



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOÃO FELIPE DA SILVA BARROS

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA *IN VITRO* DOS EXTRATOS
METANÓLICOS DAS RAÍZES E CASCAS DO CAULE DE *Maclura tinctoria* (L.) D.
Don ex Steud**

FORTALEZA
2021

JOÃO FELIPE DA SILVA BARROS

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA *IN VITRO* DOS EXTRATOS METANÓLICOS
DAS RAÍZES E CASCAS DO CAULE DE *Maclura tinctoria* (L.) D. Don ex Steud

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química

Orientador: Prof. Dr. Robert Wyn Owen.

Coorientadora: Prof. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- B278a Barros, João Felipe da Silva.
Avaliação química e biológica in vitro dos extratos metanólicos das raízes e cascas do caule de *Maclura tinctoria* (L.) D. Don ex Steud / João Felipe da Silva Barros. – 2021.
66 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Robert Wyn Owen.
Coorientação: Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan.
1. *Maclura tinctoria*. 2. Compostos polifenólicos. 3. Antioxidante. 4. Lipase pancreática. 5. Alfa-glicosidase. I. Título.

CDD 540

JOÃO FELIPE DA SILVA BARROS

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA *IN VITRO* DOS EXTRATOS METANÓLICOS
DAS RAÍZES E CASCAS DO CAULE DE *Maclura tinctoria* (L.) D. Don ex Steud

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química

Aprovada em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Dávila Zampieri
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Prof. Dr. Robert Wyn Owen, pela excelente orientação.

À Prof^a, Dra. Maria Teresa Salles Trevisan, pelos ensinamentos e paciência

Às professoras participantes da banca examinadora, Prof.^a. Dra. Telma Leda Gomes de Lemos e Prof.^a Dra. Dávila Zampieri, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao meu esposo, Renan Xavier, pela dedicação, carinho e suporte durante toda a minha caminhada nessa etapa.

Aos colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação em Química, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

“Mas é preciso ter manha, é preciso ter graça, é preciso ter sonho sempre. Quem traz na pele essa marca possui a estranha mania de ter fé na vida.”

(NASCIMENTO, Milton, 1978)

RESUMO

Maclura tinctoria, popularmente conhecida como amoreira ou tatajuba, é uma árvore de médio a grande porte amplamente distribuída por todo o Brasil, ocorrendo da Amazônia ao Sul do país. Sua madeira é amplamente utilizada na carpintaria e na construção civil, devido à sua alta resistência. Enquanto na medicina popular, o exsudato do caule e o chá da casca são usados como poções curativas e anti-inflamatórias. Neste estudo, os extratos das raízes e da casca do caule foram avaliados quanto à sua composição química e atividade biológica. Os extratos foram avaliados quanto à capacidade antioxidante e de inibição enzimática, utilizando os ensaios de inibição da enzima lipase pancreática e α -glicosidase. Os compostos polifenólicos presentes no extrato metanólico das cascas do caule foram identificados e quantificados através de técnicas cromatográficas e de extração por fase sólida (SPE). Resultados obtidos mostraram nótoria atividade antioxidante dos extratos, raízes (IC₅₀ = 0,692 mg/mL) e cascas do caule (0,888 mg/mL), quando comparados aos compostos já conhecidos como agentes antioxidantes, quercetina (0,057 mg/mL), rutina (0,133 mg/mL) e 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno (0,175 mg/mL). Nos ensaios de inibição enzimática, ambos os extratos apresentaram capacidade inibitória. O extrato metanólico da casca do caule se destacou na inibição da enzima lipase pancreática (inibição = 78,326 %), enquanto o extrato da raiz foi mais eficaz na inibição da enzima α -glicosidase (Inibição = 93,110 %). O tratamento cromatográfico possibilitou a quantificação de flavonoides, xantonas e chalconas, destacando-se o isolamento e caracterização dos compostos Morina, Di-hidromorina (+)-Afzelequina e Noratiriol-6-O-glicosídeo, sendo os dois últimos compostos conhecidos, porém inéditos na espécie.

Palavras-chave: *Maclura tinctoria*; compostos polifenólicos; antioxidante; lipase pancreática; alfa-glicosidase.

ABSTRACT

Maclura tinctoria, popularly known as amoreira or tatajuba, is a medium to large tree widely distributed throughout Brazil, occurring from Amazon to the south of the country. Its wood is widely used in carpentry and construction, due to its high strength. While in folk medicine, stem exudate and tea from bark are used as healing and anti-inflammatory potions. In this study, root and stem bark extracts were evaluated for their chemical composition and biological activity. The extracts were evaluated for antioxidant capacity and enzyme inhibition using pancreatic lipase and α -glucosidase enzyme inhibition assays. The polyphenolic compounds present in methanol extract of the stem bark were identified and quantified through chromatographic and solid phase extraction (SPE) techniques. Results showed antioxidant activity of extracts, roots (IC₅₀ = 0.692 mg/mL) and stem bark (0.888 mg/mL), when compared to compounds already known as antioxidant agents, quercetin (0.057 mg/mL), rutin (0.133 mg/mL) and 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene (0.175 mg/mL). In enzyme inhibition assays, both extracts showed inhibitory capacity. The methanol extract of stem bark stood out in inhibiting the pancreatic lipase enzyme (inhibition = 78.326 %), while the root extract was more effective in inhibiting the α -glucosidase enzyme (93.110 %). The chromatographic treatment enabled the quantification of flavonoids, xanthenes and chalcones, highlighting the isolation and characterization of compounds morin, dihydromorin, (+)-afzelechin and norathyriol-6-*O*-glucoside, the last two compounds being new in this species.

Keywords: *Maclura tinctoria*; polyphenolics compounds; antioxidant; pancreatic lipase; alpha-glucosidase.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Partes botânicas de <i>Maclura tinctoria</i>	18
Figura 2 – Representação estrutural da acarbose.....	27
Figura 3 – Representação estrutural do orlistat.....	28
Figura 4 – Fluxograma do processo de obtenção dos extratos hexânicos e metanólicos.....	30
Figura 5 – Representação da reação envolvida no ensaio do sequestro do radical DPPH.....	31
Figura 6 – Representação da reação envolvida no ensaio de inibição da enzima lipase pancreática.....	32
Figura 7 – Representação da reação envolvida no ensaio de inibição da enzima α -glicosidase.....	34
Figura 8 – Esquema de fracionamento por SPE do extrato metanólico das cascas do caule de <i>M. tinctoria</i>	36
Figura 9 – Compostos polifenólicos identificados nos extratos de <i>M. tinctoria</i>	42
Figura 10 – Cromatogramas do extrato metanólico das raízes de <i>M. tinctoria</i> obtidos por CLAE-DAD.....	43

