comercializados para o tratamento da doença. Contudo, é imprescindível a continuação de estudos com essas espécies dos biomas brasileiros. Além disso, existe a necessidade do desenvolvimento de novas pesquisas em continuação aos estudos já iniciados com o intuito de se desenvolver medicamentos mais eficazes da nossa flora, seja para a diabetes ou outras doenças.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao CNPq, CAPES e FAPESB.

6. Referências

¹Carvalho, A. C., Diniz, M. F. F. M., Mukherjee, R. Estudos da atividade antidiabética de algumas plantas de uso popular contra o diabetes no Brasil. *Ver BrasFarm* **2005**, 86.1: 11-16. [[Link](#)]

²De Melo, E. B., Carvalho, I. Alpha e beta-glucosidases como alvos moleculares para desenvolvimento de farmacos. *Química Nova* **2006**, 29.4: 840. [[CrossRef](#)]

³Van De Laar, F. A., Lucassen, P. L., Akkermans, R. P., Van De Lisdonk, E. H., Rutten, G. E., VanWeel, C. α -Glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes care*, **2005**, 28(1), 154-163. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

⁴Ogurtsova, K., da Rocha Fernandes, J. D., Huang, Y., Linnenkamp, U., Guariguata, L., Cho, N. H., ... Makaroff, L. E. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes research and clinical practice*, **2017**, 128, 40-50. [[CrossRef](#)]

⁵Derosa, G., Maffioli, P. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Archives of medical science: AMS*, **2012**, 8(5), 899. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

⁶Brasil. Ministério do Meio Ambiente. *Biodiversidade brasileira*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, **2010**. [[Link](#)]

⁷Zappi, D. C., Filardi, F. L. R., Leitman, P., Souza, V. C., Walter, B. M., Pirani, J. R., ... & Forzza, R. C. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, **2015**, 66(4), 1085-1113. [[CrossRef](#)]

- ⁸Kameda, Y., Asano, N., Yoshikawa, M., Matsui, K. Valienamine as an α -glucosidaseinhibitor. *The Journalof antibiotics*,**1980**, 33(12), 1575-1576. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
- ⁹Walker, J. M., Winder, J. S., Kellam, S. J. High-throughput microtiter plate-based chromogenic assays for glycosidase inhibitors. *Applied biochemistry and biotechnology*, **1993**, 38(1-2), 141-146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰Watanabe, J., Kawabata, J., Kurihara, H., Niki, R. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, **1997**, 61(1), 177-178. [[CrossRef](#)]
- ¹¹Halvorson, H. [96] α -Glucosidase fromyeast. In *Methods in enzymology*, **1966**, v. 8,559-562. Imprensa Acadêmica. [[CrossRef](#)]
- ¹²Shinde, J., Taldone, T., Barletta, M., Kunaparaju, N., Hu, B., Kumar, S., ... Zito, S. W. α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygiumcumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto–Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research*, **2008**, 343(7), 1278-1281.[[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³Pistia-Brueggeman, G., Hollingsworth, R. I. A preparation and screening strategy for glycosidase inhibitors. *Tetrahedron*, **2001**, 57(42), 8773-8778. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V.,Prakash, O. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach totreat diabetes. *Pharmacognosy reviews*, **2011**, 5(9), 19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵Reynertson, K. A., Basile, M. J., Kennelly, E. J. Antioxidant potential of seven myrtaceous fruits. *Ethnobotany Research and Applications*, **2005**, 3, 025-036. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶Alves da Conceição, R., Nogueira da Silva, P., Barbosa, M. L. C. Fármacos para o tratamento do diabetes tipo II: uma vista ao passado e um olhar para o futuro. *Rev Virtual Quim*, **2017**, 9(2), 514-34. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷Araújo, L. M. B., Britto, M. M., da Cruz, P., & Thomaz, R. Tratamento do diabetes mellitus do tipo 2: novas opções. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, **2000**, 44(6), 509-518. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Matos, M. C. G., Branchtein, L. O uso de antidiabéticos orais no paciente com diabetes mellitus e doença cardíaca. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul*,**2006**, Porto Alegre, ano XV, n.08. [[Link](#)]
- ¹⁹ Göke, B., Fuder, H., Wieckhorst, G., Theiss, U., Stridde, E., Littke, T., ...,Lücker, P. W. Voglibose (AO-128) is an efficient α -glucosidase inhibitorand mobilizes theendogenous GLP-1 reserve. *Digestion*, **1995**, 56(6), 493-501. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Standl, E., Schernthaner, G., Rybka, J., Hanefeld, M., Raptis, S. A.,Naditch, L. Improved glycaemic control with miglitol in inadequately-controlledtype 2 diabetics. *Diabetes research and clinical practice*, **2001**, 51(3), 205-213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²¹*Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, **2019**. [[CrossRef](#)]

