



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS



THARIANE CARVALHO BICAS

**EFEITOS DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE
Syzygium malaccense e *Moringa oleifera* SOB O ESTRESSE
OXIDATIVO EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA**

DISSERTAÇÃO

Pato Branco, 2019.

THARIANE CARVALHO BICAS

**EFEITOS DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE
Syzygium malaccense e *Moringa oleifera* SOB O ESTRESSE
OXIDATIVO EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito para obtenção do título de “Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos” - Área do conhecimento: Biotecnologia”.

Professora Orientadora: Dr.^a Tatiane Luiza Cadorin Oldoni.
Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Roberto Thomé.

B583e

Bicas, Thariane Carvalho.

Efeitos do extrato hidroalcoólico das folhas *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* sob o estresse oxidativo em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina / Thariane Carvalho Bicas. -- 2019.

66 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Roberto Thomé

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2019.

Bibliografia: f. 56 - 66.

1. Antioxidantes. 2. Jambo. 3. Compostos bioativos. 4. Fenóis. I. Oldoni, Tatiane Luiza Cadorin, orient. II. Thomé, Gustavo Roberto, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. IV. Título.

CDD (22. ed.) 660.281

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



TERMO DE APROVAÇÃO Nº 99

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO

"Efeitos do extrato hidroalcoólico das folhas de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleífera* sob estresse oxidativo em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina"

Autora

Thariane Carvalho Bicas

Esta dissertação foi apresentada às 08 horas e 30 minutos do dia 26 de agosto de 2019, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS – Linha de pesquisa em biotecnologia – no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. A autora foi arguida pela Banca Examinadora abaixo assinada, a qual, após deliberação, considerou o trabalho aprovado.

Prof^a. Dr^a. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni
UTFPR/PB
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Margarete Dulce Bagatini
UFFS/Chapecó
Examinadora

Prof. Dr. Mário Antônio Alves da Cunha
UTFPR/PB
Examinador

Visto da Coordenação

Prof. Dr. Edimir Andrade Pereira
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos – PPGTP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Rosanda e Armando
Aos meus Irmãos Thálissa e Waldyr
Aos meus companheiros Luiz Henrique e Vinícius
A minha orientadora Tatiane

Que dedicaram a mim uma dose de amor,
Que acreditaram em mim e no meu potencial,
Em momentos que nem eu mesma acreditava.
Estenderam-me a mão em variados momentos,
Impulsionando-me e tranquilizando-me.
A vocês, dedico este trabalho e todo meu carinho!

AGRADECIMENTOS

Eu poderia ter trilhado diversos caminhos, mas de alguma forma algo me trouxe até aqui. E neste sentido, eu só tenho a agradecer a todos e a tudo que me ajudou e influenciou na realização e finalização deste sonho.

Aos meus pais que me ensinaram que a simplicidade e saúde são os caminhos do sucesso. Que a união, amor e gratidão são os principais ingredientes da vida. Obrigada por tanto ensinamento e por todo apoio dedicam a mim, foram essenciais para meu equilíbrio nos momentos mais difíceis desta jornada.

A minha irmã Thálissa que me deu o melhor presente dessa vida, o pequeno bolota que me enche de amor, além da sua amizade, cumplicidade e apoio em todos os momentos. Ao meu irmão Waldyr, por mostrar que a vida é tão curta e passageira e que protelar nossas vontades pelo anseio do idealismo, vai trazer mais angustias do que a realização delas dentro da nossa real possibilidade.

A professora Tatiane Luiza Cadorin Oldoni, por ter depositado em mim sua confiança na realização deste trabalho. Sua motivação possibilitou meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada pelas incontáveis chances e aprendizado que proporcionou ao meu ser.

Ao meu Coorientador Gustavo R. Thomé, pela ideia do trabalho, confiança e todo ensinamento que pode dedicar a mim.

A minha companheirona Zilu Angel, que me ensinou da sua maneira que amar é liberdade, que o sentimento é genuíno, ele floresce e não aprisiona.

Aos meus companheiros de vida Luiz Henrique Galvão Schneiger e Vinicius Wistuba, por todo apoio emocional, momentos de descontração, carinho, ensinamentos e amor que dedicam e compartilham comigo. O sentimento verdadeiro, a lealdade e a reciprocidade em tudo ajudaram na evolução do meu ser.

As queridas: Amália Soares dos Reis, Andressa Pilonetto, Anna Paulla Simon, Adele Barbosa, Ullly Martins, Anelise Hagemann e Fabiola L. Ohde, por dedicarem um tempo a mim quando eu precisei: conversar, chorar, desabafar e compartilhar diversos tipos de situações. Obrigada gurias, principalmente por me darem força, inspiração e carinho. Sem vocês essa caminhada teria sido mais pesada.

Aos minhas amigas e irmãs Anaclara Prasnieswski e Cleidiane da Silva, a ajuda de vocês foi imprescindível para realização deste trabalho, nossas horas de laboratório a fio, trocas de ensinamentos, conversas, carinho e todo bem estar que

proporcionaram as vidinhas dos serezinhos que estavam ali em nossas mãos. Por mais dura que toda ruptura seja, me ajudou a enxergar o mundo com mais amor, carinho e zelo por aqueles que me cercam. Meninas, esse trabalho também é de vocês, meu muito obrigada por toda parceria. Por tudo. Tudo.

Aos meus amigos e parceiros: Matheus A. Calegari, Bruno B. Ayres, Tobias Toassi, Diego H. da Silva, Marcos P. Belançon, Nathalie Merlin, Mariéli Karling, Gabriel Medeiros, Daniela Terres, Eduarda Benetti, Kamilla Pittol, Ellen Almeida, Sofia Amalia Lund, Vitor H. Nomura, Dienifer M. Iez., Roberta Roncatti, Pedro R. Benvenuti, , Gabrielle C. Calegari, Renata D. Mendonça, Tiago Fávero, Anne R. Sotilles, Amanda B. Q. Reis, Allan P. Lucinda, André Varago, Leonardo Baldissera, Nathanna Azevedo, Rosangela Lima e Nelson Vitale Junior, galerinha muito obrigada por toda ajuda, incentivo, carinho, rolês e principalmente por tornarem minha vida mais agradável em Pato Branco.

Ao grupo de pesquisa que formamos na UTFPR pra realização deste projeto, professores: Tatiane L. C. Oldoni, Solange Terezinha Carpes, Gustavo R. Thomé; alunos: Anaclara Prasniewski, Cleidiane da Silva, Matheus Calegari, Bruno Ayres, Rafael Sari, Paula Conterno, Luana Bertoletti e Maiara Zanoelo.

À botânica Profa. Dra. Giovana Faneco Pereira, pela identificação e depósito da exsicata de *S. malaccense* e *M. oleifera*.

A minha Família em Jacupiranga – SP por cuidarem, cederem e manter a exemplar de *S. malaccense* usada para esta pesquisa, em especial ao meu primo Luiz Gustavo, minhas tias Elizabete e Mirian e meu tio Luiz Alberto todo cuidado, prontidão e paciência que tiveram com a frutífera e com nosso grupo quando precisamos coletar as folhas e os demais materiais para o trabalho.

A EPAGRI-SC por ceder o material de *M. oleifera* usado neste estudo.

A equipe do PPGTP, Departamento do curso de Química e equipe de limpeza e manutenção da UTFPR por suas contribuições, ensinamentos e dedicação com os alunos e a instituição.

A Faculdade de Pato Branco (FADEP), pela parceria e prontidão em receber e acomodar os animais usados neste trabalho.

A Profa. Margarete Dulce Bagatini por suas contribuições ao pré-projeto e realização dos testes de viabilidade celular.

A todos que puderam contribuir para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão.

EPÍGRAFE

“Autoestima é o sistema imunológico da consciência.”

Jennifer Crocker

RESUMO

BICAS, Thariane Carvalho. **Efeitos do extrato hidroalcoólico das folhas de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* sob o estresse oxidativo em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.** 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos – Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2019

Os exemplares de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* cultivados em solo brasileiro são fontes de antioxidantes naturais. Os fitoterápicos ganham cada vez mais notoriedade na comunidade acadêmica por sua versatilidade, acessibilidade e facilidade de uso. Dentre os constituintes químicos, os compostos fenólicos desempenham papel importante nos processos de inibição da peroxidação lipídica, inibindo ou diminuindo danos decorrentes do estresse oxidativo. A diminuição do estresse oxidativo, é associada à melhora de diversas patologias, dentre elas o diabetes. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos extratos hidroalcoólicos obtidos das folhas de *Moringa oleifera* e *Syzygium malaccense* sobre os biomarcadores do estresse oxidativo em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. O modelo experimental foi avaliado por meio da determinação da atividade das enzimas antioxidantes: catalase, glutational s-transferase, dos níveis de tióis não proteicos e da determinação da peroxidação lipídica (TBARS) nos tecidos renal, hepático e encefálico de ratos Wistar machos. O teste de viabilidade celular, comprovou que a dose de 500 mg/kg de extrato para *M. oleifera* e 400 mg/kg de extrato de *S. malaccense* manteve a integridade celular. Houve redução da glicemia dos animais diabéticos tratados com as plantas. A peroxidação lipídica, nos tecidos avaliados, foi diminuída para as duas plantas, entretanto, a atividade das enzimas antioxidantes para os tecidos renal e hepático foi diminuída apenas para o grupo de animais tratados com *S. malaccense* no modelo experimental. Os animais tratados com *M. oleifera* apresentaram uma melhora em relação as enzimas antioxidantes apenas para o tecido renal. Contudo, este trabalho demonstrou que as doses administradas no modelo experimental não foram tóxicas aos tecidos renal e hepático. Diante destes resultados, é possível sugerir que as

plantas em estudos podem ser promissoras na terapêutica contra o estresse oxidativo.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Jambo; Acácia branca; Compostos Bioativos; Compostos Fenólicos

ABSTRACT

BICAS, Thariane Carvalho. **Effects of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Syzygium malaccense* and *Moringa oleifera* of oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin.** 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos – Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2019.

The specimens of *Syzygium malaccense* and *Moringa oleifera* cultivated in Brazilian soil are sources of natural antioxidants. Phytotherapeutics has increasingly gained the academic community for its versatility, accessibility and ease of use as a food supplement. Your use of the traditional issue provides an investigation of your potential use of the therapeutic, its appreciation is related to composition, which contains an amount and class of compounds. Among the compounds, phenolic compounds play an important role in the inhibition processes of lipid peroxidation, inhibiting or reducing the capacity of oxidative stress. The reduction of oxidative stress, is associated to the improvement of several pathologies, among them diabetes. In this context, the present study was evaluated as the hydroalcoholic effects of *Moringa oleifera* and *Syzygium malaccense* leaves on the biomarkers of oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin. The production of the decorative extracts is better than the extraction coding for these cultures and the amount of material administered was determined according to the cell viability (MTT) method. The experimental model was evaluated by the determination of the activity of antioxidant enzymes: catalase, glutathione s-transferase and non-protein thiols, as well as the determination of lipid peroxidation (TBARS) in the renal, hepatic and encephalic tissues of Wistar rats. The cell viability test showed that the dose of 500 mg / kg of extract for *M. oleifera* and 400 mg / kg of *S. malaccense* extract maintained cell integrity. There was a reduction in glycaemia in diabetic animals treated with plants. The lipid peroxidation in the evaluated tissues was decreased for both plants, however, the activity of antioxidant enzymes for renal and hepatic tissues was reduced only for the group of animals used with *S. malaccense* in the experimental model. Animals isolated with *M. oleifera* showed an improvement in the relationship as antioxidant enzymes only for renal tissue. However, this work

demonstrated that a dose administered in the experimental model was not toxic to renal and hepatic tissues. Given these results, it is possible to suggest that plants under study are indicators of possible new therapeutic areas.

Keywords: Antioxidant activity; Jambo; White Acacia; Bioactive compounds; Phenolic Compounds

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 PLANTAS MEDICINAIS	19
3.1.1 <i>Syzygium malaccense</i>	20
3.1.2 <i>Moringa oleifera</i>	21
3.2 ESTRESSE OXIDATIVO	22
3.3 ANTIOXIDANTES	25
3.3.1 Compostos Fenólicos	26
3.4 DIABETES E SUAS IMPLICAÇÕES À SAÚDE	28
3.4.1 Diagnóstico e tipos do diabetes mellitus.....	29
3.4.2 Fisiopatologia	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 IDENTIFICAÇÃO, COLETA E PREPARO DE MATERIAL	32
4.1.1 Preparo dos extratos	32
4.1.2 Viabilidade celular (MTT).....	33
4.2 ATIVIDADES BIOLÓGICAS	34
4.2.1 Modelo experimental animal de diabetes	34
4.2.2 Indução do diabetes experimental.....	35
4.2.3 Tratamento	35
4.3 ANÁLISES <i>EX VIVO</i>	36
4.3.1 Ensaio da enzima catalase.....	36
4.3.2 Ensaio da enzima Glutathione S-transferase	36
4.3.3 Ensaio NPSH	37
4.3.4 Marcador da peroxidação lipídica (TBARS)	37
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 TESTE DE VIABILIDADE CELULAR (MTT)	39
5.2 PESO CORPORAL E ÍNDICE GLICÊMICO	40
5.3 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS)	42

5.4 ENZIMAS ANTIOXIDANTES DO TECIDO HEPÁTICO E RENAL	47
6 CONCLUSÃO	54
7 REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

Apontado como potencial para a manutenção das condições de saúde da população, os fitoterápicos ganham cada vez mais notoriedade entre pesquisadores de diversos países. O uso na medicina tradicional dispensa preparos mais elaborados, além da possibilidade de uso como complemento alimentar (REZENDE; COCCO, 2002; FRANÇA et al., 2008).

No Brasil, a utilização de fitoterápicos teve início com as práticas indígenas e estes, desde muito tempo, desfrutam da enorme riqueza da fauna e flora brasileira que abriga a maior biodiversidade do planeta. Embora o acesso a essa grande diversidade biológica seja facilitado, o número de estudos científicos, quando comparado à diversidade botânica brasileira, ainda são escassos, o que indica a necessidade de estudos que propiciem a identificação dos constituintes químicos e as atividades biológicas destas plantas. Desta maneira, a utilização ocorre pelo conhecimento popular ou informações filogenéticas da planta (POPOVIĆ et al., 2016).

Dentre as plantas medicinais encontradas no Brasil, relata-se o uso de infusões com folhas de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* para diversos tratamentos como: hipoglicêmico (ARUMUGAM et al., 2014), antimicrobiano (ALBUQUERQUE et al., 2017), anticâncer (LU et al., 2006), anti-inflamatório e analgésico (ADEDAPPO et al., 2015), coagulante e floculante natural (MUTHURAMAN; SASIKALA, 2014) e hipolipemiante (ABORHYEM et al., 2016).

Estudos recentes indicam que as folhas de *Syzygium malaccense*, também conhecido como jambo, possuem em sua composição química a biomolécula miricitrina, capaz de inibir a atividade das enzimas α -glicosidase e α -amilase, que estão diretamente relacionadas à capacidade de digestão e absorção de carboidratos e açúcares no organismo (TIAN et al., 2011; ARUMUGAM et al., 2014; SUN et al., 2017).

A *Moringa oleifera* é conhecida pela versatilidade proveniente do aproveitamento que se tem de todas as partes da planta, podendo apresentar diversos usos. Alguns estudos indicam que as folhas de moringa apresentam-se como fonte de proteínas de origem vegetal (FAHEY, 2005; BUSANI et al., 2011). Dentre seus constituintes de grande importância biológica, destacam-se os

flavonoides glicosilados: astragalina (kaempferol-3-glicosídeo) e isoquercetrina, e o ácido fenólico: ácido clorogênico (ácido-O-cafeoilquínico) (MANGURO; LEMMEN, 2007; MERLIN, 2017). Aliado ao sistema antioxidante endógeno, essas moléculas trabalham no combate das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.