Figura 11 – Cromatogramas do extrato metanólico das cascas do caule de <i>M. tinctoria</i> obtidos por CLAE DAD.....	44
Figura 12 – Representação estrutural do (+)-Afzelequina.....	46
Figura 13 – Espectro de RMN ¹³ C [150 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC25F2.....	50
Figura 14 – Espectro de RMN ¹ H [600 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC25F2.....	51
Figura 15 – Representação estrutural do Di-hidromorina.....	52
Figura 16 – Espectro de RMN ¹³ C [150 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F2.....	54
Figura 17 – Espectro de RMN ¹ H [600 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F2.....	55
Figura 18 – Espectro de RMN ¹³ C [150 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F3.....	56
Figura 19 – Espectro de RMN ¹ H [600 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F3.....	57
Figura 20 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H [600 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F3.....	58
Figura 19 – Representação estrutural do Noratiriol-6- <i>O</i> -glicosídeo.....	59
Figura 20 – Espectro de RMN ¹ H [600 MHz, DMSO-d ₆ /CD ₃ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F6.....	62
Figura 21 – Representação estrutural da Morina.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Gradiente de eluição utilizado no experimento com CLAE-DAD.....	35
Tabela 2 – Rendimento dos extratos de <i>Maclura tinctoria</i> obtidos via Soxhlet.....	39
Tabela 3 – Atividade antioxidante do extrato metanólico das cascas do caule de <i>M. tinctoria</i>	40
Tabela 4 – Inibição da enzima lipase pancreática.....	41
Tabela 5 – Inibição da enzima α -glicosidase.....	42
Tabela 6 – Compostos polifenólicos identificados e quantificados no extrato metanólico de <i>M. tinctoria</i>	45
Tabela 7 – Quantificação e pureza de compostos polifenólicos das frações obtidas por SPE do extrato metanólico das cascas do caule de <i>M. tinctoria</i>	47
Tabela 8 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC25F2.....	49
Tabela 9 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F2.....	53
Tabela 10 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F3.....	59
Tabela 11 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F6.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
BHT	3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno
CLAE-EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Espectrometria de Massas
CLAE-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Ultravioleta -Visível
DAD	Diode Array Detector
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IC	Inhibitory Concentration
MHz	Megahertz
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
OMS	Organização Mundial da Saúde
pNP	<i>p</i> -nitrofenol
pNPB	<i>p</i> -nitrofenil-butirato
pNPG	<i>p</i> -nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SUS	Sistema Único de Saúde
TMS	Tetrametilsilano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Família Moraceae e a espécie <i>Maclura tinctoria</i>	17
1.2	Compostos isolados de extratos de <i>Maclura tinctoria</i>	18
1.3	Diabetes Mellitus e a inibição da enzima α -glicosidase.....	26
1.4	Obesidade e a inibição da enzima lipase pancreática.....	27
2	OBJETIVOS.....	29
3	METODOLOGIA.....	30
3.1	Obtenção dos extratos de <i>Maclura tinctoria</i>	30
3.2	Avaliação biológica do extrato metanólico das raízes e casca do caule de <i>M. tinctoria</i>	31
3.2.1	<i>Avaliação in vitro da atividade antioxidante via ensaio DPPH</i>	31
3.2.2	<i>Ensaio da inibição da enzima lipase pancreática</i>	32
3.2.3	<i>Ensaio da inibição da enzima α-glicosidase</i>	33
3.3	Perfil químico dos extratos metanólicos obtido Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD)	35
3.4	Quantificação de compostos polifenólicos presentes no extrato metanólico da casca do caule de <i>Maclura tinctoria</i>	36
3.4.1	<i>Extração em fase sólida</i>	36
3.4.2	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência semi-preparativa (CLAE-SP)</i>	37
3.4.3	<i>Curva-padrão de compostos polifenólicos</i>	37
3.4.4	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1	Obtenção dos extratos de <i>Maclura tinctoria</i>	39
4.2	Avaliação biológica do extrato metanólico das raízes e casca do caule de <i>M. tinctoria</i>	39
4.2.1	<i>Avaliação in vitro da atividade antioxidante via ensaio DPPH</i>	39
4.2.2	<i>Ensaio da inibição da enzima lipase pancreática</i>	40
4.2.3	<i>Ensaio da inibição da enzima α-glicosidase</i>	41
4.3	Perfil químico dos extratos metanólicos obtido Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD)	42

4.4	Quantificação de compostos polifenólicos presentes no extrato metanólico da casca do caule de <i>Maclura tinctoria</i>.....	45
4.4.1	<i>Determinação estrutural do composto 1</i>.....	46
4.4.2	<i>Determinação estrutural do composto 2</i>.....	51
4.4.3	<i>Determinação estrutural do composto 3</i>.....	52
4.4.4	<i>Determinação estrutural do composto 4</i>.....	62
5	CONCLUSÃO.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos primórdios, o homem utiliza os recursos naturais para a sua sobrevivência, em especial as plantas. Grande parte do conhecimento acerca da utilização das propriedades medicinais de plantas foi construído de forma empírica, a partir dos saberes tradicionais, passados entre gerações. Diante disso, criou-se um interesse no estudo e publicação desses saberes e, com isso, uma expectativa de diálogo entre o conhecimento popular e os conhecimentos científicos, onde dúvidas da ciência são respondidas pelo conhecimento popular e vice-versa. (SANTOS; CARVALHO, 2018, p. 75).

Segundo a OMS, planta medicinal é definida como “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos”. (WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.*, 1998, *apud* VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005, p. 520)

Devido à importância das plantas medicinais no tratamento e cura de doenças, estudos permitiram um rápido desenvolvimento de tecnologias que resultaram na descoberta de muitos compostos biologicamente ativos e, conseqüentemente, em novos fármacos.

Políticas públicas e acordos nacionais e internacionais foram feitos ao longo dos anos, visando a implantação de medidas de uso correto de plantas medicinais e fitoterápicos. Tais medidas procuram fomentar desenvolvimento tecnológico e inovação com base na biodiversidade, além de estabelecer estratégias de divulgação e incorporação de fitoterápicos na saúde pública.

No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), implementada no Sistema Único de Saúde (SUS) em 2006, teve como objetivo garantir a população o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, além de prever a oferta de plantas *in natura* e criação de hortas públicas de plantas medicinais. (MENGUE; FELIX, 2020)

Em 2009, o Ministério da Saúde publicou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), uma lista composta por 71 plantas com ação medicinal, as quais atuam no tratamento e na prevenção de doenças. (DINO, 2019) Essa lista foi construída a partir de plantas já utilizadas nos serviços de saúde, oriundas do conhecimento popular e com alguns estudos químicos e farmacológicos. O intuito da RENISUS é promover o

desenvolvimento de ações relacionadas à regulamentação, cultivo, produção e comercialização de plantas medicinais.

Apesar do crescimento em pesquisas e políticas públicas acerca das plantas medicinais, apenas um pequeno percentual das espécies vegetais presentes na flora do Brasil foi estudado, no que se refere às atividades químicas e farmacológicas. Considerando que a flora brasileira possui mais de 49 mil espécies, as listadas na RENISUS representam apenas 0,14% desse total. (JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO, 2020)

Dentre as adversidades apontadas nos estudos científicos de plantas medicinais, destacam-se a demora na identificação do perfil fitoquímico, a obtenção dos compostos de interesse em baixas quantidades, além da diversidade de compostos químicos presentes nas matrizes vegetais.