- ²²Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., Donoghue, M. J. *Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético*, 3a. ed., Artmed Editora: Porto Alegre, 2009.
- ²³Balisteiro, D. M., de Araujo, R. L., Giacaglia, L. R., Genovese, M. I. Effect of clarified Brazilian native fruit juices on post prandialglycemia in healthysubjects. *Food research international*, **2017**, *100*, 196-203. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)]
- ²⁴De Souza Schmidt Goncalves, A. E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. *Journal of agricultural and food chemistry*, **2010**, *58*(8), 4666-4674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵Faitanin, R. D., Gomes, J. V., Rodrigues, P. M., de Menezes, L. F. T., Neto, Á. C., Gonçalves, R. C., ... Jamal, C. M. Chemical study and evaluation of antioxidant activity and α -glucosidase inhibition of *Myrciariastrigipes* O. Berg (Myrtaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **2018**, *8*(03), 120-125. [[CrossRef](#)]
- ²⁶Fujita, A., Sarkar, D., Wu, S., Kennelly, E., Shetty, K., &Genovese, M. I. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciariadubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International*, **2015**, *77*, 194-203. [[CrossRef](#)]
- ²⁷De Azevêdo, J. C. S., Fujita, A., de Oliveira, E. L., Genovese, M. I., Correia, R. T. P. Driedcamu-camu (*Myrciariadubia* HBK McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. *Food Research International*, **2014**, *62*, 934-940. [[CrossRef](#)]
- ²⁸Alezandro, M. R., Dubé, P., Desjardins, Y., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaborcaba: *Myrciariajaborcaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. *Food Research International*, **2013**, *54*(1), 468-477. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Lima, R. D. C. L., Kato, L., Kongstad, K. T., Staerk, D. Brazilian insulin plant as a bifunctional food: Dual high-resolution PTP1B and α -glucosidase inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of antidiabetic compounds in *Myrcia rubella* Cambess. *Journal of functional foods*, **2018**, *45*, 444-451. [[CrossRef](#)]
- ³⁰Wubshet, S. G., Moresco, H. H., Tahtah, Y., Brighente, I. M.,Staerk, D. High-resolution bioactivity profiling combined with HPLC–HRMS–SPE–NMR: α -Glucosidase inhibitors and acetylatedellagic acid rhamnosides from *Myrcia palustris* DC.(Myrtaceae). *Phytochemistry*, **2015**, *116*, 246-252. [[CrossRef](#)]
- ³¹De Souza, P. M., de Sales, P. M., Simeoni, L. A., Silva, E. C., Silveira, D., & de Oliveira Magalhães, P. Inhibitoryactivity of α -amylaseand α -glucosidase by plant extracts from the Brazilian cerrado. *Planta medica*, **2012**, *78*(04), 393-399. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³²Daza, L. D., Fujita, A., Granato, D., Fávaro-Trindade, C. S., Genovese, M. I. Functional properties of encapsulated Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruitextract. *Food bioscience*, **2017**, *18*, 15-21. [[CrossRef](#)]

