



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS
HIDROALCÓOLICOS DE *Moringa oleífera* Lam EM DIFERENTES ÉPOCAS DE
COLETA**

ARIANA DA SILVA SANTOS

MACEIÓ

2023

ARIANA DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS
HIDROALCÓOLICOS DE *Moringa oleífera* Lam EM DIFERENTES ÉPOCAS DE
COLETA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como subsídio para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento.

Coorientadora: Dra. Salvana Priscylla Manso Costa.

MACEIÓ

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Betânia Almeida dos Santos – CRB-4 – 1542

S237c Santos, Ariana da Silva.
Caracterização fitoquímica e antioxidante dos extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleifera Lam* em diferentes épocas de coleta / Ariana da Silva Santos. – 2023.
91 f. : il. color.

Orientador: Ticiano Gomes do nascimento.

Coorientadora: Silvana Priscylla Manso Costa.

Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 73-82

Apêndices: f. 86-90

Anexos: f. 83-85

1. *Moringa oleifera*. 2. *Moringa oleifera* – composto fitoquímico. 3. Extrato Hidroalcoólico. 4. *Moringa oleifera* – atividade antioxidante I. Título.

CDU: 615.015.1:582.685

ARIANA DA SILVA SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS
HIDROALCÓOLICOS DE *Moringa oleífera* Lam EM DIFERENTES ÉPOCAS DE
COLETA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como subsídio para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Local, ___ de _____ de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento
(Universidade Federal de Alagoas)

Coorientadora: Dra. Salvana Priscylla Manso Costa
(Universidade Federal Alagoas)

Examinador Externo: Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas
(Instituto Federal de Alagoas)

Examinadora Interna: Prof. Dra. Maria Aline Barros Fidelis de Moura
(Universidade Federal de Alagoas)

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu DEUS - Pai todo poderoso por ter me guiado, me guardado e me amparado durante toda a minha vida. Que não deixou que o excesso de medo durante a pandemia toma-se conta do meu ser, agradeço ao Senhor Deus pela fé, energias e esperanças renovadas durante esse período.

Agradeço a minha família: Ao meu pai Cicero Honorato dos Santos que sempre me incentivou e apoio a persevera no caminho do conhecimento. A minha mãe Letícia Soares da Silva uma mulher determinada que sempre se manteve firme quando foi preciso.

Aos meus irmãos: Luiz, Luciana, Girlene, Ângela e Marcos pelo profundo apoio, me estimulando nos momentos mais difíceis. Obrigada por desejarem sempre o melhor pra mim, pelo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo no meu caminho e chegar aqui.

Ao meu filho Ryan Oliveira, O amor da minha vida, foi através de você que senti um amor inexplicável que alcança extremos e chega a doer. Pela sua inocência, doçura para comigo, por me fazer respirar, alegrar e me fazer lembrar o quanto DEUS é maravilhoso conosco. A sua existência é o reflexo mais perfeito da existência de DEUS.

Ao meu marido Edeilton Oliveira, por ter me dado o maior presente (nosso filho), pelo apoio familiar que preencheu as diversas falhas que fui tendo por força das circunstâncias, e pela compreensão revelada ao longo destes meses.

A todos os colegas de laboratório: Mailde, Jael, João, isaias, Marcos, Klinston, Arthur, Valdemir, Lucas, Josiel que foram tão importantes durante este tempo de dedicação ao mestrado; Em especial aos amigos que adquiri Amanda wanderley, Thomas e Emanuel, obrigada por estarem comigo em cada momento de tensão, por toda a disposição para me ajudar, pelos conselhos. Muito obrigada.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento pessoa sábia, simples humilde, por ter me acolhido com a sua generosidade e que me ajudou a descobrir a pesquisa, sendo um interlocutor disposto a oferecer estímulos e, principalmente, percorrer novos caminhos, obrigada pela convivência e paciência.

Agradeço à Profa.Dra. Salvana Costa, por ter me acolhido nesta reta final, pela sua paciência, sutileza e gentileza.

A todos agradeço, profundamente, e dedico o resultado do trabalho.

E de repente em um dia qualquer acordamos e percebemos que já podemos lidar com aquilo que jugávamos maior que nós mesmos porque não foram os abismos que diminuíram, mas nós que crescemos.

Fabíola Simões.

RESUMO

A *Moringa oleifera* Lam. é uma hortaliça arbórea, pertencente à família moringaceae, de origem indiana, cultivada principalmente em lugares com climas tropicais secos em várias regiões do mundo. Devido a sua bioatividade, ganhou enorme atenção na última década, o que acarretou a elevada exploração e compreensão das suas funções farmacológicas e mecanismos subjacentes. O objetivo deste estudo consistiu caracterizar a composição de extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleifera* Lam através de ensaios fitoquímicos, cromatográficos e atividade antioxidante obtidos em diferentes épocas de coleta. A coleta das amostras (pó e chá) foi realizada no Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) em Rio Largo-AL (2019) e no povoado sítio salão no município Inhapi-AL. As amostras foram submetidas a extração hidroalcoólica. A metodologia adotada inclui Atividade antioxidante (DPPH), determinação do teor de flavonoides totais, determinação de Fenóis totais, análises de HPLC-DAD e LC-Orbitrap_ESI-FTMS. O ensaio da capacidade de sequestro de radicais DPPH das amostras 2019 Pó demonstraram bons resultados com alta capacidade antioxidante para extrato MO50% (>85%), seguido dos extratos MO40% (>62%), extrato MO30% (30,42%) e extrato MO20% (21,33%), também sendo perceptível que a capacidade antioxidante foi concentração dependente. As amostras de extratos de MO pó coletadas em 2021 demonstraram que os extratos coletados em junho, julho e agosto usando alta percentagem de álcool (50% e 75%) durante processo extrativo apresentou resultado de IC50 menor que 50 µg/mL. As amostras de MO chá coletadas em 2021 consolidou o estudo da atividade antioxidante, mostrando que extratos hidroalcoólicos com menor percentual de álcool (extrato MO25% chá), apresentou menor atividade antioxidante que os extratos com maior percentual de álcool utilizados na extração (MO50% chá e MO75% chá). As amostras de MO pó apresentaram maior capacidade antioxidante que as amostras MO chá. As amostras de MO pó exibiram teores totais de flavonoides significantes entre 1,14% a 2,35%, destacando-se os meses de junho pó 50% com 2,35% e agosto pó 75% com 2,00%, 1,14% agosto pó 50%, enquanto os meses de janeiro e fevereiro exibiram valores entre 0,67% e 0,98% de flavonoides totais, respectivamente. A análise do teor de fenóis totais demonstrou alto teor nos meses de sol intenso com valores de 13,39% e 8,38% para os meses de janeiro e fevereiro, respectivamente; enquanto que os meses de chuvas (junho, julho e agosto) apresentaram mínima variação com valores entre 5,39% (julho) e 5,78% (junho). O ensaio de LC-MS usando método dos padrões analítico identificou a presença dos flavonoides ácido caféico, ácido 2-coumárico, umbeliferona, ácido p-coumárico, vitexina, rutina, quercetina, kaempferol, luteolina, apigenina, pinocembrina em alta intensidades nas amostras de extrato de moringa fevereiro e julho pó 75%. O ensaio LC-MS também detectou a presença de isoquercitrina, quercetina 3-O-malonylglucoside (m/z 550.0927), kaempferol 3-O-(6''-malonylglucoside) (m/z 489.1493) e kaempferol 3-O-glucoside (m/z 447.2616) conhecido como astragalina baseado em dados da literatura científica. De um modo geral a atividade antioxidante eo teor de flavonoides dos extratos de MO pó aumentaram nos meses de chuvas intensas (junho, julho e agosto), diminuindo significativamente nos meses com baixa precipitação. Enquanto o teor de fenóis totais foram maiores nos meses de sol intenso e menores nos meses de chuvas. Os dados LC-MS corroboram esta informação com menores valores para ácido ferúlico e ácido caféico (amostra de fevereiro) e maiores valores de flavonóides (vitexina, rutina, quercetina, kaempferol, luteolina) na amostra de julho.

Palavras-chave: *Moringa oleifera*; marcadores fitoquímicos; variação sazonal; capacidade antioxidante.

ABSTRACT

Moringa oleifera Lam is a tree vegetable, belonging to the moringaceae family, of Indian origin, cultivated mainly in places with dry tropical climates in various regions of the world. Due to its bioactivity, it has gained enormous attention in the last decade, which has led to increased exploration and understanding of its pharmacological functions and underlying mechanisms. The aim of this study was to characterize phenolic phytochemical compounds and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts of *Moringa oleifera* Lam at different collection times. The collection of samples (powder and tea) was carried out at the Centro de Ciências Agrárias (CECA) from the Federal University of Alagoas (UFAL) in Rio Largo-AL (samples 2019) and in the village Sítio Salão in the municipality of Inhapi- AL. The samples were submitted to hydroalcoholic extraction. The methodology adopted includes Antioxidant activity (DPPH), determination of total flavonoids content (AlCl₃), determination of total phenols (Folin-Ciocalteu), analysis of HPLC-DAD and LC- Orbitrap_ESI-FTMS. The DPPH radical scavenging capacity assay of the 2019 Powder samples showed good results with high antioxidant capacity for MO50% extract (>85%), followed by MO40% extract (>62%), MO30% extract (30.42%) and extract MO20% (21.33%), also being noticeable that the antioxidant capacity was concentration dependent. Samples of MO powder extracts collected in 2021 showed that extracts collected in June, July and August using a high percentage of alcohol (50% and 75%) during the extractive process showed an IC₅₀ result of less than 50 µg/mL. The MO tea samples collected in 2021 consolidated the study of antioxidant activity, showing that hydroalcoholic extracts with a lower percentage of alcohol (MO25% tea extract) had lower antioxidant activity than the extracts with a higher percentage of alcohol used in the extraction (MO50% tea and MO75% tea). The MO powder samples showed higher antioxidant capacity than the MO tea samples. The MO powder samples exhibited significant total flavonoid contents between 1.14% and 2.35%, highlighting the months of June powder 50% with 2.35% and August powder 75% with 2.00%, 1, 14% August powder 50%, while the months of January and February showed values between 0.67% and 0.98% of total flavonoids, respectively. The analysis of the total phenol content showed a high content in the months of intense sunlight with values of 13.39% and 8.38% for the months of January and February, respectively; while the rainy months (June, July and August) showed minimal variation with values between 5.39% (July) and 5.78% (June). The LCMS assay using the analytical standards method identified the presence of acid flavonoids caffeic acid, 2-coumaric acid, umbelliferone, p-coumaric acid, vitexin, rutin, quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin, pinocembrin at high intensities in samples of moringa extract February and July 75% powder. The LC-MS assay also detected the presence of isoquercitrin, quercetin 3-O-malonylglucoside (m/z 550.0927), kaempferol 3-O-(6''- malonylglucoside) (m/z 489.1493) and kaempferol 3-O-glucoside (m/z 447.2616) known as astragalin based on scientific literature data. In general, the antioxidant activity and flavonoid content of MO powder extracts increased in the months of heavy rainfall (June, July and August), decreasing significantly in the months with low rainfall. While the total phenol content was higher in the months of intense sunshine and lower in the rainy months. The LC-MS data corroborate this information with lower values for ferulic acid and caffeic acid (February sample) and higher values for flavonoids (vitexin, rutin, quercetin, kaempferol, luteolin) in the July sample.

Keyword: *Moringa oleifera*; Phytochemical markers; seasonal variation; antioxidant capacity.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Aspectos macroscópico de folhas de <i>Moringa oleífera</i> Lam	18
Figura 2 – Estrutura fundamental dos flavonoides e sua numeração.....	20
Figura 3 – Formação do sulforafano (SNF) por hidrólise enzimática da glicorafanina	22
Figura 4 – Mecanismo de ação do sulforafano via Nrf2	23
Figura 5 – Mecanismo de ação dos derivados do ácido hidroxicinâmico	29
Figura 6 – Influência da sazonalidade no acúmulo de metabólitos secundários em plantas	40
Figura 7 – Folhas trituradas de <i>Moringa oleífera</i>	42
Figura 8 – Extratos de MO em processo de concentração por evaporação rotativa .	44
Figura 9 – Parte do extrato bruto após a concentração e secagem	44
Figura 10 – Espectrofotômetro UV-Mini, marca – Shimadzu	45
Figura 11 – Diferentes concentrações da solução contendo 100 microlitros de cloreto de alumínio, diferentes concentrações de quercetina e completadas para 5ml de metanol	47
Figura 12 – Gráfico da porcentagem de atividade antioxidante em função das concentrações dos extratos 20%, 30%, 40% e 50% de <i>Moringa oleífera</i> Lam em ETOH do ano de 2019.....	53
Figura 13 – Gráfico de sequestro de radicais DPPH dos extratos hidroalcóolicos do chá de MO coletados em diferentes épocas do ano	53
Figura 14 – Porcentagem de sequestro de radicais DPPH das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato.....	54
Figura 15 – Curva padrão para flavonoides (quercetina)	55
Figura 16 – Porcentagem de flavonóides totais das amostras de chá de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcóolico de MO	56
Figura 17 – Valores de Porcentagem média de flavonóides totais das amostras de chá de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcóolico de MO	57

Figura 18 – Percentagem de flavonóides totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcólico de MO	57
Figura 19 – Valores de Percentagem média de flavonóides totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcólico de MO	58
Figura 20 – Percentagem de fenois totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcólico de MO	60
Figura 21 – Valores de Percentagem média de fenois totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcólico de MO	60
Figura 22 – Cromatograma de amostra de fevereiro pó do chá de Moringa oleífera extraído com etanol 75% monitorada a 325 nm (Gradiente A)	62
Figura 23 – Cromatograma de amostra de julho pó do chá de Moringa oleífera extraído com etanol 75% monitorada a 325 nm.....	62
Figura 24 – Cromatograma de amostra de Moringa oleífera de Ghana monitorada a 370 nm de acordo com Amaglo et al. 2010. Identificação de 19 flavonóides entre 20 e 37.5 mi.....	63
Figura 25 – Análise LC-MS com software MZmine da mistura dos padrões analíticos usados na identificação dos flavonoides da Moringa oleífera	67
Figura 26 – Identificação da Isoquercitrina 465.1034 m/z usando software MZmine	69
Figura 27 – Identificação da quecertina 3-O-Malonylglucoside 550.0927 m/z usando software MZmine	69
Figura 28 – Identificação da quecertina 3-O-rhamnosylglucoside 609.1439 m/z (610.40 m/z) usando software MZmine.....	70
Figura 29 – Identificação do Kaempferol 3-O-Malonylglucoside 489.1493 m/z (534.40 m/z) com perda de CO ₂ usando software MZmine.....	70
Figura 30 – Identificação do Kaempferol 3-O-glucoside ou astragalina (447.2616) 448.40 m/z usando software MZmine	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Extratos e constituintes fitoquímicos da Moringa Oleífera utilizados no tratamento de hipoglicemia, diabetes e distúrbios metabólico	31
Tabela 2 – Ensaio experimentais e clínicos no tratamento de hipoglicemia, diabetes e síndrome metabólica usando Moringa oleífera	37
Tabela 3 – Extratos hidroalcoólicos Pó e Chá de Moringa oleífera Lam	43
Tabela 4 – Concentração para curva padrão da quercetina	47
Tabela 5 – Concentração da curva da Moringa	48
Tabela 6 – Identificação e confirmação de alguns marcadores da Moringa oleífera (fevereiro 75% pó)	64
Tabela 7 – Identificação e confirmação de marcadores Moringa oleifera (julho 75% pó)	65
Tabela 8 – Identificação pela formula molecular gerada usando software MZmine de marcadores.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AlCl ₃	Cloreto de Alumínio
ATP	Trifosfato de adenosina
CAT	Catalase
CBPs	Proteínas de ligação de quitina
CECA	Centro de Ciências Agrárias
cm	Centímetros
ERE	Elemento de resposta antioxidante
g	Gramas
Hb	Hemoglobina
IL-1 β	Interleucina
IMA	Instituto do Meio Ambiente
ITCS	Isoticianatos
Lafa	Laboratório de Análises Farmacêuticas e Alimentícia
m	Metros
mg	Miligramas
mL	Mililitros
MO	Moringa oleifera
mRNA	Ácido ribonucleico de fita simples
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NQO1	Quinona oxidoreductase
pH	Potencial Hidrogeniônico
POD	Peroxidase
PPG	Glicose pós-prandial
RTM	Rotações por minuto
SFN	Sulforafano
SOD	Superóxido dismutase
TD2	Diabetes tipo 2
TNF- α	Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Moringa (Moringa oleífera Lam)	17
2.1.1 Distribuição geográfica	17
2.1.2 Uso na medicina	17
2.1.3 Características botânicas.....	18
2.1.4 Características Fitoquímicas.....	19
2.1.4.1 Flavonoides.....	20
2.1.4.2 Glucosinolatos e Isotiocianatos.....	21
2.1.5 Atividades Biológicas	22
2.1.5.1 Propriedade antioxidante	22
2.1.5.2 Propriedade antimicrobiana.....	24
2.1.5.3 Propriedade anti-inflamatória	25
2.1.5.4 Propriedade antineoplásica.....	25
2.1.5.5 Propriedade antifúngica	27
2.1.5.6 Propriedade Hipoglicemiante	28
2.1.5.7 Toxicidade.....	38
2.2 Sazonalidade	38
3 OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo Geral	41
3.2 Objetivos Específicos.....	41
4 MATERIAS E MÉTODOS	42
4.1 Coleta e identificação botânica de <i>Moringa oleífera</i> Lam.....	42
4.2 Obtenção dos extratos hidroalcoólicos de <i>Moringa oleífera</i> Lam.....	42
4.3 Secagem dos extratos	44
4.4 Análise do Potencial Antioxidante por DPPH.....	45
4.4.1 Preparação do DPPH e das amostras.....	46
4.5 Determinação do teor de flavonoides totais pelo método de Quercetina.....	46
4.5.1 Construção da curva de calibração de quercetina.....	47
4.6 Teor de Flavonoides totais do extrato de <i>Moringa oleífera</i>	48
4.7 Determinação de Fenóis Totais com Folín-Ciocalteu	49
4.7.1 Construção da Curva de Calibração do Ácido Gálico	49
4.7.2 Determinação do teor de Fenóis Totais nos Extratos hidroalcoólicos de <i>Moringa</i>	

<i>oleífera</i> LAM.....	49
4.8 Ensaio de identificação e quantificação de flavonoides usando HPLC-DAD.....	49
4.9 Cromatografia Líquida Acoplada À Espectrometria de Massas (LC-MS).....	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1 Avaliação da atividade antioxidante	51
5.2 Curva de Calibração de Flavonoides Totais (Quercetina).....	55
5.3 Quantificação da concentração de quercetina nos extratos hidroalcoólicos de <i>Moringa oleífera</i> Lam.....	56
5.3.1 Amostras de Chá de <i>Moringa oleífera</i> e Pó das folhas de <i>Moringa oleífera</i>	56
5.3.2 Quantificação da concentração de Fenóis Totais nos extratos hidroalcoólicos de <i>Moringa oleífera</i> Lam.....	59
5.4 Análise do Perfil cromatográfico de Extratos de <i>Moringa Oleífera</i> usando UPLC-DAD-UV	61
5.5 Análise LC-MS de identificação de alguns metabólitos fenólicos da M.O.....	66
6 CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXO 1 – Declaração de identificação da espécie de <i>Moringa oleífera</i> Lam no herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA)	82
ANEXO 2 – Carta de aceite.....	83
APÊNDICE 1 – Avaliação da atividade antioxidante de Extratos de <i>Moringa oleífera</i> Lam (MOL) (% inibição do radical DPPH).....	86
APÊNDICE 2 – Análise LC-MS com software MZmine da mistura dos padrões analíticos usados na identificação dos flavonoides da <i>Moringa oleífera</i>	87
APÊNDICE 3 – Análise LC-MS com software MZmine da amostra extrato de moringa fevereiro 75% pó usados na identificação dos flavonoides da <i>Moringa oleífera</i>	88
APÊNDICE 4 – Análise LC-MS com software MZmine da amostra extrato de moringa 75% pó julho usados na identificação dos flavonoides da <i>Moringa oleífera</i>	89
APÊNDICE 5 – Identificação e Confirmação de alguns marcadores dos padrões de <i>Moringa oleífera</i>	90

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre o uso de plantas é amplo, tendo em vista que as espécies utilizadas como medicamentos geralmente ocupam uma posição predominante e significativa nos resultados das investigações botânicas e etnobotânicas de uma região ou grupo étnico determinado (SINGH, 2020). Nos últimos anos, estudos químicos e farmacológicos das substâncias bioativas derivadas de plantas tiveram um grande impulso. Estas pesquisas têm como finalidade a obtenção de novos compostos que possuam propriedades terapêuticas e/ou nutritivas (ARAÚJO-LEONÍDIO *et al.*, 2019).

Dentre essas plantas, a *Moringa oleífera* Lam se destaca devido sua ampla diversidade de funcionalidades. É caracterizada arbórea de origem indiana, com crescimento rápido podendo atingir de 7 a 12m (PEREIRA *et al.*, 2014); cultivada principalmente em lugares com climas tropicais secos em várias regiões do mundo (ESTRADA-HERNÁNDEZ; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ; GUERRERO-PRIETO, 2016). Esta hortaliça se adaptou satisfatoriamente às condições do clima e solo do semiárido do nordeste brasileiro (SOUZA *et al.*, 2015), e apresenta capacidade de sobreviver em diversas condições climáticas (FALOWO *et al.*, 2018). Ainda, a planta é de rápido crescimento com aplicações variadas na agricultura, medicina, pecuária, sistemas humanos e outros biológicos (NDUBUAKU *et al.*, 2015).

É considerada uma das árvores mais úteis do mundo (KHALAFALLA *et al.*, 2010), tendo importância alimentar em suas folhas, flores, vagens e sementes; e notoriedade medicinal em todas as partes da planta (SANTOS, 2014). Sua utilização em produtos dietéticos humanos e pecuários tem apresentado alto valor nutricional (FALOWO *et al.*, 2018). Estudos recentes têm mostrado que a composição de nutrientes nas folhas, sementes e caules da *M. oleífera* são ricos em proteínas, aminoácidos essenciais, minerais, vitaminas e outros compostos bioativos (MOYO *et al.*, 2012; VALDEZ-SOLANA *et al.*, 2015).

Considerando essas funcionalidades, a bioatividade de *M. oleífera* ganhou enorme atenção na última década, o que acarretou à elevada exploração e compreensão de suas funções farmacológica (bacteriana, antioxidante, antineoplásicas) e mecanismos subjacentes (NORONHA; MEDEIROS; DIAS PEREIRA, 2018). Tendo em vista as qualidades supracitadas e as possibilidades relacionadas a *M. oleífera*, o objetivo foi realizar um estudo de sazonalidade de

Moringa oleífera Lam, produzida no sertão de Alagoas, monitorando a composição química e atividade antioxidante no período de julho 2019, janeiro a setembro de 2021.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Moringa (*Moringa oleífera* Lam)

2.1.1 Distribuição geográfica

A *Moringa oleífera* Lam é uma árvore que se originou no nordeste da Índia, sendo amplamente distribuída no sul do Himalaia, Bangladesh, Afeganistão e Paquistão (PÉREZ; SÁNCHEZ; REYES, 2010). Além disso, é aceita em vários países do sudeste asiático, América Central, sul da Ásia, Península Arábica, África tropical, Caribe e América do Sul (OLOYEDE *et al.*, 2016) e no semiárido do nordeste brasileiro (GALLÃO *et al.*, 2006). O Nordeste da África o centro de diversidade da família, com nove espécies. No Brasil, é conhecida no estado do Maranhão desde 1950 e usada como planta ornamental, tendo em vista o desconhecimento do seu uso como hortaliça (AMAYA *et al.*, 1992).

Esta hortaliça se adapta às condições climáticas, crescendo em áreas tropicais, subtropicais, terras quentes e secas (OLOYEDE *et al.*, 2016). Seu cultivo vem se estendendo por todo o semiárido nordestino, por apresentar condições de cultivo diversas em solos duros, pesados, pobres em nutrientes, ácidos e alcalinos (pH 4,5 - 8). No entanto, seu desenvolvimento e fertilidade é maior em solos neutros e ligeiramente alcalinos (SOSA-RODRIGUES *et al.*, 2017). Pode ser cultivada até 1.400 metros de altitude, em quase todos os tipos de solos, menos naqueles onde há possibilidade de que o terreno fique encharcado (JESUS *et al.*, 2013).