Os radicais livres são espécies altamente reativas, resultantes de reações no ambiente celular de modo fisiológico ou patológico em que o organismo combate para reestabelecer o equilíbrio da viabilidade celular. Em excesso, os radicais livres, podem causar danos em proteínas, enzimas e lipídeos, inviabilizando atividades essenciais de sinalização para: diabetes, regulação da pressão arterial, artrite, choque hemorrágico, catarata, disfunções cognitivas, câncer e doenças agravadas pelo estresse oxidativo (FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, 1997; CADET et al., 1999; VASCONCELOS et al., 2007; GEBICKA; KRYCH-MADEJ, 2019; NIJHAWAN et al., 2019).

A diminuição ou aumento na atividade de certas enzimas, proteínas e lipídeos, representa algum tipo de distúrbio. No caso do diabetes, o estresse oxidativo participa severamente no desenvolvimento, progressão e complicações da doença (GEBICKA; KRYCH-MADEJ, 2019; NIJHAWAN et al., 2019).

O Diabetes Mellitus é uma doença crônica caracterizada pelo excesso de glicemia no organismo, distúrbio atribuído à insuficiência na produção do hormônio insulina, ou pela resistência no reconhecimento do receptor das células alvo (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). O aumento dos níveis glicêmicos da população mundial triplicou nas últimas três décadas, o qual está associado à má condição no estilo de vida, com destaque para o sedentarismo, alimentação inadequada e obesidade. Em 2017 o número alarmante de pessoas com diabetes alcançou 424,9 milhões de pessoas entre 20 a 79 anos, e para 2045 a estimativa é de 628,6 milhões de pessoas com a doença (International Diabetes Federation, 2017).

O tratamento mais adequado para o diabetes do tipo 1 é o uso diário de insulina exógena, juntamente com atividades físicas e reeducação alimentar, com a finalidade de diminuir os sintomas causados pela hiperglicemia como: poliúria, polidipsia e perda de peso em longo prazo (WU et al., 2013). Alguns estudos têm abordado o uso de fitoterápicos como uma alternativa de tratamento e as plantas descritas para essa finalidade, atuam sob diferentes mecanismos de ação em que estimulam a melhora das células β pancreáticas (ARUMUGAM et al., 2013;

BAHMANI; GOLSHAHI; et al., 2014; BAHMANI; ZARGARAN; et al., 2014). As plantas que detém o potencial antidiabético são ricas em compostos antioxidantes, dentre eles os polifenóis, glucosinolatos, alcalóides, terpenos, entre outros, que estão intimamente relacionados com os diversos mecanismos que originam ação farmacológica inibindo a geração de radicais livres no organismo humano e animal (VASCONCELOS et al., 2007; PATEL et al., 2012; STOHS; HARTMAN, 2015).

Considerando o potencial antioxidante atribuído aos compostos com atividades biológicas das folhas de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera*, o presente trabalho tem como objetivo avaliar as atividades do extrato das folhas de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* sob o estresse oxidativo gerado em tecidos no modelo experimental animal de diabetes induzido por estreptozotocina.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito dos compostos antioxidantes presentes nas folhas de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* sobre marcadores do dano oxidativo em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o peso corporal e a glicose sanguínea de todos os animais estudados, no momento da indução do diabetes, semanalmente, e no dia da eutanásia;
- Testar a viabilidade celular em células mononucleares de sangue humano com diferentes concentrações dos extratos de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera*;
- Determinar a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) no fígado e rins de animais tratados com *Moringa oleifera* e *Syzygium malaccense*, controle salina, diabetes controle e nos grupos diabetes tratados com *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera*;
- Avaliar a peroxidação lipídica (TBARS) em fígado, rim e cérebro total nos grupos de animais tratados com *Moringa oleifera* e *Syzygium malaccense*, controle salina, diabetes controle e nos grupos diabetes tratados com *Syzygium malaccense* ou *Moringa oleifera*

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

Em muitos países, as plantas medicinais são utilizadas para a manutenção das condições de saúde da população, sendo uma opção acessível a diversas classes sociais. O estudo dos fitoterápicos, que pode proporcionar o conhecimento da ação farmacêutica das plantas é de grande importância e rege a influência do seu uso medicinal (REZENDE; COCCO, 2002; ALVES; SILVA, 2003; FRANÇA et al., 2008).

A Fitoterapia consiste no uso interno e externo de vegetais para o tratamento de doenças, sejam eles “in natura” ou sob forma de medicamentos. No Brasil, seu uso teve início nas práticas indígenas, influenciado pela colonização portuguesa e cultura africana (FRANÇA et al., 2008).

O Brasil abriga uma enorme riqueza de fauna e flora, sendo responsável pela maior biodiversidade do planeta e essa grande variedade de vida deixa o país no posto principal como potencial produtor de fitoterápicos, e de fonte de agentes potencialmente farmacológicos (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2017). Apesar da vasta riqueza, o conhecimento das espécies existentes no país é pequeno, e, esta carência não contribuiu para o desenvolvimento de biotecnologia e inovação (KLEIN et al., 2009).

A biodiversidade brasileira atrai o interesse de pesquisadores de diversos países, devido à importância em desenvolver estudos multidisciplinares que incluem as áreas de fitoquímica, botânica e farmacologia, que juntos enriquecem o conhecimento sobre a medicina natural. Uma característica importante das plantas medicinais a ser estudada é a toxicidade. A toxicidade é uma problemática da medicina natural, devido à adversidade e sinergia dos fitoterápicos não serem conhecidas pela população que faz o uso das plantas medicinais (AMOROZO, 2002; MACIEL et al., 2002; VEIGA et al., 2005; SILVA, 2010).

Embora exista pouco estudo a cerca dos constituintes químicos e atividades biológicas, a escolha das plantas para seu posterior estudo é realizado de acordo com alguns critérios como sua composição química (informações filogenéticas e

quimiotaxonômicas em gêneros e famílias da classe), toxicidade, seleção randomizada ou o seu uso na medicina popular (GURIB-FAKIM, 2006; POPOVIĆ et al., 2016).

3.1.1 *Syzygium malaccense*

A família *Myrtaceae* é considerada uma das mais importantes famílias de Angiospermas no Brasil (LANDRUM; KAWASAKI, 1997; MORAIS et al., 2014) e retrata uma das famílias com maior representatividade nas diferentes formações vegetais. Em solo brasileiro, é representada por 23 gêneros e 1025 espécies, e dentre as espécies encontradas, tem-se a *Syzygium malaccense* conhecida popularmente por jambo, jambo-rosa e jambo-vermelho (SOBRAL et al., 2015).

No Brasil adaptou-se às regiões quentes do Sudeste e nos estados do Norte e Nordeste. De origem asiática, nativa da Indonésia e Malásia o *Syzygium malaccense* pode chegar até 20 metros, esta frutífera apresenta copa densa piramidal com folhas verde escura e brilhante, tronco reto, flores com numerosos estames em forma de pompom de coloração vermelha púrpura (Figura 1) e frutos carnudos de coloração avermelhada (COSTA et al., 2006). Os frutos são consumidos na forma *in natura* ou em forma de compotas, e, além de saborosos, contém vitaminas A, B1, B12, cálcio, ferro e fósforo (LORENZI; MATOS, 2008).



Figura 1. Caule, folhas e flores de *Syzygium malaccense*
Fonte: Autoria própria

Dentre os compostos já identificados por alguns estudos nas folhas de jambo, alguns autores tem considerado o flavonoide miricitrina como marcador da planta (LU et al., 2006; TIAN et al., 2011; ARUMUGAM et al., 2014). Essa biomolécula, também é conhecida por sua capacidade de inibir a atividade das enzimas α -glicosidase e α -amilase as quais, estão diretamente relacionadas à capacidade de digestão e absorção de carboidratos e açúcares no organismo humano. Arumugam et al. (2014) relataram a eficiência do extrato etanólico das folhas de jambo quando comparado à Acarbose, um importante fármaco administrado em pessoas diabéticas, para inibição das enzimas α -glicosidase e α -amilase (DONG et al., 2012; SUN et al., 2017). Tais resultados indicam o potencial terapêutico antiglicêmico da planta.

3.1.2 *Moringa oleifera*

Dentro da família *Moringaceae*, tem-se a espécie *Moringa oleifera* (Figura 2), esta planta é nativa da região asiática que inclui os países de Bangladesh, Índia, Paquistão e Afeganistão. No Brasil, foi inserida na região nordeste como planta ornamental em meados da década de 60, desde então, tem sido propalada devido ao seu alto valor nutricional, versatilidade e importância econômica (BARRETO et al., 2009; GUPTA et al., 2017; FALOWO et al., 2018; OMOTOSO et al., 2018). Na região Sul a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – Epagri tem avaliado a adaptação da planta às condições do litoral Catarinense (EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA, 2013).

A versatilidade da árvore se dá pela importância e o consumo de todas as partes da planta. Alguns usos da moringa incluem: propriedades terapêuticas (SINGH; PRASAD, 2013; CUELLAR-NUÑEZ et al., 2018; KHOLIF et al., 2018), o alto valor nutricional nas folhas, frutos, flores e sementes (FAHEY, 2005; BUSANI et al., 2011), podendo também atuar como coagulante no tratamento de água (ABDUL HAMID et al., 2016; FEIHRMANN et al., 2017; RECK et al., 2018).



Figura 2. Caule, folhas e frutos de *Moringa oleifera*
Fonte: PROJETO VERDE (2015)

As folhas da moringa ganham notoriedade em relação ao caule, frutos e sementes. O interesse maior nas folhas deve-se a sua grande quantidade de macro e micronutrientes. As folhas são fontes de vitamina C, E, A, alcaloides, glicosídeos, compostos fenólicos, flavonoides glicosilados como astragalina e isoquercitrina, ácidos cafeoilquínicos, carotenóides como luteína, α -caroteno e β -caroteno, kaempferol, quercetina, taninos, rutina, e saponinas (FAHEY, 2005; BUSANI et al., 2011; ADEDAPO et al., 2015; FALOWO et al., 2018; OMOTOSO et al., 2018), sendo de grande importância farmacológica, apresentando atividade antioxidante, hipoglicêmica, anti-hipertensiva, anti-úlceras, analgésica e protetora dos tecidos (fígado, rins e coração) (JAYAWARDANA et al., 2015; STOHS; HARTMAN, 2015; GOPALAKRISHNAN et al., 2016; BRILHANTE et al., 2017; MERLIN, 2017). No entanto, poucos estudos confirmam as atividades biológicas desempenhadas por essas biomoléculas, promovendo a moringa como alvo de pesquisas específicas que comprovem seu potencial terapêutico.

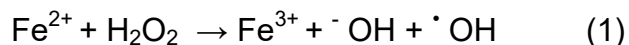
3.2 ESTRESSE OXIDATIVO

O metabolismo humano realiza diversas reações químicas com o intuito de manter as melhores condições fisiológicas para o organismo. O desequilíbrio dessas

reações podem ocasionar a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio (ERN), entre outras espécies reativas (VASCONCELOS et al., 2007; KHAN; WANG, 2018; SAMET; WAGES, 2018). As principais ERO distribuem-se em dois grupos, os radicalares: hidroxila (HO•), superóxido (O₂^{•-}), peroxila (ROO•) e alcoxila (RO•); e os não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. As ERN incluem o óxido nítrico (NO•), óxido nitroso (N₂O), ácido nitroso (HNO₂), nitritos (NO₂⁻), nitratos (NO₃⁻) e peroxinitritos (ONOO⁻) (WISEMAN et al., 1995; CADET et al., 1999; HALLIWELL, 1999; MOLPHY et al., 2015). As espécies reativas atacam diretamente lipídeos, proteínas e o DNA, podendo destruir a célula por completo fazendo com que perca sua função fisiológica.

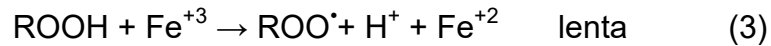
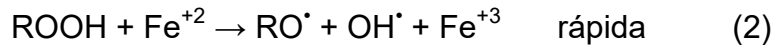
O radical superóxido é gerado por diversos processos celulares (adição de um elétron à partir do oxigênio molecular, ou redução monoelétrica do O₂), na mitocôndria e no microsomo, através de enzimas como a xantina oxidase e fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida (NADPH) (FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, 1997; VASCONCELOS et al., 2007).

Apesar de não ser um radical, o peróxido de hidrogênio, é um metabólito extremamente nocivo, pois participa da reação de Fenton em presença de metal de transição que leva a formação do radical hidroxila (Equação 1) (FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, 1997; VASCONCELOS et al., 2007).



Considerado o radical mais nocivo e reativo do sistema biológico, o radical hidroxila reage com diversos endobióticos e com metais do próprio sítio onde foi produzido. Pode causar danos sérios ao DNA, modificando as bases purínicas e pirimídicas, levando a inativação ou mutação do DNA, além de danificar e inativar proteínas, enzimas e contribuir para peroxidação lipídica (FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, 1997; CADET et al., 1999; VASCONCELOS et al., 2007).

Os radicais peroxila (equação 2) e alcoxila (equação 3), são resultado da decomposição de peróxidos orgânicos e reações de carbono radicalar com oxigênio, que iniciam uma nova cadeia de reações, podendo ser rápidas ou lentas, dependendo da valência do ferro, essas por sua vez podem agredir o conteúdo proteico e lipídico das células provocando o desequilíbrio e gerando o estresse oxidativo (CADET et al., 1999; VASCONCELOS et al., 2007).



O estresse oxidativo, refere-se às condições patológicas que o organismo é levado devido ao desequilíbrio das ERO e ERN. As biomoléculas perdem sua capacidade de transferir elétrons, tornando-se um radical livre que progride para etapas de iniciação, propagação e finalização. As reações radicalares, agredem níveis estruturais superiores de biomoléculas destruindo proteínas, ácidos graxos e ácido nucléico. Porém, sistemas antioxidantes tais como a glutathiona, superóxido dismutase, catalase e moléculas como o ascorbato e o tocoferol que realizam o combate à ação oxidante, e, desta forma, são considerados sinalizadores do estresse oxidativo no tecido humano e animal (KHAN; WANG, 2018; SAMET; WAGES, 2018).

Os principais EROs citadas como causadoras de danos celulares são: radical superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e os radicais peroxila e alcoxila.

O estresse oxidativo participa dos processos de envelhecimento, transformação e morte celular, levando a enfermidades, doenças crônicas e autoimunes. Entretanto as ERO e ERN são importantes para alguns processos biológicos, como a regulação da pressão arterial, sinalização celular, apoptose, fagocitose de agentes patogênicos e no amadurecimento de frutos, nesses casos alguns biomarcadores podem fazer a distinção das reações no organismo (HALLIWELL, 1999; ZWART, DE et al., 1999; VASCONCELOS et al., 2007).

Os biomarcadores são sinalizadores de processos biológicos de anormalidade, normalidade ou de resposta farmacológica. Um biomarcador ideal, deve ter alta sensibilidade e especificidade no fluido biológico, facilitando a investigação e identificação de doenças no organismo (ZWART, DE et al., 1999; BAKER, 2005; LABAER, 2005; VALKO et al., 2007). O desenvolvimento de pesquisas permite o conhecimento de vários biomarcadores para diferentes tipos de doenças, como exemplo tem-se os biomarcadores para o diabetes: malondialdeído, razão entre glutathiona reduzida e oxidada, proteínas S-glutationadas, 3-nitro-tirosina e produtos finais da glicação avançada (VALKO et al., 2007). Atualmente os biomarcadores do estresse oxidativo que monitoram a progressão do diabetes e de

suas complicações, estão bem estabelecidos na literatura, permitindo a adequada intervenção terapêutica (MARITIM et al., 2003).