Essas dificuldades podem ser reduzidas com o desenvolvimento de métodos de *screening*, permitindo a avaliação de um número alto de amostras quanto à atividade sobre alvos específicos, tais como enzimas ou organismos. O uso de técnicas combinadas, como CLAE-UV ou CLAE-EM, permitem maior rapidez no isolamento e elucidação de novas substâncias ativas, além de possibilitar a obtenção de informações preliminares sobre a constituição química em extratos vegetais. (SIMÕES *et al.*, 2017)

Diante deste cenário, este trabalho tem como objetivo estudar duas partes botânicas da espécie *Maclura tinctoria*, identificando os compostos químicos presentes nos extratos e avaliando as atividades biológicas, por meio de ensaios antioxidante e de inibição enzimática.

1.1 Família Moraceae e a espécie *Maclura tinctoria*

A família Moraceae apresenta cerca de 63 gêneros e aproximadamente 1.500 espécies de árvores e arbustos, distribuídos principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. A família exibe uma variedade de hábitos de crescimento, morfologias florais e mecanismos de polinização. (BARROSO *et al.*, 2002 apud LAMOUNIER, 2010)

No Brasil, a família é representada por 28 gêneros com cerca de 340 espécies. As plantas da família contêm látex leitoso e tem folhas alternadas ou opostas, além de flores masculinas e femininas pequenas e sem pétalas. (JUDD *et al.*, 2008)

Alguns gêneros produzem frutas comestíveis, como amora branca (*Morus alba* L.), figo (*Ficus carica*), fruta-pão (*Artocarpus altilis*). Outros são economicamente importantes por sua madeira e látex, como a *Maclura tinctoria* e *Antiaris toxicaria*. (JUDD *et al.*, 2008)

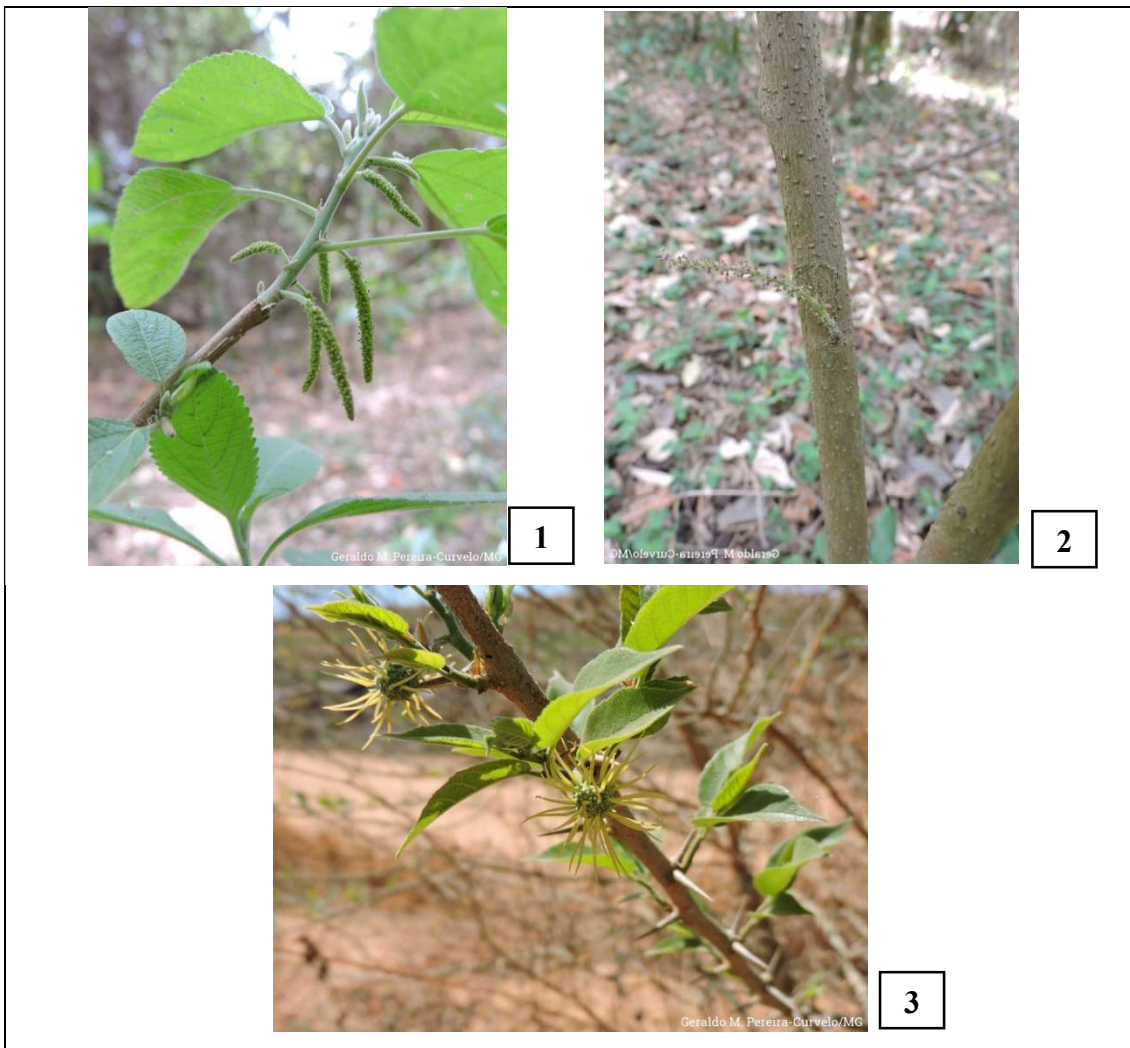
O gênero *Maclura* é composto por 11 espécies distribuídos em grande parte nas regiões tropicais. No continente americano, três espécies ocorrem desde os Estados Unidos até a Argentina, sendo que no Brasil apenas as espécies *M. tinctoria* e *M. brasiliensis* foram relatadas. (BARROSO *et al.*, 2002 apud LAMOUNIER, 2010)

A espécie *Maclura tinctoria*, conhecida popularmente como amoreira, taiuva e tatajuba, caracteriza-se por ser uma planta dióica e espinhenta de 15 a 30 m de altura e com tronco de 50 a 100 cm de diâmetro (Figura 1). Apresenta ampla distribuição neotropical, sendo que no Brasil ocorre desde a região Amazônica até o sul do país. É encontrada frequentemente nas formações secundárias e matas abertas, sendo rara no interior da mata primária alta. (LORENZI, 1992)

A espécie possui alto valor econômico e ecológico devido ao fato de apresentar uma madeira moderadamente pesada, dura e de alta resistência ao ataque de organismos xilófagos, mesmo em condições favoráveis ao apodrecimento. A madeira é própria para construções externas, sendo bastante utilizada na construção civil e marcenaria. A árvore fornece ótima sombra e, como produtora de frutos apreciados por pássaros, é própria para plantios mistos em áreas degradadas. (LORENZI, 1992)

Na medicina popular, o uso das infusões das cascas de *M. tinctoria* é relatado contra dor de dente, além do uso do exsudado como cicatrizante e antiinflamatório. (OYAMA *et al.*, 2013)

Figura 1 – Partes botânicas de *Maclura tinctoria*: 1 - Folhas; 2 - Caule; 3 - Frutos

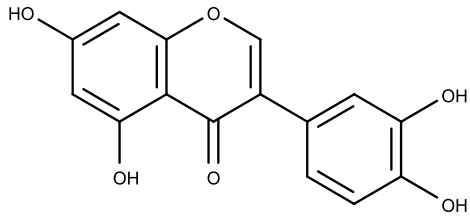


Fonte: PEREIRA, Geraldo M. 2020

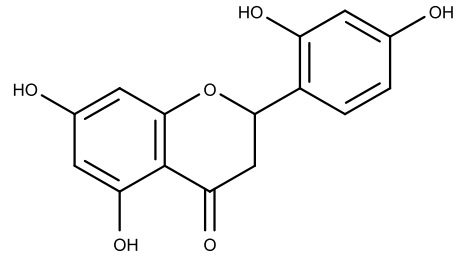
1.2 Compostos isolados de extratos de *Maclura tinctoria*

A maioria dos estudos realizados sobre o perfil químico de diversas partes botânicas da espécie *M. tinctoria* relata o isolamento de compostos fenólicos, tais como flavonoides, xantonas e chalconas.