2.1.2 Uso na medicina

Todas as partes da moringa são ditas como sendo de valor medicinal (SANTOS, 2014), e são utilizadas no tratamento de doenças e na produção de fármacos contra bactérias, fungos, vírus e outros patógenos em seres humanos (FALOWO *et al.*, 2018).

De acordo com Ruiz *et al.* (2012), apresentam propriedades medicinais, entre as quais destacam-se: estimulante cardíaco e circulatório, antineoplásica, antipirética, antiepilética, antiespasmódica, diurética, hepatoprotetora. Biswas *et al.* (2012) corrobora com estes achados relatando que o uso das partes da moringa para tratamento de diferentes doenças humanas resultou em efeitos

farmacológicos que incluem: ação antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e analgésica, antioxidante, anti-hipertensivo, cardioprotetora anestésica e atividade de cicatrização de feridas.

Ainda, alguns estudos relatam efeito melhoria da visão, agilidade mental e resistência óssea. Enquanto benefício potencial tem ação em desnutrição, fraqueza geral, melhorando a saúde de mães lactantes, na menopausa, depressão e osteoporose (KUETE, 2017). Vale salientar que as folhas já foram usadas para combater desnutrição, principalmente entre em bebês (MOYO *et al.*, 2011).

2.1.3 Características botânicas

A *moringa Oleífera* Lam pertencente à família moringácea (Figura 1) contém apenas um gênero e 14 espécies (ANWAR *et al.*, 2007). É uma árvore arbórea, semi- espelhada á vertical, de pequeno porte, podendo chegar a sete metros de altura (GUALBERTO *et al.*, 2014), que apresenta elevada capacidade de adaptação a condições climáticas e a solos áridos (LORENZI; MATOS, 2002; OLSON; FAHEY, 2011), típicos, por exemplo, do sertão nordestino (GUALBERTO *et al.*, 2014). É conhecida como lírio branco e quiabo de quina (SOSA-RODRIGUES *et al.*, 2017), acácia branca, árvore-rabanete-de-cavalo e cedro (PEREIRA *et al.*, 2014).

Figura 1 – Aspectos macroscópico de folhas de *Moringa oleífera* Lam



Fonte: Plantei, 2019.

A altura da planta varia de 5 m a 12 m com uma copa aberta em forma de sombrinha, tronco ereto (10cm-30cm de espessura) com casca esbranquiçada, esponjosa (RANGEL, 1999). Em relação a suas folhas, são bipenadas com sete folíolos pequenos em cada pina (SOUZA; LORENZI, 2008). Suas flores são agrupadas em inflorescências terminais do tipo cimosa, de coloração amarelo-

pálidas, perfumadas, muito procuradas por abelhas e pássaros (KIILL *et al.*, 2012), que são nos agentes polinizadores de suas flores (GUALBERTO *et al.*, 2014). Os frutos, quando secos, abrem-se longitudinalmente em três partes. As sementes são marrons escuras com três asas e aspecto de papel (RANGEL, 1999).

2.1.4 Características Fitoquímicas

O rico perfil fitoquímico e os avanços nas técnicas biotecnológicas levaram à geração de novos caminhos voltados para o aprimoramento do valor comercial geral da *M. oleífera* (GRUPTA *et al.*, 2018). Além disso, os fitoquímicos contidos na referida planta são de alto interesse por causa de seu valor medicinal (SARALAYA *et al.*, 2010). Esta planta apresenta propriedades funcionais, além de conter uma variedade de compostos que são comumente referidos como metabólitos secundários ou fitoquímicos (FALOWO *et al.*, 2018). Possui alto valor nutricional devido a esses numerosos compostos presentes em todas as suas partes (MANSOUR *et al.*, 2019), sendo mais de 200 compostos identificados a partir de suas folhas, caule, raiz e semente, os quais podem ser classificados em grupos como cetonas de hidrocarbonetos, ácidos graxos, álcoois, aldeídos, terpenos e outros (FALOWO *et al.*, 2018).

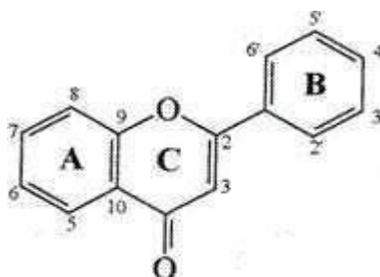
Através de estudos fitoquímicos em *M. oleífera*, foi revelado que folhas e sementes possuem elevado teor de proteínas com 20% e 36,9% respectivamente (PEIXOTO *et al.*, 2011). Já Passos *et al.* (2012) mostra que pode haver variações na composição química de folhas e sementes de moringa oleífera a depender da parte da planta, clima, tipo de solo e uso *in natura* ou fresco.

Outras pesquisas revelaram por meio de análise das fontes fitoquímicas que existe uma variedade de metabólitos na composição química das folhas de moringa, sendo identificados os seguintes constituintes: carotenoides, polifenóis, alcaloides isotiocianatos, taninos, saponinas e oxalatos. Foram detectados também os fitoquímicos bioativos: ácidos fenólicos, glucosinolatos e flavonoides (MAGHU; SHARMA; YOUNIS, 2017). Para acrescentar, Stohs e Hartman (2015), identificaram os fitoquímicos proeminentes: ácido clorogênico, rutina, Kampferol, ramnoglicosídico, miricetina, benzilamina, derivados de ácido salicílico (ácido gálico, ácido cumárico, e ácido cafeico); e os glicosídeos: Niaziminina e Niazinina.

2.1.4.1 Flavonoides

Os flavonoides são os compostos mais diversificados do reino vegetal (figura 2), possuem uma estrutura básica constituída de C6-C3-C6, suas principais classes são as antocianinas, flavanas, flavonas, os flavonois e isoflavonoides (SILVA, 2015; LOPES *et al.*, 2010). O que varia é sua estrutura característica ao redor do anel de oxigênio heterocíclico, fazendo com que elas sejam encontradas em diferentes fontes naturais como, por exemplo, as flavanonas ocorrem predominantemente em frutas cítricas, flavonas em ervas, isoflavonóides em leguminosas (PETERSON; DWYER, 1998). Conforme a figura abaixo.

Figura 2 – Estrutura fundamental dos flavonoides e sua numeração



Fonte: Simões, 2017.

Flavonoides são biossintetizados a partir de um derivado do ácido cinâmico (*trans*-4-cumarato), o qual é obtido a partir do metabolismo dos aminoácidos fenilalanina ou tirosina. O *trans*-4-cumarato age como precursor na síntese de um intermediário, ao qual são adicionados três resíduos de malonato e posterior ciclização da estrutura, por meio de subseqüentes hidroxilações e reduções, diferentes flavonoides são formados (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997; PIETTA, 2000; OLDONI, 2007).

Os flavonoides têm como característica atuar como uma barreira química de defesa, contra microorganismos (fungos, bactérias e vírus), insetos e herbívoros, Além de regular as reações enzimáticas fornecendo o flavor em alguns produtos e contribuindo para a defesa das plantas que se dá devido a capacidade que ele apresenta sobre a faixa ultravioleta (UV) e do visível de absorção de radiação (COOPER-DRIVER, 2001).

Vale salientar que os flavonoides podem ser encontrados nas folhas, raízes, flores e sementes de *M.oleífera* (ONSARE e ARORA, 2015; WANG *et al.*, 2017);

Suas folhas destacam-se por apresentar uma grande quantidade de kaempferol, quercentina e apigenina que se apresentam em forma de glicosídeos ligados a frações de açúcares como a hexose, entretanto, seu conteúdo pode variar de acordo com as condições ambientais (ONO *et al.*, 2010; BRUNETTI *et al.*, 2013; MAKITA *et al.*, 2016).

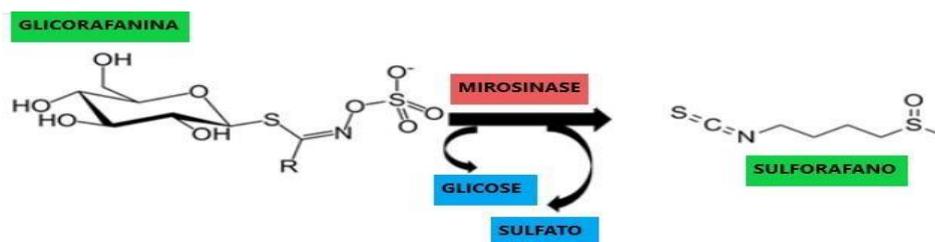
2.1.4.2 Glucosinolatos e Isotiocianatos

Os glucosinolatos e isotiocianatos estão relacionados com as propriedades nutritivas específicas de *Moringa oleífera*, e por esse motivo, vem se destacando no panorama da pesquisa (LOPEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2020; FAHEY *et al.*, 2018). Os glucosinolatos (β -tioglucosídeo-N-hidroxissulfatos), são sintetizados por determinados aminoácidos, originando a cadeia lateral (R), e determinam também a classificação dos compostos em alifáticos, aromáticos ou indol, sendo esta característica dependente do aminoácido precursor (fenilalanina, triptofano e metionina) (FAHEY; ZALCMANN; TALALAY, 2001; COLLETT; STEGELMEIER; TAPPER, 2014; DENG *et al.*, 2015; FOSTER *et al.*, 2015).

Somente os glucosinolatos foram identificados na *M. oleífera* (BENNETT *et al.*, 2003; AMAGLO *et al.*, 2010). Na literatura, o principal glucosinolato identificado na *Moringa* é o 4-(α -L-ramnopiranosiloxi) benzil glucosinolato, também conhecido como glucomoringina (MALDINI *et al.*, 2014). Na glucomoringina, é possível identificar as raízes, caules, flores, vagens, folhas e sementes, sendo estes dois últimos os locais de maiores concentrações, podendo chegar a 78 mg/100mg e 8620 mg/g, respectivamente (PAIXÃO *et al.*, 2021).

Estes compostos são decompostos durante o metabolismo por enzimas vegetais. Conhecidas como mirosinases ou enzimas salivares que transformam glucosinolatos em isotiocianatos (ITCS), entre eles o sulforafano (SNF) (-) - [1-isotiocianato-4-(metilsufinil) -butano], um composto natural que possui propriedades antioxidantes, inflamatórias e modula o risco de diabetes tipo 2 (TD2) (figura 3) (GUERRERO-BELTRÁN *et al.*, 2010).

Figura 3 – Formação do sulforafano (SNF) por hidrólise enzimática da glicorafanina



Fonte: Adaptado de MELROSE, 2019.

2.1.5 Atividades Biológicas

2.1.5.1 Propriedade antioxidante

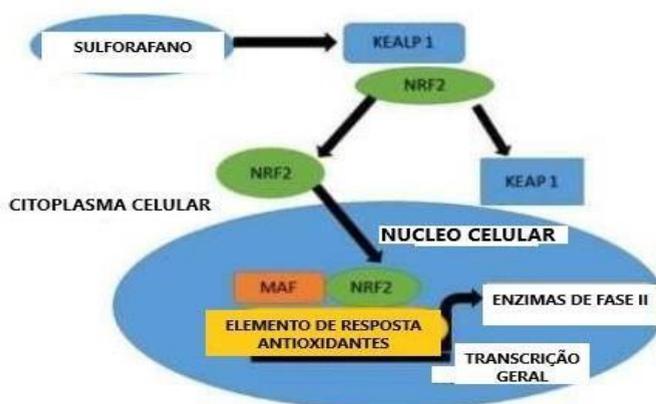
A propriedade antioxidante de *Moringa* pode ser atribuído à presença de compostos fenólicos como carotenoides, flavonoides e vitamina C que foi confirmado pelo rastreamento fitoquímico do extrato hidroetanólico em *Moringa oleífera* Lam (BISWAS *et al.*, 2012; FALOWO *et al.*, 2018).

Vale salientar que a atividade antioxidante de extratos da folha de *M. oleífera* tem sido relatada por muitos autores (SREELATHA; PADMA, 2009; SULTANA *et al.*, 2009; SINGH *et al.*, 2009). Sanganna *et al.* (2016) em um estudo *in vitro* através do modelo xantina oxidase, observou que os extratos metanólicos das folhas exibiram atividade antioxidante, com valores de concentração inibitória de 50% (IC 50) de 30mL.

Estudos têm mostrado que as folhas de *M. oleífera* são ricas fontes de antioxidante devido à presença de vários fitoquímicos como polifenólicos, carotenoides, α -tocopherol, ácido ascórbico e vários aminoácidos (SULTANA, 2008; SAINI *et al.*, 2014; RADY; MOHAMED, 2015). Outros estudos envolvendo o potencial antioxidante, anti-inflamatório e antiartrítico de *M. oleífera* tem sugerido que os flavonoides e fenólicos nos extratos vegetais sejam responsáveis pelas atividades agudas antioxidantes e anti-artrite (SALLEM; SALEEM; AKTAHR, 2020).

Os glucosinolatos e isotiocianatos têm despertado grande interesse em virtude das suas propriedades antioxidante (LOPEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2020). O mecanismo SFN (figura 4) é responsável pela proteção das células contra o dano oxidativo, induzindo as enzimas da desintoxicação da fase 2. O mecanismo de ação ocorre a partir da ativação nuclear E2, cuja enzima é mediada pelo fator de transcrição eritróide nuclear tipo 2 (Nrf2), (SONG *et al.*, 2009; CHENG *et al.*, 2019), que através da quebra do complexo atua formando junto com a proteína 1 associado a Kelch do tipo ECH (reserva 1). Na saída do complexo, o SFN atua no núcleo da célula através do elemento de resposta antioxidante (ERE), modulando a expressão gênica das enzimas antioxidantes NADPH quinona oxidorreductase (NQO1), hemeoxigenase-1 e a glutamilsteína ligase, cuja interação será realizada com o mitógeno ativado via de proteína quinase (SANTOS SILVA *et al.*, 2022).

Figura 4 – Mecanismo de ação do sulforafano via Nrf2



Fonte: Adaptado de Fuentes, Paredes-Gonzalez e Kong (2015).

O potencial antioxidante dos isotiocianatos é também relatado por Giacoppo *et al.* (2017) administraram glucomoringina e glucomoringina-isotiocianatos em sementes de *M. oleifera* em camundongos machos C57BL/6 acometidos com doença de Parkinson subaguda. Após o pré-tratamento com isotiocianatos, os cérebros dos camundongos apresentaram redução dos níveis de TNF- α e IL-1 β , inferindo uma possível a proteção dos isotiocianatos contra danos neuronais.

Cheng *et al.* (2019) descreveram a ativação da via Nrf2 em células HepG2-C8 tratadas com glucomoringina-isotiocianatos nas concentrações de 1,25, 2,5 e 5

μM , inferindo o efeito antioxidante devido ao aumento da expressão dos genes e proteínas relacionadas ao Nrf2.

2.1. 5. 2 Propriedade antimicrobiana

As propriedades antimicrobianas de *M. oleífera* são devido a compostos sintetizados no metabolismo secundário da planta (MOYO; MASIKA; MUCHENJE, 2011). Por isso, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para avaliar as propriedades antimicrobianas da *M. oleífera* em extratos de folhas, resultando em um amplo uso no tratamento de doenças humanas (OLUDURO, 2012; MOYO; MASIKA; MUCHENJE, 2011; MOURA *et al.*, 2015).

Estudo de Moura *et al.* (2015) diferente especificidade entre o extrato e as frações de proteínas precipitadas sobre bactérias sugere que esta planta contém diferentes agentes antibacterianos. Esses autores concluíram que a atividade inibidora de tripsina presente nas preparações ativas pode estar envolvida no mecanismo da ação antibacteriana (Ibid.).

Nesse seguimento, Mansour *et al.* (2019) revelaram que os extratos de folhas de *Moringa peregrina*, bem como *Moringa oleífera*, apresentam efeitos antimicrobianos contra bactérias Gram positivas, Gram negativas e fungos. Estudos de Galuppo *et al.* (2013) relataram a presença de isotiocianatos, onde se destaca o 4- (α - L-ramnosiloxi) benzil isotiocianato que têm como alvo a fração tiol das proteínas, como a cisteína, gerando perda proteica tanto estrutural quanto funcional, acarretando em maior expressão de genes codificadores das proteínas de choque térmico (HSP) (DUFOR *et al.*, 2013).

Como o reparo das proteínas alteradas pelas HSP demanda grande quantidade energética, a célula bacteriana tenta restaurar as proteínas danificadas, aumentando o seu metabolismo para a síntese de ATP e contribuindo para a produção de EROs. As dissulfeto redutase liberadas para neutralizar os danos causados pelas EROs são danificadas pelos isotiocianatos favorecendo a oxidação lipídica e proteica, extravasamento de citosol e morte do microorganismo (SZABO *et al.*, 1994; HUGHES *et al.*, 1998; XIAO *et al.*, 2010; AGUIAR, 2012; DUFOR *et al.*, 2013).

Em um estudo conduzido por Padla *et al.* (2012) foi avaliada a capacidade antimicrobiana do 4-(α -L-ramnosiloxi) benzil isotiocianato isolado das sementes da

M. oleifera contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* utilizando o método de difusão em disco. Os resultados mostraram que o isotiocianato supracitado foi encontrado ativo na concentração inibitória mais baixa (1mg/mL) contra todas as bactérias gram-positivas testadas (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. Subtilis*).

2.1.5.3 Propriedade anti-inflamatória

Muitas pesquisas têm sido realizadas em relação a propriedade anti-inflamatória da *M. oleifera*. Esta planta possui uma ampla gama de propriedades medicinais e terapêuticas através da execução de sua potente atividade anti-inflamatória, 4-[(2-o- acetil-L-ramnosil) benzil- α -isotiocianato, mitigando o estresse oxidativo, retirando radicais livres e aumentando a função neuroprotetora (KOU *et al.*, 2018).

Outros estudos realizados mostraram a atividade anti-inflamatória a partir da infusão utilizando água quente com flores, folhas, raízes, sementes e talos ou casca de *M. oleifera* (CÁCERES *et al.*, 1992). Além disso, estudos envolvendo *M. oleifera* mostraram efeitos hepatoprotetores, anti-inflamatórios e de redução lipídica contra hepatotoxicidade induzida pela estreptozotocina.

A seção histológica demonstrou alterações específicas no fígado dos ratos wistar masculinos diabéticos e não diabéticos, enquanto o tratamento de *M. oleifera* revelou melhora nas alterações hepáticas (OMODANISI *et al.*, 2017). Cui *et al.* (2019) identificou uma fração purificada de polissacarídeos obtida de *M. oleifera* que foi definida como MRP-1. O MRP-1 apresentou atividades anti-inflamatórias suprimindo a liberação de NO e TNF- α relacionados a inflamatórios, bem como o iNOS mRNA. Diante disso, o referido estudo fornece a purificação e estrutura privante de novos polissacarídeos MRP-1 da raiz com atividade anti-inflamatória e será beneficiado pela função da raiz de *M. oleifera*.

2.1.5.4 Propriedade antineoplásica

O câncer é uma doença que pode causar a morte, tendo em vista que as células cancerígenas normalmente invadem e destroem células normais (SANGANA *et al.*, 2019). Nessa perspectiva, a moringa vem sendo utilizada em

estudos relacionados ao câncer. Esta planta tem potência bioativa para metabólitos secundários os quais são frequentemente usados na medicina tradicional como referência ao seu poder curativo no câncer de cólon (BURALI; KULKARNI, 2013) e algumas outras doenças (NEPOLEAN; ANITHA; RENITTA, 2009).

Abordagens terapêuticas têm sido adotadas para tratar vários tipos de cânceres, porém, a resistência e/ou toxicidade cria a necessidade de opções de tratamento mais eficazes (KOU *et al.*, 2018). Nesse seguimento, o extrato de *M. oleífera* tem sido relatado como eficaz contra o crescimento de células cancerígenas de ovário *in vitro* e esses efeitos foram atestados à presença de compostos bioativos como isotiocianatos, eugenol, D-alose, e glucosinolatos na planta (BOSE, 2007; SARALAYA *et al.*, 2010).

As atividades antitumorais exercidas pelos isotiocianatos ocorrem através de alguns mecanismos, entre eles estão à modulação das enzimas de fase I e II, bloqueio do crescimento celular (acarretando parada do ciclo e consequente morte celular), precavendo a metástase e angiogênese e ajuste da maquinaria epigenética (MITSIOGIANNI *et al.*, 2019). Alguns achados na literatura ratificam o potencial quimiopreventivo e quimioterápico dos glucosinolatos e isotiocianatos:

Jaafaru *et al.* (2018b) relataram a diminuição da proliferação de células de adenocarcinoma prostático humano quando tratadas com extratos ricos em glucomoringina-isotiocianatos de sementes de *M. oleífera*. Os resultados obtidos sugeriram efeito antitumoral após o tratamento das células com 2,5 µg/mL do extrato da semente de *M. oleífera* por 24, 48 e 72h, no entanto, os mecanismos moleculares responsáveis por esses efeitos não foram descritos.

Cirmi *et al.* (2019) expôs células de neuroblastoma humano SH-SY5Y a glucomoringina-isotiocianatos de sementes de *M. oleífera* em concentrações que variaram entre 1,64 a 8,2 µM e observaram os efeitos antiproliferativos dependentes da dose e indução do apoptose em virtude do aumento da expressão das proteínas Bax e p53.

Outros estudos têm mostrado que *M. oleífera* pode reduzir o risco de câncer e modular a glicemia, fornecendo ainda potencial de prevenção ou tratamento de uma série de doenças crônicas (KOU *et al.*, 2018).

Estudos envolvendo extratos de folhas de moringa mostraram que os métodos de extração de éter dietílico e acetato etílico foram altamente eficazes para a atividade anticancerígena, induzindo o bloqueio/i do ciclo celular e apoptose das

células HepG2. A análise gc/MS mostrou que os extratos de éter dietílico e acetato etílico eram ricos em retinol, timol, ácido ascórbico, ácido místico, ácido palmítico e ácido linoleico, o que explicaria essa atividade (MONSOUR *et al.*, 2019).

Outros estudos mostraram que o extrato de folhas de moringa apresenta potencial anticâncer significativo e apoptótico contra células cancerígenas da próstata. Por isso, os autores propõem que a inibição do crescimento celular mediado por extratos e a apoptose está relacionada com a inativação da via de sinalização notch e suas vias oncogênicas associadas. É importante destacar que o referido estudo abriu novas e promissoras oportunidades para o tratamento do câncer de próstata (KHAN *et al.*, 2020).

2.1.5.5 Propriedade antifúngica

As proteínas de ligação de quitina (CBPs) são moléculas geralmente relacionadas à defesa vegetal, as quais pertencem à classe proteica relacionada à patogênese da família PR-4 e apresentam atividade antifúngica (KIM *et al.*, 2014). Nessa perspectiva, foi relatado a expressão genética e a localização de Mo-CBPs em sementes de *M. oleífera*. Esse estudo indicou que o processo de maturação de sementes é caracterizado por um acúmulo de transcrições Mo-CBP e suas proteínas codificadas nas células de cotilédones. Os Mo-CBPs se comportam como proteínas de armazenamento e são degradados durante os últimos estágios de germinação de sementes; e durante o desenvolvimento embrionário. Os Mo-CBPs podem atuar como proteínas defensivas contra fungos patogênicos, o que caracteriza o papel multifuncional dessas proteínas (GARCIA *et al.*, 2019).

Aondo *et al.* (2018) relataram que o ensaio antifúngico de diferentes extratos e sua análise fitoquímica mostrou que a combinação de diferentes compostos pode ser responsável pela bioatividade de extratos de planta. Tal estudo mostrou a presença de fitoquímicos em diferentes partes de *M. oleífera* e o extrato etanólico da folha tinha o melhor potencial inibitório antifúngico de todos os extratos testados da planta.

Um estudo conduzido por Shakour *et al.* (2022) mostrou que isotiocianatos possuem atividade antifúngica, pois levam a diminuição da taxa de consumo de oxigênio, acúmulo de EROs e permeabilidade da membrana mitocondrial. Alguns isotiocianatos isolados das sementes de *M. oleífera*, na concentração de 1mg/mL

foram efetivos contra os fungos dermatófitos *Epidermophyton floccosum* e *Trichophyton rubrum* (PADLA *et al.*, 2012). Os isotiocianatos também tiveram efeito fungicida contra as cepas de *Candida albicans* na concentração inibitória mínima de 20 µg /mL (RADULOVIC; DEKIĆ; STOJANOVIĆ-RADIĆ, 2011).