3.3 ANTIOXIDANTES

A manutenção da saúde, o equilíbrio entre as defesas antioxidantes (enzimas e moléculas não enzimáticas) e a produção de radicais livres é uma condição essencial para o funcionamento normal do organismo. Os antioxidantes, são compostos que podem inibir complicações relacionadas ao estresse oxidativo/nitrosativo, evitam o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia, podem ser de natureza endógena ou exógena (HALLIWELL, 1999; VALKO et al., 2007; MARTINS et al., 2016).

O sistema antioxidante de natureza endógena compreende as seguintes enzimas: glutathione-peroxidase, catalase, metionina-redutase e superóxido dismutase, as quais atuam em conjunto, convertendo os radicais livres em elementos neutros. Além de combater os radicais livres, as enzimas antioxidantes podem regenerar outros antioxidantes endógenos e reparar danos celulares. Para garantir uma boa atuação dos antioxidantes endógenos, é essencial manter uma dieta equilibrada, que forneça vitaminas e minerais que podem atuar como nutracêuticos ao sistema antioxidante endógeno (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Os antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria são exógenos, sendo assim, indispensável uma dieta apropriada para absorção destes compostos. Os principais podem ser divididos em: vitaminas lipossolúveis (vitamina A, vitamina E, vitamina D e β -caroteno), vitaminas hidrossolúveis (vitamina C e vitaminas do complexo B), oligoelementos (zinco, cobre, selênio, magnésio etc.), e os compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides (BIANCHI; ANTUNES, 1999; DEWICK, 2002; PAIXÃO; STAMFORD, 2004; MOURÃO et al., 2005).

Os antioxidantes mais abundantes na natureza pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, as quais possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (DEWICK, 2002; BOROSKI et al., 2015). Sua atividade antioxidante é intrinsecamente correlacionada com a sua estrutura química e suas propriedades redutoras, pois são estas características que conferem

fundamental importância na neutralização ou sequestro de radicais livres ou como quelantes de metais de transição, agindo desde a etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (DEWICK, 2002; SOUSA et al., 2007; FALOWO et al., 2018). Estes se dividem em duas subclasses, ácidos fenólicos e flavonoides.

3.3.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, à quantidade de compostos fenólicos já identificados nas plantas ultrapassam 8000 substâncias (SILVA et al., 2010; CONG-CONG et al., 2017). Uma definição baseada no ponto de vista químico abrangem outras moléculas além dos compostos fenólicos, por isso, a melhor definição é feita quando relaciona sua origem biossintética (ROBARDS et al., 1999). A via do chiquimato e a via do acetato/malonato compreendem os produtos do metabolismo secundário das plantas que possuem anéis fenólicos e são desprovidos de qualquer grupo funcional nitrogenado, conhecidos como polifenóis (QUIDEAU et al., 2011). A produção dos polifenóis é controlada por sinais reguladores envolvidos no metabolismo da planta, que pode ter seu conteúdo influenciado por diversos fatores, como sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica e indução por estímulos mecânicos, ou ataques de patógenos (DEWICK, 2002; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; QUIDEAU et al., 2011). Embora as moléculas apresentem características estruturais similares, os compostos fenólicos possuem uma grande variedade de estruturas e funções.

Deste modo, são comumente classificados em grandes grupos, de acordo com o número de átomos de carbono que possuem e com a estrutura do esqueleto fenólico básico, compreendendo: fenóis simples e benzoquinonas (C_6), ácidos benzoicos (C_6-C_1), ácidos fenilacéticos (C_6-C_2), ácidos cinâmicos, fenilpropenos, cumarinas e cromonas (C_6-C_3), naftoquinonas (C_6-C_4), xantonas ($C_6-C_1-C_6$), estilbenos e antraquinonas ($C_6-C_2-C_6$), flavonoides e chalconas ($C_6-C_3-C_6$) e biflavonoides ($(C_6-C_3-C_6)_2$) (ROBARDS et al., 1999).

O grupo dos flavonoides é um dos que tem maior relevância, mais de 5000 compostos já foram identificados (LAMPILA et al., 2009; CONG-CONG et al., 2017). São compostos largamente distribuídos no reino vegetal, encontram-se presentes

em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídios ou agliconas. Os flavonoides apresentam baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados na configuração (C₆-C₃-C₆), sua estrutura é constituída por dois anéis aromáticos (A e B), unidos por um anel heterocíclico, que caracteriza o anel flavanoídico (C) (ANGELO; JORGE, 2007; LAMPILA et al., 2009) (Figura 3).

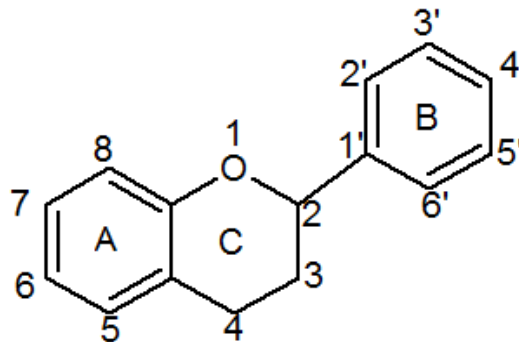


Figura 3 - Estrutura básica dos flavonoides.
Fonte: Adaptado ANGELO; JORGE (2007).

Esta estrutura básica permite uma infinidade de substituições e variações no anel C, que de acordo com suas características estruturais podem ser classificados em: flavonóis, flavanonas, isoflavanonas, flavanóis e antocianidinas. Os anéis A e B também podem sofrer substituições, como: oxigenação, acilação, sulfação, alquilação, metilação e hidroxilação, sendo assim a formação de compostos de cada classe (HOLLMAN; KATAN, 1999; DEWICK, 2002; LAMPILA et al., 2009).

A principal forma dos flavonoides são os glicosilados, essa característica aumenta a estabilidade e solubilidade destes compostos em água, modulando sua atividade biológica (CHEN et al., 2018; YANG et al., 2018; SATI et al., 2019).

De acordo com Han et al. (2019) a astragalina aumenta a atividade antioxidante da SOD, CAT, e GSH-Px e diminui os teores de MDA e NO. Além de ter ajudado positivamente em outras atividades realizadas em seu estudo, sugerindo assim a sua eficiência protetora em camundongos diabéticos.

Valentová et al. (2014) descreve positivamente uma gama de efeitos biológicos tanto *in vivo* como *in vitro* em relação à isoquercetina, as atividades compreendem a ação anticarcinogênica, quimioprotetora contra o estresse oxidativo, distúrbios cardiovasculares, diabetes e reações alérgicas. Também houve o relato de que a alta solubilidade da isoquercetina em água torna este flavonoide glicosilado mais biodisponível do que a aglicona quercetina.

Gebre-Mariam et al. (2005) relata em seu estudo com extrato metanólico de folhas de *Melilotus elegans* resultados satisfatórios para o tratamento de doenças de pele, a formulação do creme usado no tratamento havia uma quantidade do extrato da *M. elegans* que continha o flavanoide kaempferol-3-glicosídeo, ao qual foi atribuída a atividade anti-inflamatória. O kaempferol-3-glicosídeo também apresentou fortes efeitos hepatoprotectores, em um modelo hepático produzido por CCl₄, segundo o autor este efeito foi mediado pela redução do estresse oxidativo e morte celular apoptótica (WANG et al., 2014).

Os ácidos fenólicos também são conhecidos pela sua capacidade antioxidante, porém, quando comparado aos flavonoides sua atividade é menor. Essa característica é decorrente da menor quantidade de hidroxilas presente em sua estrutura. Os monofenóis desempenham importantes funções para as plantas e, são encontrados com frequência em alimentos, bebidas naturais e em ervas medicinais (ROBARDS et al., 1999; QUIDEAU et al., 2011).

Dentre os ácidos fenólicos conhecidos o ácido clorogênico melhorou a sensibilidade à insulina em células de hepatocarcinoma humano (HepG2) cultivadas, deste modo, esse ácido fenólico pode ser explorado como uma potencial fonte natural para retardar disfunções hepáticas e aliviar a resistência a insulina (CHEN et al., 2019).

3.4 DIABETES E SUAS IMPLICAÇÕES À SAÚDE

A disfunção metabólica caracterizada por hiperglicemia crônica é conhecida como diabetes mellitus (DM), em que ocorre a deficiência absoluta ou relativa na secreção ou ação da insulina (ALBERTI; ZIMMET, 1998; SKLIROS et al., 2016). A insulina é responsável pela regulação da glicemia plasmática e o seu aumento, efeito comum do diabetes descontrolado, ao longo do tempo, leva a sérios danos a diversos sistemas biológicos (LIU et al., 2013; WHO, 2013).

A má condição do estilo de vida da população mundial, associado ao sedentarismo, alimentação inadequada e obesidade, triplicou o aumento dos níveis glicêmicos nas últimas três décadas. Em 2017 a estimativa foi de 424,9 milhões de pessoas entre 20 a 79 anos com DM, para 2045, essa projeção vai a 628,6 milhões de pessoas com a doença (International Diabetes Federation, 2017). Na América do

Sul a quantidade de portadores do DM é crescente, e o Brasil está na 4ª posição entre os países com maior prevalência da enfermidade, sendo 12,5 milhões de pessoas portadoras, contudo, existem pessoas que apresentam a patologia, porém ainda não foram diagnosticadas. O gasto com cuidado e profilaxia no ano de 2017, encerra em 24 bilhões de dólares para o Brasil (International Diabetes Federation, 2017) e diante destes números, as consequências humanas, sociais e econômicas do diabetes são incontáveis.

3.4.1 Diagnóstico e tipos do diabetes mellitus

A doença pode ser diagnosticada através da hiperglicemia e anamnese clínica. O protocolo de investigação laboratorial inclui a determinação da glicose plasmática com o paciente em jejum de 8-12 horas.

A investigação de DM pode ser realizada por testes de glicemia em jejum e de tolerância oral à glicose (TOTG) com 75 g de glicose via oral. Se a dosagem da glicemia jejum estiver abaixo de 100 mg/dl e o TOTG 139 mg/dl, considera-se o paciente com glicemia normal. Pacientes com glicemia de jejum superior a 126 mg/dl e TOTG entre 139 e 199 mg/dl, são considerados com baixa tolerância à glicose. Ao apresentar a glicemia jejum superior a 126 mg/dl e TOTG superior a 200 mg/dl, são considerados diabéticos (ASSOCIATION, 2015). Embora essa investigação possa indicar se o indivíduo possui ou não a doença, não é o suficiente para classificar o tipo de diabetes que a pessoa apresenta.

As formas da doença são o diabetes tipo 1 e o diabetes tipo 2. No diabetes tipo 1, a doença envolve alguns fatores que levam a destruição das células produtoras de insulina (células beta do pâncreas), comumente através dos fatores ambientais, imunológico, ou de forma idiopática, sendo esta menos comum. Como consequência da perda dessas células observa-se a deficiência absoluta da secreção de insulina. A maior incidência do diabetes tipo 1 ocorre dos 10 aos 14 anos de idade, no entanto indivíduos de qualquer idade podem desenvolver este tipo de diabetes (PRADHAN et al., 2001; GROSS et al., 2002; RUSSO et al., 2018).

O diabetes do tipo 2 é mais comum, sua prevalência é cada vez maior em adultos, jovens e crianças, sendo o responsável por cerca de 90% dos casos. É caracterizado por distúrbios na ação e secreção da insulina pelas células β

pancreáticas. A etiologia específica deste tipo de diabetes ainda não está claramente estabelecida, existe uma predisposição genética, mas não se pode inferir muito sobre este padrão. É comumente desenvolvido em pessoas sedentárias, obesas e de idade superior a 40 anos, sendo que a frequência do diagnóstico nessas pessoas são maiores, assim como a probabilidade delas serem obesas (PRADHAN et al., 2001; GROSS et al., 2002; ASSOCIATION, 2015)

3.4.2 Fisiopatologia

Ainda que o DM seja associado à disfunção do pâncreas, vários outros órgãos são afetados pela patologia, tais como o sistema neurológico, renal, oftalmológico e cardiovascular (SDB, 2014).

O pâncreas é uma glândula mista, com função exócrina e endócrina, localizado na cavidade abdominal, atrás do estômago entre o duodeno e o baço. Possui duas funções distintas: a função endócrina, responsável pela produção de insulina e a função exócrina, responsável pela secreção de enzimas envolvidas na digestão e absorção de alimentos (International Diabetes Federation, 2017). O DM é uma síndrome de etiologia múltipla, que acomete a função endócrina do pâncreas, especificamente as células β . Portanto, trata-se de uma doença metabólica que pode alterar o metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos (International Diabetes Federation, 2017).

O desequilíbrio do organismo promove alterações em diversas estruturas celulares, e está associado ao aumento na formação de radicais livres, diminuindo a capacidade antioxidante celular. As enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT) contribuem para a eliminação dos radicais livres. A hiperglicemia também é responsável pela peroxidação das lipoproteínas de baixa densidade (MARITIM et al., 2003; SAMARGHANDIAN et al., 2013).

O tratamento mais adequado para o diabetes é o uso de insulina exógena, por injeção diária simultaneamente da reeducação alimentar e a prática de exercícios físicos, com a finalidade de eliminar os sintomas causados pelo excesso de glicose no organismo, como a poliúria, polidipsia e perda de peso em longo prazo (WU et al., 2013).

Zhao et al. (2018) avaliou o impacto de dois medicamentos fitoterápicos sob o estresse oxidativo em doença macrovascular decorrente do diabetes, os dois fitoterápicos usados foram benéficos para o tratamento do estresse oxidativo, e capazes de prevenir avanços da doença. Alguns estudos têm abordado o uso de fitoterápicos como uma tentativa de diminuir os danos causados pela hiperglicemia (PATEL et al., 2012).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para o uso de Animais da Faculdade de Pato Branco – Fadep sob o Protocolo 01/2017.

4.1 IDENTIFICAÇÃO, COLETA E PREPARO DE MATERIAL

As amostras das folhas de *Syzygium malaccense* foram coletadas na cidade de Jacupiranga – São Paulo, Brasil (nas coordenadas geográficas: -24°42'12.9"S e -48°00'24.3"W) em maio de 2017 e as folhas de *M. oleifera* foram coletadas em abril de 2017, no município de Itajaí – Santa Catarina, Brasil (nas coordenadas geográficas: 26°57'16.2"S e 48°45'55.0"W). Depois de coletadas, as folhas foram secas em estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 40 ± 5 °C, trituradas em moinho Willye TE-650 (Tecnal) e armazenadas à -18 °C.

A identificação dos exemplares de *Moringa oleifera* e *Syzygium malaccense* foi realizada pela professora Dra. Giovana Faneco Pereira e a exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Pato Branco, sob os números HPB 483 e HPB 1173, respectivamente.