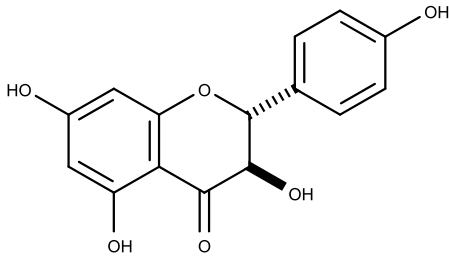
Sete flavonoides foram isolados do extrato etanólico do caule de *Maclura tinctoria*. Os compostos foram identificados como orobol (1) steppogenina (2), aromadendrina (3), dihidromorina (4), orobol 7-O- β -D-glucosídeo (5), steppogenina 4'-O- β -D-glucosídeo (6) e orobol 5,3'-di-O-metil-8-C-glucosídeo (7). (EL-SOHLY *et al.*, 1999)



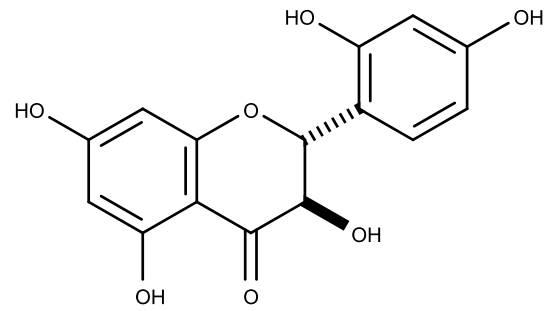
(1)



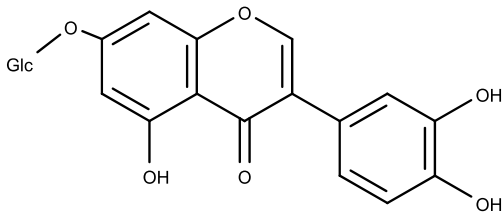
(2)



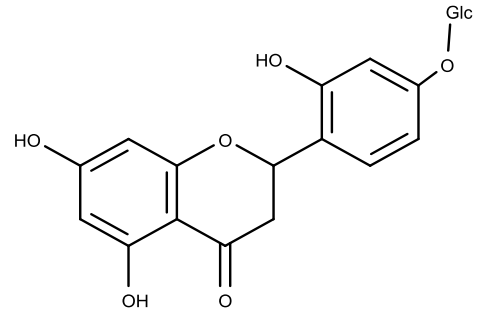
(3)



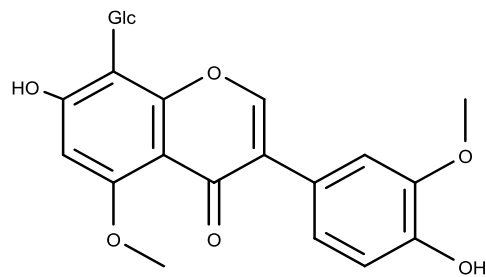
(4)



(5)

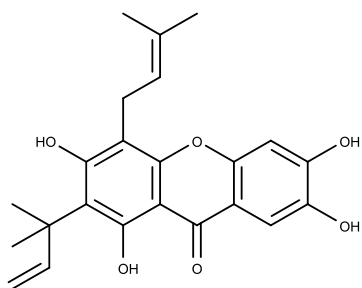
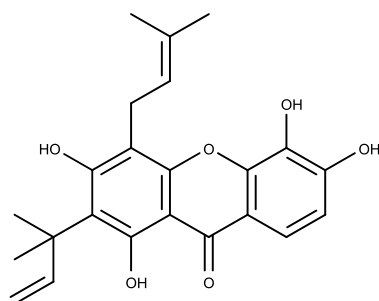
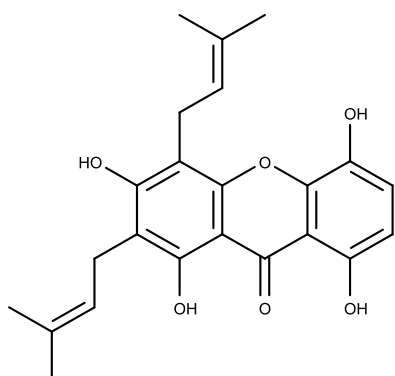
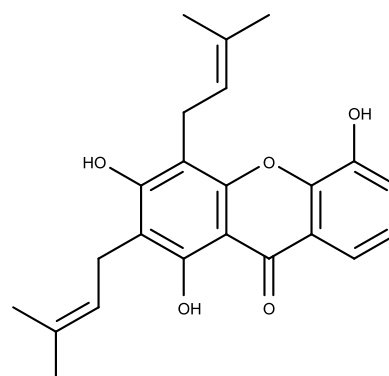
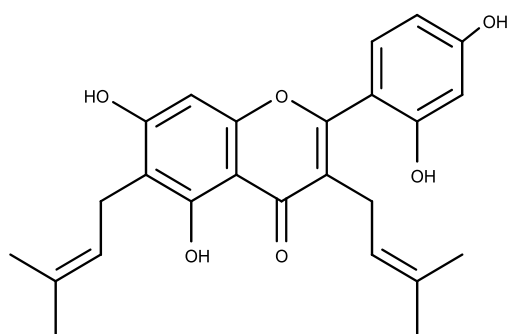
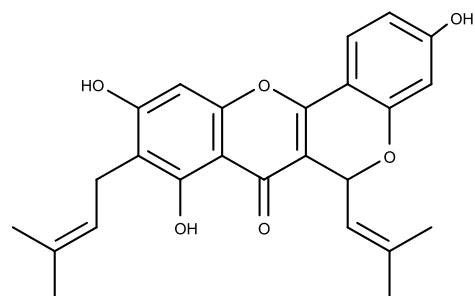


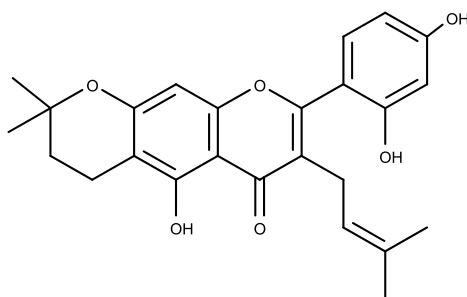
(6)



(7)