Os fungos patogênicos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* e *Epidermophyton floccosum* também tiveram seu crescimento inibido pelos isotiocianatos nas concentrações de 5000 µg/mL e a 10.000 µg/mL (CHOI; KIM; SHIN, 2017). Além disso, a *Candida albicans*, potencial patógeno oral, teve seu crescimento inibido pelos isotiocianatos na concentração inibitória mínima de 0,125 mg/mL (KO, 2016).

2.1.5.6 Propriedade Hipoglicemiante

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica, na qual a produção de insulina cessa aumentando os níveis de glicose no sangue (hiperglicemia). Esta condição permanece para longos períodos e pode afetar órgãos, nervos e vasos sanguíneos (SBD, 2019).

Alguns constituintes fitoquímicos encontrados em *M. oleífera* como glicosinolatos, flavonoides e compostos fenólicos são responsáveis por efeitos hipoglicemiantes com potencial antidiabético e pode controlar a glicemia (SANTOS *et al.*, 2022; AMARA *et al* 2021; FUENTES *et al.*, 2015).

Vale ressaltar que os flavonoides atuam interagindo com enzimas intestinais inibindo γ -glicosidade, cuja a função é degradar amidos e carboidratos, dando origem à glicose e atuam também na γ -amilase inibindo o metabolismo do amido (CAZAROLLI *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2022).

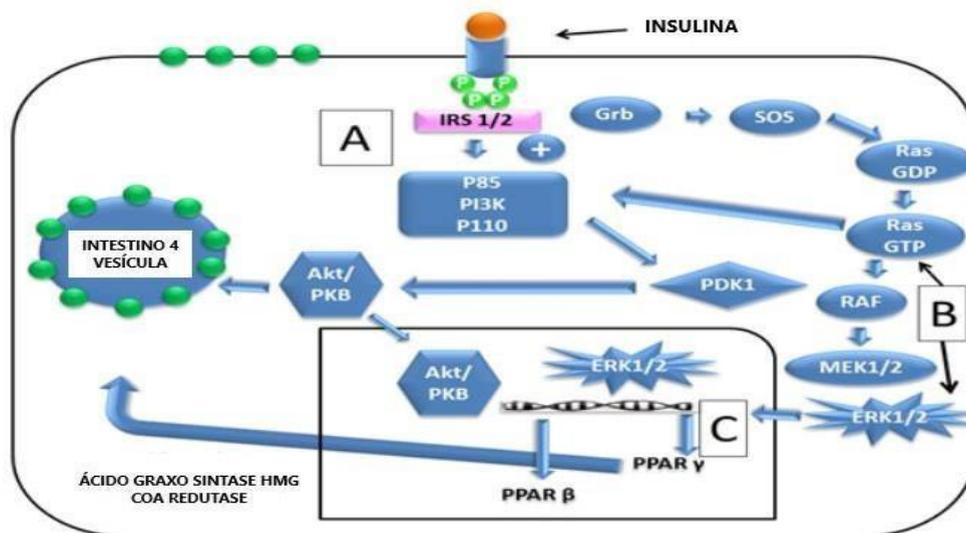
Conforme a figura 5 a seguir, há uma explanação sobre os mecanismos de ação dos derivados do ácido hidroxicinâmico e outras drogas. Com base na figura, pode-se entender que: a) A: ácido ferúlico, eugenol, ácido p- cumárico, ácido cinâmico, ácido caféico e ácido clorogénico; B: ácido clorogénico, ácido cinâmico; e C: tiazolidinediona; (+) denota um aumento e (-) denota uma diminuição.

Além disso, os ácidos fenólicos possuem o potencial de aumentar significativamente a expressão da GLUT4 e PI3K, uma vez que os ácidos clorogénicos afetam diretamente a expressão do gene PPAR γ . Os derivados dos ácidos hidroxicinâmico vão atuar diretamente na expressão dos reguladores

negativos da cascata de insulina. Nessa visão, pode-se supor que os derivados do ácido hidroxicinâmico aumentam diretamente a absorção de 2-desoxi-d-glicose (2DG), sendo mediada pela translocação dependente do PI3K e da GLUT4, já o ácido clorogênico e dinâmico irá aumentar a captação de 2DG através da translocação da GLUT4 via PPAR γ (SILVA SANTOS *et al.*, 2022).

Os metabólitos secundários também podem reduzir significativamente a expressão dos ácidos graxos, como a sintase e o HMG-CoA redutase, uma enzima limitante da síntese de colesterol (SILVA SANTOS *et al.*, 2022). Diante disso, uma redução na síntese de ácidos graxos e colesterol podem reduzir a resistência à insulina, sendo este fator contribuinte na prevenção do diabetes mellitus tipo 2 (HEMMERLE *et al.*, 1997; KARTHIKESAN *et al.*, 2010; PRABHAKAR & DOBLE, 2011).

Figura 5 – Mecanismo de ação dos derivados do ácido hidroxicinâmico



Fonte: Adaptado de Prabhakar e Doble (2011).

Dados pré-clínicos e estudos *in vitro* apresentados na literatura científica (Tabela 1) usando extratos e pó da planta *M. oleífera* mostram redução na hiperglicemia e diabetes mellitus tipo 2 com consumo de doses ≥ 1000 mg/kg/dia (ADEDAPPO *et al.*, 2009; AWODELE *et al.*, 2012; ASARE *et al.*, 2012; ISITUA; e IBEH, 2013; SANTOS *et al.*, 2022; VILLARRUEL-LÓPEZ *et al.*, 2018).

Tabela 1 – Extratos e constituintes fitoquímicos da Moringa Oleífera utilizados no tratamento de hipoglicemia, diabetes e distúrbios metabólico

Modelo experimental

MO tecido	MO Fitoquímico	Biológico modelo/Espécies	Dosagem / concentração	Atividade/Funcional	Efeitos	Referências
M.O. Folhas	M.O. Aquoso	Ratos masculinos Sprague-Dawley	1000 mg/kg b. wt (dose baixa) e 3000 mg/kg b. wt (Dose alta)	M.O. é genotóxico at folhas de 3000 mg/kg b.wt.; A ingestão é segura em nvei ≤ 1000 mg/kg b.wt	O LD ₅₀ de M.O era Previamente determinado a ser ≥3000 mg/kg	Asare et al. 2012
	Extrato leofilizado					
M.O. Folhas frescas	M.O. Extrato aquoso	Comundongos	Toxicidade aguda oral;	M.O. Extrato de folhas não provocou estatística.	LD ₅₀ foi estimado em 1585mg/kg folha aquosa	Awodele et al. 2012
		Machos wistar albinos.	Sub-toxicidade crônica 250, 500, e 1500mg/kg diariamente por 60 dias.	Diferença e qualidade, hematologia e bioquímica de esperma, parâmetros no tratamento de ratos.	Extrato de MO é relativamente segura quando administrado por via oral.	
M.O. Folhas	M.O. Extrato aquoso	Machos wistar albinos.	Toxicidade aguda oral (400,800,1600 e, 2000mg/kg p.o.)	Extrato de MO não causou Morte em animais com dose;2000mg/kg	Corpo dependente ↓dose Ganho de peso em comparação com o controle.	Adedapo et al. 2009
M.O Folhas	M.O. Extrato aquoso	Homen adulto	10g de pó/90mL Água; 2.5 e 5.0 mL administrado p.o. durante 30 dias.	↑ CD4 células e linfócitos, ↓neutrofilos; ↑ sangue insulina; ↑ Fosfatase alcalino, aspartato transaminase e alanine transaminase e sem dose letal e não há diferenças significativa em parâmetros de genotoxicidade.	M.O. Imunomodulador, aumenta o Metabolismo da glicose, fígado e atividades hepatobiliares	Isitua & Ibeh, 2013
		Coelhos Chinchilas				
M.O. Folhas	M.O. Extrato aquoso	Ratos Sprague Dawley	100-500 mg/kg M.O.		O efeito hipoglicemiante de MO é considerado seguro	Villarruel-López et al. 2018
Tabela continua						
MO Tecido	MO Fotoquímico	Biológico modelo/espécie	Dosagem/concentração	Atividade funcional	Efeitos	Referência

M.O. Folha	M.O. Extrato aquoso	Rato (GK)	200mg/kg-pv; p.o., Dose única; 2 h 100–300 mg/kg-bw; p.o., dose única; 8 h. STZ	↑tolerância a glicose (OGTT); proteger células com ROS ↓FPG; ↑glicose tolerância (OGTT) Proteger célula β contra express oxidativo ROS ↑SOD, CAT, GST; ↓LPO; Polifenóis 120mg/g GAE 40.5mg/g QE.	Efeito antioxidante; Efeito hipoglicemiante; Tratamento de diabetes	Ndong et al. (2007)
M.O. Folhas	M.O. Extrato aquoso	Ratos	200mg/kg-pv;p.o., Dose única; 2 h 100–300 mg/kg-bw; p.o., dose única; 8 h. STZ	↑tolerância a glicose (OGTT); proteger células com ROS ↓FPG; ↑glicose tolerância (OGTT) Proteger célula β contra express oxidativo ROS ↑SOD, CAT, GST; ↓LPO; Polifenóis 120mg/g GAE 40.5mg/g QE.	Efeito antioxidante; Efeito hipoglicemiante; Tratamento de diabetes;	Jaiswal et al. (2009)
M.O. Folhas	M.O. Extrato aquoso extract	Rato Wistar macho Diabetes induzido Por STZ	200 mg/Kg/dia durante 21 dias	↑tolerância a glicose (OGTT); proteger células com ROS ↓FPG; ↑glicose tolerância (OGTT) Proteger célula β contra express oxidativo ROS ↑SOD, CAT, GST; ↓LPO; Polifenóis 120mg/g GAE 40.5mg/g QE.	Polifenóis antioxidante; Efeito; ↓ hipoglicemiante; gerado por ROS	Jaiswal et al. (2013)
M.O. Folhas	Flavonoide Quercetina	Ratos diabéticos	15 mg/Kg/dia	Alteração celular; Defesa antioxidante; ↓ Iperoxidação lípido (MDA) e não produção; ↑ atividade enzima antioxidante (GSHPx, SOD, CAT); ↓ Níveis de glicemia;	Efeito protetor sobre diabetes; ; ↓ Estresse oxidativo; preserva a integridade de Células β-pancreáticas.	Coskun et al. 2005
Sementes	4Rhb-ITC (MIC-1)	<i>In vivo</i> – Ratos Sprague-Dawley	250 - 500 mg/kg (corpo Peso)	↑ Nrf2 Genes alvo expressão.; ↓ (NO) produção; (iNOS) genes expressão; ↓ (IL-1β, IL-6); ↑ Antioxidante; ↓ inflamação;	Efeito hipoglicemiante.	Jaja-Chimedza et al. 2017
	Tabela continua					

Tecido	MO Fitoquímica	Modelo biológico Espécie	Dosagem / concentração	Atividade/Funcional	Efeitos	Referências
Folhas	4RhB-ITC isômero III (4- [(α-L-rhamnosyloxy)-benzyl]-Isothiocyanates) 4RhB-ITC (4- [(α-L-rhamnosyloxy) -benzyl] - Isotiocianato)	<i>In vivo</i> (H4IIE rato)	1, 5, 10 μM (IC ₅₀ : 7 μM)	↓ Expressão gênica e Produção de marcadores Inflamatórios (iNOS e IL-1β, NO e TNF-β) ↑ lipolítico e termogênica	Aliviar a inflamação de baixo grau associada a doenças crônicas.	Waterman et al. 2014 Waterman
Folhas	4RhB-ITC isômero III (4- [(α-L-rhamnosyloxy) - benzyl]-Isothiocyanates) 4RhB-ITC (4- [(α-L-rhamnosyloxy) - benzyl] - Isotiocianato)	Estudo <i>In vivo</i> (C57BL/6 rata) in VHFD diet	800 mg/kg comida	Expressão gene; Diabetes hormônios (insulina, leptina, colesterol, IL-1 TNFα, G6P) expressão	Efeito anti-obesidade e anti-diabético.	Waterman et al. 2015
Semente extração enriquecida o 4RhB-ITC	4RhB-ITC (4-[(α-L-rhamnosyloxy) - benzyl]- Isotiocianato)	<i>In vivo</i> (C57BL/6 ratas)	0.34% (total diet)	Melhorar a tolerância à glicose; ↓ inflamatório expressogênica.; ↑ Gene antioxidante expressão. ↓ adiposidade e peso corporal.	Hypoglycemic effect and anti-obesity	Jaja-Chimedza et al. 2018
Semente extração enriquecida o 4RhB-ITC	Sulforofano	<i>HepG2 E47 células (in vitro)</i> 100mM etanol	<i>Macho SV129 humanizado CYP2E1 knockin (KI)</i> rato; sulforofano	↑NrF2, ↑ heme oxigenase 1 (HO1); ↓ Peroxidação lipídica; ↓ ROS; ↓ PPARγ e C/EBPα e leptina no tecido adiposo, tecido rato; Expressão de ↓ adiponectina	↓ acúmulo de lipídios em Células hepáticas por etanol; ↓ esteatose hepática ↓	Zhou et al. 2014

Semente extração enriquecido 4RhB-ITC	Sulforafano (50% pureza)	Macho C57BL/6N rata	0.05g/kg/5 dia Macho C57BL/6N	↓ PPAR γ e C/EBP α) e leptina no tecido adiposo, tecido rato \uparrow ; Expressão de \downarrow adiponectina	Obesidade e metabolismo Distúrbio, adiposidade visceral Hipertrofia de adipócitos acúmulo de gorduras, triglicerídios e Colesterol total.	Choi et al. 2014
MO Tecido	MO Fitoquímico	Modelo Biológico/espécie	Dosagem/concentração	Atividade funcional	Efeitos	Referências
Semente extração enriquecido 4RhB-ITC	Quercetina (QE)	3T3-L1 Pré-adipócitos (ATCC); Adipócito Maduro rato	0.1-10 μ M QE	↓ C/EBP β and PPAR γ Expressão dos genes.; ↓ SREBP1 Níveis de proteína madura; ↓ TGA \uparrow expressão PPAR γ 2;	QE inibe a adipogênese, mas não o acúmulo e gordura em adipócitos maduros.	Eseberri et al. 2015
Semente extração enriquecido 4RhB-ITC	Ácido Clorogênico (CGA)	3T3-L1 Células de pré-adipócitos.	20 μ M CGA; 1 μ M dexametasona, 5 μ g/mL de insulina; 0.5 μ M 3-isobutil-1-metil-xantina	Acúmulo de TGA intracelular.	CGA regulou positivamente a Expressão da diferenciação \downarrow TGA	Peng et al 2018
Semente extração enriquecido 4RhB-ITC	Isotocianato Sulforafano (SA) esulforafeno (SE)	-3T3-L1 Células de adipócitos; - Shh- Light 2 célula Linha de forma estável expressando Gli 1	SA ou SE (1, 5, 10, e 30 μ M)	SE suprimido Adipogênese por inibindo o adipogênico Fatores de transcrição PPAR γ and C/EBP α ; \downarrow	SE e SA inibidos Previndo adipogênese Hiperplasia de adipócito e obesidade.	Chen et al 2018.
Semente extração enriquecido 4RhB-ITC	Isotocianato sulforafano (AS), Isotocianato de alho (AI).	Pré-adipócito 3T3-L1 de camundongo Dependente de luciferase (ECCC)	SA (2-10 μ M); AI (25-100 μ M); Dexametasona; insulina; 3-isobutil-1-metilxantina	Acúmulo de gordura Nos adipócitos \downarrow PPAR γ e C/EBP α ; \downarrow acúmulo de gordura em adipócitos e TGA	SA inibidor mais potente da diferenciação de adipócitos; prevenção da obesidade;	Sakuma et al. 2022

Semente e extração enriquecido 4RhB- ITC	Flavonoide Similarina; flavonoides apigenina e apigetrina	Ratos diabéticos tipo 2	25mg/Kg e 50 mg/Kg	Efeito antioxidante dose-dependente do dano de células β - induzindo por STZ;	↓ glicose no sangue, ↓ hemoglobina glicosilada (HbA1c), ↓ peróxidos lipídicos (LPO) e glutationa reduzida (GSH) no pâncreas e no fígado.	Sharma et al. 2008; Wang et al.2017 Zhang et al.2020
--	---	-------------------------	--------------------	---	--	--

MO Tecido	MO Fitoquímico	Modelo Biológico/espécie	Dosagem /concentração	Atividade funcional	Efeitos	Referências
Semente extração enriquecido 4RhB- ITC	Ácido clorogênico	Ratos Zucker obeso	25mg/Kg e 50 mg/Kg	menor PPBG	Afeta o metabolismo da glicose	Rodriguez de Sotillo and Hadley, 2002
-	Ácido clorogênico	Ratos	25mg/Kg e 50 mg/Kg	Inibi a glicose-6- fosfato traslocase em fígado de rato ↓ hepático glicogenolisis .	Afeta o metabolismo da glicose	Hemmerle et al., 1997; Karthikesa n et al., 2010
-	Hidroxicinmico	Teste celular <i>in vitro</i> 3T3-L1	Metformina (20 μ M), junto com ácido ferúlico (25 μ M) ou ácido cinâmico (25 μ M);	↑2DG captação;	Tratamento de diabetes mellitus	Prabhakar; Doble, 2011a
-	Ácido(ácido ferúlico, Ácido cafeíco, p-coumarico, ácido cinamico,Ácido clorogênico)	Adipocitos de músculo de ratos; fibroblastos.	- THZ (20 μ M) em combinação com ferulico ácido (25 μ M) ou ácidoP-Comarico (25 μ M) metformina (20 μ M), juntamente comácido vanílico(15 e 25 μ M);	↑expressão de PPAR γ ; ↑expressão de PI3K; ↓expressão da gordura, ácido síntase e HMG Genes COA redutase	Tratamento de diabetes mellitus	Prabhakar; Doble, 2011a
-	Ácido Vanílico	Teste celular <i>in vitro</i> ; 3T3-L1 adipócitos de fibroblastos musculares de comundongos	- THZ (20 μ M) em Combinação com ácido vanílico (15 e 25 μ M)	↑2DG Captação; ↑ glicose Captação via AMPK caminho; ↓expressões dos genes do ácido graxo síntase e HMG Co, A	Tratamento de diabetes mellitus	Prabhakar; Doble, 2011b

MO Tecido	MO Fitoquímico	Modelo biológico/espécie	Dosagem/concentração	Atividade Funcional	Efeitos	Referências
Casca raízes	Alcaloíde Morigina	Induzido por Aloxana Ratos Wistar velhos diabéticos	2.000 mg/L \equiv 2 mg/mL Água potável/7 semanas; 2mg/mL intraperitoneal.	↓Ácido graxo; Melhora a tolerância à glicose; ↓ resposta hiperglicêmica à injeção intraperitoneal carga de glicose.	Administração Oral de: Benzilamina sozinha influencia o metabolismo da glicose e lípidios.	Bour et al. 2005
-	Bezylamine from <i>M. oleifera</i>	C57Bl6 camundongos, masculinos; ratos Pré-diabéticos	Água potável contendo Benzilamina (3600 mol/(kg dia) para 17 semanas	Dieta rica em gordura (HFD)- camundongos benzilamina ↓ Ganho de peso corporal, ↓glicemia de jejum, ↓Colesterol plasmático total; ↓ hiperglicêmica resposta à carga de glicose.	Benzilamina é um agente potencial para tratar síndrome Metabólica.	Iffiú-Soltész et al. 2010

M.O: *Moringa oleifera*; AMPK: Proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina ; AUC: Áreas sobre as curvas; 3T3-L1: células adipósitas; b.wt: Peso corporal; CAT: Catalases; C/EBP α : Proteína de ligação ao intensificador / CCAAT ou fatores de transcrição que se ligam a sequência central cis –reguladora de CCAAT encontrada em muitos genes reguladores C/EBP α foi o fator de transcrição original , descrito como uma proteína de ligação ao DNA-do zípér básico de leucemia (bLZ); em hepatócitos e adipócitos CGA: ácido clorogênico ; 2DG: 2-desoxiglicose ; FPG: Glicemia plasmática em jejum ; fator Nrf2: Fator 2 relacionado ao fator nuclear eritroide 2 ; GAE: Equivalente de ácido galico; GK: Ratos Goto-Kakizaki Wistar; GSH: glutationa; GPx :Enzimas glutationa peroxidase; G6P: Glucose 6-fosfato; HbA1c: Hemoglobina glicosilada; HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A; MDA: Malondialdeído; HDL: Lipoproteína de alta densidade; HFD: Dieta em gordura ; (i.p.): intraperitoneal; IL-6: Interleucina 6; IL-1 β : Interleucina 1 β ; LPO: Peroxidos lípidicos ; LDL: Lipoproteína de baixa densidade ; LD₅₀ : Dose letal 50%; NO: Óxido Nítrico; iNOS: Óxido nítrico sintase ; (p.o.): gavagem oral; TOTG: Teste oral de tolerância a glicose; PPPG: Níveis pós-pandriais; PPAR γ : Receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma ; PI3Ks: Fosfoinosítideo 3-quinases; ROS: Espécies reativas de oxigênio; QE: Equivalente de quercentrina; SOD: Superóxido dismutase; SA: Isotocianatos Sulforafano; SE: Isotocianato sulforafeno ; STZ: Streptozotocina; TC: Colesterol total; TG: triglicerídios ; TGA: triacilglicerídios ; TNF α : Fator de necrose tumoral α ; VLDL: Lipoproteína de densidade muito baixa ; VHFD: Matriz muito rica em gordura

A tabela 2 mostram estudos com pacientes diabéticos não tratados, onde foram colocados *Moringa oleífera* Lam em uma refeição padronizada, ingerida após jejum noturno. Foi constatado que afetou os Níveis de glicose pós-prandial (PPG) foi de 1h e 2h em relação à refeição padrão isolada. As AUCs da insulina plasmática não diferiram significativamente entre as duas refeições, sugerindo que o efeito hipoglicemiante da suplementação foliar de *M. oleífera* não foi devido ao aumento da secreção de insulina (WILLIAM *et al.*, 1993).

Em um grupo experimental de 60 pacientes com diabetes tipo 2, foram prescritos 2 comprimidos de folhas de *M Oleífera* / dia, um após o café da manhã e o outro após o jantar por 90 dias. No grupo controle a hemoglobina glicada (HbA1c) e os níveis de glicose pós-pandrial (PPG) diminuíram com o tempo, mas a mudança não foi significativa.

Em contrapartida o grupo experimental diminuiu progressivamente com a duração do tratamento Hb1Ac diminuiu 0,4% ponto (de $7,8 \pm 0,5$ para $7,4 \pm 0,6$; $P < 0,01$), PPG Em 9% após 30 dias ,17% após 60 dias e 29% após 90 dias ($P < 0,01$), indicando que MO pode induzir com o tempo uma melhor tolerância a glicose (GHIRIDHARI *et al.*, 2011). Já o estudo de Prabhakar e Doble (2011) foi identificado que a combinação de MO com medicamentos hipoglicemiantes como metformina permite um aumento na hipoglicemia que por sua vez, permite na redução da dose e nos efeitos colaterais e adversos.

Kumari (2010) relata que pacientes com diabetes mellitos tipo 2 que faz uso dietético de folhas de M. O ao longo de 40 dias, teve os valores dos níveis de glicose plasmática em jejum e pós-pandrial comparados com os níveis basais; eles foram significativamente reduzidos no grupo experimental (Plasma em jejum glicose: FPG: - 28%%, $P < 0,01$; Glicose pós-prandial, PPG: - 26%) $P < 0,05$).