4.1.1 Preparo dos extratos

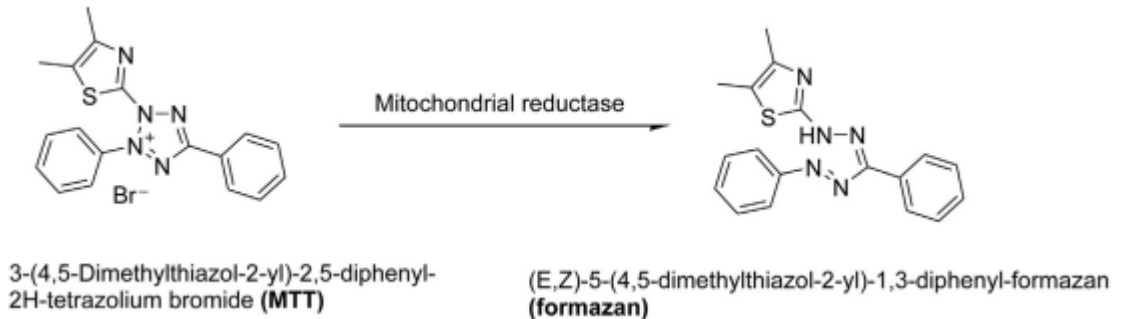
No preparo do extrato de *S. Malaccense* foi utilizada a condição ideal para extração de compostos fenólicos de acordo com Savi (2015), na proporção de 2 g de material seco em 25 mL de solvente água:etanol ($60:40$ v.v⁻¹), em banho termostático a 80 °C por 45 minutos. A retirada do solvente foi realizada em evaporador rotativo à pressão reduzida e temperatura controlada e em seguida o extrato concentrado foi liofilizado.

A condição de extração usada para as folhas de *M. oleifera* seguiu a descrição de (OLDONI et al., 2019) . Foram pesados 8 g de folhas previamente secas e adicionados 100 mL de solvente, etanol:água ($80:20$ v.v⁻¹), em temperatura

ambiente e a mistura mantida em mesa agitadora por 7 dias. Diariamente o solvente era substituído para garantir a não saturação do meio. A remoção do solvente foi realizada em evaporador rotativo à pressão reduzida e temperatura controlada e em seguida o extrato concentrado foi liofilizado.

4.1.2 Viabilidade celular (MTT)

Este ensaio baseia-se na medida do dano induzido pelo composto/extrato em estudo no metabolismo celular de glicídios usualmente através da avaliação da atividade de desidrogenases mitocondriais. A viabilidade mitocondrial, e conseqüentemente, a viabilidade celular, é quantificada pela redução do MTT (um sal de coloração amarela e solúvel em água) a formazan (sal de coloração arroxeadada e insolúvel em água) pela atividade daquelas enzimas. Dessa forma, a redução do MTT a formazan, será diretamente proporcional à atividade mitocondrial e a viabilidade celular.



Fonte:(KUETE et al., 2017)

Células mononucleares de sangue humano foram coletadas de voluntários saudáveis (Comitê de Ética nº 822.782) e separadas por gradiente de densidade (Ficoll-Histopaque®). O cultivo foi realizado em placas de 96 poços, 1×10^8 células foram plaqueadas e cultivadas com meio RPMI com 10% de soro fetal bovino (SBF) e 1% de antifúngico e antibiótico. As células foram mantidas em estufa com controle de temperatura e umidade. Após duas horas de adaptação da placa, as células foram tratadas, com glicose (ANVERSA et al., 2015) e com diferentes concentrações do extrato. Nas atividades com *M. oleifera* foram usadas concentrações de extrato de 25, 100, 250, 500 e 1000 mg/mL, para o *Syzygium malaccense* as concentrações

foram de 25, 50, 100, 250 e 500 mg/mL, por 24 horas, após foram realizados os testes.

A viabilidade celular foi determinada por ensaio de brometo de 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Resumidamente, as células foram cultivadas em placas de 96 poços com reagente de MTT 10% e 5 mg/mL de solução tampão de fosfato (SBF, pH ajustado). As desidrogenases mitocondriais metabolizam o MTT em um sal roxo de formazan que foi solubilizado pela adição de 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), e a absorbância foi medida a 560 nm (Fukui, Yamabe, & Zhu, 2010).

4.2 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.2.1 Modelo experimental animal de diabetes

Nesse estudo foram utilizados 41 ratos Wistar machos, adultos pesando entre 200 - 250 g, obtidos do Biotério da Unochapecó (Chapecó, SC, Brasil). Os animais foram mantidos no Biotério da Fadep de acordo com as normas de bem-estar animal e com água e comida *ad libitum*. Os ratos foram alojados em gaiolas coletivas sob um ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura ambiente de 23 ± 1 °C e umidade relativa do ar de 60 ± 5 %. Antes do início do experimento, os animais passaram por um período de adaptação de 20 dias. Todos os animais utilizados nesse projeto foram manipulados de acordo com as normas da Comissão de Ética no uso e bem-estar de animais em ensino e experimentação (CEUAs) da instituição de ensino superior e regularmente aprovado pelo Comitê de Ética, todo o experimento descrito foi realizado respeitando os princípios éticos de experimentação animal. Durante o período do experimento (45 dias), os animais foram alimentados e hidratados *ad libitum*. Os animais foram divididos em 6 grupos: GCS controle solução salina 7 animais, GCJ controle Jambo 6 animais, GCM controle moringa 6 animais, GCD diabetes controle 6 animais, GDJ diabetes Jambo 8 animais e GDM diabetes moringa 8 animais.

4.2.2 Indução do diabetes experimental

O diabetes experimental, induzido quimicamente, ocorre após a destruição das células beta pancreáticas. As substâncias mais usadas para a indução em ratos é a estreptozotocina (STZ) e alloxana. A estreptozotocina causa danos no ácido desoxirribonucleico (DNA), depletando a Nicotina Adenina Dinucleotídeo (NAD^+), que inibe a biossíntese e a secreção de insulina, dando início a morte celular das células beta (SZKUDELSKI, 2001; IGHODARO et al., 2018).

O diabetes experimental foi induzido pela administração intraperitoneal dose única de 55 mg/kg de STZ (MYTHILI et al., 2004). Para a indução do diabetes do tipo 1, foi administrado STZ diluída em tampão citrato de Sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, em pH 4,5. Os animais do grupo controle salina (GCS), grupo controle jambo (GCJ) e grupo controle moringa (GCM) receberam injeção intraperitoneal de volume equivalente ao seu peso somente com tampão citrato de sódio. Os ratos induzidos receberam solução de glicose 5 % pelo período de 24h. A solução de glicose foi fornecida com o objetivo de evitar hipoglicemia fatal, devido à liberação maciça de insulina que ocorre após a destruição das células pancreáticas. Decorrido 7 dias, as amostras de sangue foram coletadas da veia caudal e a glicose sanguínea foi determinada através de glucômetro portátil (ADVANTAGE, Boehringer Mannheim, MO, USA) durante o período matinal, com os animais em jejum de 12 horas. Os animais dos grupos GCD, GDJ e GDM que apresentaram glicemia de jejum superior a 300 mg/dL foram considerados diabéticos e utilizados para o experimento.

4.2.3 Tratamento

O tratamento dos animais ocorreu no período de 45 dias por meio da administração diária via oral (gavagem) do extrato de jambo para os grupos GCJ e GDJ na proporção de 400 mg kg^{-1} suspenso em solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%). Já os grupos GCM e GDM receberam o extrato de moringa, que foi administrado na dosagem de 500 mg kg^{-1} suspenso em solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%), durante os 45 dias de tratamento. Os animais do GCS e GDC receberam a solução de cloreto de sódio equivalente ao seu peso. A administração

via oral, foi realizada com agulha de gavagem, a fim de assegurar a eficiência da gavagem sem provocar danos aos animais.

4.3 ANÁLISES *EX VIVO*

Os animais foram eutanasiados no quadragésimo sexto dia por meio da exsanguinação por punção cardíaca após anestesia geral (FREITAS et al., 2017). Os tecidos (fígado, rins e cérebro total) foram pesados homogeneizados e centrifugados e o sobrenadante foi recolhido para determinações bioquímicas.

4.3.1 Ensaio da enzima catalase

A catalase é uma hemoproteína peroxissomal, que proporciona a oxidação do peróxido de hidrogênio a H_2O e O_2 . A Metodologia empregada foi descrita por Nelson e Kiesow (1972) e o método quantifica a velocidade da decomposição do peróxido de hidrogênio pela ação da enzima em comprimento de onda específico, mediante o decréscimo da densidade óptica à 240 nm.

4.3.2 Ensaio da enzima Glutathione S-transferase

A atividade da enzima Glutathione S-transferase (GST) segue a metodologia de Habig et al., (1974) usando CDNB como substrato. A mudança direta da absorbância, quando o substrato está conjugado com a glutathione, foi monitorada em modo cinético a 340nm por 2 minutos, anotando os valores das absorbâncias a cada 30 segundo, utilizando um espectrofotômetro modelo UV-1800 Shimadzu.

4.3.3 Ensaio NPSH

Dos antioxidantes não enzimáticos, tem-se os hidrofílicos, que podem ser quantificados e identificados através da reação dos grupos tióis com o DNTB. Tanto para NPSH quanto para PSH o desenvolvimento de cor e pela reação dos grupos tióis com DTNB, e conseqüentemente, liberação de TNB, a qual pode ser medida em 412 nm (ELLMAN, 1959).

4.3.4 Marcador da peroxidação lipídica (TBARS)

Os produtos da peroxidação lipídica foram estimados pelo conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), onde será avaliado a formação do malondialdeído (MDA) após a indução da peroxidação (OHKAWA et al., 1979).

4.3.5 Quantificação proteica

As proteínas das amostras foram quantificadas pelo método de Bradford (1976). Este método baseia-se na ligação do corante (Coomassie Brilliant Blue /G-250) com moléculas de proteínas da amostra, formando um complexo de cor azul. A concentração de proteína nas amostras foi determinada com base em curva de calibração obtida de concentrações conhecidas de BSA (soro albumina bovina), e em leitura espectrofotométrica a 595nm.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

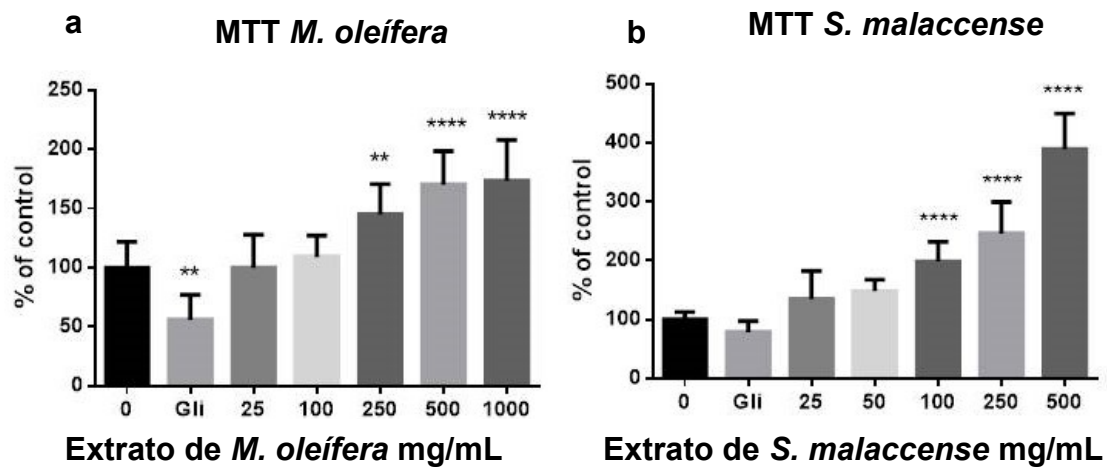
As análises foram realizadas em triplicata, e seus resultados foram expressos como média \pm desvio padrão, a um nível de confiança de 95%, e realizada a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, usando o *software* Statistica 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TESTE DE VIABILIDADE CELULAR (MTT)

O teste de viabilidade celular foi realizado com o intuito de qualificar células metabolicamente ativas dentro da cultura celular. As células mononucleares de sangue humano incluem linfócitos, monócitos e macrófagos e são uma parte essencial do sistema imunológico, sendo assim, uma maneira de avaliar a toxicidade das concentrações dos extratos administrados nos animais RODRIGUEZ et al., (2019). Figura 10 a-b.

Figura 10 a-b. Teste de viabilidade celular em células mononucleares de sangue humano. Tratadas com a: extrato hidroalcoólico de *Moringa oleífera* (EM); b: extrato hidroalcoólico de *Syzygium malaccense* (EJ). (* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; **** $p \leq 0,00001$)



No teste do MTT foi possível identificar um aumento na viabilidade celular em todas as concentrações administradas para os tratamentos realizados com ambas as plantas quando comparado com o controle. No teste usando extrato de *M. oleífera*, nas concentrações 500 e 1000 mg/mL, foi verificada diferença significativa das demais concentrações e dos grupos controle. A maior concentração avaliada para a MTT a partir do extrato de *S. malaccense* (500 mg/mL), foi 4 vezes superior ao grupo controle. As concentrações de 100, 250 e 500 mg/mL diferiram estatisticamente quando comparadas as demais concentrações e aos grupos controle.

É possível sugerir que a complexa composição química e antioxidante dos extratos de *Syzygium malaccense* e *Moringa oleifera* contribuíram para a manutenção da integridade das células no teste de viabilidade celular. Deste modo, a ingestão de tais extratos pode aumentar a probabilidade de sucesso contra agentes intervencionais.

Melo et al. (2003) compararam a viabilidade de células mononucleares humanas mantidas durante 24 horas, a 20°C, em diferentes meios de estocagem, foram usados 28 tipos de frutas comumente consumidas entre os chineses para dentes avulsionados e obtiveram resultados satisfatórios para todas as concentrações testadas, com destaque positivo para as concentrações intermediárias. Os autores atribuíram esse resultado ao efeito sinérgico que pode existir entre os flavonoides existente na própolis, para os autores a baixa concentração contribui para maior interação entre os compostos que existem na própolis.

Rodriguez et al. (2019) avaliaram a toxicidade de nanopartículas de quatro composições de ferrita com diferentes metais de ligação em células mononucleares humanas. Os autores tiveram resultados satisfatórios para as quatro combinações e concluíram que o tamanho das nanopartículas viabilizou este resultado, deste modo, foi possível atribuir uma melhora ao sistema antioxidante do organismo e diminuição do estresse oxidativo.

O resultado positivo do teste de viabilidade celular, possibilitou maior confiança nas concentrações dos extratos administrados neste estudo, deste modo podemos prosseguir para o experimento *in vivo*.

5.2 PESO CORPORAL E ÍNDICE GLICÊMICO

Neste estudo, verificou-se o efeito antioxidante dos extratos de *M. oleifera* e *S. malaccense* em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. Decorrido o período do tratamento (45 dias), tempo necessário para o surgimento das complicações decorrentes do Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) não controlado, houve uma diminuição significativa na glicemia jejum de 15,8% e 30,7% dos animais diabéticos que receberam o tratamento com o extrato *S. malaccense* e *M. oleifera* respectivamente, tabela 1. Os animais pertencentes aos grupos controle mantiveram

seus índices glicêmicos dentro do padrão de normalidade (International Diabetes Federation, 2017), enquanto os animais do grupo controle jambo (GCJ) apresentaram uma diminuição de 2,6% da glicemia; os animais controle salina (GCS) tiveram o índice glicêmico aumentado em 6,8% e os pertencentes ao grupo controle moringa (GCM) mantiveram os valores iniciais.

A glicemia depende da ingestão de carboidratos, gliconeogênese e glicogenólise e, o fígado e os rins são órgãos fundamentais para a homeostase da glicemia, sendo o tecido hepático, em condições normais, o principal órgão a realizar a gliconeogênese. Quando não há necessidade de elevar os níveis glicêmicos, o tecido hepático juntamente com o tecido muscular esquelético captam a glicose e a armazenam como glicogênio ou a transformam em gordura (MAHESHWARI; THULUVATH, 2011).