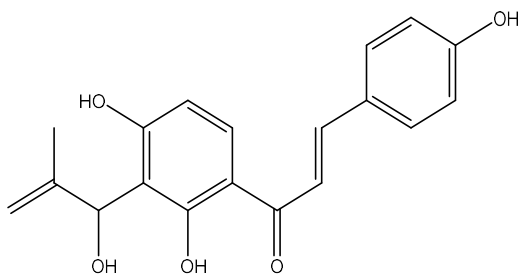
Outros trabalhos também relatam a presença de compostos fenólicos prenilados. Groweiss, Cardellina e Boyd (2000) isolaram a partir do extrato metanólico do caule de *M. tinctoria*, quatro xantonas preniladas, identificadas como macluraxantona B (**8**), macluraxantona C (**9**), gartanina (**10**) e 8-desoxigartanina (**11**), além de três flavonoides prenilados, cudraflavona C (**12**), isociclomulberrina (**13**) e di-hidrocudraflavona B (**14**). No mesmo estudo, os setes compostos isolados foram testados quanto a atividade anti-HIV, dentre os quais macluraxantona B e macluraxantona C exibiram os melhores potenciais de inibição, com IC_{50} entre 1 e 2,2 $\mu\text{g/mL}$.

**(8)****(9)****(10)****(11)****(12)****(13)**

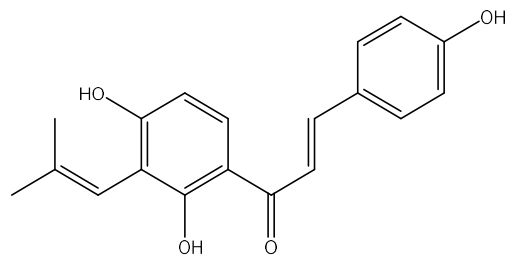


(14)

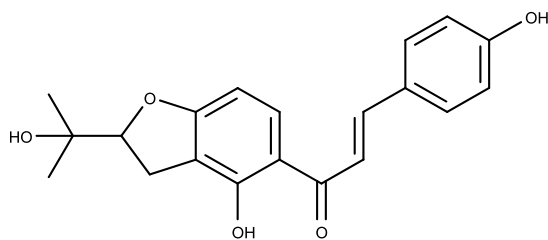
El-Sohly *et al.* (2001) identificou a ação antifúngica de chalconas preniladas, isoladas a partir do extrato etanólico das folhas de *M. tinctoria*. Os compostos isolados foram identificados como 2',4',4,2''-tetrahidroxi-3'-[3''-metilbut-3''-enil]-chalcona (15), isobavachalcona (16), bakuchalcona (17), bavacromanol (18) e 6,8-diprenilorobol (19). Dentre esses compostos, o composto isobavachalcona foi o mais ativo na inibição da ação dos fungos patógenos *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*.



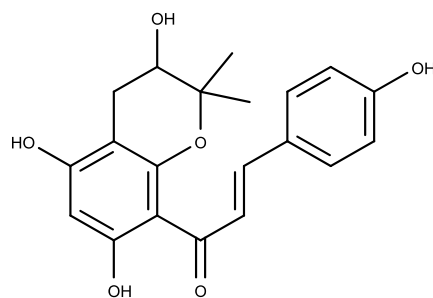
(15)



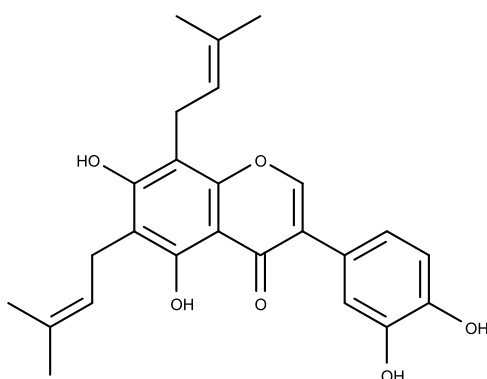
(16)



(17)



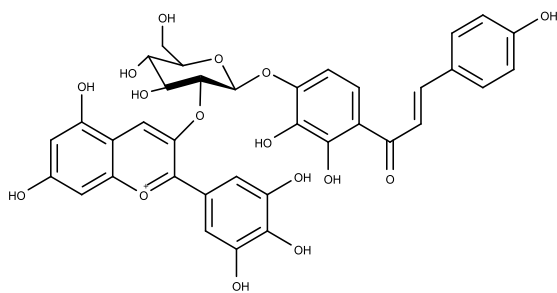
(18)



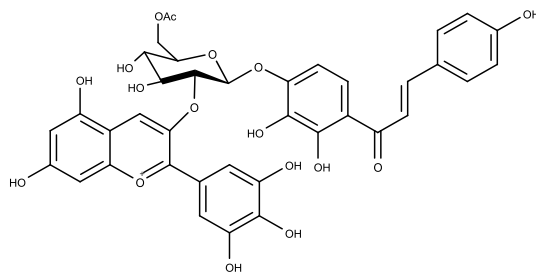
(19)

A ação antioxidante de extratos de *M. tinctoria* também é relatada em trabalhos anteriores. A partir do extrato metanólico da casca do caule de *M. tinctoria*, Cioffi *et al.* (2003) isolaram quatro chalconas glicosiladas e três flavononas.

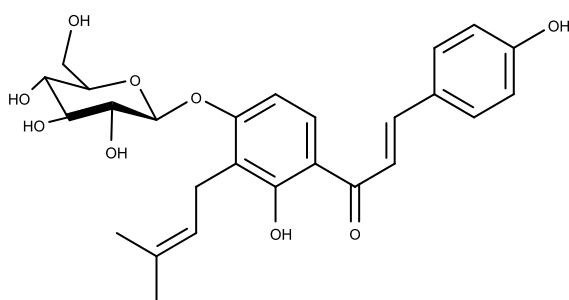
As chalconas foram identificadas como 4'-O-β-D-(2''-p-cumaril)glucopiranosil-4,2',3'-tri-hidroxichalcona (**20**), 4'-O-β-D-(2''-p-cumaril-6''-acetil)glucopiranosil-4,2',3'-tri-hidroxichalcona (**21**), 3'-(3-metil-2-butenil)-4'-O-β-D-glucopiranosil-4,2'-di-hidroxichalcona (**22**) e 4'-O-β-D-(2''-acetil-6''-cinamoil)glucopiranosil-4,2',3'-tri-hidroxichalcona (**23**). Os flavononas foram elucidados como eriodictiol 7-O-β-D-glucopiranosídeo (**24**), naringenina (**25**) e naringenina 4'-O-β-D-glucopiranosídeo (**26**). A atividade antioxidante dos compostos isolados foi determinada usando dois ensaios *in vitro*, método de sequestro do radical ABTS e a oxidação acoplada de β-caroteno e ácido linoleico. O composto 3'-(3-metil-2-butenil)-4'-O-β-D-glucopiranosil-4,2'-di-hidroxichalcona foi o mais ativo em ambos os ensaios.