Tabela 2 – Ensaios experimentais e clínicos no tratamento de hipoglicemia, diabetes e síndrome metabólica usando *Moringa oleífera*

Ensaio Experimental						
MO Tecido	Fitoterapico MO	Modelo Biológico /Espécie	Dosagem / concentração	Atividade Funcional	Efeitos	Ref.
Folhas	<i>M. Stenopetala</i>	Ratos diabéticos	500 mg/Kg	Hipoglicemiante	↓ sangue	Sileshi et al. (2014)
	<i>Etanol extratos e subfração</i>				Níveis de Glicose (53,44%) Ápos 2h e (46,34%) Ápos 4,5h	
Leaf	<i>M. Oleífera</i>	Goto-kakizaki Ratos Wistar	200mg/kg pó 2horas	Hipoglicemiante	↑tolerância glicose (OGTT); ↑	Ndong et al. (2007b)
Leaf (water)	<i>M. Oleífera</i>	Ratos	Dose 100–300 mg/kg-pó 8h	Hipoglicemiante	↓FPG; ↑tolerância glicose (OGTT)	Jaiswal et al. (2009)
Testes Clínicos						
N.Exp	N.Controle	Parte da Planta	Protocolo	Grupo experimental Resultados		Ref.
6	6	Folha(refeição)	50 g/mg refeição; p.o. 1 ou 2h .	↓PPP/PPG; ↓TC; ↑HDL-C; ↓non-HDL-C		William et al.(1993)
46	9	Folha (tabela)	8 g/dia; p.o., diária; 40 dias	↓FPG; ↓PPP/PPG; ↓TC; ↓LDL-C; ↓VLDL-C		Kumari al.(2010)
30	30	Folha(Tabela)	2 comprimidos /dia; p.o.,diário; 1,2,3 meses.	↓HbA1c; ↓PPP/PPG		Ghiridhari et al.(2011)

M.O.: *Moringa oleífera*; b.wt: Peso corporal; gavagem (p.o.); FPG: Glicemia em jejum; GK: Ratos -Goto Kakizaki Wistar; HbA1c: hemoglobina glicosada ; OGTT: Teste oral de tolerância à glicose ; PPPG: Níveis pós- prandiais ; VLDL: Lipoproteína de muita baixa densidade, LDL: Lipoproteína de baixa densidade ; HDL: High- lipoproteína de alta densidade.

2.1.5.7 Toxicidade

Estudos de toxicidade são normalmente ensaios *in vivo* e determinam se as plantas e/ou medicamentos são seguros para o tratamento de sintomas e doenças, sem provocar qualquer reação adversa que possa incorrer num risco para a vida humana. Este tipo de estudo permite determinar o intervalo terapêutico do medicamento, as doses sub-terapêuticas e tóxicas (ALMEIDA, 2018).

Em pesquisas de purificação de água realizadas por Al-Anizi, Hellyer e Zhang (2014), investigou-se a toxicidade das sementes de *M. oleifera*. Foi demonstrado o alto risco na utilização das sementes para purificar água, e, por esse motivo, sugere-se a investigação de técnicas apropriadas de purificação de água para áreas rurais de países em desenvolvimento, tendo em vista o baixo custo e a sustentabilidade ecológica para o tratamento de água.

Ainda sobre o referido trabalho, foi dada uma alternativa de pré-tratamento de sementes de *M. oleifera* para reduzir a sua toxicidade, como o aquecimento do processo de extração das sementes a 80°C para desativação de enzimas tóxicas ou utilizar uma precipitação avançada para remover proteínas residuais. Outra aplicação conhecida da espécie *M. oleifera* no tratamento de água é o uso da madeira para produção de carbono ativado com fins de remoção de metais pesados, como cobre, níquel e zinco (KALAVATHY; MIRANDA, 2010).

Em contrapartida Almeida (2018), relata que estudos *in vivo* os testes de toxicidade aguda e subaguda em humanos, utilizando extratos aquosos e etanólicos de folhas de moringa oleífera, não apresentaram variações hematológicas e histopatológicas significativas, sendo seguro seu uso em humanos em concentração de 70 gramas ingeridas por dia.

2.2 Sazonalidade

A sazonalidade interfere significativamente na composição do solo e na constituição de substâncias secundárias da vegetação regional, tratando-se de um mecanismo de adaptação das plantas ao seu ambiente; conseqüentemente, é um aspecto a se considerar em experimentos com *Moringa oleífera* Lam, em ensaios de controle de qualidade e até mesmo na elaboração de estratégias aprimoradas de colheita, valorizando deste modo os bioprodutos, por selecionarem-se os metabólitos secundários mais ativos (MORAIS, 2009; HARTMANN, 2007; TISTAERT; DEJAEGHER; HEYDEN, 2011; SAVOI *et al.*, 2016).

Alguns fatores como solo, idade da planta, condições ambientes e localização geográfica afetam a composição nutricional e atividade biológica dos vegetais (VÁZQUEZ-LEÓN *et al.*, 2017; NOBOSSÉ; FOMBANG; MBOFUNG, 2018). A maturidade, por exemplo, afeta o quantitativo da composição e conteúdo de fitoquímicos em plantas (SIDDIQUI *et al.*, 2013).

Vale ressaltar que *M. oleífera* é tolerante frente às condições típicas de regiões áridas e semi-áridas, como o caso do Nordeste do Brasil (OLSEN; FAHEY 2011). A adaptação da planta as condições de seca presentes no Nordeste possui potencial de uso diversificado pela população, e estes vegetais tornam-se uma alternativa de cultivo valiosa (GÓMEZ; ANGULO, 2014).

Estas regiões áridas e semiáridas têm como principais características climáticas os períodos secos com baixa precipitação e altas temperaturas, sendo escasso em água (PRADO, 2003). Essa limitação de água, ao longo do tempo foi um dos principais fatores no desenvolvimento da planta, visto que vários seus processos vitais são influenciados pela disponibilidade desse recurso (SILVA *et al.*, 2016).

Outro efeito importante sobre as plantas é o da salinidade, ocorrendo principalmente de duas maneiras, a partir do efeito osmótico e iônico (MUNS; TESTER, 2008). Com relação a produtividade, o aumento dos teores de sais gera uma queda no potencial osmótico da solução do solo, ocasionando efeitos nas culturas, incluindo a dificuldade na absorção de água, déficit nutricional e redução na produção, sendo necessária regulação no fornecimento nutricional em condições de salinidade (MENEZES JUNIOR *et al.*, 2010; BEZERRA *et al.*, 2014; SÁ *et al.*, 2018).

Segundo Sá *et al.* (2017), o uso correto dos adubos ricos em nitrogênio é uma das alternativas para diminuir os efeitos da salinidade sobre as plantas, pois estes

desempenham função estrutural e participam de vários compostos orgânicos.

As alterações das estações climáticas são influência direta no crescimento correto e morfologia das espécies vegetais (PRADO JÚNIOR *et al.*, 2015; DENSLOW *et al.*, 2019). As plantas são afetadas por diferentes fatores abióticos e estes podem gerar variações sazonais de acordo com as condições ambientais (SILVA *et al.*, 2021). Coppin *et al.* (2013) num estudo realizado com folhas de *M. oleifera* em diferentes países observaram que a quantidade de flavonoides foi alterada, possivelmente a partir do aumento da temperatura. Os autores destacaram uma variação sazonal, tendo um menor teor de flavonoides totais em amostras coletadas no início do inverno, comparando-as com as amostras do final.

As variações temporais e espaciais influenciam diferentemente na produção de metabólitos secundários nos vegetais em diferentes níveis sazonais. Os metabólitos secundários (ou metabólitos especializados) são altamente específicos e desempenham papel importante na evolução dos vegetais, e na proteção contra estresses bióticos e abióticos (BORGES; AMORIM, 2020). Mesmo com os diferentes níveis de regulação gênica e de expressão, os processos bioquímicos, fisiológicos e outros são modificados em respostas a estas variações (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). De acordo com Kutchan (2001), as sínteses desses metabólitos secundários estão diretamente relacionadas com as condições ambientais (figura 6).

Figura 6 – Influência da sazonalidade no acúmulo de metabólitos secundários em plantas



Fonte: Gobbo-Neto e Lopes (2007).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Caracterizar a composição de extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleífera* Lam através de ensaios fitoquímicos, cromatográficos e atividade antioxidante obtidos em diferentes épocas de coleta.

3.2 Objetivos Específicos

- 1) Realizar estudo dos dados de revisão de literatura científica e artigo de revisão produzido sobre a atividade hipoglicemiante de *Moringa oleífera* Lam;
- 2) Coletar amostras das partes aéreas de *Moringa oleífera* Lam da região de Inhapi-AL em diferentes épocas do ano;
- 3) Obter extratos hidroalcoólicos das partes aéreas de *Moringa oleífera* Lam;
- 4) Avaliar a atividade antioxidante (DPPH) dos extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleífera* Lam;
- 5) Desenvolver ensaios de identificação e quantificação de flavonoides e fenóis dos extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleífera* Lam através de ensaios químicos acoplado a espectrometria do UV-Vis;
- 6) Identificar os marcadores fitoquímicos de alguns metabólitos fenólicos de *Moringa oleífera* Lam, através cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD) e cromatografia líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS).

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Coleta e identificação botânica de *Moringa oleífera* Lam

As atividades desenvolvidas foram iniciadas com a obtenção do extrato hidroalcoólico a partir de amostras de *M. oleífera*, as quais foram coletadas no Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) localizada no campus de Rio Largo (latitude: - 9.4802; longitude: - 35.858 9° 28' 49" e altura de 44m) em julho de 2019. Partes da planta foram coletadas, a qual foi levada para a identificação da espécie no herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA) sob o registro de 656755 (Anexo I).

4.2 Obtenção dos extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleífera* Lam

Os experimentos foram realizados no laboratório de Análises Farmacêuticas e Alimentícia (LAFA), localizado na UFAL. As amostras foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente no período de duas semanas até o momento da extração. As folhas foram trituradas em moinho mecânico TE 631-TECNAL (figura 7), com 14.000RTM, sendo pesadas em balança analítica com peso total de 105,5247g. As extrações foram efetuadas através do método de maceração. Nesse processo, cada amostra de 10g *in natura* da planta foi embebecida em 120mL de etanol (HETOH), agitando-se o sistema no segundo dia e concluindo-se o procedimento com apenas um ciclo de extração. Os extratos hidroalcoólicos foram armazenados em frascos menores e armazenados em freezer a - 20 C até que se iniciasse as análises.

Figura 7 – Folhas trituradas de *Moringa oleífera*



Fonte: Autora (2022).

Legenda: (A) Moinho mecânico TE 631-TECNAL; (B) Pó de *Moringa oleífera* Lam.

No período de janeiro a agosto de 2021 foram adquiridos pó e chá de folhas de *Moringa oleífera Lam* em povoado sítio salão no município de Inhapi-AL (latitude sul: 09° 13' 17"; longitude: 37° 44' 55" e altura 410m). Uma fração das amostras de pó e chá (25g) foram extraídas por maceração e embebecidos em solução hidroalcoólica em 300 mL de Etanol à 0%, 25%, 50% e 75%. A amostra vegetal ficou em temperatura ambiente em contato com a solução extratora por um período de 72h, agitando o sistema no segundo dia e concluindo-se o procedimento com apenas um ciclo de extração. Em seguida foram filtrados e o solvente foi concentrado com uso de etanol absoluto e deixado em estufa à temperatura ambiente para completa secagem do extrato bruto de MO. A massa seca foi estocada e, freezer a - 20 C, até o momento das análises.

Tabela 3 – Extratos hidroalcoólicos Pó e Chá de *Moringa oleífera Lam*

Extratos utilizados pó e chá						
mês/ano	Julho/19	Jan/21	fev/21	Junh/21	Julh/21	Agos/21
PO% e	20,30,40 50	25 e 40	50 e 75	50 e 75	50 e 75	50 e 75
CHÁ%	-----	25	50 e 75	50 e 75	-----	50 e 75

Fonte: Autora (2022).

4.3 Secagem dos extratos

Efetuiu-se a concentração dos extratos através de evaporação rotativa (figura 8), com rotação de 80rpm e temperatura de 45°C Fisatom, Brasil que foram transferidos para frascos fechados parcialmente com papel filme e postos em estufa, onde se mantiveram até que todo o seu resíduo de líquido extrator pudesse evaporar, formando-se extratos brutos de MO, secos (figura 9). Estes foram armazenados em congelador, a - 20 C, até que pudessem ser analisados.

Figura 8 – Extratos de MO em processo de concentração por evaporação rotativa



Fonte: Autora (2022).

Figura 9 – Parte do extrato bruto após a concentração e secagem



Fonte: Autora (2022).

4.4 Análise do Potencial Antioxidante por DPPH

Realizou-se também o ensaio químico para a determinação da atividade antioxidante dos extratos hidroalcoolicos de MO de julho de 2019 e 2021 (janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto); utilizando o DPPH (2,2-difenil -1-picril hidrazila), cujo método é uma adaptação do proposto por Brand Willams (1995). Nesse método, o reagente DPPH atua como uma espécie reativa de oxigênio que reage com as moléculas redutoras da mistura a ser estudada; devendo então monitorar a variação da concentração de DPPH e com isso determinar a atividade antioxidante da amostra. Os decaimentos do DPPH foram analisados em espectrofotômetro, UV-vis da marca Shimadzu, no modo “fotometria”, com comprimento de onda (λ) programado para 317 nm (figura 10). As absorvâncias observadas foram inseridas na equação 1, com o objetivo de avaliar a atividade antioxidante em termos percentuais.

Figura 10 – Espectrofotômetro UV-Mini, marca – Shimadzu



Fonte: Autora (2022).

Equação 1 – Equação para a determinação da atividade antioxidante

$$\% \text{ Atividade antioxidante} = \frac{100 - ((A \text{ amostra} - A \text{ branco}) \times 100)}{A \text{ controle}}$$

Equação para a determinação da atividade antioxidante: Onde:

- *A amostra* = absorvância da solução amostra ao fim da reação com DPPH;
- *A branco* = absorvância da solução amostra sem DPPH;
- *A controle* = absorvância da solução referência de DPPH (etanol).

4.4.1 Preparação do DPPH e das amostras

A preparação da solução estoque de DPPH foi obtida mediante a pesagem de 4mg em um béquer, em uma balança analítica shimadzu modelo AX200, seguida da dissolução deste reagente em etanol absoluto, um balão volumétrico (âmbar), de 100mL, obtendo-se uma solução de DPPH de 0,1mM. As reações para a determinação da atividade antioxidante das amostras de MO 2019 prosseguiram com a transferência de alíquotas 125µl, 250µl, 500µl e 750µl de extratos de MOL nas concentrações de 20%,30%,40% e 50% (figura 9); para balões volumétricos de 5mL. Para cada balão foi adicionado 2mL da solução estoque de DPPH e houve o preenchimento com etanol absoluto até a marca da aferição, sendo obtido, respectivamente, as concentrações de 0,2mg/mL, 0,4mg/mL, 0,8mg/mL e 1,2mg/mL. As reações foram iniciadas e os balões volumétricos foram colocados ao abrigo da luz durante 30 minutos.

Ao término da reação, um dos aspectos notados foi a mudança da coloração, uma vez que as amostras que o extrato estava mais concentrado apresentaram coloração amarelada, enquanto, as menos concentradas apresentaram coloração roxa típica do DPPH. Já as amostras de extratos de MO 2021 foram preparados pesando-se 50mg dos extratos brutos, em balança a analítica, com sua subsequente dissolução em 10ML de etanol absoluto, obtendo-se extrato de 5mg/mL das amostras de todos os meses, Alíquotas desses extratos bem como 2mL da solução estoque de DPPH, foram transferidas para balões volumétricos de 5ml, os quais foram depois preenchidos com etanol absoluto até o traço da aferição, produzindo-se as misturas reacionais. Os extratos de MO reagiram, portanto, nas concentrações de 25µg/mL,50µg/mL,100 µg/mL,250 µl/mL e 500 µg/mL. Todas Foram depois submetidas a leitura em espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu, UVmini-1240), no comprimento de onda de 517nm. As curvas de calibração foram previamente validadas com dados de precisão intermediária, exatidão e linearidade.

4.5 Determinação do teor de flavonoides totais pelo método de Quercetina

4.5.1 Construção da curva de calibração de quercetina

Foi necessário fazer uma curva padrão de quercetina (C₁₅H₁₀O₇), com diferentes concentrações. Em seguida preparou-se uma solução de cloreto de

alumínio AlCl_3 (5%), onde foi pesado 9,05g $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e solubilizado em 100mL de metanol. Logo após foi preparado uma segunda solução de quercetina ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$), onde foi pesado 0,1g e solubilizado em 10mL de metanol. Foram preparadas seis concentrações diferentes para quercetina (tabela 3) 2, 4, 6, 8, 10, 12 ($\mu\text{g}/\text{mL}$), onde foi colocado em cada um dos seis balões 100 μL de cloreto de alumínio à 5%, em diferentes concentrações da solução de quercetina e posteriormente o balão foi completado com metanol até atingir 5mL.

Tabela 5 – Concentração para curva padrão da quercetina

Curva Padrão da Quercetina						
Solução	0,1 mL	0,1 mL				
$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$						
Solução	0,2mL	0,4mL	0,6 mL	0,8 mL	1 mL	0,6 mL
$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$						
Concentração	2 $\mu\text{g}/\text{mL}$	4 $\mu\text{g}/\text{mL}$	6 $\mu\text{g}/\text{mL}$	8 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	12 $\mu\text{g}/\text{mL}$
$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$						

Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Em seguida, agitou-se levemente por alguns segundos, e a solução foi mantida em repouso no escuro, por 30 minutos. Após o tempo fez a leitura em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 425nm. Calculou-se a equação da reta pelo método dos mínimos quadrados.

Figura 11 – Diferentes concentrações da solução contendo 100 microlitros de cloreto de alumínio, diferentes concentrações de quercetina e completadas para 5ml de metanol



Fonte: Autora (2022).

4.6 Teor de Flavonoides totais do extrato de Moringa oleífera

Em seguida foi feita uma solução estoque contendo extrato de moringa oleífera, onde 50mg foi dissolvido em 10 mL de etanol a 70% para que a solução encontrasse em 10mg/mL, foram preparadas seis concentrações diferentes de moringa (Tabela 4), onde foi colocado em cada um dos seis balões 100µL, de cloreto de alumínio a 5%, e diferentes concentrações da solução de moringa em metanol e posteriormente o balão foi completado para 5mL; em seguida agitou-se levemente por alguns segundos. Após o tempo de 30min fez a leitura no espectrofotômetro, no comprimento de onda 425nm. Calculou-se a equação da reta pelo método dos mínimos quadrados.

Tabela 6 – Concentração da curva da *Moringa*

<u>Curva Moringa oleífera Lam</u>							
Sol. AlCl ₃ 6H ₂ O	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
Sol. M.O.	25 µL	50 µL	100 µL	250 µL	500 µL	750 µL	
Conc.	Final	25 µg/mL	50 µg/mL	100	250	500	750
M.O.				µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL

Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Os valores das absorbâncias obtidos com as leituras das amostras foram substituídos na variável y, da equação $y = a+bx$. Para calcular a porcentagem de flavonoides totais presentes nas amostras analisadas utilizaram-se as equações descritas acima.

4.7 Determinação de Fenois Totais com Folín-Ciocalteu

4.7.1 Construção da Curva de Calibração do Ácido Gálico

Foi preparada uma solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 15%(P/V) em água tendo o volume final a 100mL. Em seguida foi preparada uma solução estoque de ácido gálico a 1mg/mL e uma solução de trabalho de ácido gálico a 100 µg/mL.

Após essas preparações, em um balão volumétrico de 10 mL, adicionou-se 250 µL de Folin-Ciocalteu, 3 mL de água OR e diferentes volumes (200, 400, 600, 800, 1000µL) da solução de trabalho de ácido gálico para concentrações (2, 4, 6, 8, 10µg/mL) agitando a solução por 1 minuto, posteriormente transferiu-se 600 µL de

carbonato de sódio (Na_2CO_3) agitou-se por mais 30 segundos, aferindo o balão com água OR.

A solução foi mantida protegida da luz por 2 horas para que ocorresse a oxidação dos fenóis. O ensaio foi realizado em triplicata. Observou-se a mudança de coloração, de esverdeado para azul. A leitura foi realizada no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 750 nm.

4.7.2 Determinação do teor de Fenóis Totais nos Extratos hidroalcológicos de *Moringa oleifera* LAM

Pesou-se 50 mg de extrato bruto de *Moringa oleifera*, totalmente seca e livre de solvente, e transferiu-se para um *becker* de 10 mL. Em seguida, completou-se o volume com 5 mL de etanol 70% em um balão volumétrico de 5mL para obter concentração de 5mg/mL ou 5.000 ug/mL.

Transferiu-se alíquotas de 75, 100, 125 e 200 μL para um balão de 5 mL para obter as cocentrações de 50, 75, 100, 125 e 200 $\mu\text{g/mL}$. Adicionou-se 250 μL do reagente Folin-Ciocauteu e 600 μL de carbonato de sódio (Na_2CO_3). agitou-se por mais 30 segundos, aferindo o balão com água OR. A solução foi mantida protegida da luz por 2 horas para que ocorresse a oxidação dos fenóis. A leitura foi realizada no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 750 nm. O ensaio foi realizado em triplicata.

4.8 Ensaio de identificação e quantificação de flavonoides usando HPLC- DAD

A identificação e quantificação de flavonoides em *Moringa oleifera* Lam foram realizadas utilizando uma cromatografia líquida de ultra-performance acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) da Shimadzu, composta pelos seguintes módulos: uma bomba de alta pressão 20ADXR), degaseificador (modelo DGU-20A3R), autoinjeter (modelo SIL-20AXR), coluna cromatográfica em forno, detectores de fotodiodos (modelo EPDM-20A) e detector de fluorescência (modelo RF-20A), um controlador (modelo CBM-20A) e um software Shimadzu Labsolution. A separação dos flavonóides ocorreu por meio de coluna de fase reversa (C18, 250 \times 4,6 mm; 5 μm), fase móvel composta de solvente A (ácido fórmico 0,1% em água Milli-Q) e solvente

B (Metanol), bombeada a vazão de 0,6 mL/min. O gradiente inicial de eluição consistiu A concentração do solvente B variou entre 10% entre os tempo 0, em seguida aumentou para 12% de B em 3 min., em seguida aumentou para 16% de B em 6 min., seguido de 20% de B em 9 min., 25% de B em 12 min., 31% do solvente B em 15 min., 36% do solvente B em 18 min., 42% do solvente B em 21 min., 47% do solvente B em 24 min., 53% do solvente B em 27 min., 60% do solvente B em 30 min., 67% do solvente B em 33 min., 75% do solvente B em 36 min., 88% do solvente B em 39 min., 92% do solvente B em 41 min., 100% do solvente B em 44 min., retornou-se a condição inicial do solvente B (10%) entre 45 e 50 min. E mantendo-se 10% até 54 min. A concentração de 600 µg/mL de amostras foi preparada e o volume injetado na coluna foi de 2µL.

4.9 Cromatografia Líquida Aclopada À Espectrometria de Massas (LC-MS)

A) Preparo das amostras para Injeção no LC-ESI-Orbitrap-FTMS:

As amostras de Extratos de Moringa Oleifera pó 75% foram enviadas para laboratório *Apex Science* (Campinas/São Paulo) em vials limpos em quantidade pesada em balança analítica (100 mg). Quantidade de 100 mg de extrato solubiliza-se em 2 mL de metanol para obter concentração de 50 mg/mL (50.000 µg/mL) (solução estoque) em *becker*. Filtrou-se as amostras (se preferível) em unidades filtrantes 0,22 µm. Em seguida, pipetou-se um volume de 1 mL (1000 µL) para balão volumétrico de 10 mL para obter concentração de 5 mg/mL (5.000 µg/mL) (**Solução de trabalho 1**). Pipetou-se 0,4 mL da solução de trabalho 1 para balão volumétrico de 10 mL para obter concentração de 0,2 mg/mL (200 µg/mL) (**solução de trabalho 2**). Em equipamento LC-Orbitrap da Thermo foram injetadas concentrações de extrato de *Moringa Oleifera* de 200 µg/mL).