Tabela 1. Peso corporal e concentração da glicose nos grupos estudados.

Variáveis	GRUPOS					
	GCS	GCJ	GCM	GDC	GDJ	GDM
Peso inicial (g)	304 ± 32,1 ^b	379 ± 23,9 ^a	371 ± 21,5 ^a	248 ± 25,3 ^c	245 ± 25,2 ^c	238 ± 13,7 ^c
Peso final (g)	373 ± 29,8 ^a	337 ± 19,2 ^b	390 ± 15,7 ^a	223 ± 7,6 ^d	240 ± 33,6 ^c	245 ± 14,2 ^c
Glicose inicial (mg/dL)	73 ± 8 ^b	76 ± 5 ^b	81 ± 9 ^b	544 ± 40 ^a	556 ± 66 ^a	573 ± 35 ^a
Glicose final (mg/dL)	78 ± 4 ^c	74 ± 4 ^c	81 ± 7 ^c	502 ± 59 ^a	468 ± 20 ^b	397 ± 30 ^b

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. Letras iguais são estatisticamente iguais e letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$). GCS: grupo controle salina; GCJ: Grupo controle jambo; GCM: Grupo controle moringa; GDC: grupo diabetes controle; GDJ: grupo diabetes jambo; GDM: grupo diabetes moringa.

Os animais do grupo diabetes jambo (GDJ) e grupo diabetes controle (GDC) apresentaram uma diminuição do peso corpóreo de 2,04% e 10,0% respectivamente. O grupo diabetes moringa (GDM) teve um aumento de peso de 2,9% em relação ao peso inicial. Vários mecanismos estão envolvidos no ganho de peso associado à terapia com insulina, visto que a insulina tem efeitos anabólicos sobre músculo (causando síntese proteica muscular) e gordura (causando lipogênese) (WOLFE, 2000).

De acordo com Westphal e Palumbo (2007) o potencial contribuinte para o ganho de peso é a redução da glicosúria, uma vez que a redução na perda da glicose pela urina acarreta na retenção dessas moléculas. Embora nesse estudo esse parâmetro não tenha sido avaliado pontualmente, visualmente, houve uma grande redução na quantidade de urina eliminada e ingestão de água pelos GDJ e

GDM em relação ao GDC. Deste modo, é possível sugerir os primeiros sinais positivos do tratamento com o Extrato hidroalcoólico de *Syzygium malaccense* e extrato hidroalcoólico de *Moringa oleífera*.

5.3 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (TBARS)

A alteração oxidativa é um importante fenômeno biológico que pode ocorrer pela formação das espécies reativas de oxigênio. Os ácidos graxos poli-insaturados da estrutura da membrana celular são alterados, resultando na formação dos peróxidos lipídicos. A grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados nas membranas das células e das organelas tornam-nas mais suscetíveis à reação de lipoperoxidação (SOUTHORN; POWIS, 1988).

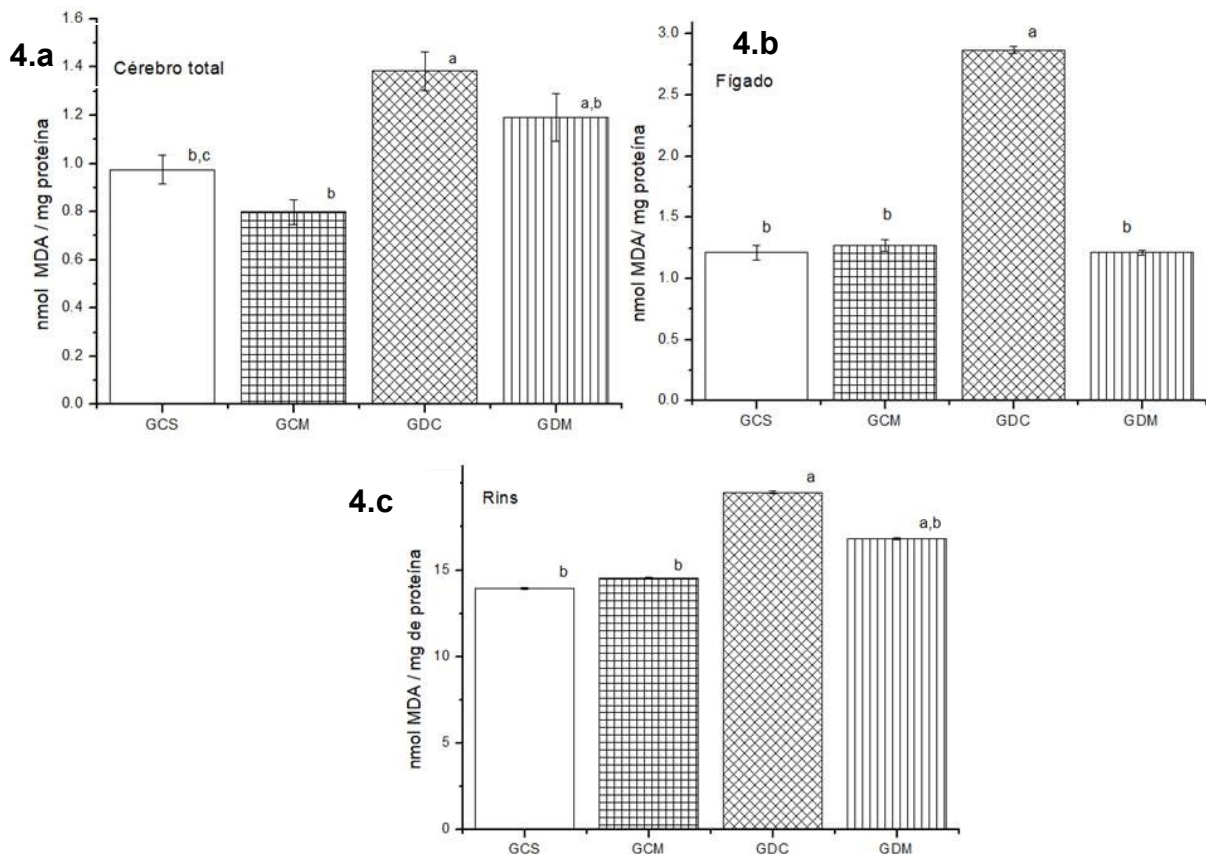
A lipoperoxidação envolve a formação e a propagação de radicais lipídicos, determinando um rearranjo das duplas ligações nos lipídios insaturados, esse rearranjo resulta em substâncias como o malondialdeído que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (SOUTHORN; POWIS, 1988; SHADYRO et al., 2019).

No presente estudo, houve um aumento nos níveis de TBARS para os tecidos hepático, encefálico e renal de todos os animais diabéticos. As alterações encontradas nas substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico ocorreram tanto no experimento em que os animais foram tratados com *M. oleífera*, quanto no experimento com o tratamento de *S. malaccense*. Essas alterações são resultantes da reação dos radicais livres com as estruturas da membrana celular. Tais alterações sugerem que o DM1 está presente aos 45 dias do experimento, denotado pelo aumento do estresse oxidativo nos grupos diabéticos (GDC) (Figura 4) (YILMAZ et al., 2004; CARREÑO et al., 2017).

Em resposta à análise das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, o nível de malondialdeído no fígado dos animais diabéticos tratados com *Moringa oleífera*, do GCS, GCM e GDM diferiram estatisticamente do GDC, deste modo, a quantidade de MDA nesses grupos foi reduzida ao nível do GCS (Figura 4 b). No cérebro total houve um pequeno decréscimo do nível de MDA do GDM em relação ao GDC, porém sem diferença significativa, entretanto o GDM manteve sua significância ao mesmo nível do GCS e GCM (Figura 4 a).

O tecido renal dos animais tratados com o extrato das folhas de *M. oleifera* apresentou decréscimo no nível de MDA (GDM), entretanto, a resposta não foi tão positiva quando comparada às respostas obtidas para o tecido encefálico e hepático. O GCM diferiu a 99,5% de confiança do GDC, entretanto, permaneceu ao mesmo nível de significância que GDM, e, este, não diferiu significativamente do GDC (Figura 4 c).

Figura 4a-c – Quantificação da peroxidação lipídica (TBARS) em concentração de MDA = (malondialdeído / mg de proteína) nos grupos: GCS (grupo controle salina 500 mg de salina / kg de peso corporal), GCM (grupo controle moringa 500 mg de extrato de moringa/kg de peso corporal), GDC (500 mg de salina / kg de peso corporal) e GDM 500 mg de extrato de moringa/kg de peso corporal, nos tecidos de fígado, rim e cérebro total. Barras representam médias \pm desvio padrão. Letras iguais são estatisticamente iguais e letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$).

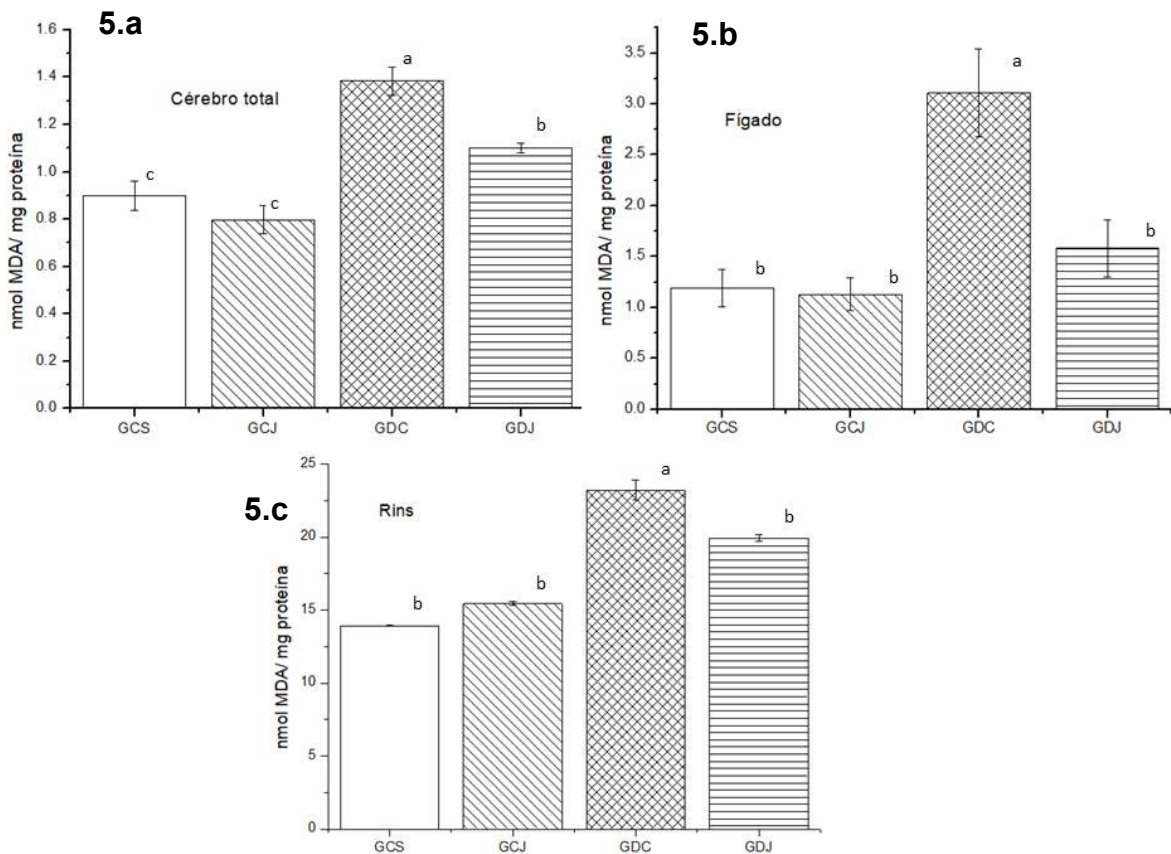


O tratamento com o extrato das folhas de *Syzygium malaccense*, em geral, resultou na diminuição dos níveis de TBARS nos tecidos encefálico, hepático e renal dos animais diabéticos (Figura 5 a-c). No cérebro total, o GDJ reduziu a quantidade de MDA, diferindo significativamente do GDC, entretanto, não chegou ao nível dos

grupos GCS e GCJ (Figura 5 a). No tecido hepático, os animais diabéticos tratados com jambo reduziram o nível de TBARS ao mesmo nível do controle salina. O GCJ GDJ e GCS diferiram estatisticamente do GDC a um nível de 99,5% de confiança, de acordo com o teste de *Tukey* (Figura 5 b).

A resposta do tecido renal também foi positiva em relação às substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Embora a quantificação de malondialdeído esteja ligeiramente aumentada quando comparada aos tecidos hepático e encefálico, houve uma redução do TBARS em nível do controle. Os grupos GDJ, GCJ e GCS diferiram estatisticamente do GDC (Figura 5 c).

Figura 5a-c – Quantificação da peroxidação lipídica (TBARS) em concentração de MDA = (malondialdeído/mg de proteína) nos grupos: GCS (grupo controle salina 400 mg de salina / kg de peso corporal), GCJ (grupo controle jambo 400 mg de extrato de jambo/kg de peso corporal), GDC (400 mg de salina / kg de peso corporal) e GDJ 400 mg de extrato de jambo / kg de peso corporal, nos tecidos renal, hepático e encefálico. Barras representam médias \pm desvio padrão. Letras iguais são estatisticamente iguais e letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$).



Os resultados obtidos neste estudo indicam uma diminuição significativa da peroxidação lipídica no cérebro total, fígado e rins de ratos diabéticos tratados com os extratos de *S. malaccense* e *M. oleifera*, este mesmo efeito ocorreu com os animais do grupo controle tratados com a planta *per se*. Deste modo, é possível sugerir que os extratos hidroalcoólicos de ambas as plantas possuem efeito antioxidante nesses tecidos, justificado pela diminuição da peroxidação lipídica quando submetidos ao modelo experimental de diabetes.

Em estudo simultâneo realizado pelo grupo de pesquisa com as folhas de *M. oleifera* e nas mesmas condições de extração, foi possível identificar um total de 23 compostos pela técnica de UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS, na sua maioria flavonoides glicosilados derivados da quercetina e canferol, e isolar, a partir de um estudo bioguiado, 3 compostos com elevado potencial antioxidante. Dentre os compostos isolados, foi identificado o ácido clorogênico (OLDONI et al., 2019).

Estudos sugerem que o ácido clorogênico possui efeito hipoglicemiante, Stefanello et al. (2016) sugerem, que o ácido clorogênico atua no sistema purinérgico, os autores afirmam que as alterações causadas pela hiperglicemia proveniente do diabetes induzido pela estreptozotocina, desencadeia alterações moleculares mais proeminentes no sangue do que no sistema nervoso central, entretanto, o tratamento com ácido clorogênico, pode modular a hidrólise dos nucleotídeos e nucleosídeos da adenina, contribuindo com a proteção contra os efeitos do diabetes.

Para Ahangarpour et al. (2019) a estrutura do ácido clorogênico viabiliza sua atividade semelhante à metformina na potencialização da ação insulínica. Um corolário dessa hipótese, é que a administração do ácido clorogênico concomitante com as refeições, pode diminuir a glicemia pós-prandial, desta maneira, promove a produção de GLP-1 reduzindo o risco do desenvolvimento do diabetes (MCCARTY, 2005; MENG et al., 2013).

Kushwaha et al. (2014), ao avaliar o efeito antioxidante a nível sérico da suplementação feita com folhas de *M. oleifera* sobre marcadores do estresse oxidativo em mulheres na pós-menopausa com idade entre 45 e 60 anos, afirmaram que as folhas de *M. oleifera* diminuíram a quantidade de malondialdeído em 16,3%. Deste modo, os compostos bioativos presentes na planta aumentam o nível

antioxidante do organismo, diminuindo o marcador do estresse oxidativo, ou seja, o malondialdeído.