- ³³ Vinholes, J., Vizzotto, M. Sinergismos na inibição de alfa-glicosidase e atividade antioxidante de extratos etanólicos de *Camelliasinensis* L. Kuntze e *Eugenia uniflora* L. *Pesquisa de farmacognosia*, **2017**, 9 (1), 101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁴ Correia, R. T., Borges, K. C., Medeiros, M. F., Genovese, M. I. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. *Food Science and Technology International*, **2012**, 18(6), 539-547. [[CrossRef](#)]
- ³⁵ Borges, K. C., Bezerra, M. D. F., Rocha, M. P., Silva, E. S. D., Fujita, M. I., Genovese, A., Correia, R. P. Freshand spray dried pitanga (*Eugenia uniflora*) and jambolan (*Syzygiumcumini*) pulps are natural sources of bioactive compounds with functional attributes. *Journal of Probiotics & Health*, **2016**, 4(2). [[CrossRef](#)]
- ³⁶ Galeno, D. M. L., Carvalho, R. P., de Araújo Boleti, A. P., Lima, A. S., de Almeida, P. D. O., Pacheco, C. C., ...Lima, E. S. Extract from *Eugenia punicifolia* is an antioxidant and inhibits enzymes related to metabolic syndrome. *Applied biochemistry and biotechnology*, **2014**, 172(1), 311-324. [[CrossRef](#)]
- ³⁷ Franco, R. R. *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Uberlândia, 2018. [[Link](#)]
- ³⁸ Vinholes, J., Reis, S. F., Lemos, G., Barbieri, R. L., de Freitas, V., Franzon, R. C., Vizzotto, M. Effect of in vitro digestion on the functional properties of *Psidium cattleianum* Sabine (araçá), *Butiaodorata* (Barb. Rodr.) Noblick (butiá) and *Eugenia uniflora* L.(pitanga) fruit extracts. *Food & function*, **2018**, 9(12), 6380-6390. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Sebastiani, R. *Tese de doutorado*. Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, 2010. [[Link](#)]
- ⁴⁰ Marques, T. R., Caetano, A. A., Simão, A. A., Castro, F. C. D. O., Ramos, V. D. O., Corrêa, A. D. Metanolic extract of *Malpighia emarginata* bagasse: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2016**, 26(2), 191-196. [[CrossRef](#)]
- ⁴¹ Rohwer, J. G., & Bittrich, V. *The families and genera of vascular plants*, Vol. 1, 1 ed., Springer: Berlin, 1990.
- ⁴² da Rocha, P. D. S., de Araújo Boleti, A. P., do Carmo Vieira, M., Carollo, C. A., da Silva, D. B., Estevinho, L. M., ... & de Picoli Souza, K. Microbiological quality, chemical profile as well as antioxidant and antidiabetic activities of *Schinus terebin thifolius* Raddi. *Comparative Biochemistry and PhysiologyPart C: Toxicology & Pharmacology*, **2019**, 220, 36-46. [[CrossRef](#)]
- ⁴³ São José, A. R., Pires, M. D. M., Freitas, A. L. G. E., Ribeiro, D. P., Perez, L. A. A. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **2014**, 36, 86-93. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁴ Justino, A. B., Miranda, N. C., Franco, R. R., Martins, M. M., da Silva, N. M., Espindola, F. S. *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with in vitro antidiabetic and inhibitory potential against α -amylase, α -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2018**, 100, 83-92. [[CrossRef](#)]