B) Condições de análise LC-MS para determinação dos marcadores de M.O

Os dados de LC-MS foram adquiridos usando equipamento LTQ Orbitrat™ (*Thermo Fissher Scientific, Hemel Hempstead, Reino Unido UK*, fixado em uma resolução de 30.000. A análise das amostras foi realizada em modo negativo e modo positivo. A faixa de varredura em massa foi de m/z 148-2000 e a temperatura do capilar foi de 250°C. O eixo de massa do instrumento foi calibrado externamente de

acordo com as instruções do fabricante, pouco antes de iniciar a experiência. Todos os dados foram monitorados por *software Mzmine*. A análise cromatográfica em LC-Orbitrap-FTMS obedeceu aos seguintes parâmetros: A fase móvel consistiu de (A) 0,1% de ácido fórmico em água:Metanol (B), 1(V:V) em modo de gradiente e a fase estacionária foi uma coluna C18 *Phenomenex*® (250 x4,6 mm, 5µm) em fluxo de 300µL/min. A coluna foi submetida a eluição em modo de gradiente. A concentração do solvente B variou entre 10% entre os tempo 0, em seguida aumentou para 12% de B em 3 min., em seguida aumentou para 16% de B em 6 min., seguido de 20% de B em 9 min., 25% de B em 12 min., 31% do solvente B em 15 min., 36% do solvente B em 18 min., 42% do solvente B em 21 min., 47% do solvente B em 24 min., 53% do solvente B em 27 min., 60% do solvente B em 30 min., 67% do solvente B em 33 min., 75% do solvente B em 36 min., 88% do solvente B em 39 min., 92% do solvente B em 41 min., 100% do solvente B em 44 min., retornou-se a condição inicial do solvente B (10%) entre 45 e 50 min. E mantendo-se 10% até 54 min. A concentração de 200 µg/mL de amostras foi preparada e o volume injetado na coluna foi de 10µL.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da atividade antioxidante

A primeira avaliação realizada para amostras de extratos do ano de 2019 foi a identificação da atividade antioxidante de amostras de *Moringa oleífera Lam* por sequestro do radical DPPH. As amostras estão dispostas na figura 12, cujo o gráfico fornece a porcentagem de sequestro do radical livre DPPH em função da concentração do extrato de *Moringa oleífera Lam*.

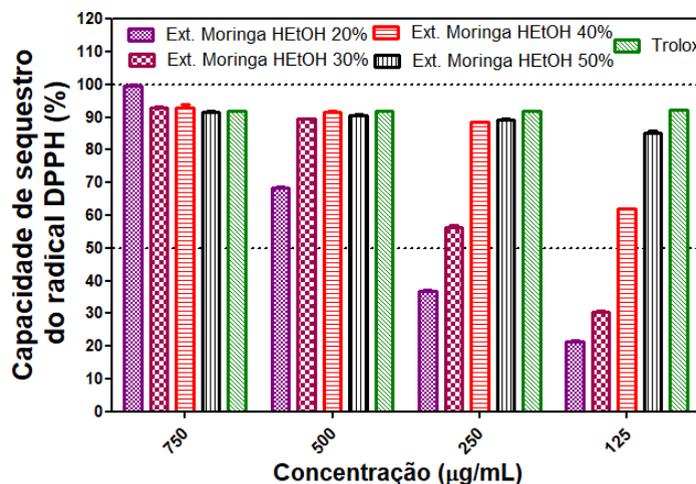
As concentrações demonstradas no gráfico evidenciaram que todos os extratos hidroalcóolicos a (50%, 40%, 30% e 20%) obtiveram melhores resultados na concentração de (750 µg/mL), apresentando percentual de inibição do radical DPPH de (99,61%, 99,92%, 92,95% e 91,54%), demonstrando nesta concentração os extratos hidroalcóolicos de moringa apresentam atividade antioxidante.

Além disso, observou-se o efeito concentração dependente, ou seja, a medida que diminui a concentração dos extratos diminui a atividade antioxidante, sendo melhor perceptível nas concentrações de 250 e 125 µg/mL. Na concentração de 125 µg/mL, observou-se que o extrato hidroalcóolico de 50% apresentou atividade antioxidante muito semelhante ao controle Trolox, sendo o melhor extrato de *Moringa oleífera*, enquanto o extrato hidroalcóolico de 20% apresentou o pior resultado de atividade antioxidante com valor de 21,33%.

Nouman *et al.* (2016) ao realizarem uma análise de correção dentre a composição fenólica e a capacidade antioxidante à base de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) mostrou uma relação positiva com 3-p-ácido cumaroilquínico e apigenina-8-C- glicosídeo. Os autores ainda avaliaram o potencial de extratos de folhas de *Moringa* para ácido linoleico (LAP), mostrando que os extratos hidrometanólicos apresentaram alta atividade inibitória com eficiência semelhante em comparação com DPPH resultados. Ainda nesta pesquisa a capacidade de extratos polifenólicos de folhas de *Moringa* de modular reações antioxidantes enzimáticas também foi testada seguindo diferentes sistemas enzimáticos: atividades de superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT). A análise de correlação assim realizada permitiu identificar a relação entre 3-p-concentração de ácido cumaroilquínico e atividade de SOD. Foi observado 958,15 U/mg de proteína, em média nas folhas das cultivares analisadas, para POD. A atividade de CAT correlacionou-se bem com o

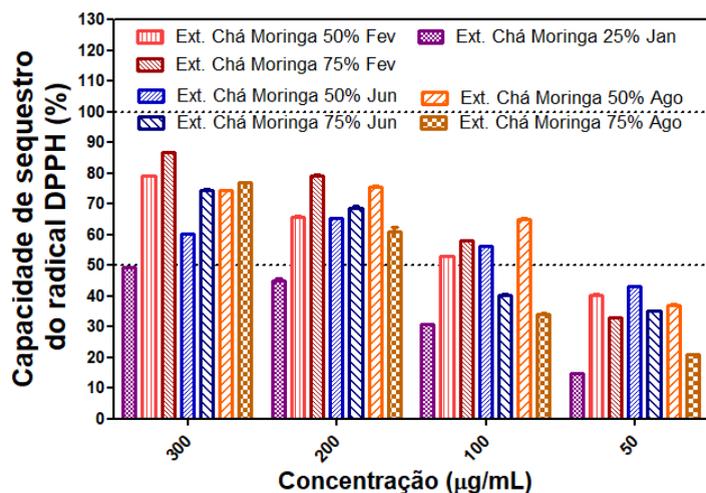
conteúdo de kaempferol-3,7-diglucosídeo, enfatizando ainda mais seu papel como doador de elétrons (NOUMAN *et al.*, 2016).

Figura 12 – Gráfico da porcentagem de atividade antioxidante em função das concentrações dos extratos 20%, 30%, 40% e 50% de Moringa oleífera Lam em ETOH do ano de 2019



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 13 – Gráfico de sequestro de radicais DPPH dos extratos hidroalcoólicos do chá de MO coletados em diferentes épocas do ano



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Essa alta propriedade antioxidante de MO deve-se a presença de compostos fenólicos principalmente os flavonoides, que possuem atividades sequestradoras de espécies reativas de oxigênio, incluindo radicais livres do tipo hidroxil, peroxil e superóxido, além de quelar metais de transição, impedindo assim, a formação de

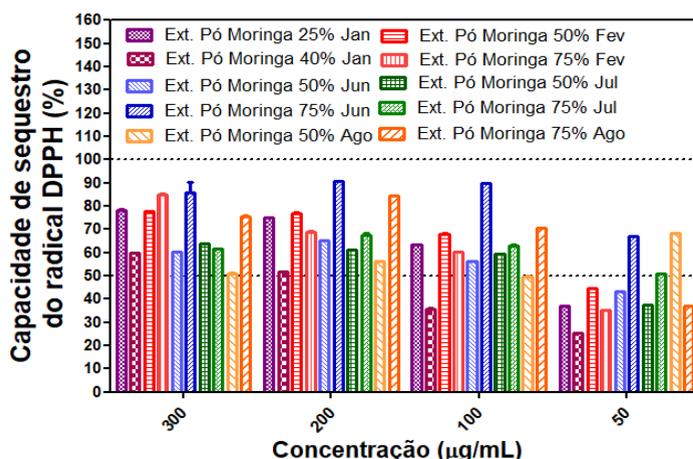
espécies reativas (OLDONI *et al.*, 2007; NORONHA *et al.*, 2012).

Os extratos hidroalcoólicos do chá de MO, foram apresentados na figura 13, os resultados obtidos corroboram com o estudo de atividade antioxidante das amostras de 2019 em que extrato hidroalcoólico com menor percentual de álcool (extrato de 25%), apresentou menor atividade antioxidante que os extratos com maior percentual de álcool utilizados na extração (50% e 75%).

A atividade antioxidante foi de acordo com as concentrações das amostras dos extratos hidroalcoólicos de MO, ou seja, quanto menor a concentração menor a atividade. Independente do mês da coleta e independente de épocas de intenso verão e chuvas abundantes a atividade antioxidante não houve diferenças significativas para as amostras de chá de MO. A amostra de MO chá a 50%, obteve maior atividade antioxidante, por apresentar uma maior capacidade de sequestro do radical livre e menor capacidade de extrair interferentes durante a extração sólido-líquido. Já as amostras do extrato hidroalcoólico do chá a 75% têm a capacidade de extrair mais compostos terpênicos e clorofila reduzindo assim sua atividade antioxidante (NOBOSSÉ; FOMBANG; MBOFUNG, 2018).

Este resultado condiz com o estudo conduzido por Jayawardana *et al.* (2015) em que a avaliação do conteúdo fenólico total das folhas de *Moringa oleifera* foi analisado quanto a atividade antioxidante em salsichas de frango com ervas. A pesquisa demonstrou que as folhas de *M. oleifera* fornecem benefícios antioxidantes para estas salsichas de frango durante o armazenamento a frio (4-C) e que os efeitos são dependentes da concentração.

Figura 14 – Percentagem de sequestro de radicais DPPH das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Nas amostras de extrato hidroalcoólicos do pó da Mo apresentados na figura 14 de janeiro 25% e 40% apresentaram os piores resultados de atividade antioxidante, essas amostras foram coletadas no intenso verão e baixo índice de pluviosidade e vegetação, com alta intensidade de radiação solar, sendo considerado as condições adversas para o vegetal.

O efeito da baixa percentagem (25% e 40%) de etanol nos extratos contribuiu para a baixa atividade antioxidante, resultando em menor extração dos compostos fenólicos para a atividade antioxidante.

Os melhores resultados de atividade antioxidante para as amostras de extratos de pó de MO, foram as coletadas nos meses de junho, julho e agosto (meses de alta intensidade de chuvas), associado ao uso de extratos com percentagens de álcool (50% e 75%), a IC_{50} é menor que 50 μ g/mL.

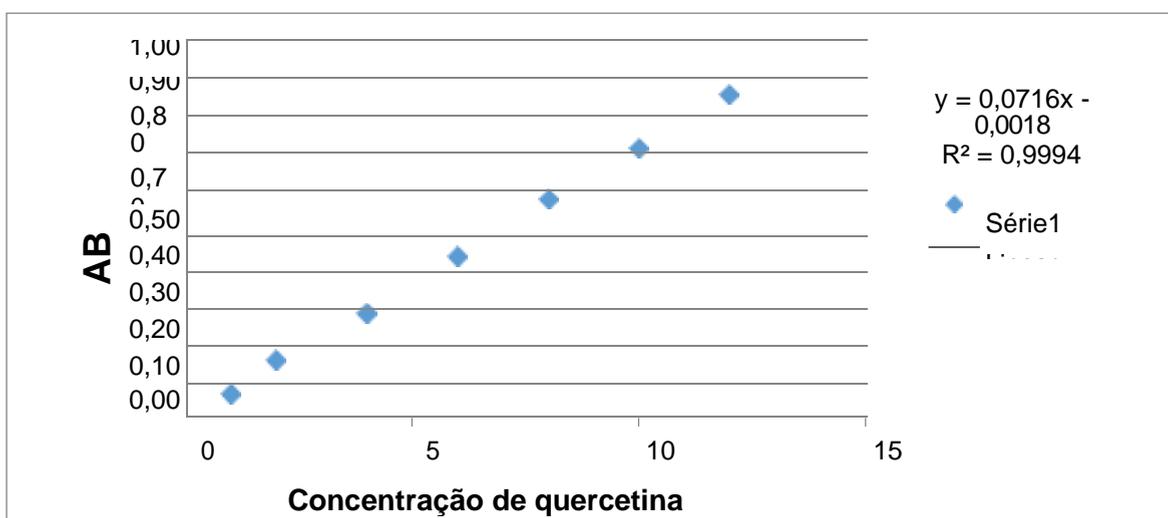
A comparação entre as amostras de chá de MO que é obtida do talo das partes aéreas e das amostras de pó de MO que é obtida das folhas demonstra que o pó da MO apresenta as maiores atividades antioxidantes.

Santos *et al.* (2005) demonstrou em seu estudo que as sementes de *M. oleífera* possuíam um componente antioxidante (WSMoAC) este tem capacidade sequestradora de radicais livres e o DPPH; que foi detectado através de uma coloração amarela obtida pela coloração da placa de folha de sílica, onde foi revelado após uma reação lenta (5min), em comparação com a catequina, ambos os tipos interferiram no tempo de aparecimento e na intensidade final da cor. Na análise os dados revelaram amostras com atividade antioxidante.

5.2 Curva de Calibração de Flavonoides Totais (Quercetina)

Para a obtenção de dados quantitativos dos extratos de *Moringa oleífera* Lam foi construída uma curva padrão com quercetina onde R^2 foi maior que 0,99 como mostra a figura 15. A curva de calibração demonstrou que na faixa de concentração entre 2 e 12 μ g/mL do padrão analítico de quercetina é possível quantificar usando a espectrofotometria do UV-Vis.

Figura 15 – Curva padrão para flavonoides (quercetina)



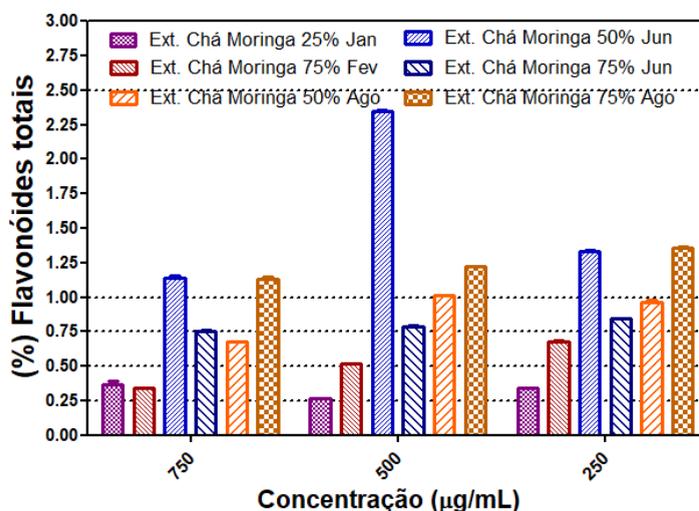
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

5.3 Quantificação da concentração de quercetina nos extratos hidroalcoólicos de *Moringa oleífera* Lam

5.3.1 Amostras de Chá de *Moringa oleífera* e Pó das folhas de *Moringa oleífera*

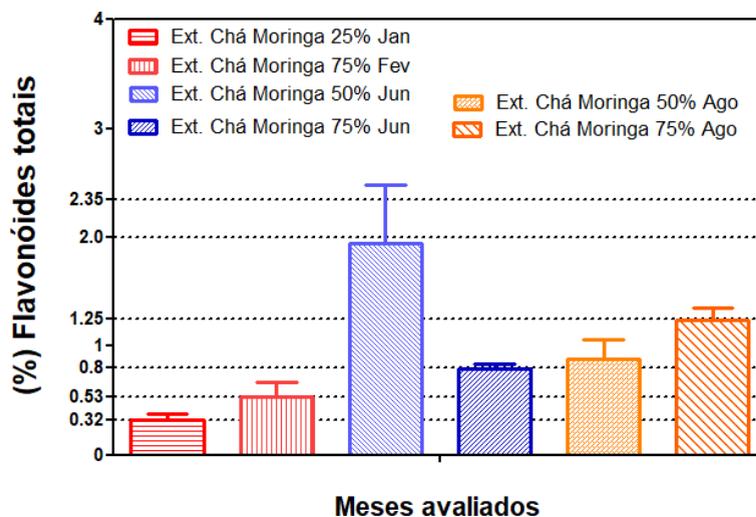
O ensaio de flavonóides totais do chá de *Moringa oleífera* Lam mostrou que baixa percentagem de flavonóides totais ($0,32\% \pm 0,05$) nas amostras de janeiro de 2021 (figuras 16 e 17). Estes dados corroboram com os resultados de atividade antioxidante mostrados na figura 2.

Figura 16 – Percentagem de flavonóides totais das amostras de chá de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcoólico de MO



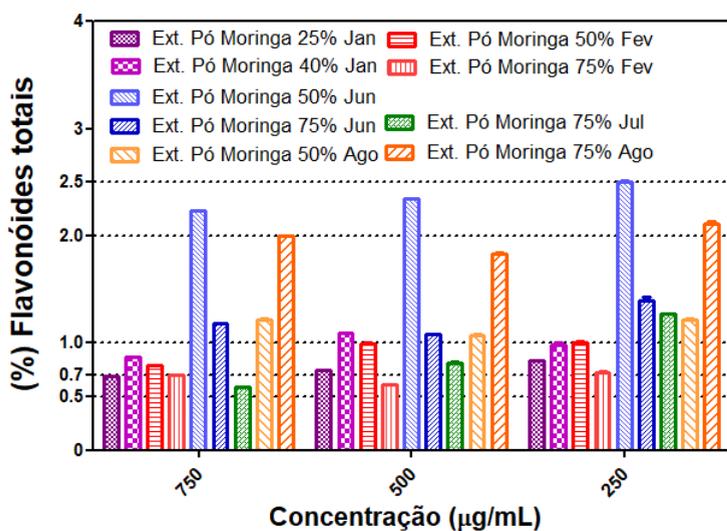
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 17 – Valores de Percentagem média de flavonóides totais das amostras de chá de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcolólico de MO



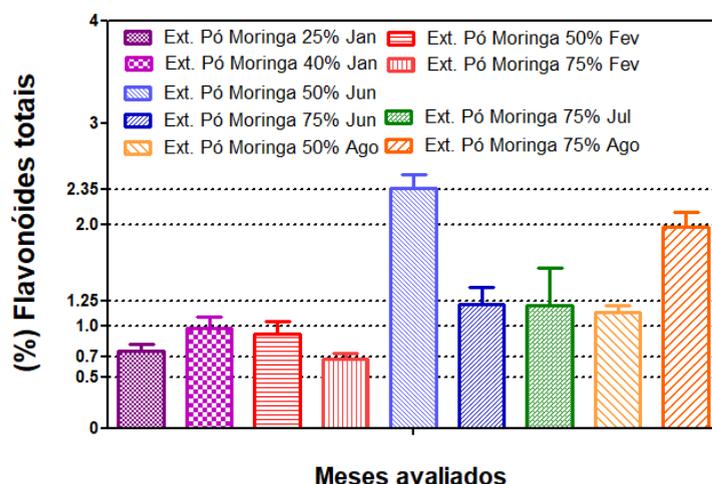
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 18 – Percentagem de flavonóides totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcolólico de MO



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 19 – Valores de Percentagem média de flavonóides totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcolólico de MO



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

As amostras de chá de moringa fevereiro 75% de 2021 também demonstrou baixa percentual de flavonóides totais com valores médios de $0,54\% \pm 0,11$. Os dados mostram que em épocas de sol intenso esse metabólico vem sendo pouco biossintetizado pelo vegetal. No entanto, as amostras de época de chuva em Alagoas (junho a agosto) a concentração de flavonóides aumenta com valores médios entre 0,8% e 1,94%. A concentração máxima do flavonóides foi observada nas amostras de chá de moringa junho 50% com valores de $1,94\% \pm 0,46$ seguido das amostras de chá de moringa agosto 75% com valores de $1,24\% \pm 0,10$.

As amostras de extratos de pó de MO também mostraram baixa percentagem de flavonóides totais ($< 0,98\%$) nos meses de intenso verão (janeiro e fevereiro) em relação aos meses de chuvas intensas (junho a agosto) entre 1,14% a 2,35% (figura 7). Os dados das figuras 6 e 7 mostraram que amostras de pó de MO coletadas dos meses de junho, julho e agosto mostram maior teor de flavonóides totais e maior capacidade antioxidante, com ênfase para amostras de pó de MO junho 50% e pó de MO 75% agosto. Vale ressaltar que outras amostras de pó de MO junho, julho e agosto que apresentaram teor de flavonóides acima de 1,14% também apresentaram expressivas capacidade antioxidante.

Um estudo *in vitro* conduzido por Noumana *et al.* (2015), fez uma avaliação comparativa com folhas de MO em 7 diferentes cultivares (Sunyaw; Paquistão branco; China; Kumasi; Tumu e techiman), onde foram utilizados extratos hidroalcolicos-metanólicos através de HPLC-MS; O resultado do estudo mostrou

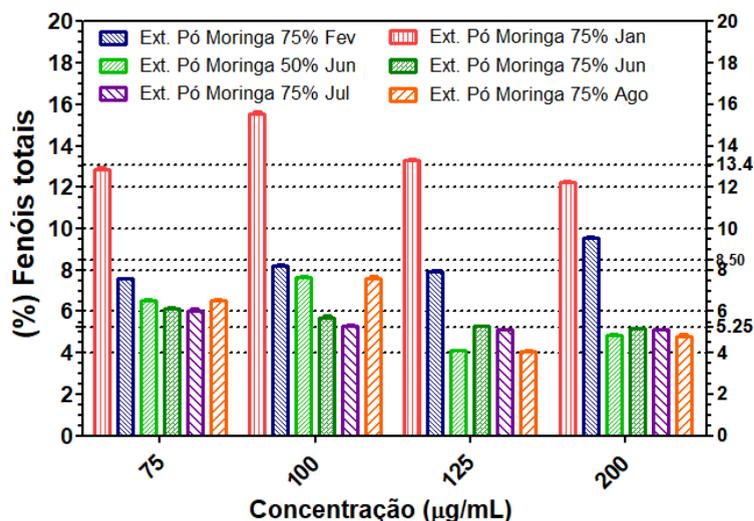
que o maior teor de flavonoides totais foi encontrado em folhas de MO de Pakistan black (298,30 $\mu\text{g/g}$) em média. Também foram encontrados derivados de apigenina 8-C-glicosídeos, apresentando maior concentração em folhas de Tumu e China (44,90 $\mu\text{g/g}$) em média; 7-C-glicosídeo (Isorhoifolina) e apigenina -7-O-rutnosídeo apresentando teores de concentrações 27,76 $\mu\text{g/g}$ e 21,05 $\mu\text{g/g}$, para Paquistão branco e Pakistan black, respectivamente. Neste mesmo estudo foram detectados os ácido-5-cafeoilquinico e ácido -3-cafeoilquinico, e ao serem comparados, o conteúdo do ácido, observaram que as melhores concentrações foram em Sunyaw e Kumasi com valores de 192,57 $\mu\text{g/g}$ em média para ácidos fenólicos totais e Folhas de 'Techiman' e 'China' apresentaram menor concentração de ácidos fenólicos (87,47 $\mu\text{g/g}$, em média).

No estudo realizado por Atawodi *et al.* (2010) foi verificado que o extrato metanólico das folhas de MO contém ácido clorogênico, rutina, quercetina, glicosídeo e kaempferol ramnoglicosídeo, enquanto nas cascas da raiz e do caule foram detectados vários picos de procianidina. Usando o sistema modelo de xantina oxidase, todos os extratos exibiram forte atividade antioxidante *in vitro*, com IC_{50} valores de 16, 30 e 38mL para as raízes, folhas e casca do caule, respectivamente. Assim, nota-se um alto efeito antioxidante observado para diferentes partes.