Han et al. (2019) avaliaram o efeito da astragalina em camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina com disfunção espermatogênica. Os autores afirmaram em seu estudo que a astragalina exerce efeito protetor direto no testículo lesionado, inibindo o estresse oxidativo e regulando a inflamação dos animais. A astragalina pode contribuir com a homeostase da glicose, por meio do influxo de cálcio nos canais de K^+ ATP, L-VDCC, mobilizando o cálcio das reservas intracelulares e ativando as proteínas PKC e PKA quinases, levando a secreção da insulina (REY et al., 2019).

As folhas de *M. oleifera* usada para este estudo, detém grande quantidade de cálcio e quantidades relevantes da biomolécula astragalina, dentre outros compostos de origem semelhante a astragalina, sendo assim, estudos a respeito da biodisponibilidade e dos biomarcadores, são necessários para inferir a atividade de homeostase glicêmica pela mesma via elucidada por Rey e colaboradores.

Ainda existem poucos estudos disponíveis na literatura com as folhas de *Syzygium malaccense*, e se tratando da espécie cultivada em solo brasileiro, os estudos são mais escassos. Arumugam et al. (2014) identificaram uma elevada atividade antioxidante *in vitro* do extrato hidroalcoólico das folhas de *S. malaccense*, e atribuíram a atividade à presença do flavonoide glicosilado miricitrina. Nesse mesmo estudo, os autores identificaram uma grande diminuição da enzima α -glicosidade, deste modo, os autores, classificaram o extrato etanólico das folhas de *S. malaccense* como um potencial antiglicêmico.

Uma dieta com grande variedade nutricional viabiliza a ingestão de grande quantidade e diversidade de compostos bioativos. O uso dos compostos bioativos como ação terapêutica, em especial os compostos fenólicos, é promissor e inovador, pois sua forma estrutural viabiliza a ação antioxidante, tornando-os estáveis em fluidos biológicos, além de serem capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e não provocar uma resposta imune (SEQUEIRA; POPPITT, 2017).

O desequilíbrio entre a geração das espécies que reagem ao oxigênio/nitrogênio e a capacidade de defesa, tanto exógena quanto endógena é resultado do estresse oxidativo em que o organismo está submetido. O sistema antioxidante enzimático, um dos componentes do sistema de defesa, será avaliado a

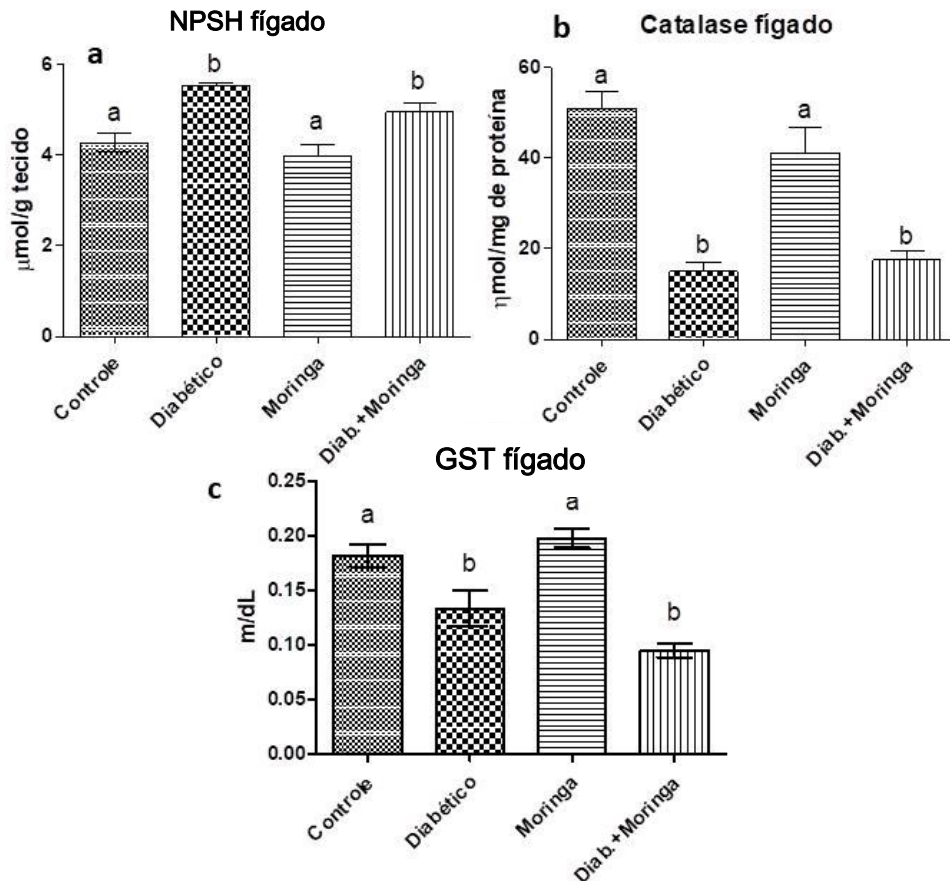
seguir em relação as suas respostas a cerca da terapia antioxidante usada no modelo experimental de diabetes.

5.4 ENZIMAS ANTIOXIDANTES DO TECIDO HEPÁTICO E RENAL

O tiol não proteico mais abundante nas células dos mamíferos, é o tripeptídeo GSH (*γ -L-glutamil-L-cisteinil-glicina*), que atua direta ou indiretamente em muitos processos biológicos importantes, incluindo o metabolismo e proteção celular (SEN, 1997; CHTUBEK et al., 2003). A metodologia usada neste estudo para dosagem do grupamento tiol não proteico (NPSH) permite a identificação e quantificação do grupamento SH, entretanto não é possível classificá-lo se advém da enzima GSH ou de outras moléculas e organelas presente no organismo.

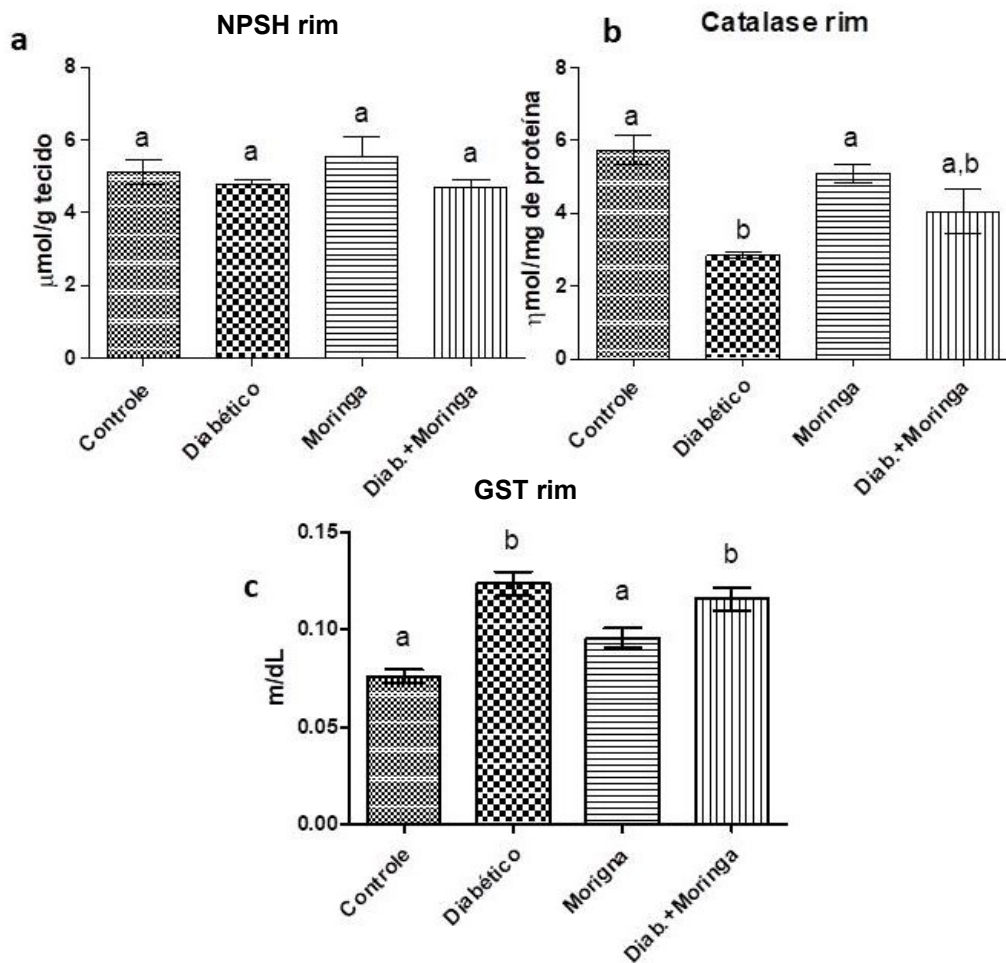
Os efeitos do extrato de *Moringa oleifera* no tecido hepático do modelo experimental de diabetes (Figura 6) mostrou um aumento significativo, a 99,5% de confiança, na quantificação do NPSH dos animais diabéticos e diabéticos tratados com a planta. A glutathiona é a principal enzima antioxidante e abundante no fígado e, seu aumento pode refletir na diminuição da produção de antioxidantes que trabalham na detoxificação do GSH.

Figura 6 a-c. Efeitos da *Moringa oleifera* no tecido hepático de ratos Wistar, a: tióis não proteicos NPSH; b:enzima catalase e c: enzima glutationa-S-transferase, nos grupos controle, diabético, moringa e diabético + moringa. Barras representam médias \pm DP. Os iconogramas com letras iguais são estatisticamente iguais e iconogramas com letras diferentes são estatisticamente diferentes (Anova de uma via, $p < 0,05$ $n=6$).



Em relação a enzima catalase, os animais do grupo diabético e diabetes tratado com *M. oleifera* não apresentaram atividade suficiente para restaurar a atividade enzimática em nível dos grupos controle salina e controle moringa no fígado (Figura 6 b). Já no tecido renal, os grupos diabetes e diabetes moringa, diferiram significativamente dos grupos controle e controle moringa, entretanto, o grupo diabetes moringa teve o mesmo nível de significância que os grupos controle e controle moringa (Figura 7 b).

Figura 7 a-c. Efeitos da *Moringa oleifera* no tecido renal de ratos Wistar, a: tióis não proteicos NPSH; b:enzima catalase e c: enzima glutationa-S-transferase, nos grupos controle, diabético, moringa e diabético + moringa. Barras representam médias \pm DP. Os iconogramas com letras iguais são estatisticamente iguais e iconogramas com letras diferentes são estatisticamente diferentes (Anova de uma via, $p < 0,05$ $n=6$).



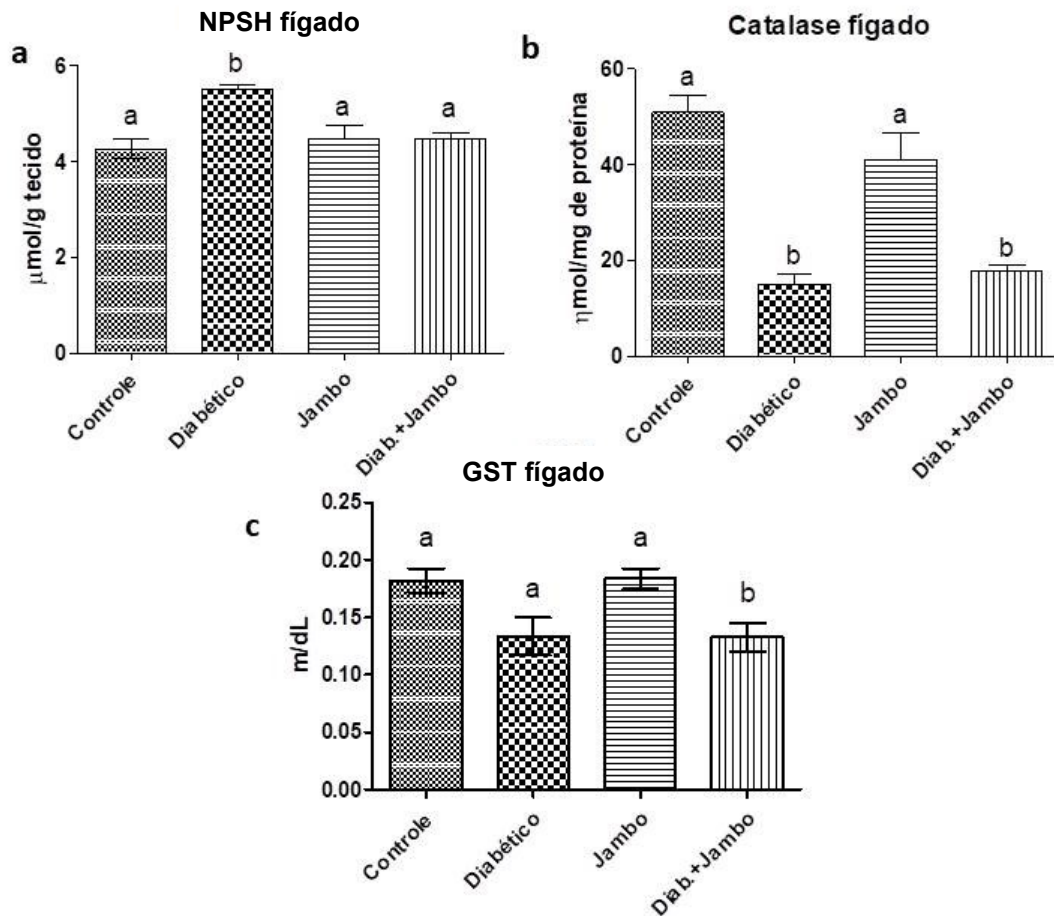
O aumento da atividade da enzima catalase concomitante com a hipoinsulinemia pode ser atribuído ao aumento da produção de H_2O_2 , deste modo, a atividade da enzima acetil Co-A também é aumentada, dando início a β -oxidação dos ácidos graxos, resultando na produção de H_2O_2 . A enzima superóxido dismutase atua no sistema convertendo os radicais superóxidos em peróxido de hidrogênio, que conseqüentemente é decomposto em oxigênio molecular e água pela ação da enzima catalase (LEE et al., 2018; YENKOYAN et al., 2018)

Em estudo realizado por Jaiswal et al. (2009) foi avaliado o efeito do extrato aquoso das folhas de *Moringa oleifera* de origem Indiana em ratos normais e diabéticos. O tratamento resultou em um aumento considerável nas atividades da catalase, superóxido dismutase e glutatioa-S-transferase, juntamente com o decréscimo significativo no nível de peroxidação lipídica, sugerindo potencial antioxidante ao extrato de Moringa. Os autores atribuíram essa atividade em decorrência do alto teor de compostos fenólicos e flavonoides, sendo assim sua maior eficiência contra o dano oxidativo.

Em estudo concomitante a este, com a mesma amostra de *S. malaccense* e condições de extração foi possível identificar um total de 32 compostos pela técnica de UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS. Foram identificadas diversas classes de compostos, com predominância dos flavonoides glicosilados. A miricitrina também foi identificada e quantificada no material estudado pelo grupo de pesquisa, sendo assim, atribuímos a significativa atividade antioxidante presente nas folhas do *S. malaccense* a essa classe de compostos (PRASNIEWSKI, 2019).