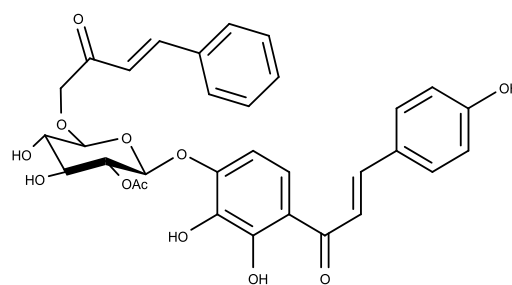
(20)



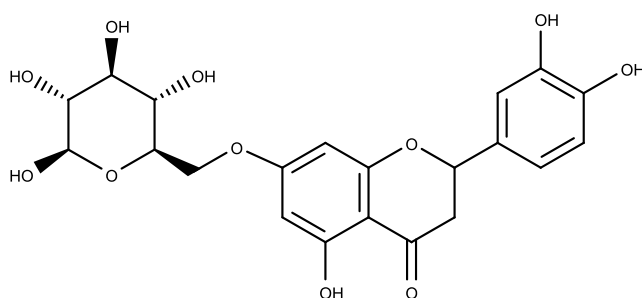
(21)



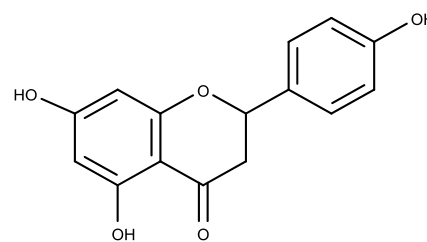
(22)



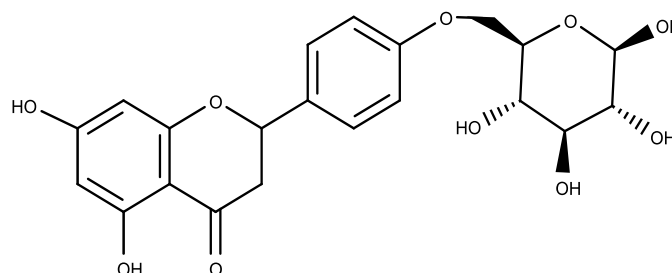
(23)



(24)



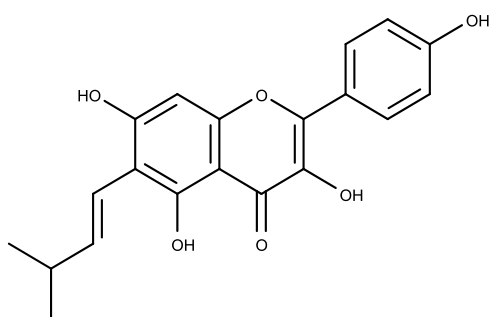
(25)



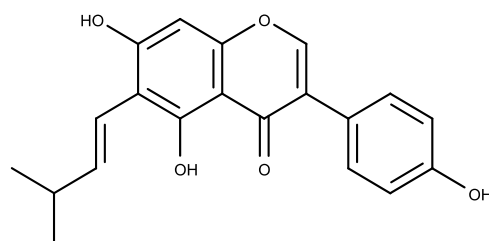
(26)

Os extratos metanólicos da madeira e caule também foram avaliados quanto ao teor de fenólicos e atividade antioxidante e antibactericida. Em comparação com padrões com atividade antioxidante conhecidas, tais como ácido gálico (2,8 $\mu\text{g/mL}$), catequina (5,5 $\mu\text{g/mL}$), BHT (17,0 $\mu\text{g/mL}$) e ácido ascórbico (9,4 $\mu\text{g/mL}$), a madeira e o caule mostraram bons resultados, com valores de IC_{50} 18,7 e 20,9 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Além disso, os extratos apresentaram alto potencial de inibição de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, sendo o extrato do caule o mais promissor, com MIC de 20 a 60 $\mu\text{g/mL}$.

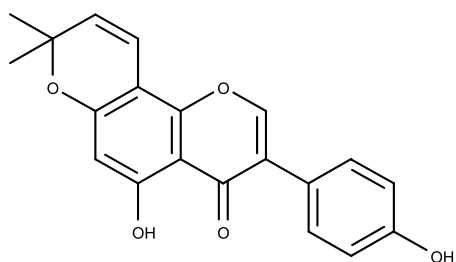
Na literatura é relatado ainda o isolamento de flavonoides prenilados em extratos metanólicos das frutas de *M. tinctoria*. Oyama *et al.* (2013) isolou cinco flavonoides prenilados identificados como licoflavonol (27), wighteona (28), derrona (29), alpium isoflavona (30) e, o então inédito, 6-(2,2-dimetil-2H-cromen-6-il)-2-(1-hidroxi-1-metiletil)-2,3-di-hidro-5H-furo[3,2-g]cromen-5-ona (31).



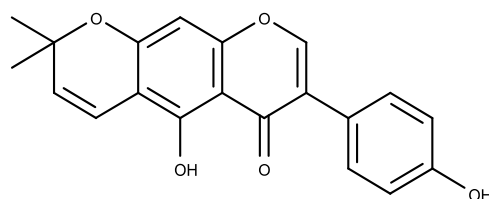
(27)



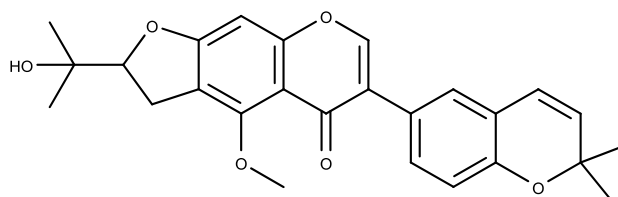
(28)



(29)

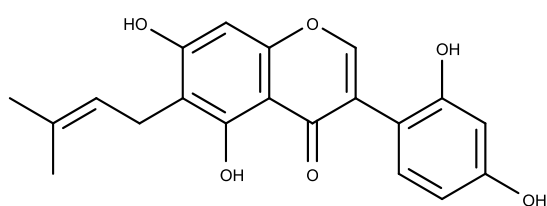


(30)

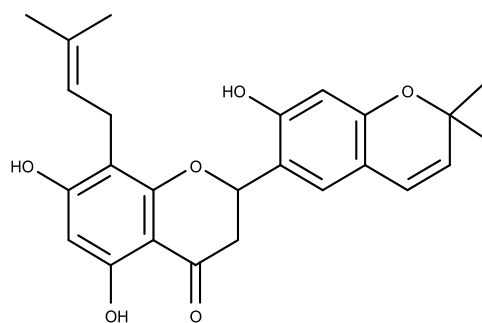


(31)

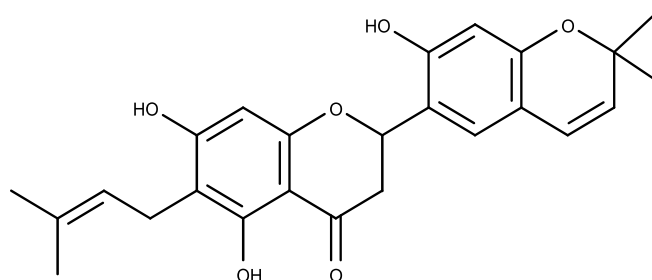
Recentemente, Almeida *et al* (2019) observou que o extrato orgânico (diclorometano:metanol, 1:1) das folhas de *M. tinctoria* apresentou forte ação antibactericida, agindo contra *Staphylococcus aureus*, além de proteger larvas de *Galleria mellonella* de infecções bacterianas. Nesse extrato, flavonoides prenilados foram isolados e identificados como luteona (32), wighteona, euchrestaflavanone C (33) e cudraflavanona A (34).