5.3.2 Quantificação da concentração de Fenóis Totais nos extratos hidroalcolólicos de *Moringoleífera* Lam

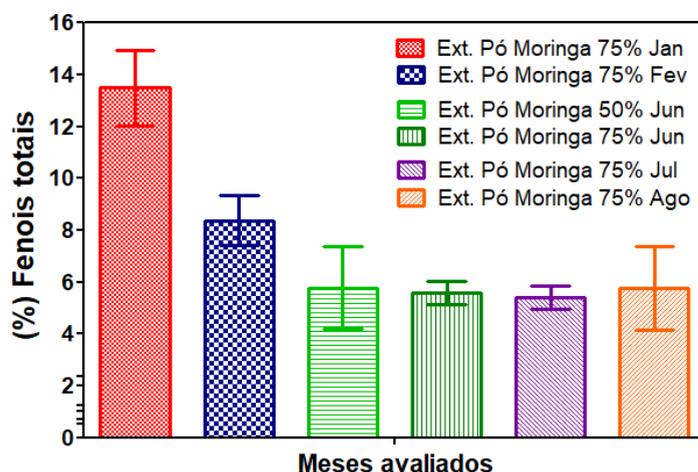
Os dados fornecidos na figura 20 e 21 demonstram que os meses de janeiro e fevereiro obtiveram teores altos de fenóis em todas as concentrações demonstradas (75 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$ e 200 $\mu\text{g/mL}$); Onde o perfil dos compostos apresentaram similaridade ao efeito sazonal, aumentando a porcentagem dos compostos fenólicos para os meses com maior exposição solar (janeiro e fevereiro), com valores de 13,39% e 8,38% respectivamente; no entanto, para os meses com maior precipitação de chuvas (junho, julho e agosto), apresentaram mínima variação com valores 5,39% (julho) e 5,78% (junho).

Figura 20 – Percentagem de fenóis totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcolólico de MO



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 21 – Valores de Percentagem média de fenóis totais das amostras de pó de MO de janeiro, fevereiro, junho, julho e agosto de 2021, em função da concentração do extrato hidroalcolólico de MO



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Na tabela 6 podemos observar que os compostos ácidos ferúlico e ácido cafeíco tiveram um aumento significativo no extrato hidroalcolólico de 75% fevereiro com área de 8.20×10^3 (ferúlico) e 3.40×10^4 (cafeíco), respectivamente. Em contrapartida, houve uma diminuição destes compostos no extrato de julho 75% pó, chegando a 6.00×10^3 para ácido ferúlico e 5.10×10^3 para ácido cafeíco. Peres *et al.* (2015) através de metodologias em *in vivo* e *in vitro* utilizou ácido ferúlico em protetores solares, onde comprovou atividades antioxidantes e proteção cutânea com excelência. No ramo

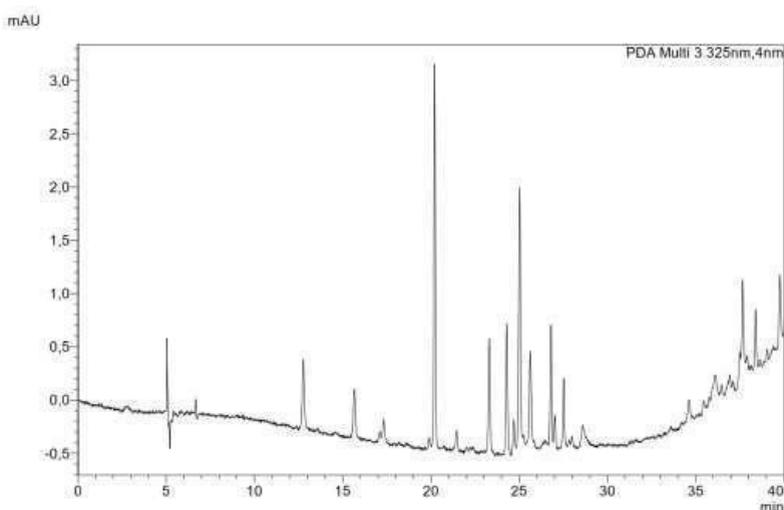
alimentício as pesquisas de agentes antioxidantes como o ácido cafeíco são importantes, com menos efeitos colaterais possíveis, características indesejáveis que são observadas nos atuais antioxidantes empregados em produtos alimentícios (DEGASPARI; WASZCZYNSKYJ *et al.* 2004).

Um estudo conduzido por Vongsak *et al.* (2013), evidenciou que os extratos aquosos de MO foram superiores aos extratos etanólicos. Os extratos de folhas maturada apresentaram a maior capacidade antioxidante e teor de fenólicos que as folhas frescas da Moringa. Extrato de *Moringa oleifera* obtidas na forma bruta possuem maior rendimento em comparação as folhas obtidas através da espremedura, esses compostos apresentaram a maior capacidade antioxidante e teor de fenolicos totais. Ademais, o extrato da folha maturada da *Moringa* possui melhores valores de atividade enzimática e não enzimática através de uma perspectiva de antioxidantes (WANGCHAROEN; GOMOLMANEE, 2013).

A literatura também evidencia que os compostos flavonoides e ácidos ferúlicos da *Moringa* possuem um efeito protetor contra radicais livres e contra o estresse oxidativo provocado no meio celular, podendo este efeito ser direcionado a presença dos compostos fenólicos e em folhas maduras, sendo compreendido como algo benéfico para os seres humanos (SREELATHA; PADMA, 2009).

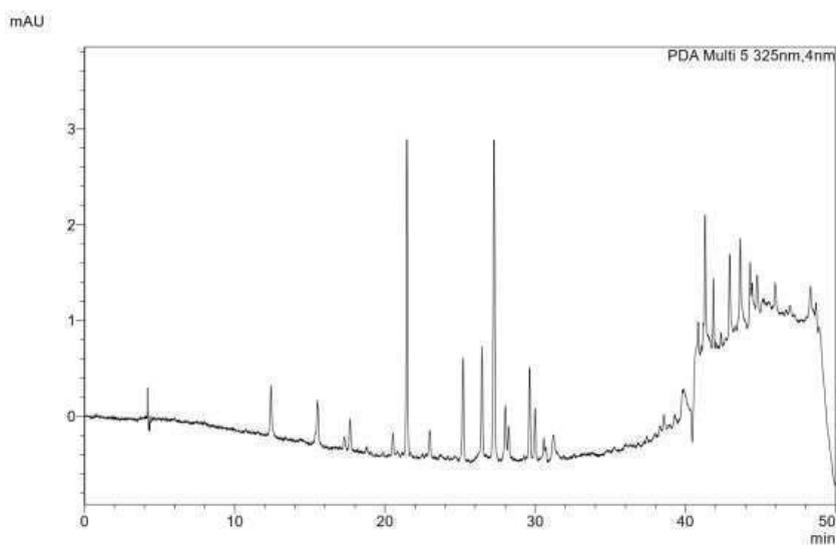
5.4 Análise do Perfil cromatográfico de Extratos de Moringa Oleifera usando UPLC-DAD-UV

Figura 22 – Cromatograma de amostra de fevereiro pó do chá de Moringa oleífera extraído com etanol 75% monitorada a 325 nm (Gradiente A)



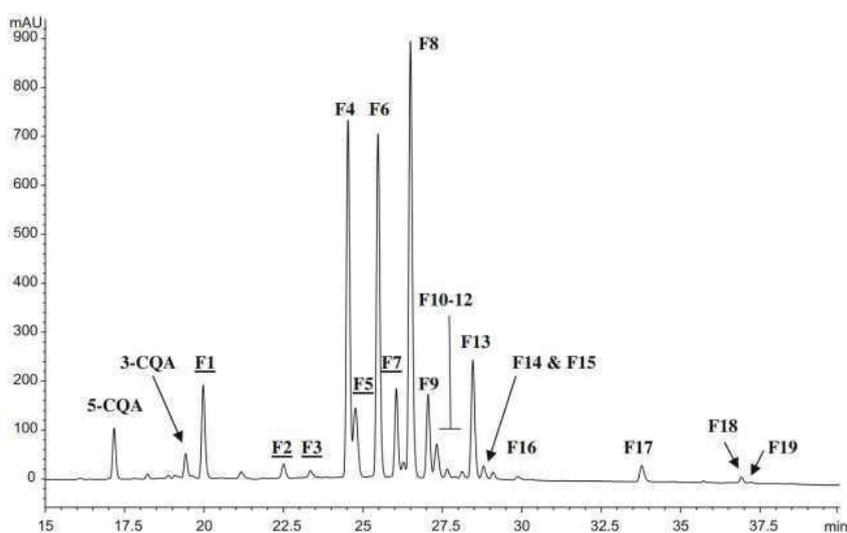
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 23 – Cromatograma de amostra de julho pó do chá de *Moringa oleífera* extraído com etanol 75% monitorada a 325 nm



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 24 – Cromatograma de amostra de *Moringa oleífera* de Ghana monitorada a 370 nm de acordo com Amaglo et al. 2010. Identificação de 19 flavonóides entre 20 e 37.5 mi



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Os cronogramas (figura 22 e 23), é decorrente do extrato etanólico obtido do pó do chá da planta, referente ao mês de fevereiro e julho respectivamente. É possível observar na tabela 6 e 7, a identificação de 33 compostos na análise apresentando um tempo de retenção e área totalizando 40 e 50 minutos de análises. Nos picos em evidência foram identificados ácidos cafeícos e quercetinas (isoquercentrin, quercetin 3-O-malonyglucoside e rutina). Os ácidos cafeícos são ácidos hidroxinâmicos com potencial antioxidantes, antibacteriano e anti-inflamatório (KOU *et al.*, 2018; PADLA

et al., 2012; CHENG *et al.*, 2019; LOPES RODRIGUES *et al.*, 2020). A identificação deste composto corrobora com achados de Amaglo *et al.* (2010), que através de HPLC-MS identificou os ácidos cafeicos (isômeros 5 e 3) em folhas com flores apresentando níveis de ácidos cafeoilquinos mais altos.

A análise também identificou quercentina (Figuras 24, 25, 26, 27 e 28), que foi a substância que teve o pico mais intenso, estando também entre os de boa resolução. Presente nas folhas de MO que possui propriedade antioxidante, a substância neutraliza a ação dos radicais livres (PADLA *et al.*, 2012; KOU *et al.*, 2018). Isto condiz com achados de dados de LC-MS obtidos para flavonoides onde detectaram três flavonoides principais e dois secundários sendo eles: 3-O-glicosídeo, quercentina 3-O- (6"-malonilglicosídeo), e um isômero secundário não identificado de quercentina 3-O- malonil glicosídeo, kaempferol 3-O-glicosídeo e kaempferol 3-O-(6"-malonilglicosídeo) (BENNETT *et al.*, 2003).

O tempo de retenção para os compostos apresentam similiaridade para todos os meses avaliados de MO, no entanto, há diferenças na intensidade do sinal. A observação da intensidade dos picos já indica haver nos meses de fevereiro e julho, maior concentração de ácidos caféicos, ácido 2-coumárico, umbeliferona, ácido p-coumárico, vitexina, rutina, quercetina, kaempferol, luteolina, apigenina, pinocembrina.

O perfil de flavonóide noss extrato de MO foram bastante variados e complexocom predominância de encontrar os flavonóis glicosídeos (rutinosídeos, malonilglicosídeos de quercetina > kaempferol > isorhamentina). A classe das flavonas detectadas por MS, especialmente as derivadas da apigenina como kaempferol hexosídeo e kaempferol 3-O-rutinosídeo de (AMAGLO *et al.*, 2004). Além disso malonilglicosídeo podem se desprender para formar vários acetilglicosídeos e malonilglucosídeos e corrobora com um estudo de Svehilkova *et al.* (2004), para malonilglicosídeos em camomila.

Tabela 3 – Identificação e confirmação de alguns marcadores da Moringa oleífera (fevereiro 75% pó)

Pico	RT (min.)	[M-H] ⁺ ou [M-H] ⁺ (m/z)	MW	Fórmula	Area	Composto
1	0.63	449.1088	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	Orientina
2	2.69	289.0711	290.27	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	6.90 x 10 ³	Catequina
3	3.34	179.0351	180.16	C ₉ H ₈ O ₄	3.40 x 10⁴	Ácidos cafeícos(trans)
4	4.84	179.0351	180.16	C ₉ H ₈ O ₄	3.20 x 10 ³	Ácido cafeíco (cis)
5	4.89	165.0554	164.140	C ₉ H ₈ O ₃	1.50 x 10 ⁴	Ácido 2-coumarico
6	5.93	447.0957	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	2.30 x 10 ³	Análogo de quercentrina
7	5.62	161.0246	162.140	C ₉ H ₆ O ₃	2.2 x 10 ⁴	Umbeliferona (derivado)
7a	5.64	161.0246	162.140	C ₉ H ₆ O ₃	2.2 x 10⁴	Umbeliferona
8	10.04	447.0965	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	Derivado de quercentrina
9	11.50	193.0502	194.18	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	8.2 x 10 ³	Ácido ferúlico
10	12.25	353.0901	354.31	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	8.5 x 10 ²	Ácido clorogênico
11	12.53	463.1243	464.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	7.2 x 10 ²	Miricitrina
12	14.02	447.0965	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	8.5 x 10 ³	quercitrina
13	14.82	163.0243	164.16	C ₉ H ₈ O	2.4 x 10⁴	Ácido p-coumarico
14	15.37	433.1139	432.40	C₂₁H₂₀O₁₀	6.14 x 10⁵	Vitexina
15	15.95	465.1038	464.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	-	Delphinidina-3-O-glicosideo chlorieto/miricitrina
16	16.76	229.0858	228.24	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	6.20 x 10 ⁴	Resveratrol (trans)
17	17.28	229.0858	228.24	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	-	Resveratrol (cis)
18	17.75	287.0550	287.24	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	-	Cianidina
19	19.30	257.0805	256.27	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	8.9 x 10 ³	Liquiritigenina
20	20.07	609.1454	610.52	C₂₇H₂₈O₁₆	8.7 x 10³	Rutina
21	21.05	253.0517	254.20	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	1.00 x 10 ⁴	Daidzeina
22	21.47	255.0517	254.20	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	1.70 x 10⁴	Crisina
23	22.34	273.0761	272.25	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	2.60 x 10 ³	Pinobanksina
24	22.66	303.0503	302.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	8.70 x 10 ²	Quercetina
25	23.23	273.0761	272.25	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	3.40 x 10 ³	Naringenina
26	24.59	285.0413	286.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	2.30 x 10 ³	kaempferol
27	27.04	285.1104	286.04	C₁₅H₁₀O₆	4.74 x 10⁴	Luteolina
28	27.68	271.0607	270.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1.30 x 10⁴	Apigenina
29	28.43	257.0806	256.24	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	6.10 x 10 ³	Isoliquiritigenina
30	29.55	269.0807	268.28	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	2.70 x 10 ³	Formononetina / Isoformononetina
31	31.50	257.0809	256.24	C₁₅H₁₂O₄	8.90 x 10⁴	Pinocembrina
32	33.34	285.0753	284.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	-	Biochanina A
33	38.71	285.0770	284.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	1.70 x 10 ³	Acacetina

RT: Retention time (min), MW: Molecular weight. Fonte: Dados da pesquisa (2022).

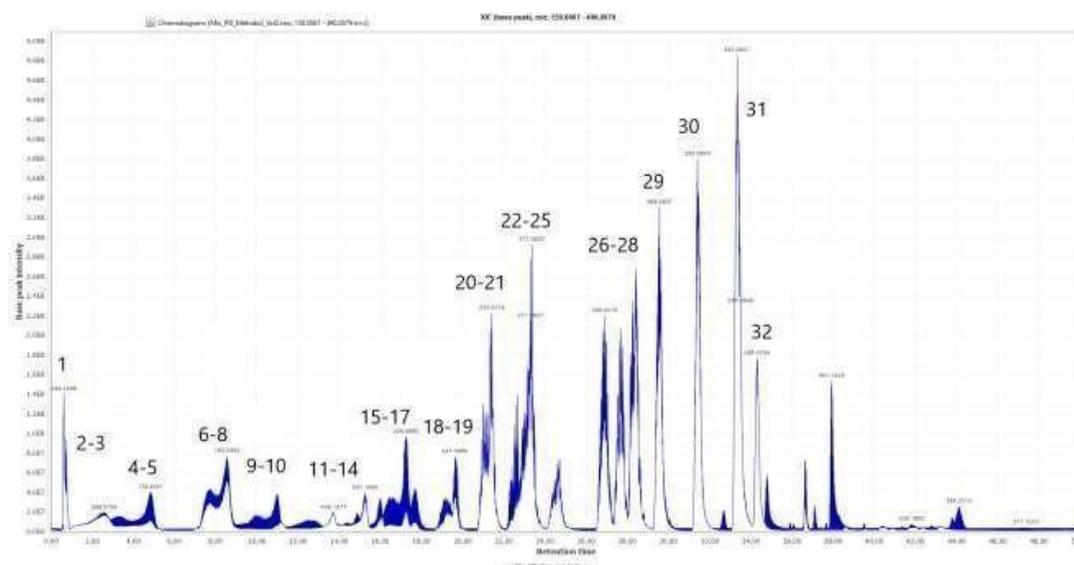
Tabela 4 – Identificação e confirmação de marcadores *Moringa oleifera* (julho 75% pó)

Pico	RT (min.)	[M-H] ⁻ ou [M-H] ⁺ (m/z)	MW	Fórmula	Area	Composto
1	0.63	449.1088	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	Orientina
2	2.69	289.0711	290.27	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	7.30 x 10 ³	Catequina
3	3.34	179.0351	180.16	C ₉ H ₈ O ₄	5.10 x 10³	Ácidos cafeícos (trans)
4	4.84	179.0351	180.16	C ₉ H ₈ O ₄	2.70 x 10 ³	Ácido cafeíco (cis)
5	4.89	165.0554	164.140	C₉H₈O₃	1.60 x 10⁵	Ácido 2-coumarico
6	5.93	447.0957	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	2.30 x 10 ³	Análogo da quecentrina
7	7.80	161.0246	162.140	C ₉ H ₈ O ₃	2.40 x 10 ⁴	Umbeliferona (derivado)
7a	8.68	161.0246	162.140	C₉H₈O₃	2.40 x 10⁴	Umbeliferona
8	10.04	447.0965	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-	Derivado de quecentrina
9	11.50	193.0502	194.18	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	6.00 x 10 ³	Ácido ferúlico
10	12.53	463.1243	464.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	1.10 x 10 ³	Miricitrina
11	12.25	353.0901	354.31	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	2.2 x 10 ³	Ácido clorogênico
12	14.02	447.0965	448.38	C₂₁H₂₀O₁₁	1.40 x 10⁴	Análogo de quercentina
13	14.82	163.0243	164.16	C₉H₈O	2.60 x 10⁴	Ácido p-coumarico
14	15.37	433.1139	432.40	C₂₁H₂₀O₁₀	1.60 x 10⁶	Vitexina
15	15.95	465.1038	464.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	-	Delphinidina-3-O-glucosideo cloreto/miricitrina
16	16.76	229.0858	228.24	C₁₄H₁₂O₃	6.40 x 10⁴	Resveratrol (trans)
17	17.28	229.0858	228.24	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	-	Resveratrol (cis)
18	17.75	287.0550	287.24	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	-	Cianidina
19	19.30	257.0805	256.27	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	8.10 x 10 ³	Liquiritigenina
20	20.07	609.1454	610.52	C₂₇H₂₈O₁₆	7.0 x 10⁴	Rutina
21	21.05	253.0517	254.20	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	8.40 x 10 ³	Daidzeina
22	21.47	255.0517	254.20	C₁₅H₁₀O₄	1.70 x 10⁴	Crisina
23	22.34	273.0761	272.25	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	4.70 x 10 ³	Pinobanksina
24	22.66	303.0503	302.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	3.80 x 10 ³	Quercetina
25	23.23	273.0761	272.25	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	1.70 x 10 ³	Naringenina
26	24.59	285.0413	286.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	3.70 x 10 ³	kaempferol
27	27.04	285.1104	286.04	C₁₅H₁₀O₆	6.00 x 10⁴	Luteolina
28	27.68	271.0607	270.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1.10 x 10⁴	Apigenina
29	28.43	257.0806	256.24	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	4.90 x 10 ³	Isoliquiritigenina
30	29.55	269.0807	268.28	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	2.60 x 10 ³	Formononetina / Isoformononetina
31	31.50	257.0809	256.24	C₁₅H₁₂O₄	1.50 x 10⁴	Pinocembrina
32	33.34	285.0753	284.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	-	Biochanin A
33	38.71	285.0770	284.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	2.80 x 10³	Acacetina

RT: Retention time (min), MW: Molecular weight. Fonte: Dados da pesquisa (2022).

5.5 Análise LC-MS de identificação de alguns metabólitos fenólicos da M.O

Figura 25 – Análise LC-MS com software MZmine da mistura dos padrões analíticos usados na identificação dos flavonoides da *Moringa oleífera*



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

A análise LC-MS (figura 25) de extratos hidroalcoólicos das folhas de *Moringa oleífera* Lam revelou uma ampla gama de compostos fenólicos, sendo os flavonoides a classe principal (tabelas 6 e 7). Além disso ácidos hidroxinâmicos também foram detectados nas amostras analisadas. Assim, de acordo com o tempo de retenção e massas moleculares, foram detectados flavonoides, ácido caféico, ácido 2-coumárico, umbeliferona, ácido p-coumárico, vitexina, rutina, quercetina, kaempferol, luteolina, apigenina, pinocembrina em altas intensidades nas amostras de extrato de moringa fevereiro e julho pó 75%.

O ensaio de LC-MS usando o método dos padrões analítico também detectou (tabela 8) a presença de isoquercitrina (figura 26), quercetina 3-O-malonylglucoside (m/z 550.0927) (figura 27), kaempferol 3-O-(6''-malonylglucoside) (m/z 489.1493) (figura 29) e kaempferol 3-O-glucoside (m/z 447.2616) (figura 30) conhecido como astragalina baseado em dados da literatura científica.

Esses resultados corroboram com um estudo de Rochetti *et al.* (2020), onde os autores identificaram agentes derivados de quercetina, miricetina e kaempferol; Sendo os mais observados em compostos fenólicos ácido gálico e clorogênio em folhas de *Moringa* através de LC-MS. Além dos compostos identificados pelo método de análise não-alvo (*Untarget analysis*), sem padrões analíticos, que correspondem

aos diversos extratos de Moringa, cujos 291 compostos anotados, onde 39 foram antocianinas (Delphinidin 3-O-glucoside), 66 flavonoides (Dihydroquercetin, Pinocembrin, Luteolin, Quercetin 3-O-rhamnoside, Naringin), 47 flavonóis (Kaempferol 7-O-glucoside), 15 lignanas, 7 alquil-fenois, 49 compostos moleculares inferiores, 63 ácidos fenólicos (Gallic acid, Syringic acid) e 5 estilbenos (resveratrol). Neste mesmo estudo foram feitas extrações seguidas através de homogenizador (HAE), onde foram usados três sistemas de solventes: Metanol (HAE-1), metanol-água 50:50 v/v (HAE-2) e acetato de etila (HAE-3). O extrato de HAE-1 foi caracterizado com maior quantidade de composto fenólico total, seguido por extrato de HAE-2 e HAE-3. Além disso, o estudo apontou que compostos da subclasse fenólica são mais bem extraídos por compostos polares solventes, apontando também que os compostos fenólicos possuem uma boa correlação com as atividades biológicas.

Tabela 5 – Identificação pela fórmula molecular gerada usando software MZmine de marcadores

Pico	RT (min.)	[M-H] ⁻ ou [M-H] ⁺ (m/z)	MW	Fórmula	Area	Composto
1	11.21	465.1034	464.38	C ₂₇ H ₃₀ O ₁ 6	1.10 x 10 ³	quercetina 3-O-glucosídeo (isoquercitrina)
2	18.57	550.0927	550.40	C ₂₄ H ₂₂ O ₁ 5	1.10 x 10 ⁶	quercetina 3-O-(6''-malonylglicosídeo)
3	20.07	609.1454	610.50	C ₉ H ₈ O ₄	7.10 x 10 ⁴	quercetina 3-O-rhamnosylglicosídeo ou (rutina)
4	32.34	489.1493*	534.40	C₉H₈O₃	1.60 x 10⁵	kaempferol 3-O-(6''-malonylglicosídeo)
5	32.52	447.2616	448.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁ 1	2.70 x 10 ³	Kaempferol 3-O-glucosídeo (astragalina)

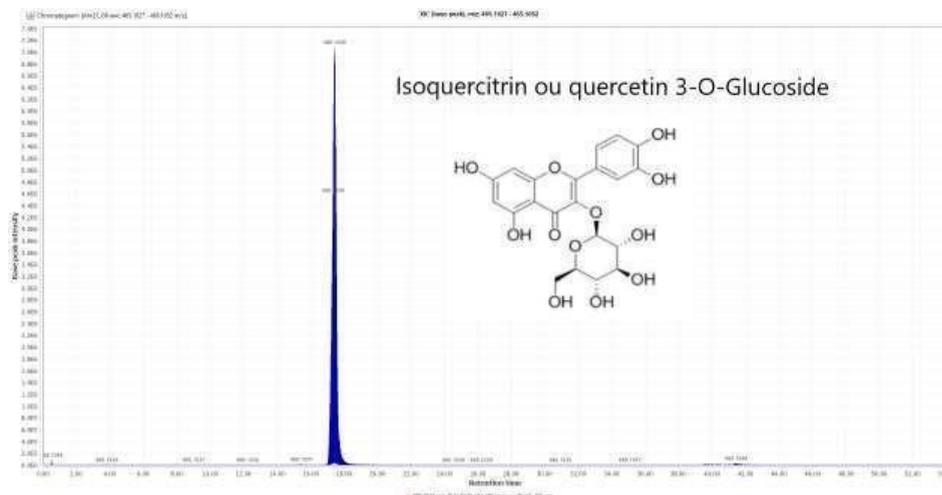
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Em um estudo anterior de Bennett *et al.* (2003), relata que através LC-MS em folhas de MO foram encontrados ácidos clorogênicos (ácidos 3-cafeoilquínicos e 5-cafeoilquínicos), nas amostras o isômero 5 teve melhores resultados de que o isômero 3 em que as quantidades nas folhas variam de acordo com a localização e a depender da parte da planta.