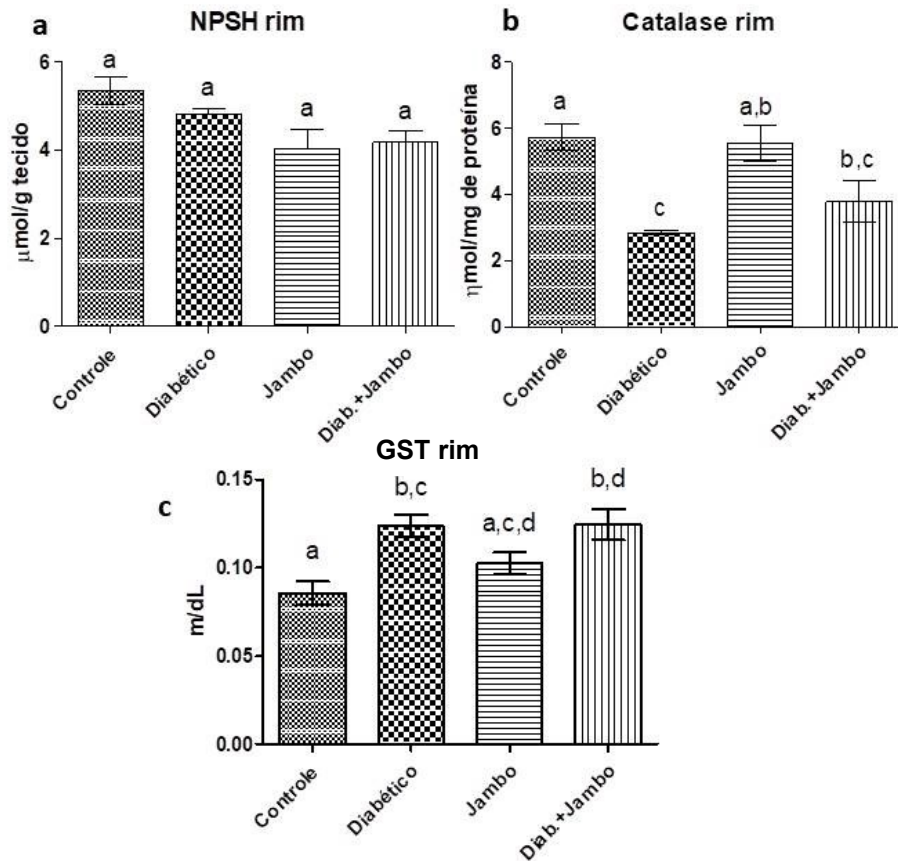
O teor de NPSH no fígado dos animais do modelo de diabetes experimental tratados com *Syzygium malaccense*, não apresentou diferença significativa nos grupos: controle, jambo e diabético jambo (Figura 8 a). Neste parâmetro, apenas o grupo controle diabetes diferiu estatisticamente dos demais grupos, a não alteração do NPSH, combinado com a resposta do GST para os animais diabéticos tratados com a planta, pode sugerir que a dose de *S. malaccense* administrada neste estudo, não foi tóxica para este tecido.

Figura 8 a-c. Efeitos do *Syzygium malaccense* no tecido hepático de ratos Wistar, a: tióis não proteicos NPSH; b:enzima catalase e c: enzima glutatona-S-transferase, nos grupos controle, diabético, jambo e diabético + jambo. Barras representam médias \pm DP. Os iconogramas com letras iguais são estatisticamente iguais e iconogramas com letras diferentes são estatisticamente diferentes (Anova de uma via, $p < 0,05$ n=6).



A dose de *S. malaccense* administrada no modelo, não foi tão satisfatória ao tecido renal como foi para o tecido hepático, visto que o teor de NPSH, e GST dos animais do grupo diabetes mais a planta não foram restaurados ao mesmo nível do grupo controle salina. Para a enzima catalase, os animais do grupo diabetes jambo conseguiram chegar ao mesmo nível do controle jambo, entretanto, não diferiu estatisticamente do grupo diabetes controle.

Figura 9 a-c. Efeitos do *Syzygium malaccense* no tecido renal de ratos Wistar, a: tióis não proteicos NPSH; b:enzima catalase e c: enzima glutatona-S-transferase, nos grupos controle, diabético, jambo e diabético jambo. Barras representam médias \pm DP. Os iconogramas com letras iguais são estatisticamente iguais e iconogramas com letras diferentes são estatisticamente diferentes (Anova de uma via, $p < 0,05$ $n=6$).



Neste estudo foi observada a atividade reduzida da enzima catalase nos grupos diabéticos tratados com ambas as plantas. A atividade diminuída pode ser atribuída ao aumento da produção de espécies reativas. A catalase é uma hemoproteína que decompõe o peróxido de hidrogênio e protege os tecidos de radicais hidroxilas reativos (REKHA et al., 2008). A diminuição da atividade desta enzima pode resultar em vários efeitos deletérios, sendo estes diminuídos por compostos com propriedades antioxidantes, contribuindo assim para o alívio parcial ou total do dano.

A eliminação dos radicais $O_2^{\cdot-}$ e OH^{\cdot} , provavelmente é uma das mais eficazes defesas contra as doenças para o corpo humano (LIN et al., 1995). A ação das

enzimas com atividade antioxidante pode ser influenciada pelos compostos bioativos presentes na planta. A resposta positiva para o organismo trouxe muitos benefícios aos animais melhorando sua condição de saúde, uma vez que a hiperglicemia aumenta o estresse oxidativo por meio da grande produção de espécies reativas de oxigênio. Os efeitos deletérios do ânion superóxido e do radical hidroxila, provenientes do desequilíbrio homeostático, são neutralizados por enzimas antioxidantes como SOD, GST, CAT e GSH (MARZOUK et al., 2013).

Rekha et al. (2008) estudaram o efeito do *Syzygium cumini* em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina e observaram que o extrato da planta aumentou a atividade das enzimas antioxidantes. Os autores atribuíram a alta atividade das enzimas antioxidantes como o principal fator para a eliminação dos radicais livres provenientes da patologia.

6 CONCLUSÃO

O teste de viabilidade celular comprovou que a dose de 500 mg/kg de extrato de *M. oleifera* e de 400 mg/kg de extrato de *S. malaccense* manteve a integridade celular.

As quantidades de extrato seco de ambas as plantas administradas no tratamento dos animais no modelo experimental de diabetes, foi capaz de reduzir a glicose nos animais diabéticos, mas não atingiu os níveis normais da glicemia. Nos animais dos grupos controle planta, para ambos os tratamentos foram mantidos os níveis glicêmicos normais.

A administração dos extratos de *S. malaccense* e *M. oleifera* no modelo experimental de diabetes reduziu a peroxidação lipídica no fígado, rins e cérebro dos animais tratados com as plantas. Em relação ao tratamento com *S. malaccense*, as respostas dos tecidos hepático e renal, de acordo com as enzimas antioxidantes avaliadas, demonstrou ser positiva para este modelo experimental, tanto para os animais diabéticos quanto para o grupo controle tratado com a planta. Deste modo, podemos sugerir que o *S. malaccense* não foi tóxico para os tecidos avaliados.

A resposta das atividades catalase, GST e NPSH, para os animais tratados com o extrato hidroalcolico de *M. oleifera* no modelo experimental de diabetes em relação ao tecido hepático, sugere que não foi possível restaurar as atividades ao nível normal, comparando-se com os grupos controles. Entretanto, os animais saudáveis que tiveram a suplementação com o extrato hidroalcolico de *M. oleifera* tiveram um efeito positivo, demonstrado pela manutenção das enzimas antioxidantes quando comparado ao grupo controle salina. É possível sugerir que a planta não possui efeito protetivo para o fígado contra o estresse oxidativo na dosagem de 500 mg/kg, a qual não foi suficiente para restaurar as atividades das enzimas antioxidantes.

Em relação ao tecido renal, as respostas foram positivas tanto para o grupo de animais diabéticos tratados com a planta, quanto para os animais saudáveis, pois a planta restaurou em nível normal as atividades enzimáticas dos animais diabéticos, bem como elevou as atividades enzimáticas dos animais saudáveis. Desta forma, podemos inferir que a dose administrada do extrato de *M. oleifera* não foi toxica.

Tendo em vista que a os flavonoides possuem a capacidade de modular a atividade enzimática, afetando sistemas biológicos e modificando naturalmente as respostas biológicas, é importante que continue a investigação destas atividades, uma vez que, estes compostos são indicativos de possíveis novas áreas de terapêutica.

7 REFERÊNCIAS

- ABDUL HAMID, S. H.; LANANAN, F.; KHATOON, H.; JUSOH, A.; ENDUT, A. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio-flocculation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 113, p. 310–317, 2016.
- ABORHYEM, S.; ISMAIL, H.; AGAMY, N.; TAYEL, D. Effect of *Moringa Oleifera* on Lipid Profile in Rats. , v. 46, n. 1, p. 8–14, 2016.
- ADEDAPO, A. A.; FALAYI, O. O.; OYAGBEMI, A. A. Evaluation of the analgesic, anti-inflammatory, anti-oxidant, phytochemical and toxicological properties of the methanolic leaf extract of commercially processed *Moringa oleifera* in some laboratory animals. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 26, n. 5, p. 491–499, 2015.
- AHANGARPOUR, A.; SAYAHI, MAJED; SAYAHI, MIAAD. The antidiabetic and antioxidant properties of some phenolic phytochemicals : A review study. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 13, n. 1, p. 854–857, 2019.
- ALBERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association**, v. 15, n. 7, p. 539–553, 1998.
- ALBUQUERQUE, F. H. C.; SOARES, K. DA S.; OLIVEIRA, M. A. S. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos aquosos , hidroalcoólicos e alcoólicos de espécies da família Myrtaceae frente à cepas de bactérias de interesse. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 16, p. 139–145, 2017.
- ALVES, A. R.; SILVA, M. J. P. DA. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. **Revista da Escola de Enfermagem da U S P**, v. 37, n. 4, p. 85–91, 2003.
- AMOROZO, M. C. D. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 2, p. 189–203, 2002.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ANVERSA, A. M.; ROGALSKI, F.; BARBISAN, F.; et al. The in vitro effect of guaraná (*Paullinia cupana*) extract on human peripheral blood mononuclear cells exposed to a high glucose level. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 7, n. Suppl 1, p. A227, 2015.
- ARUMUGAM, B.; MANAHARAN, T.; HENG, C. K.; KUPPUSAMY, U. R.; PALANISAMY, U. D. Antioxidant and antiglycemic potentials of a standardized extract of *Syzygium malaccense*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P1, p. 707–712, 2014.

- ARUMUGAM, G.; MANJULA, P.; PAARI, N. A review : Anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. **Journal of Acute Disease**, v. 2, n. 3, p. 196–200, 2013. Hainan Medical College. E-edition published by Elsevier (Singapore) Pte Ltd.
- ASSOCIATION, A. D. 2. Classification and diagnosis of diabetes. **Diabetes Care**, v. 38, n. January, p. S8–S16, 2015.
- BAHMANI, M.; GOLSHAHI, H.; SAKI, K.; et al. Medicinal plants and secondary metabolites for diabetes mellitus control. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. Suppl 2, p. 687–692, 2014.
- BAHMANI, M.; ZARGARAN, A.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; SAKI, K. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the Urmia , Northwest Iran. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, n. Suppl 1, p. 5358–5354, 2014.
- BAKER, M. In biomarkers we trust? **Nature Biotechnology**, v. 23, n. 3, p. 297–304, 2005.
- BARRETO, M. B.; FREITAS, J. V. B. DE; SILVEIRA, E. R.; et al. Constituintes químicos voláteis e não-voláteis de *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 4, p. 893–897, 2009.
- BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.
- BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. **Antioxidantes: princípios e métodos**. 1. ed. ed. Appris, 2015.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.
- BRILHANTE, R. S. N.; SALES, J. A.; PEREIRA, V. S.; et al. Research advances on the multiple uses of *Moringa oleifera*: A sustainable alternative for socially neglected population. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 7, p. 621–630, 2017.
- BUSANI, M.; PATRICK, J. M.; ARNOLD, H.; VOSTER, M. Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 60, p. 12925–12933, 2011.
- CADET, J.; DELATOUR, T.; DOUKI, T.; et al. Hydroxyl radicals and DNA base damage. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 424, n. 1–2, p. 9–21, 1999.
- CARREÑO, A. L.; ALDAY, E.; QUINTERO, J.; et al. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against oxidative stress. **Journal of Functional Foods**, v. 29, n. October, p. 178–184, 2017.
- CATARINA, E. D. P. A. E. E. R. D. S. Epagri estuda a *Moringa*, planta rica em

vitaminas e minerais. **Revista Agropecuária Catarinense**, v.26, n.1, p. 29–31, Mar. 2013. FLORIANÓPOLIS.

CHEN, L.; TENG, H.; CAO, H. Chlorogenic acid and caffeic acid from *Sonchus oleraceus* Linn synergistically attenuate insulin resistance and modulate glucose uptake in HepG2 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 127, n. March, p. 182–187, 2019.

CHEN, X.; LIU, Y.; CHEN, G.; et al. Angustifolinoid A , a macrocyclic flavonoid glycoside from *Elaeagnus angustifolia* flowers. **Tetrahedron Letters**, v. 59, n. 26, p. 2610–2613, 2018.

CHTUBEK, D.; GRUCKA-MAMCZAR, E.; BIRKNER, E.; et al. Activity of pancreatic antioxidative enzymes and malondialdehyde concentrations in rats with hyperglycemia caused by fluoride intoxication. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 17, n. i, p. 57–60, 2003.

CONG-CONG, X.; BING, W.; YI-QIONG, P.; JIAN-SHENG, T.; TONG, Z. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 15, n. 10, p. 721–731, 2017. China Pharmaceutical University.

COSTA, R. S.; OLIVEIRA, I. V. D. M.; MÔRO, F. V.; MARTINS, A. B. G. Aspectos morfológicos e influência do tamanho da semente na germinação do jumbo-vermelho. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 117–120, 2006.

CUELLAR-NUÑEZ, M. L.; LUZARDO-OCAMPO, I.; CAMPOS-VEGA, R.; et al. Physicochemical and nutraceutical properties of moringa (*Moringa oleifera*) leaves and their effects in an in vivo AOM/DSS-induced colorectal carcinogenesis model. **Food Research International**, v. 105, p. 159–168, 2018.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2nd ed ed. 2002.

DONG, H. Q.; LI, M.; ZHU, F.; LIU, F. L.; HUANG, J. B. Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against α -glucosidase and α -amylase linked to type 2 diabetes. **Food Chemistry**, v. 130, n. 2, p. 261–266, 2012.

ELLMAN, G. L. Tissue Sulfhydryl Groups. **Anal. Biochem.**, p. 70–77, 1959.
FAHEY, J. Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. **Trees for life Journal**, p. 1–15, 2005.

FALOWO, A. B.; MUKUMBO, F. E.; IDAMOKORO, E. M.; et al. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. **Food Research International**, v. 106, n. December 2017, p. 317–334, 2018.

FEIHRMANN, A. C.; BAPTISTA, A. T. A.; LAZARI, J. P.; et al. Evaluation of Coagulation / Flocculation Process for Water Treatment using Defatted Cake from *Moringa oleifera*. **Chemical Engineering Transaction**, v. 57, p. 1543–1548, 2017.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Medicina**, v. 43, n. 1, p. 61–68, 1997.

FRANÇA, I. S. X. DE; SOUZA, J. A. DE; BAPTISTA, R. S.; BRITTO, V. R. DE S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201–208, 2008.