(32)



(33)



(34)

Em outro trabalho, o extrato etanólico das folhas foi avaliado quanto à atividade antibacteriana. Os resultados obtidos indicaram que o extrato possui alta capacidade de inibição da ação de bactérias, como *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis*. (ALVARO; ALEJANDRA; ANTONIO, 2015)

1.3 Diabetes Mellitus e a Inibição da enzima alfa-glicosidase

Diabetes Mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico decorrente das elevadas concentrações de glicose no sangue, causadas pela deficiência de insulina e/ou da incapacidade de a insulina exercer adequadamente seus efeitos.

Em todo o mundo, o DM tornou-se um problema sério de saúde pública. Estima-se que, em 2020, 463 milhões de pessoas foram diagnosticadas com diabetes, sendo esse valor correspondendo a 9,3 % dos adultos, entre 20 e 79 anos. Além disso, o diabetes foi responsável por cerca de US \$ 760 bilhões em gastos com saúde em 2019. (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019)

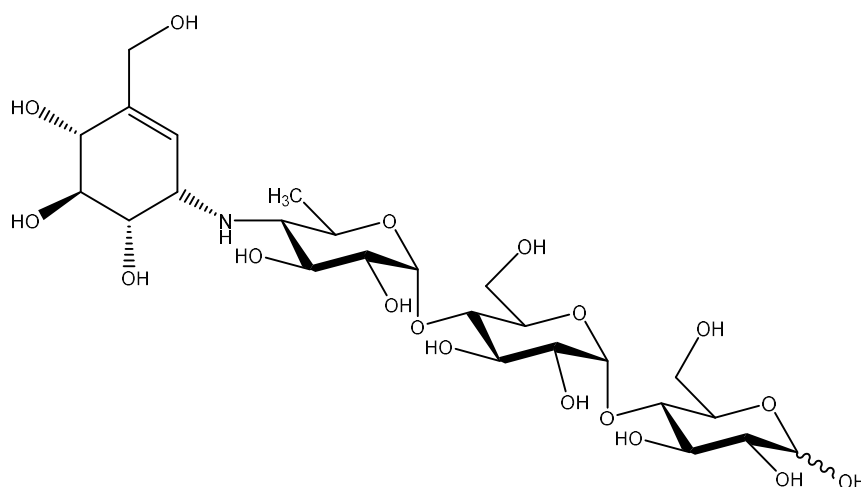
DM tipo 2, conhecido como diabetes mellito não insulino-dependente ou de início na maturidade, corresponde a mais de 90% dos casos e é influenciado por fatores genéticos, idade, obesidade e resistência periférica à insulina. No DM2, o pâncreas mantém alguma função das células β , mas a secreção de insulina é insuficiente para manter a homeostasia da glicose diante da crescente resistência à insulina.

O tratamento do DM2 objetiva manter a glicemia dentro dos limites normais, evitando o desenvolvimento das complicações de longo prazo. Para a diminuição da resistência à insulina é indicado a redução da massa corpórea, exercícios físicos e mudanças na dieta. Entretanto, a maioria dos pacientes necessitam de intervenção farmacológica com hipoglicemiantes orais (RANG *et al.* 2011).

Dentre os diversos tipos de hipoglicemiantes orais, os inibidores da enzima α -glicosidase são comumente utilizados na redução da digestão de carboidratos. As enzimas α -glicosidase hidrolisam oligossacarídeos e dissacarídeos em glicose e outros açúcares simples que podem ser absorvidos no intestino, promovendo o aumento do nível de glicose no sangue. Assim, o uso de inibidores promove a redução do nível de glicose pós-prandial e, como eles não estimulam a liberação de insulina, esses fármacos não causam hipoglicemia, diferentes de outros hipoglicemiantes orais.

Acarbose (Figura 2) é um dos fármacos hipoglicemiantes bastante utilizado por via oral no tratamento do DM2. Entretanto, os principais efeitos adversos mais comuns estão relacionados com a sua ação principal e consistem em flatulência, diarreia e dor abdominal. Diante desta adversidade, muitos medicamentos fitoterápicos têm sido recomendados, tendo em vista os baixos efeitos colaterais (WHALEN; FINKEL; PANAVELIL, 2016).

Figura 2 – Representação estrutural da acarbose



Fonte: Elaborado pelo autor

1.4 Obesidade e a inibição da enzima lipase pancreática

A obesidade já é considerada um problema de saúde global crescente e dispendioso. Dados fornecidos pelo IBGE mostraram que um quarto da população brasileira com 18 anos ou mais encerrou o ano de 2019 com obesidade, equivalente a 41 milhões de pessoas. Apesar da obesidade raramente ser fatal, ela frequentemente coexiste com distúrbios metabólicos, acarretando um elevado risco de doenças cardiovasculares, doenças respiratórias e problemas digestivos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2021).

Dentre as estratégias utilizadas no tratamento da obesidade, destaca-se o uso de inibidores da digestão e absorção de nutrientes, visando a redução da ingestão de energia por meio de mecanismos gastrintestinais, sem alterar qualquer mecanismo do sistema nervoso central.

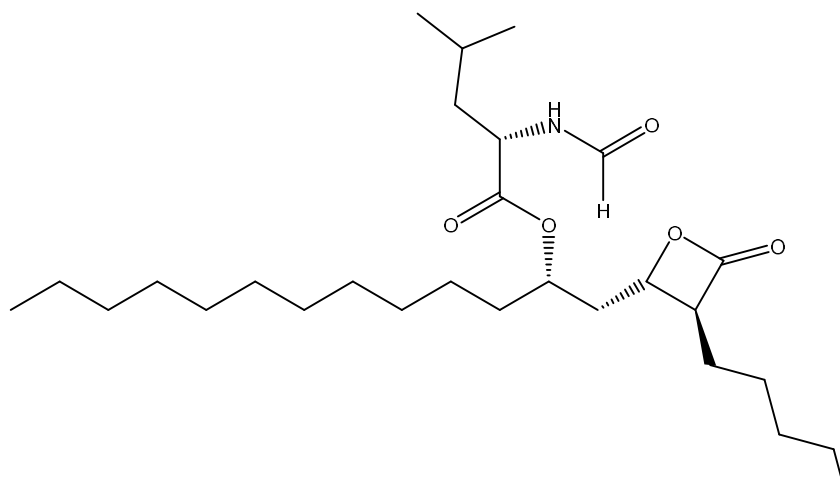
Uma vez que os lipídeos representam a principal fonte de calorias indesejadas na dieta, a inibição específica da digestão dos triglicerídeos constitui uma abordagem importante para a redução da absorção da gordura.