Amaglo *et al.* (2010), ao avaliar folhas de MO cultivadas em Ghana através de HPLC-DAD, demonstrou que foram detectados quatro glucosinolatos adicionais: 4-hidroxibenzilgluco sinolato precursor substituídos por ramnose e relatado pela primeira vez em MO, três isômeros mono-acetilramnose e nas vagens benzilgluco sinolato. A

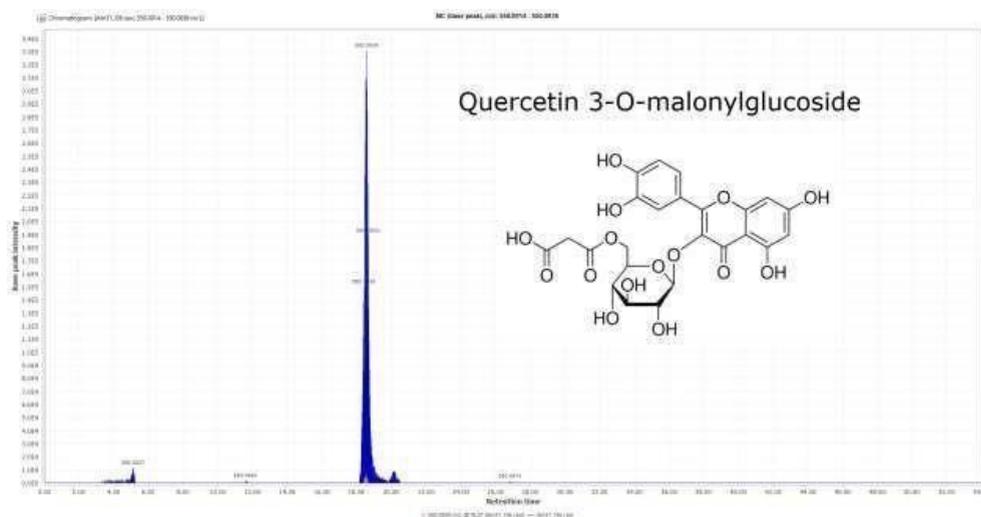
glucomorigina aparece em todos os tecidos, principalmente em folhas e sementes (5,46±0,04); sendo compatíveis a estudos anteriores (BENNET *et al.*, 2003), onde seus teores mudaram de acordo em plantas com flores ou vegetativas.

Figura 26 – Identificação da Isoquercitrina 465.1034 m/z usando software MZmine



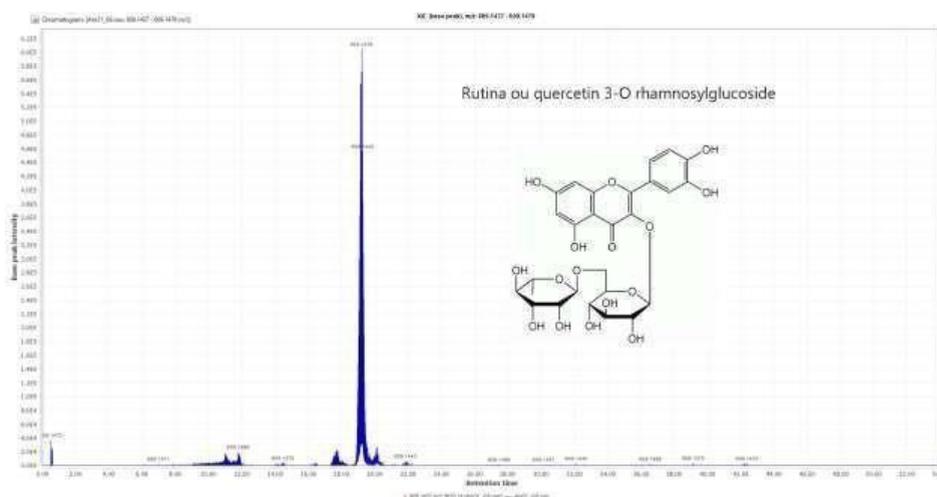
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 27 – Identificação da quercetina 3-O-Malonylglucoside 550.0927 m/z usando software MZmine



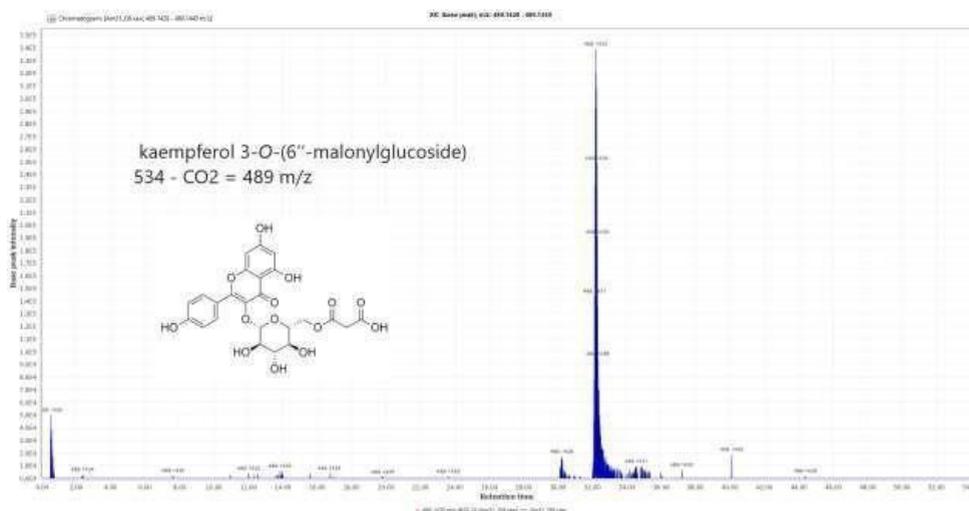
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 28 – Identificação da quecertina 3-O-rhamnosylglucoside 609.1439 m/z (610.40 m/z) usando software MZmine



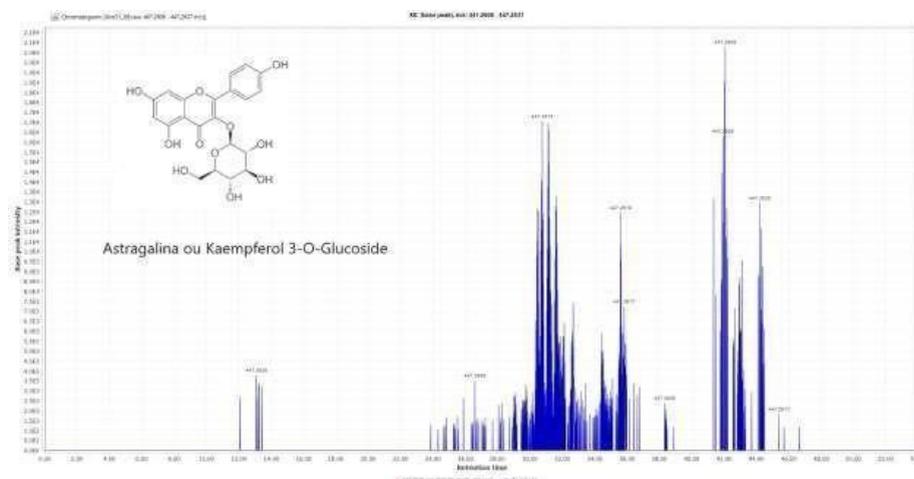
Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 29 – Identificação do Kaempferol 3-O-Malonylglucoside 489.1493 m/z (534.40 m/z) com perda de CO₂ usando software MZmine



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Figura 30 – Identificação do Kaempferol 3-O-glucoside ou astragalina (447.2616) 448.40 m/z usando software MZmine



Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Outros achados como o citado por Bennett *et al.* (2003) corrobora com os resultados obtidos neste estudo; os glicosinolatos (4-monoacetil-4-(RL-ramnopirasonilox) - benzilglicosinolato e 4-(RL-ramnopirasonilox) - benzilglicosino tardio e derivados de monoacetil. O primeiro apareceu restrito em folhas de MO, e o segundo modificados com açúcar foram encontrados em espécies de *Moringa* (Morigacea).

6 CONCLUSÃO

Os dados de revisão da literatura científica e artigo de revisão produzido vêm demonstrando que os extratos aquosos de *Moringa oleífera* apresentam atividade hipoglicemiante baseado em estudos pré-clínicos e estudos clínicos.

Os extratos hidroalcóolicos de *Moringa oleífera* obtidos da região de INHAPI-AL vêm mostrando que o vegetal sofre influência sazonal quando avaliados por ensaios de flavonóides totais, fenóis totais, capacidade antioxidante e análise de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas.

Os extratos hidroalcóolicos de pó das folhas *Moringa oleífera* apresentaram maior capacidade antioxidante e maior teor de flavonóides totais em relação aos extratos hidroalcóolicos de chá (talos das partes aéreas) das folhas *Moringa oleífera*. Os extratos hidroalcóolicos de *Moringa oleífera* da região de INHAPI-AL apresentaram maior capacidade antioxidante e maiores teores de flavonoides quando coletadas nos meses de chuvas intensas (meses de junho, julho e agosto).

A identificação de compostos fenólicos como os derivados do ácido clorogênicos, ácido ferulico, ácido caféico, ácido 2-coumárico, resveratol e umbeliferona usando a técnica de LC-ESI-Obitrap-FTMS. Pela mesma técnica foi possível identificar flavonóides aglicônicos como luteolina, apigenina pinocembrina, acacetina, quercetina, kaempferol, crisina, bem como flavonóides glicônicos como vitexina, rutina, derivados de quercitrina, miricitrina usando a técnica dos padrões analíticos. Foi possível ainda identificar pelo método de análise “untarget” isoquercitrina, quercetin 3-O-(6''-malonylglucoside), kaempferol 3-O-(6''-malonylglucoside) e Kaempferol 3-O-glucoside (astragalín).

REFERÊNCIAS

- ADEDAPO, A.A. et al. safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa Oleifera* in rats. **Journal of medicinal plants Research**, v. 3, n. 8, p. 586-591, 2009.
- AGUIAR, N. D.C. **Impacto do isotiocianato de alila sobre a comunidade microbiana e indicadores microbiológicos do solo**. 133f. 2012. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.
- AL-ANIZI, A. A.; HELLYER, M. T.; ZHANG, D. Toxicity assessment and modelling of *Moringa oleifera* seeds in water purification by whole cell bioreporter. **Water Research**, v. 56, p. 77-78, 2014.
- ALMEIDA, M. S. M. ***Moringa oleifera* Lam., seus benefícios medicinais, nutricionais avaliações de toxicidade**. 50f. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Portugal, 2018.
- AMAGLO, N. K. et al. Effect of spacing and harvest frequency on the growth and leaf yield of moringa (*Moringa oleifera* Lam.), a leafy vegetable crop. **Ghana J. Hortic**, v. 6, n. 1, p. 33-40, 2006.
- AMAGLO, Newton K. et al. Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1047-1054, 2010.
- AMARA, Ines et al. *Moringa oleifera* protects SH-SY5Y Cells from DEHP-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis. **Antioxidants**, v. 10, n. 4, p. 532, 2021.
- AMAYA, D.R.; KERR, W.E.; GOWI. H.T. de; OUBEIRA, A.L; SILVA, F.R. Moringa: Hortaliza arbórea em beta-caroteno. **Horticultura Brasileira**, v. 10, n.2, p. 126, 1992.
- ANWAR, Farooq *et al.* *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v.21, p.17-25, 2007.
- AONDO, T. O. et al. Phytochemical and antifungal efficacy of different parts of *Moringa oleifera* plant extracts. **Asian J. Biotechnol. Bioresour. Technol**, v. 3, p. 1- 8, 2018.
- ASARE, Nana et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. **Toxicology**, v. 291, n. 1-3, p. 65-72, 2012.
- ATAWODI, S. E. *et al.* Evaluation of the polyphenol content and antioxidant properties of methanol extracts of the leaves, stem, and root barks of *Moringa oleifera* Lam. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 3, p. 710-716, 2010.
- AWODELE, Olunfusho *et al.* Toxicologia evaluation of the aqueous leaf

extract of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). **Journal of ethnopharmacology**.v.139, n.2, p.330-336, 2012.

BENNETT, R. N. et al. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 12, p. 3546-3553, 2003.

BISWAS, S. K. et al. Pharmacological potentials of *Moringa oleifera* Lam.: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 2, p. 305, 2012.

BORGES, Larissa Pacheco; AMORIM, Vítor Alves. Metabólitos secundários de plantas secondary plant metabolites. **Revista Agrotecnologia, Ipameri**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

BOSE, C. K. Possible role of *Moringa oleifera* Lam. root in epithelial ovarian cancer. **Medscape General Medicine**, v. 9, n. 1, p. 26, 2007.

BURALI, S.; KULKARNI, A. R. Effect of citrus reticulata essential oil on aberrant Crypt foci (acf) development in 1, 2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis rats. **International Journal of Applied Pharmaceutical**, v. 1, p. 29-37, 2009.

CÁCERES, Armando et al. Pharmacologie properties of *Moringa oleifera*. 2: Screening for antispasmodic, antiinflammatory and diuretic activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 36, n. 3, p. 233-237, 1992.

CAZAROLLI, L. H. et al. Flavonoids: cellular and molecular mechanism of action in glucose homeostasis. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 8, n. 10, p. 1032- 1038, 2008.

CHENG, D. et al. *Moringa* isothiocyanate activates Nrf2: potential role in diabetic nephropathy. **The AAPS journal**, v. 21, n. 2, p. 1-14, 2019.

CHOI, K. D.; KIM, H. Y.; SHIN, I. S. Antifungal activity of isothiocyanates extracted from horseradish (*Armoracia rusticana*) root against pathogenic dermal fungi. **Food Science and Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 847-852, 2017.

CIRMI, S. et al. Moringin from *Moringa oleifera* seeds inhibits growth, arrests cell- cycle, and induces apoptosis of SH-SY5Y human neuroblastoma cells through the modulation of NF- κ B and apoptotic related factors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1930, 2019.

COLLETT, M. G.; STEGELMEIER, B. L.; TAPPER, B. A. Could nitrile derivatives of turnip (*Brassica rapa*) glucosinolates be hepato-or cholangiotoxic in cattle? **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62,

n. 30, p. 7370-7375, 2014.

COOPER-DRIVER, Gillian A. Contributions of Jeffrey Harborne and co-workers to the study of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 56, n. 3, p. 229-236, 2001.

COPPIN, Julia P. *et al.* Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1892-1899, 2013.

CUI, C. *et al.* Characterization of *Moringa oleifera* roots polysaccharide MRP-1 with anti-inflammatory effect. **International journal of biological macromolecules**, v.132, p.844-851,2019.

DENG, Q. *et al.* The effects of conventional and non-conventional processing on glucosinolates and its derived forms, isothiocyanates: extraction, degradation, and applications. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 3, p. 357-381, 2015.

DUFOUR, V. *et al.* Insights into the mode of action of benzyl isothiocyanate on *Campylobacter jejuni*. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 22, p.6958-6968, 2013.

ESTRADA-HERNÁNDEZ, O.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, O. A.; GUERRERO-PRIETO, V. M. Múltiples formas de aprovechar los beneficios de moringa (*Moringa oleifera* Lam.): Multiple ways to take advantage of the benefits of moringa (*Moringa oleifera* Lam.). **TECNOCENCIA Chihuahua**, v. 10, n. 2, 7 jul. 2020.

FAHEY, J. W. *et al.* The diversity of chemoprotective glucosinolates in Moringaceae (*Moringa* spp.) **Scientific Reports**, v.8, p. 7994, 2018.

FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. **Phytochemistry**, v. 56, n.1, p. 5–51, 2001.

FALOWO, A. B. *et al.*, Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. **Food research international**, v. 106, p. 317- 334, 2018.

FUENTES, F.; PAREDES-GONZALEZ, X.; KONG, A. N. T. Dietary glucosinolates sulforaphane, phenethyl isothiocyanate, indole-3-carbinol/3, 3'- diindolylmethane: Antioxidative stress/inflammation, Nrf2, epigenetics/epigenomics and in vivo cancer chemopreventive efficacy. **Current pharmacology reports**, v. 1, n. 3, p. 179-196, 2015.

GALLÃO, M. I.; DAMASCENO, L. F.; BRITO, E. S. Avaliação química e estrutural da semente de moringa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 1, p. 106-109, 2006.

- GALUPPO, M. *et al.* Antibacterial activity of glucomoringin bioactivated with myrosinase against two important pathogens affecting the health of long-term patients in hospitals. **Molecules**, v. 18, n. 11, p. 14340-14348, 2013.
- GARCIA, T. B. *et al.* Gene expression and spatiotemporal localization of antifungal chitin-binding proteins during *Moringa oleifera* seed development and germination. **Planta**, v. 249, n. 5, p. 1503-1519, 2019.
- GHIRIDHARI, V. V. A.; MALHATI, D.; GEETHA, K. Anti-diabetic properties of drumstick (*Moringa oleifera*) leaf tablets. **Int. J. Health Nutr**, v. 2, n. 1, p. 1-5, 2011.
- GIACOPPO, S. *et al.* The Isothiocyanate isolated from *Moringa oleifera* shows potent anti-inflammatory activity in the treatment of murine subacute Parkinson's disease. **Rejuvenation Research**, v. 20, n. 1, p. 50-63, 2017.
- GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.
- GUALBERTO, A. F. *et al.* Características, propiedades e potencialidades da moringa, *Moringa oleifera* Lam.: aspectos agroecológicos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 5, p. 4, 2014.
- HEMMERLE, H. *et al.* Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. **Journal of medicinal chemistry**, v. 40, n. 2, p. 137-145, 1997.
- HUGHES, N. J. *et al.* Helicobacter pylori porCDAB and oorDABC genes encode distinct pyruvate: flavodoxin and 2-oxoglutarate: acceptor oxidoreductases which mediate electron transport to NADP. **Journal of bacteriology**, v. 180, n. 5, p. 1119- 1128, 1998.
- JAAFARU, M. S. *et al.* Nontoxic glucomoringin-isothiocyanate (GMG-ITC) rich soluble extract induces apoptosis and inhibits proliferation of human prostate adenocarcinoma cells (PC-3). **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 1174, 2018.
- JAYAWARDANA, B. C. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of drumstick (*Moringa oleifera*) leaves in herbal chicken sausages. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1204-1208, 2015.
- JESUS, A. R. *et al.* Cultivo da *Moringa oleifera*. Brasília, DF: Instituto Euvaldo Lodi; Salvador: IEL, 2013. p. 23 (Dossiê técnico). Hunt, GA Effect of styroblock design and cooper treatment on morphology of conifer seedlings. In: **Target seedling symposium, meeting of the western forest nursery associations, general technical report rm-200**. 1990. p. 218-222.

KALAVATHY, M. H.; MIRANDA, L. R. *Moringa oleifera*—A solid phase extractant for the removal of copper, nickel and zinc from aqueous solutions. **Chemical Engineering Journal**, v. 158, n. 2, p. 188-199, 2010.

KARTHIKESAN, K.; PARI, L.; MENON, V. P. Antihyperlipidemic effect of chlorogenic acid and tetrahydrocurcumin in rats subjected to diabetogenic agents. **Chemico- biological interactions**, v. 188, n. 3, p. 643-650, 2010.

KHALAFALLA, M. M. *et al.* Active principle from *Moringa oleifera* Lam leaves effective against two leukemias and a hepatocarcinoma. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 49, p. 8467-8471, 2010.

KHAN, F. *et al.* Antiproliferative effect of *Moringa oleifera* methanolic leaf extract by down-regulation of Notch signaling in DU145 prostate cancer cells. **Gene Reports**, v. 19, p. 100619, 2020.

KIILL, L. H. P.; MARTINS, C. T. VD; LIMA, P. C. F. *Moringa oleifera*: registro dos visitantes florais e potencial apícola para a região de Petrolina, PE. **Embrapa Semiárido-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2012.

KIM, Y. J. *et al.* Cloning and characterization of pathogenesis-related protein 4 gene from *Panax ginseng*. **Russian journal of plant physiology**, v. 61, n. 5, p. 664-671, 2014.

KO, M. O.; KIM, M. B.; LIM, S. B. Relationship between chemical structure and antimicrobial activities of isothiocyanates from cruciferous vegetables against oral pathogens. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 26, n. 12, p. 2036- 2042, 2016.

KOU, X. *et al.* Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* Lam. **Nutrients**, v. 10, n. 3, p. 343, 2018.

KUETE, V. **Medicinal spices and vegetables from Africa: therapeutic potential against metabolic, inflammatory, infectious and systemic diseases**. Academic Press, 2017.

LEONÍDIO, A. R. A. Atividade Antimicrobiana de *Moringa oleifera* Lam. **Revista Gestão & Tecnologia**, v. 1, n. 28, p. 4-15, 2019.

LOPES, R. M. *et al.* Flavonóides. **Biociência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 14, p. 18-22, 2010.

LOPEZ-RODRIGUEZ, N. A. *et al.* Glucosinolates and isothiocyanates from *Moringa oleifera*: chemical and biological approaches. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, p.447-457, 2020.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

- MAGHU, T. K.; SHARMA, A.; YOUNIS, K. Effect of Drumstick Leaves (*Moringa oleifera*) Incorporation on Quality of Khakhra. **Plant-Based Natural Products: Derivatives and Applications**, p. 129-144, 2017.
- MALDINI, M. et al. *Moringa oleifera*: study of phenolics and glucosinolates by massspectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 49, n. 9, p. 900-910, 2014.
- MANSOUR, M. et al. Moringa peregrina leaves extracts induce apoptosis and cell cycle arrest of hepatocellular carcinoma. **BioMed research international**, v. 2019, 2019.
- MOURA, M. C. et al. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. **Journal of applied microbiology**, v. 119, n. 3, p. 666-676, 2015.
- MOYO, B. et al. Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 60, p. 12925-12933, 2011.
- MOYO, B.; MASIKA, P. J.; MUCHENJE, V. Antimicrobial activities of *Moringa oleifera* Lam leaf extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 11, p. 2797-2802, 2012.
- MOYO, B.; MASIKA, P. J.; MUCHENJE, V. Effect of supplementing crossbred Xhosalop-eared goat castrates with Moringa oleifera leaves on growth performance, carcass and non-carcass characteristics. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 4, p. 801-809, 2012.
- NDUBUAKU, U. M. et al. Anti-nutrient, vitamin and other phytochemical compositions of old and succulent moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as influenced by poultry manure application. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 32, p. 2502-2509, 2015.
- NEPOLEAN, P.; ANITHA, J.; RENITTA, R. E. Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of *Moringa oleifera* Lam. **Curr Biotica**, v. 1, p. 33-39, 2009.
- NOBOSSÉ, P.; FOMBANG, EN.; MBOFUNG, CMF. Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. **Food Science e nutrition**, v 6, p .2188-2198, 2018.
- NORONHA, B. G.; DE MEDEIROS, A. D.; DIAS PEREIRA, M. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Moringa oleifera Lam. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 393-402, jan./mar. 2018.
- NOUMAN, W. et al. Profiling of polyphenolics, nutrients and antioxidant potential of germplasm's leaves from seven cultivars of *Moringa oleifera* Lam.

Industrial Crops and Products, v. 83, p. 166-176, 2016.