FREITAS, A. P. P. DE; ANTIORIO, A. T. B.; SEABRA, D. I. EUTANÁSIA HUMANITÁRIA. **Serviço de Apoio Veterinário Especializado / SAVE**, p. 1–5, 2017.

GEBICKA, L.; KRYCH-MADEJ, J. The role of catalases in the prevention / promotion of oxidative stress. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 197, n. April, p. 110699, 2019. Elsevier.

GEBRE-MARIAM, T.; ASRES, K.; GETIE, M.; et al. In vitro availability of kaempferol glycosides from cream formulations of methanolic extract of the leaves of *Melilotus elegans*. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 60, p. 31–38, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007. GOPALAKRISHNAN, L.; DORIYA, K.; KUMAR, D. S. Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. **Food Science and Human Wellness**, v. 5, n. 2, p. 49–56, 2016. Beijing Academy of Food Sciences.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; AZEVEDO, M. J. DE. Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 1, p. 16–26, 2002.

GUPTA, S.; JAIN, R.; KACHHWAHA, S.; KOTHARI, S. L. Nutritional and medicinal applications of Moringa oleifera Lam.-Review of current status and future possibilities. **Journal of Herbal Medicine**, 2017.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1–93, 2006.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: Measurement, mechanism and the effects of nutrition. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 443, n. 1–2, p. 37–52, 1999.

HAN, X.; JIANG, Y.; LIU, N.; et al. Protective effects of Astragaloside on spermatogenesis in streptozotocin- induced diabetes in male mice by improving antioxidant activity and inhibiting inflammation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 110, n. June 2018, p. 561–570, 2019.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary Flavonoids : Intake , Health Effects and

Bioavailability. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, 1999.

IGHODARO, M. O.; ADEOSUN, A. M.; AKINLOYE, O. A. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. **Medicina**, v. 53, n. 6, p. 365–374, 2018. The Lithuanian University of Health Sciences.

JAYAWARDANA, B. C.; LIYANAGE, R.; LALANTHA, N.; IDDAMALGODA, S.; WETHTHASINGHE, P. 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. Elsevier Ltd.

KHAN, M. F.; WANG, G. Environmental agents, oxidative stress and autoimmunity. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 22–27, 2018.

KHOLIF, A. E.; GOUDA, G. A.; ANELE, U. Y.; GALYEAN, M. L. Extract of *Moringa oleifera* leaves improves feed utilization of lactating Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v. 158, n. August 2017, p. 69–75, 2018.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M. L.; MELLO, J. C. P. Fitoterápicos: Um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241–248, 2009.

KUETE, V.; KARAOSMANOGLU, O.; SIVAS, H. Anticancer Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**. p.271–297, 2017.

KUSHWAHA, S.; CHAWLA, P.; KOCHHAR, A. Effect of supplementation of drumstick (*Moringa oleifera*) and amaranth (*Amaranthus tricolor*) leaves powder on antioxidant profile and oxidative status among postmenopausal women. **Food Science and Technology**, v. 51, n. November, p. 3464–3469, 2014.

LABAER, J. So, you want to look for biomarkers (Introduction to the special biomarkers issue). **Journal of Proteome Research**, v. 4, n. 4, p. 1053–1059, 2005.
LAMPILA, P.; LIESHOUT, M. VAN; GREMMEN, B.; LÄHTEENMÄKI, L. Consumer attitudes towards enhanced flavonoid content in fruit. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 122–129, 2009.

LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The Genera of Myrtaceae in Brazil: An Illustrated Synoptic Treatment and Identification Keys. **Brittonia**, v. 49, n. 4, p. 508, 1997.

LEE, J. N.; DUTTA, R. K.; MAHARJAN, Y.; et al. Catalase inhibition induces pexophagy through ROS accumulation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 501, n. 3, p. 696–702, 2018.

LIN, J.-M.; LIN, C.-C.; CHEN, M.-F.; UJIIE, T.; TAKADA, A. Scavenging effects of *Mallotus repandus* on active oxygen species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 8741, n. 95, p. 175–181, 1995.

LIU, J.; LI, J.; LI, W. J.; WANG, C. M. The role of uncoupling proteins in diabetes mellitus. **Journal of Diabetes Research**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

LU, Z.; NIE, G.; BELTON, P. S.; TANG, H.; ZHAO, B. Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. **Neurochemistry International**, v. 48, n. 4, p. 263–274, 2006.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Quimica Nova**, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.

MAHESHWARI, A.; THULUVATH, P. J. Endocrine diseases and the liver. **Clinics in Liver Disease**, v. 15, n. 1, p. 55–67, 2011.

MANGURO, L. O. A.; LEMMEN, P. Phenolics of Moringa oleifera leaves. **Natural Product Research**, v. 21, n. 1, p. 56–68, 2007.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, J. B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 17, n. 1, p. 24–38, 2003.

MARTINS, N.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds : Facts and gaps. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, 2016.

MARZOUK, M.; SOLIMAN, A. M.; OMAR, T. Y. Hypoglycemic and antioxidative effects of fenugreek and termis seeds powder in streptozotocin-diabetic rats. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 17, p. 559–565, 2013.

MCCARTY, M. F. A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. **Medical Hypotheses**, v. 64, p. 848–853, 2005.

MELO, D. F. DE; SELL, A. M.; LOPES, C. M.; HIDALGO, M. M. Viabilidade das células mononucleares de sangue periférico humano em diferentes meios de estocagem de dentes avulsionados. **Acta Scientiarum**, v. 25, n. 1, p. 69–74, 2003.

MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J.; HU, Y. Roles of Chlorogenic Acid on Regulating Glucose and Lipids Metabolism : A Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

MERLIN, N. **Isolamento bioguiado de compostos com atividade antioxidante das folhas de Moringa oleífera**, 2017. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

MOLPHY, Z.; SLATOR, C.; CHATGILIALOGLU, C.; KELLETT, A. DNA oxidation profiles of copper phenanthrene chemical nucleases. **Frontiers in Chemistry**, v. 3, n. April, p. 1–9, 2015.

- MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. DE M. Família Myrtaceae: Análise Morfológica E Distribuição Geográfica De Uma Coleção Botânica. **Agrarian Academy**, v. 1, n. 1, p. 317–346, 2014.
- MOURÃO, D. M.; SALES, N. S.; COELHO, S. B.; PINHEIRO-SANTANA, H. M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista Nutrição**, v. 18, n. 4, p. 529–539, 2005.
- MUTHURAMAN, G.; SASIKALA, S. Removal of turbidity from drinking water using natural coagulants. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1727–1731, 2014. The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry.
- MYTHILI, M. D.; VYAS, R.; AKILA, G.; GUNASEKARAN, S. Effect of Streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. **Microscopy Research and Technique**, v. 63, n. 5, p. 274–281, 2004.
- NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C. **Anal. Biochem.**, , n. December, 1972.
- NIJHAWAN, P.; ARORA, S.; BEHL, T. Intricate Role Of Oxidative Stress In The Progression Of Obesity. **Obesity Medicine**, v. 15, p. 100–125, 2019.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.
- OLDONI, T. L. C.; MERLIN, N.; KARLING, M.; et al. Bioguided extraction of phenolic compounds and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS / MS characterization of extracts of *Moringa oleifera* leaves collected in Brazil. **Food Research International**, v. 125, n. July, p. 108647, 2019.
- OMOTOSO, G. O.; GBADAMOSI, I. T.; OLAJIDE, O. J.; et al. *Moringa oleifera* phytochemicals protect the brain against experimental nicotine-induced neurobehavioral disturbances and cerebellar degeneration. **Pathophysiology**, 2018.
- PAIXÃO, J. A. DA; STAMFORD, T. L. M. Vitaminas lipossolúveis em alimentos - uma abordagem analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 96–105, 2004.
- PATEL, D. K.; KUMAR, R.; LALOO, D.; HEMALATHA, S. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. 3, p. 239–250, 2012. Asian Pacific Tropical Medicine Press.
- POPOVIĆ, Z.; MATIĆ, R.; BOJOVIĆ, S.; STEFANOVIĆ, M.; VIDAKOVIĆ, V. Ethnobotany and herbal medicine in modern complementary and alternative medicine: An overview of publications in the field of I&C medicine 2001-2013. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 181, p. 182–192, 2016.
- PRADHAN, A. D.; MANSON, J. E.; RIFAI, N.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. C-Reactive Protein, Interleukin 6, and Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus. **Jama**, v. 286, n. 3, p. 327, 2001.

PRASNIEWSKI, A. **Isolamento de compostos bioativos das folhas de jambo (Syzygium malaccense)**, 2019. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PROJETO VERDE. Moringa. Disponível em: <<https://appverde.wordpress.com/2015/09/17/moringa-moringa-oleifera/>>. Acesso em: 15/1/2018.

QUIDEAU, S.; DEFFIEUX, D.; DOUAT-CASASSUS, C.; POUYSÉGU, L. Plant Polyphenols : Chemical Properties , Biological Activities , and Synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, p. 586–621, 2011.

RECK, I. M.; PAIXÃO, R. M.; BERGAMASCO, R.; VIEIRA, M. F.; VIEIRA, A. M. S. Removal of tartrazine from aqueous solutions using adsorbents based on activated carbon and Moringa oleifera seeds. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 85–97, 2018.

REKHA, N.; BALAJI, R.; DEECARAMAN, M. Effect of Aqueous Extract of Syzygium cumini Pulp on Antioxidant Defense System in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. **Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics**, v. 7, n. 2, p. 137–145, 2008.

REY, D.; SULIS, P. M.; FERNANDES, T. A.; et al. Astragalín augments basal calcium influx and insulin secretion in rat pancreatic islets. **Cell Calcium**, v. 80, n. February, p. 56–62, 2019.

REZENDE, H. A. DE; COCCO, M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da U S P**, v. 36, n. 3, p. 282–288, 2002.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, 1999.

RUSSO, M. P.; RATTI, M. F. G.; GIUNTA, D. H.; ELIZONDO, M. C. Pacientes hospitalizados con hiperglucemia de estrés : incidencia de diabetes y mortalidad al seguimiento. **Endocrinología Diabetes y Nutrición**, v. 65, n. 10, p. 571–576, 2018.

SEEN y SED. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.endinu.2018.07.005>>. .

SAMARGHANDIAN, S.; BORJI, A.; DELKHOSH, M. B.; SAMINI, F. Safranal Treatment Improves Hyperglcemia, Hyperlipidemia and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 16, n. 2, p. 352–362, 2013.

SAMET, J. M.; WAGES, P. A. Oxidative stress from environmental exposures. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 60–66, 2018.

SATI, P.; DHYANI, P.; BHATT, I. D.; PANDEY, A. Ginkgo biloba flavonoid glycosides in antimicrobial perspective with reference to extraction method. **Journal of Traditional Chinese Medical Sciences**, v. 9, n. 1, p. 15–23, 2019.

SAVI, A. OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE FOLHAS DE JAMBO (*Syzygium malaccense*). , p. 1–48, 2015.
 SEN, C. K. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 2863, n. 97, p. 660–672, 1997.

SEQUEIRA, I. R.; POPPITT, S. D. Unfolding Novel Mechanisms of Polyphenol Flavonoids for Better Glycaemic Control : Targeting Pancreatic Islet Amyloid Polypeptide (IAPP). **Journal Nutrients**, v. 9, p. 788, 2017.

SHADYRO, O.; SAMOVICH, S.; EDIMECHEVA, I. Free-radical and biochemical reactions involving polar part of glycerophospholipids. **Free Radical Biology and Medicine**, , n. December 2018, p. 1–10, 2019.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. DOS S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos , carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, p. 669–682, 2010.

SILVA, N. C. C. S. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**, 2010. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

SINGH, Y.; PRASAD, K. Moringa Oleifera Leaf as Functional Food Powder : Characterization and Uses. , v. 4, n. 4, p. 317–324, 2013.

SKLIROS, N. P.; VLACHOPOULOS, C.; TOUSOULIS, D. Treatment of diabetes: Crossing to the other side. **Hellenic Journal of Cardiology**, v. 57, n. 5, p. 304–310, 2016. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.hjc.2016.07.002>>. .

SOUSA, C. M. D. M.; ROCHA, H.; VIEIRA-JR, G. M.; et al. FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE CINCO PLANTAS MEDICINAIS. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351–355, 2007.

SOUTHORN, P. A.; POWIS, G. Free Radicals in Medicine. I. Chemical Nature and Biologic Reactions. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 63, n. 4, p. 381–389, 1988. Mayo Foundation for Medical Education and Research.

STEFANELLO, N.; SCHMATZ, R.; PEREIRA, L. B.; et al. Effects of chlorogenic acid, caffeine and coffee on components of the purinergic system of streptozotocin-induced diabetic rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 38, p. 145–153, 2016.

STOHS, S. J.; HARTMAN, M. J. Review of the Safety and Efficacy of Moringa oleifera. **Phytotherapy research : PTR**, v. 29, n. 6, p. 796–804, 2015.

SUN, W.; SUN, J.; ZHANG, B.; et al. Baicalein improves insulin resistance via regulating SOCS3 and enhances the effect of acarbose on diabetes prevention. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 339–353, 2017.

SZKUDELSKI, T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. **Physiological Research**, v. 50, p. 536–546, 2001.

TIAN, L. W.; XU, M.; WANG, D.; et al. Phenolic constituents from the leaves of *Syzygium forrestii* Merr. and Perry. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 2, p. 156–158, 2011. Elsevier Ltd.

VALENTOVÁ, K.; VRBA, J.; BANCÍROVÁ, M.; ULRICHOVÁ, J.; KREN, V. Isoquercitrin : Pharmacology , toxicology, and metabolism. **Food and Chemical Toxicology**, v. 68, p. 267–282, 2014.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. D. F.; et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Quimica Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323–1338, 2007.

VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura? **Quimica Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.

WANG, Y.; TANG, C.; ZHANG, H. Hepatoprotective effects of kaempferol 3-O-rutinoside and kaempferol 3-O-glucoside from *Carthamus tinctorius* L . on CCl₄ - induced oxidative liver injury in mice. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 2, p. 310–317, 2014.

WESTPHAL, S. A.; PALUMBO, P. J. Weight Gain and Management Concerns in Patients on Insulin Therapy. **Insulin**, v. 2, p. 31–36, 2007.

WISEMAN, H.; KAUR, H.; HALLIWELL, B. DNA damage and cancer: Measurement and mechanism. **Cancer Letters**, v. 93, n. 1, p. 113–120, 1995.

WOLFE, R. R. Effects of insulin on muscle tissue. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 3, p. 67–71, 2000.

WU, Y.-L.; DING, Y.-P.; GAO, J.; TANAKA, Y.; ZHANG, W. Risk Factors and Primary Prevention Trials for Type 1 Diabetes. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 7, p. 666–679, 2013.

YANG, B.; LIU, H.; YANG, J.; GUPTA, V. K.; JIANG, Y. New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, n. July, p. 116–124, 2018.

YENKOYAN, K.; HARUTYUNYAN, H.; HARUTYUNYAN, A. A certain role of SOD/CAT imbalance in pathogenesis of autism spectrum disorders. **Free Radical Biology and Medicine**, 2018.

YILMAZ, H. R.; UZ, E.; YUCEL, N.; ALTUNTAS, I.; OZCELIK, N. Protective Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Diabetic Rat Liver. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 18, n.

4, p. 21–22, 2004.

ZHAO, Y.; AN, X.; LIU, J.; et al. The improvement of oxidative stress by two proprietary herbal medicines in type 2 diabetes. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 40, p. 120–125, 2018.

ZWART, L. L. DE; MEERMAN, J. H. N.; COMMANDEUR, J. N. M.; VERMEULEN, N. P. E. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 1–2, p. 202–226, 1999.