- ⁴⁵Justino, A. B., Pereira, M. N., Vilela, D. D., Peixoto, L. G., Martins, M. M., Teixeira, R. R., ... Espindola, F. S. Peel of araticum fruit (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of antioxidant compounds with α -amylase, α -glucosidase and glycation inhibitory activities. *Bioorganic chemistry*, **2016**,*69*, 167-182. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁶The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, **2017**, *66*(1), 44-77. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁷de Camargo, A. C., Regitano-d'Arce, M. A. B., & Shahidi, F. Phenolic Profile of Peanut By-products: Antioxidant Potential and Inhibition of Alpha-Glucosidase and Lipase Activities. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **2017**, *94*(7), 959-971. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁸Ferrerres, F., Gil-Izquierdo, A., Vinholes, J., Silva, S. T., Valentão, P., Andrade, P. B. Bauhinia forficata Link authenticity using flavonoids profile: Relation with their biological properties. *Food Chemistry*, **2012**, *134*(2), 894-904. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁹da Silva, C. P., Soares-Freitas, R. A. M., Sampaio, G. R., Santos, M. C. B., do Nascimento, T. P., Cameron, L. C., ... Arêas, J. A. G. Identification and action of phenolic compounds of Jatobá-do-cerrado (*Hymenaeastignocarpa* Mart.) on α -amylase and α -glucosidase activities and flour effect on glycemic response and nutritional quality of breads. *Food Research International*, **2019**, *116*, 1076-1083. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁰Pereira, A. C., Arruda, M. S., da Silva, E. A., da Silva, M. N., Lemos, V. S., Cortes, S. F. Inhibition of α -glucosidase and hypoglycemic effect of stilbenes from the Amazonian plant *Degueliarufescens* var. *urucu* (Ducke) AMG Azevedo (Leguminosae). *Planta medica*, **2012**, *78*(01), 36-38. [[CrossRef](#)]
- ⁵¹Wu, Q. X., Shi, Y. P., & Jia, Z. J. Eudesmane sesquiterpenoids from the Asteraceae family. *Natural product reports*, **2006**, *23*(5), 699-734. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵²Souza, S. P. D., Pereira, L. L., Souza, A. A., Santos, C. D. D. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharistrimera* (Less.) DC., Asteraceae: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2011**, *21*(3), 450-455. [[CrossRef](#)]
- ⁵³Silva, E., Lobo, J., Vinther, J., Borges, R., Staerk, D. High-resolution α -glucosidase inhibition profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for identification of antidiabetic compounds in *Eremanthus crotonoides* (Asteraceae). *Molecules*, **2016**, *21*(6), 782. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴Montefusco-Pereira, CV, de Carvalho, MJ, de Araújo Boleti, AP, Teixeira, LS, Matos, HR, Lima, ES. Antioxidant, anti-inflammatory, and hypoglycemic effects of the leaf extract from *Passiflora nitida* Kunth. *Applied biochemistry and biotechnology*, **2013**, *170* (6), 1367-1378. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁵Pereira, A. C., Pereira, A. B. D., Moreira, C. C., Botion, L. M., Lemos, V. S., Braga, F. C., Cortes, S. F. *Hancorniaspeciosa* Gomes (Apocynaceae) as a potential anti-diabetic drug. *Journal of ethnopharmacology*, **2015**, *161*, 30-35. [[CrossRef](#)]