OLOYEDE, O. O. *et al.* Effects of fermentation time on the functional and pasting properties of defatted *Moringa oleifera* seed flour. **Food science & nutrition**, v. 4, n. 1, p. 89-95, 2016.

OLSON, M. E.; FAHEY, J. W. *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v.82, n.4, p.1071-1082, 2011.

OLUDURO, A. O. Evaluation of antimicrobial properties and nutritional potentials of *Moringa oleifera* Lam. leaf in South-Western Nigeria. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 8, n. 2, p. 59-67, 2012.

OMODANISI, E. I. *et al.* Hepatoprotective, antihyperlipidemic, and anti-inflammatory activity of *Moringa oleifera* in diabetic-induced damage in male wistar rats.

Pharmacognosy research, v. 9, n. 2, p. 182, 2017.

PADLA, E. P. *et al.* Antimicrobial isothiocyanates from the seeds of *Moringa oleifera* Lam. Zeitschrift für Naturforschung. C, **Journal of biosciences**, v. 67, p. 557-564, 2012.

PASA, M. C. *et al.* Abordagem Etnobotânica de *Moringa oleifera* Lam.: do cultivo ao uso da espécie em Rondonópolis, Mato Grosso. **FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 1, 2010.

PEIXOTO, J. R. O. *et al.* In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 4, n. 3, p. 201-204, 2011.

PEREIRA, K. T. O. *et al.* Efeito de níveis de fertilizantes na produção de mudas de moringa. *In*: INOVAGRI INTERNATIONAL MEETING, 2., 2014, Fortaleza. **Anais [...]**
Fortaleza: INOVAGRI, 2014.

PERES, D. D. Ácido Ferúlico em Protetores Solares: Desenvolvimento e Eficácia Multifuncional in vitro, ex vivo e in vivo. 2015 .168f. **tese (Doutorado em ciências farmacêuticas)** - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

PÉREZ, A. *et al.* Características y potencialidades de *Moringa oleifera*, Lamark: Una alternativa para la alimentación animal. **Pastos y forrajes**, v. 33, n. 4, p. 1-1, 2010.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition research**, v. 18, n. 12, p. 1995-2018, 1998.

PRABHAKAR, P. K.; DOBLE, M. Interaction of cinnamic acid derivatives with commercial hypoglycemic drugs on 2-deoxyglucose uptake in 3T3-L1

adipocytes. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 18, p. 9835-9844, 2011.

RADULOVIĆ, Niko; DEKIĆ, Milan; STOJANOVIĆ-RADIĆ, Zorica. A new antimicrobial glucosinolate autolysis product, 4-isothiocyanatobutanoic acid, from the diffuse wallflower (*Erysimum diffusum*): Methyl 4-isothiocyanatobutanoate, a long unrecognized artifact of the isolation procedure? **Food chemistry**, v. 129, n. 1, p. 125-130, 2011.

RADY, M. M.; MOHAMED, G. F. Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and *oringa oleifera* leaf extract. **Scientia Horticulturae**, v. 195, p. 105-113, 2015.

RANGEL. M. S. A. **Moringa oleifera**: uma planta de uso múltiplo. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 1999. 41p.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free radical biology and medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

ROCCHETTI, Gabriele *et al.* Phenolic profiling and in vitro bioactivity of *Moringa oleifera* leaves as affected by different extraction solvents. **Food Research International**, v. 127, p. 108712, 2020.

RUIZ, R. B.; ODIO, R. M. R.; CARRIÓN, M. E. B. *Moringa oleifera*: una opción saludable para el bienestar *Moringa oleifera*: a healthy option for the well-being **Medisan**, v.16, n.10, p.1596, 2012.

SAINI, R. K. *et al.* Dietary iron supplements and *Moringa oleifera* leaves influence the liver hepcidin messenger RNA expression and biochemical indices of iron status in rats. **Nutrition Research**, v. 34, p. 630-638, 2014.

SALEEM, A.; SALEEM, M.; AKHTAR, M. F. Antioxidant, anti-inflammatory and antiarthritic potential of *Moringa oleifera* Lam: An ethnomedicinal plant of Moringaceae family. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 246-256, 2020.

SANGANNA, B. U. R. L. I *et al.* Antiproliferative and antioxidant activity of leaves extracts of *Moringa oleifera*. **International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research**, v. 8, n. 4, p. 54-56, 2016.

SANTOS, B. *et al.* **Formulação de chá gelado a base de flor de moringa (*Moringa oleifera* Lam.): Estúdio de aceitabilidade**. Maringá: Brasil, 2014.
SARALAYA, M. G. *et al.* Research article antidiarrheal activity of methanolic extract of *moringa oleifera* lam roots in experimental animal models. **International Journal of Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 2, p. 25-29, 2010.

SHAKOUR, Z. T. *et al.* Metabolic and biotransformation effects on

dietary glucosinolates, their bioavailability, catabolism and biological effects in different organisms. **Biotechnology Advances**, v. 54, 2022.

SILVA, L. R. *et al.* Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

SING, A.K. *et al.* Phitochemical, nutraceutical and pharmacological attributes of a functional crop *Moringa oleífera* Lam: **An overview. south African Journal of Bostany**, V.129, P.209-220,2020.

SINGH, B. N. *et al.* Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti- quorum sensing Potentials of *Moringa oleifera*. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 47: 1109-1116, 2009.

SONG, M. Y. *et al.* Sulforaphane protects against cytokine-and streptozotocin- induced β -cell damage by suppressing the NF- κ B pathway. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 235, n. 1, p. 57-67, 2009.

SOSA-RODRÍGUEZ, A. A. *et al.* Efecto de la distancia de siembra en variables morfoagronómicas de moringa (*Moringa oleífera*). **Agron. Mesoan**, v. 28, n.1, p. 207- 211, 2017.

SOUZA, T. M. A. *et al.* Crescimento e desenvolvimento inicial da cultura da moringa, *Moringa oleifera* Lam., submetida à fertilização orgânica. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 5, p. 31, 2015.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2008. 704 p.

SREELATHA, S. AND PADMA, P. R. Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. **Plant Foods and Human Nutrition**, v. 64, n. 4, p. 303-311, 2009.

STOHS, S. J.; HARTMAN, M. J. Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 6, p. 796-804, 2015.

SULTANA, B., ANWAR, F.; ASHRAF, M. Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2167-2180, 2009.

SULTANA, B.; ANWAR, F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 108, p. 879- 884, 2008.

SZABO, A. *et al.* The ATP hydrolysis-dependent reaction cycle of the *Escherichia coli* Hsp70 system DnaK, DnaJ, and GrpE. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 22, p. 10345-10349, 1994.

VALDEZ-SOLANA, M. A. *et al.* Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of *Moringa oleifera* grown in Mexico. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1- 9, 2015.

VONGSAK, Boonyadist *et al.* Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. **Industrial crops and products**, v. 44, p. 566-571, 2013.

WANGCHAROEN, W. *et al.* Antioxidant capacity and total phenolic content of *Moringa oleifera* grown in Chiang Mai, Thailand. **Thai Journal of Agricultural Science**, v. 44, n. 5, p. 118-124, 2011.

XIAO, D. *et al.* Phenethyl isothiocyanate inhibits oxidative phosphorylation to trigger reactive oxygen species-mediated death of human prostate cancer cells. **Journal of Biological Chemistry**, v.285, n.34, p.26558-26569, 2010.

ANEXO 1 – Declaração de identificação da espécie de *Moringa oleífera* Lam no herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA).



DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que a amostra da planta utilizada na pesquisa de **Ariana da Silva Santos** foi depositada no Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, e trata-se de:

Reg. MAC	Nº Col.	Família	Espécie	Det.
65055	s/n	Moringaceae	<i>Moringa oleífera</i> Lam.	E. Lins

OBS: Recomenda-se a citação, no corpo do trabalho, que a identificação do material estudado foi efetuada pelos pesquisadores do Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente.

Maceió, 19 de Julho de 2019.

Rosângela Pereira de Lyra Lemos

Rosângela Pereira de Lyra Lemos
Curadora do Herbário MAC



www.ima.al.gov.br
82 3315-1737 / 3738 - FAX 82 3315-1734
Av. Major Cicero de Góes Monteiro, 2197 - Mutange

f MA ALAGOAS i MA ALAGOAS t MA ALAGOAS

IMA
INSTITUTO DO MEIO AMBIENTE
ESTADO DE ALAGOAS

ANEXO 2 – Carta de aceite

**Insight***Experts in Academic Language*

EDITORIAL CERTIFICATE

This document certifies that the manuscript listed below has been edited for proper English language concerning to grammar, syntax and semantics by highly qualified professional editors at **Insight®**. The research content or author's intentions were not altered in any way during the editing process.

The **Insight®** guarantees the edit quality of this manuscript for publication by assuming that our suggestions and changes have been accepted and have not been altered after this editing process. If you have any questions about this edited document, please contact **Insight®** at info@ilepub.com

Manuscript Title:

PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL REPORTS OF THE HYPOGLYCEMIC
ACTIVITY OF THE MORINGA OLEIFERA LAM.
EXTRACTS

Authors:

Ariana da Silva Santos, Anderson Lopes Pimentel, João Victor Lessa de Oliveira,
Michelle Teixeira da Silva, Fernanda Geny Calheiros Silva, Maria Aline Fidelis
Barros de Moura, Sâmia Andrcia Souza da Silva, Ticiano Gomes do Nascimento

Date issued:

August 2, 2021

Certification code:

778-2021



Insight® offers professional English language editing of manuscripts for publication in internationally reputed journals. Editors who work with **Insight®** are guaranteed the highest qualifications to edit manuscripts in several areas of research. For further information about our group and services, please visit www.ilepub.com

Rodriguésia

Rodriguésia

Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL REPORTS OF THE HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF THE MORINGA OLEIFERA LAM. EXTRACTS

Journal:	<i>Rodriguésia</i>
Manuscript ID	ROD-2021-0126.R2
Manuscript Type:	Review Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	da Silva Santos, Ariana; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Farmacêuticas Pimentel, Anderson Lopes; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Farmacêuticas Lessa de Oliveira, João; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Farmacêuticas Teixeira da Silva, Michelle; Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Nutrição Calheiros Silva, Fernanda Geny; Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Nutrição Barros de Moura, Maria Aline Fidelis; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Farmacêuticas Souza da Silva, Sâmia Andréia; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Farmacêuticas Nascimento, Ticiano; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Nutrição
Keyword:	Diabetes, glucosinolates, Flavonoids, <i>Moringa oleifera</i> , Sulforaphanes

SCHOLARONE™
Manuscripts

19/07/2022 17:51

Yahoo Mail - Rodriguésia - Decision on Manuscript ID ROD-2021-0126.R2

Rodriguésia - Decision on Manuscript ID ROD-2021-0126.R2

De: Leopoldo Baratto (onbehalf@manuscriptcentral.com)

Para: ticianogn@yahoo.com.br

Data: sexta-feira, 25 de fevereiro de 2022 17:16 GMT-3

25-Feb-2022

Dear Dr. Nascimento:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL REPORTS OF THE HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF THE MORINGA OLEIFERA LAM. EXTRACTS" in its current form for publication in the Rodriguésia.

IMPORTANT - this manuscript will only be edited for future publication after the editorial board members verify and approve the certificate proving the proof of English language proficiency.

It is the author's responsibility to guarantee that the English language is flawless. Therefore, all authors must have their accepted manuscripts proofread by a proficient/native English speaker before we proceed to the next stage of copy-editing.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Rodriguésia, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Leopoldo Baratto
Associate Editor, Rodriguésia
leopoldo.ufrj@gmail.com

APÊNDICE 1 – Avaliação da atividade antioxidante de Extratos de Moringa oleífera Lam (MOL) (% inibição do radical DPPH).

Concentração (µg/mL) MO 20%	% de sequestro do radical DPPH			
				Media
750	99,29	99,53	100	99,61
500	67,80	68,50	68,74	68,34
250	36,53	36,77	37,00	36,77
125	21,72	21,25	21,02	21,33

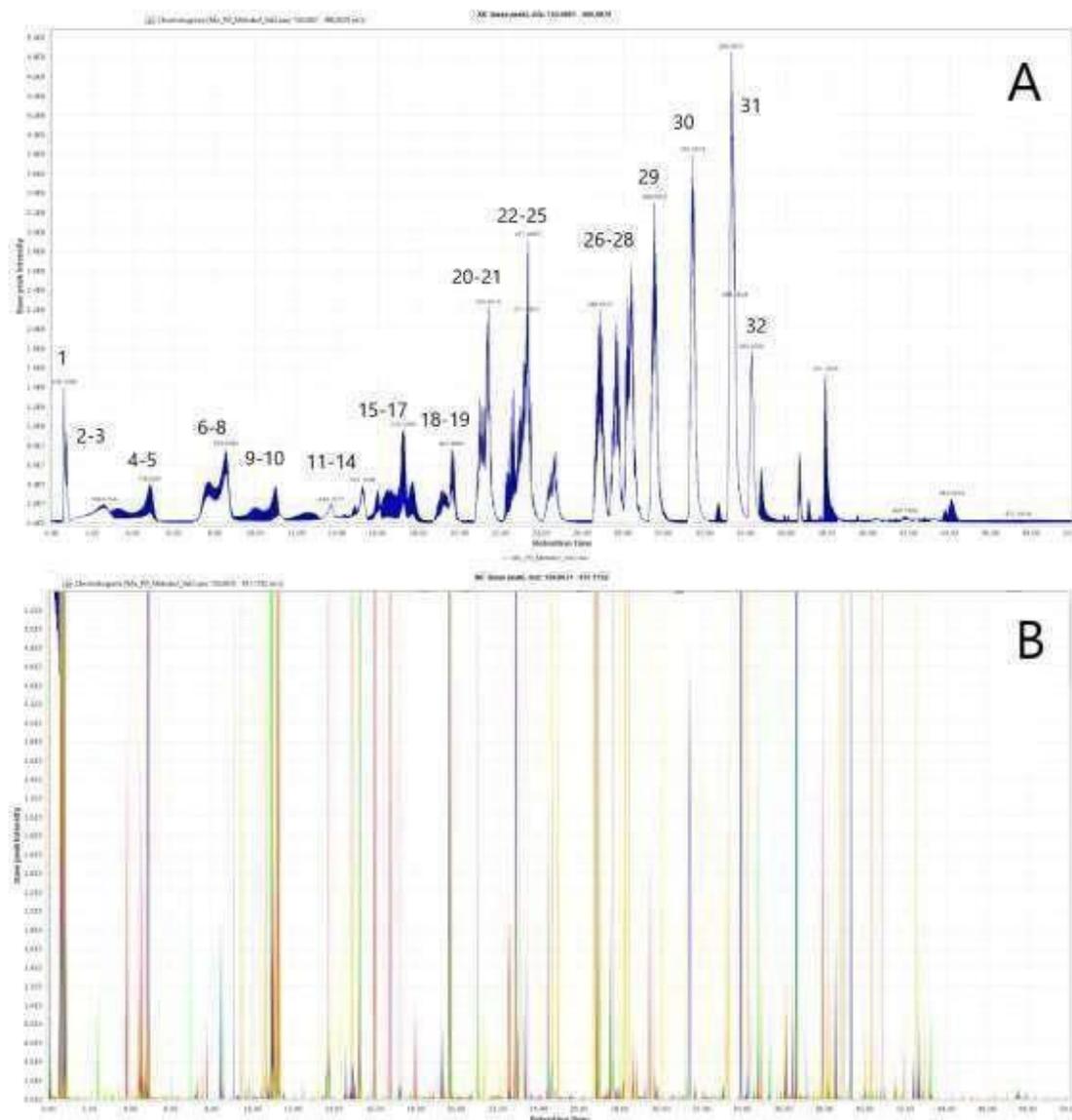
Concentração (µg/mL) MO 30%	% de sequestro do radical DPPH			
				Média
750	92,71	92,71	114,3 4	99,92
500	89,19	89,42	89,66	89,42
250	55,81	56,28	56,98	56,35
125	29,95	30,42	30,89	30,42

Concentração (µg/mL) MO 40%	% de sequestro do radical DPPH			
				Media
750	91,77	93,42	93,65	92,95
500	91,54	91,54	91,77	91,62
250	88,48	88,48	88,72	88,56
125	61,68	61,92	62,15	61,92

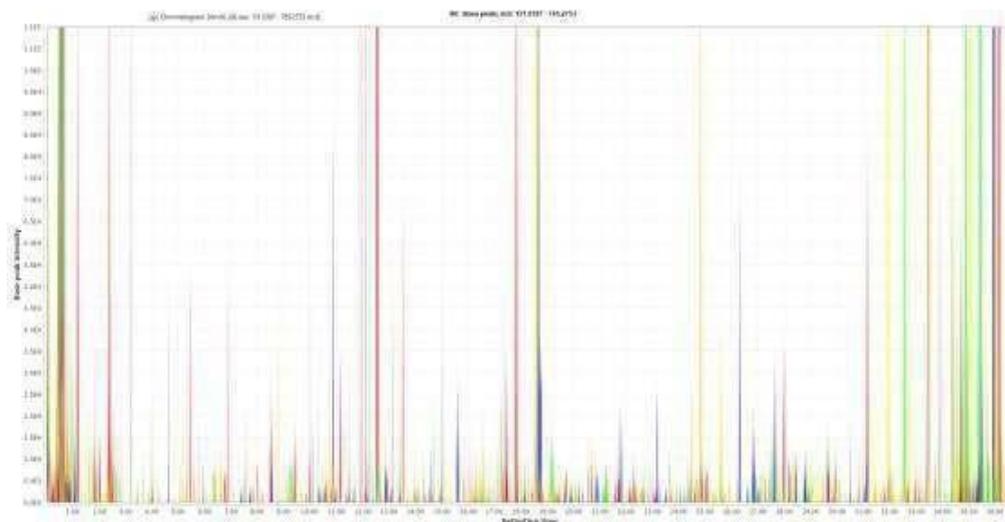
Concentração (µg/mL) MO 50%	% de sequestro do radical DPPH			
				Media
750	91,54	91,77	91,30	91,54
500	90,60	90,83	90,60	90,68
250	89,19	89,42	89,42	89,34
125	85,66	84,96	85,43	85,35

Fonte: Autora ,2022

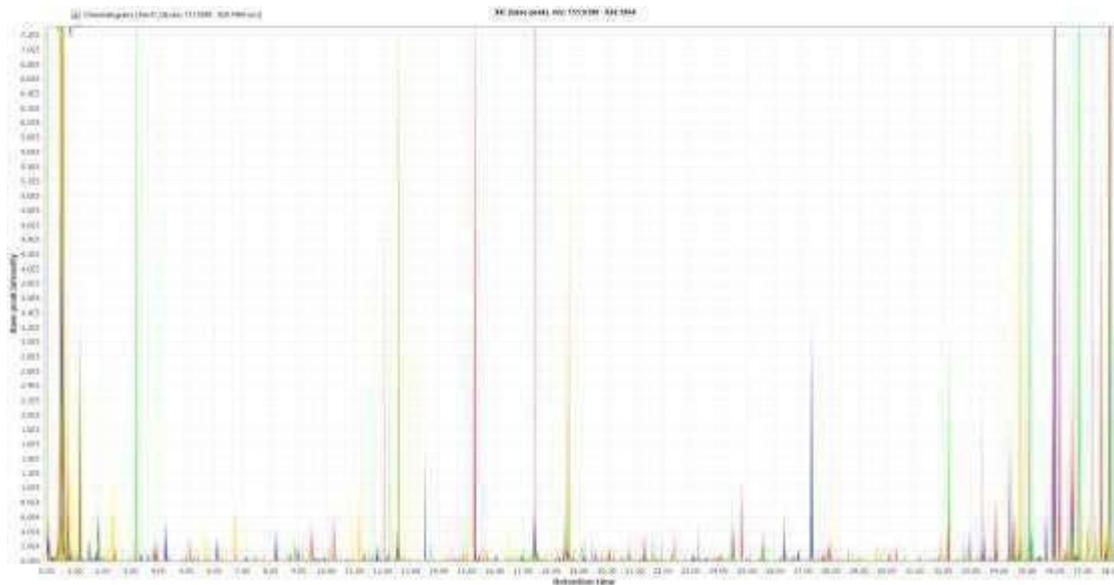
APÊNDICE 2 – Análise LC-MS com software MZmine da mistura dos padrões analíticos usados na identificação dos flavonoides da *Moringa oleífera*



APÊNDICE 3– Análise LC-MS com software MZmine da amostra extrato de moringa fevereiro 75% pó usados na identificação dos flavonoides da Moringa oleífera



APÊNDICE 4 – Análise LC-MS com software MZmine da amostra extrato de moringa 75% pó julho usados na identificação dos flavonoides da



Moringa oleífera

APÊNDICE 5 – Identificação e Confirmação de alguns marcadores dos padrões
de *Moringa oleífera*

Pico	RT (min.)	[M-H] ⁻ ou [M-H] ⁺ (m/z)	MW	Fórmula	Área	Composto
1	0.63	449.1088	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1.20 x 10 ⁵	Orientina
2	2.69	289.0711	290.27	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	1.70 x 10 ⁴	Catequina
3	3.34	179.0351	180.16	C ₉ H ₈ O ₄	2.6 x 10 ⁶	Ácido cafeico (trans)
4	4.84	179.0351	180.16	C ₉ H ₈ O ₄	1.20 x 10 ⁸	Ácido cafeico(cis)
5	4.89	165.0554	164.140	C ₉ H ₈ O ₃	3.90 x 10 ⁶	Ácido 2-coumarico
6	5.93	447.0957	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1.70 x 10 ⁷	Análogo de quercetrina
7	5.62	163.0394	162.140	C ₉ H ₆ O ₃	4.40 x 10 ⁶	Umbeliferona (derivado)
7a	5.64	163.0394	162.140	C ₉ H ₆ O ₃	1.90 x 10 ⁷	Umbeliferona
8	10.04	447.0965	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1.30 x 10 ⁷	Derivado de quercitrina
9	11.50	193.0502	194.18	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1.40 x 10 ⁷	Ácido ferulico
10	12.25	353.0901	354.31	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	7.8 x 10 ⁴	Ácido clorogênico
11	12.53	463.1243	464.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	4.7 x 10 ⁵	Miricitrina
12	14.02	447.0965	448.38	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	1.30 x 10 ⁷	quercitrina
13	14.82	163.0243	164.16	C ₉ H ₈ O	5.80 x 10 ⁸	Acido p-coumarico
14	15.37	433.1139	432.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	4.10 x 10 ⁶	Vitexina
15	15.95	465.1038	464.40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	6.60 x 10 ⁵	Delphinidina3-O-glucosideo cloreto /miricitrina
16	16.76	229.0858	228.24	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	2.10 x 10 ⁶	Resveratrol (trans)
17	17.28	229.0858	228.24	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	-	Resveratrol (cis)
18	17.75	287.0550	287.24	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	-	Cianidina
19	19.30	257.0805	256.27	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	6.5 x 10 ³	Liquiritigenina
20	20.07	609.1454	610.52	C₂₇₅H₂₈O₁₆	2.0 x 10³	Rutina
21	21.05	253.0517	254.20	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	1.3 x 10 ⁸	Daidzeina
22	21.47	255.0517	254.20	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	1.30 x 10 ⁵	Crisina
23	22.34	273.0761	272.25	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	1.50 x 10 ⁴	Pinobanksina
24	22.66	303.0503	302.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	1.50 x 10 ⁵	Quercetina
25	23.23	273.0761	272.25	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	5.80 x 10 ³	Naringenina
26	24.59	285.0413	286.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	1.30 x 10 ⁸	kaempferol
27	27.04	285.1104	286.04	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	6.00 x 10 ⁸	Luteolina
28	27.68	271.0607	270.24	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	1.80 x 10 ⁵	Apigenina
29	28.43	257.0806	256.24	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	1.20 x 10⁴	Isoliquiritigenina
30	29.55	269.0807	268.28	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	1.50 x 10 ⁶	Formononetina / Isotormononetina
31	31.50	257.0809	256.24	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	1.00 x 10 ⁸	Pinocembrina
32	33.34	285.0753	284.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	3.60 x 10 ⁷	Biochanin A
33	38.71	285.0770	284.26	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	4.40 x 10⁵	Acacetina

RT: Retention time (min), MW: Molecular weight; Fonte: Dados da pesquisa (2022)