- ⁵⁶Raja, R. R. Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview. *Research journal of medicinal plant*, **2012**, 6(3), 203-213. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁷Marinho, L. C., São-Mateus, W. M. B., da Costa, G. M., & Amorim, A. M. Flora of Bahia: Theaceae. *SITIANTIBUS série Ciências Biológicas*, **2015**, 15. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸Roberto, B. S., Macedo, G. A., Macedo, J. A., Martins, I. M., Nakajima, V. M., Allwood, J. W., ... McDougall, G. J. Immobilized tannase treatment alters polyphenolic composition in teas and their potential anti-obesity and hypoglycemic activities in vitro. *Food & function*, **2016**, 7(9), 3920-3932. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹Primavera, P., Nagar, S., Ramteke, PW, & Ross, EM. Atividades Biológicas de Plantas Solanáceas Contra Mosquitos Vetoriais: Uma Revisão, *5th International Conference on Innovative Research in Engineering Science and Management (ICIRESM-16)*, **2016**. [[Link](#)]
- ⁶⁰Silva, E. L., Almeida-Lafetá, R. C., Borges, R. M., Staerk, D. Dual high-resolution inhibition profiling and HPLC-HRMS-SPE-NMR analysis for identification of α -glucosidase and radical scavenging inhibitors in *Solanum americanum* Mill. *Fitoterapia*, **2017**, 118, 42-48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹Christenhusz, M. J., Byng, J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, **2016**, 261(3), 201-217. [[CrossRef](#)]
- ⁶²Gouvea, CF, Dornelas, MC e Martinelli, AP. Caracterização do desenvolvimento de flores unissexuais na árvore de mogno ameaçada *Swietenia macrophylla* King. (Meliaceae). *Revista botânica da Sociedade Lineana*, **2008**, 156 (4), 529-535. [[CrossRef](#)]
- ⁶³Giordani, M. A., Collicchio, T. C. M., Ascêncio, S. D., de Oliveira Martins, D. T., Balogun, S. O., Bieski, I. G. C., de França, S. A. Hydroethanolic extract of the inner stem bark of *Cedrela odorata* has low toxicity and reduces hyperglycemia induced by an overload of sucrose and glucose. *Journal of ethnopharmacology*, **2015**, 162, 352-361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁴Fernandes, K. R. P., Bittercourt, P. S., Souza, A. D. L. D., Souza, A. Q. L. D., Silva, F. M. A. D., Lima, E. S., ... & Koolen, H. H. F. Phenolic compounds from *Virola venosa* (Myristicaceae) and evaluation of their antioxidant and enzyme inhibition potential. *Acta Amazonica*, **2019**, 49(1), 48-53. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁵Silva, C. P., Sampaio, G. R., Freitas, R. A. M. S., Torres, E. A. F. S. Polyphenols from guaraná after in vitro digestion: evaluation of bioaccessibility and inhibition of activity of carbohydrate-hydrolyzing enzymes. *Food chemistry*, **2018**, 267, 405-409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁶da Silva Pinto, M., de Carvalho, J. E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., Shetty, K. Evaluation of antiproliferative, anti-type 2 diabetes, and antihypertension potentials of ellagitannins from strawberries (*Fragaria* × *Ananassa* Duch.) using in vitro models. *Journal of medicinal food*, **2010**, 13(5), 1027-1035. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁷Gironés-Vilaplana, A., Baenas, N., Villaño, D., Speisky, H., García-Viguera, C., Moreno, D. A. Evaluation of Latin-American fruits rich in phytochemicals with biological effects. *Journal of Functional Foods*, **2014**, 7, 599-608. [[CrossRef](#)]

⁶⁸de Souza, R. L. A., Santana, M. F., de Macedo, E. M., de Brito, E. S., Correia, R. T. Physicochemical, bioactive and functional evaluation of the exotic fruits *Opuntia ficus-indica* and *Pilosocereu spachycladus* Ritter from the Brazilian caatinga. *Journal of Food Science and Technology*, **2015**, 52(11), 7329-7336. [[CrossRef](#)]

CONCLUSÃO GERAL

No primeiro artigo, pode-se perceber que as espécies avaliadas apresentaram variados teores de fenólicos e flavonoides totais, sendo que o caule da *S. angulosa* foi a espécie com maior teor de fenólicos e a *N. portosecurensis* exibiu maior teor de flavonoides. Na atividade antioxidante, as folhas das espécies *C. lucens* (branca) e *M. albicans*, o caule da *S. angulosa* e o látex da *C. celtidifolius*, exibiram forte atividade, levando em consideração os resultados obtidos no índice de atividade antioxidante (IAA). Além disso, possível identificar o ácido 2-hidroxi cinâmico em todos os extratos das espécies *S. angulosa*, *C. lucense* e *M. albicans* através da análise em CLAE-DAD. Entretanto, estudos posteriores devem ser realizados utilizando outros ácidos fenólicos e compostos flavônicos a fim de quantificar e identificar esses componentes, principalmente com as espécies *C. lucens* (branca e vermelha), *N. portosecurensis* e *S. angulosa*, pois este é o primeiro estudo do ponto de vista farmacológico e fitoquímico.

No segundo artigo, foi possível perceber que apesar da grande biodiversidade de espécies vegetais brasileiras, incluindo o quantitativo enorme de espécies endêmicas, ainda é notório a existência de poucos estudos investigativos frente a enzima, publicados nas bases de dados consultadas. Também é notório a importância e a necessidade da descoberta de inibidores enzimáticos mais eficazes, com baixos efeitos colaterais e mais baratos para o tratamento da diabetes, principalmente, pela tendência de aumento da quantidade de indivíduos portadores desse distúrbio em todo o mundo.