Lipases são enzimas que digerem gorduras, incluindo triacilglicerol e fosfolipídeos. A lipase pancreática, principal enzima lipolítica sintetizada e secretada pelo pâncreas, desempenha um papel fundamental na digestão eficiente dos triglicerídeos. Ela é responsável pela hidrólise de 50 a 70% das gorduras totais da dieta. (BIRARI; BHUTANI, 2007)

A inibição da lipase pancreática é um dos mecanismos mais amplamente estudados para a determinação de produtos naturais como agente antiobesidade. Um fármaco bastante utilizado no tratamento da obesidade é o orlistat.

O orlistat (Figura 3) é um éster do ácido pentanoico que inibe as lipases gástricas e pancreáticas, diminuindo, assim, a hidrólise da gordura da dieta. A ação do orlistat diminui a absorção de gorduras em cerca de 30%. Entretanto, apresenta efeitos adversos, sendo flatulências, urgência fecal e defecação aumentada os mais comuns. (WHALEN; FINKEL; PANAVELIL, 2016)

Figura 3 – Representação estrutural do orlistat



Fonte: Elaborado pelo autor

2 OBJETIVOS

Geral

Identificar e avaliar os compostos químicos presentes nos extratos metanólicos das raízes e cascas do caule de *Maclura tinctoria*.

Específico

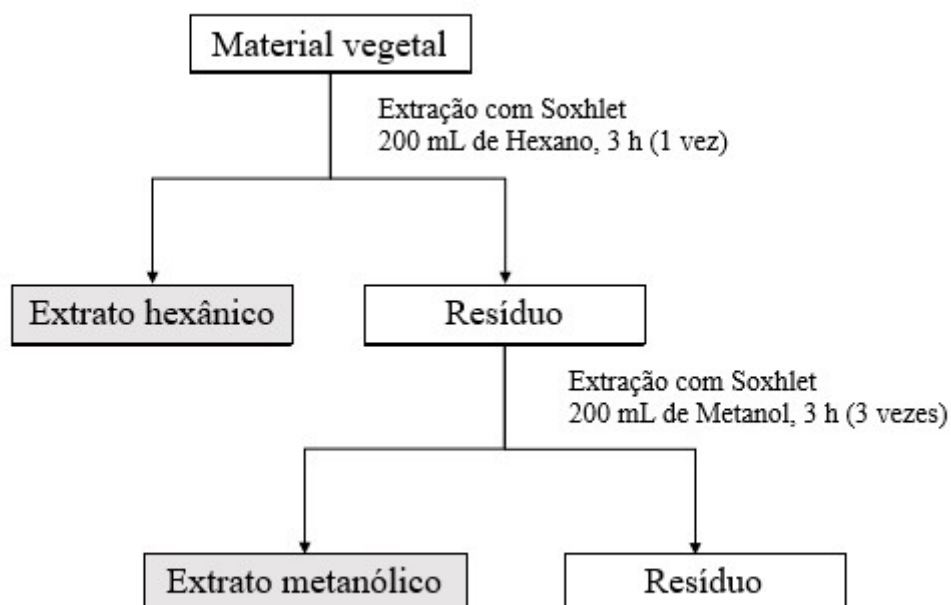
- Avaliar os extratos quanto à atividade biológica, através de ensaios de inibição *in vitro* da enzima α -glicosidase e lipase pancreática;
- Determinar a capacidade antioxidante dos extratos utilizando o ensaio de sequestro do radical DPPH;
- Obter o perfil químico dos extratos por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD);
- Isolar e caracterizar compostos químicos presentes no extrato metanólico da casca do caule de *Maclura tinctoria* utilizando técnicas cromatográficas.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção dos extratos de *Maclura tinctoria*

As raízes e cascas do caule de *Maclura tinctoria* coletadas foram triturados com auxílio de um moinho elétrico. Cada material (5,0 g) foi extraído à quente com 200 mL de hexano por três horas (uma vez) em um aparelho Soxhlet, para remoção de lipídeos. O solvente foi removido via rotoevaporação e o material foi submetido a extração com 200 mL de metanol por três horas (três vezes), como mostrado na Figura 4.

Figura 4 – Fluxograma do processo de obtenção dos extratos hexânicos e metanólicos.



Fonte: Elaborado pelo autor

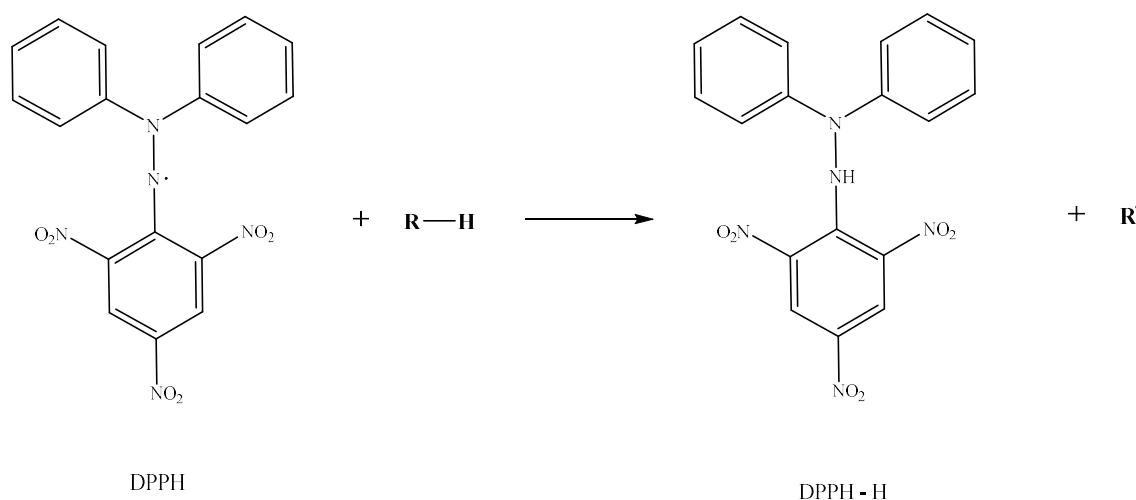
3.2 Avaliação biológica dos extratos metanólicos das raízes e cascas do caule de *Maclura tinctoria*

3.2.1 Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante via ensaio DPPH

A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo método de sequestro do radical livre DPPH· (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) de acordo com a metodologia descrita por YEPEZ *et al.* (2002), com algumas modificações.

O DPPH é um radical estável em solução de coloração violeta que absorve em 515 nm em metanol. Sob a ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o DPPH· é reduzido formando difenil-picril-hidrazina (DPPH₂), que apresenta cor amarela, com consequente diminuição da absorbância (Figura 5). (PIRES *et al.*, 2017)

Figura 5 - Representação da reação envolvida no ensaio do sequestro do radical DPPH



Fonte: Adaptado de PIRES *et al.*, 2017

As soluções das amostras foram preparadas a uma concentração de 10 mg/mL em metanol, a partir dessa solução, foram feitas diluições de modo a obter concentrações variando de 0,001 a 5,0 mg/mL.

Alíquotas de 0,1 mL de cada solução foram adicionadas em tubos de ensaio contendo 3,9 mL de solução metanólica de DPPH· $6,5 \times 10^{-5}$ M. Após 60 minutos, a absorbância foi determinada no espectrofotômetro UV-VIS FEMTON 700 plus, no comprimento de onda 515 nm. A análise foi feita em triplicata. BHT, rutina e quercetina foram usados como controles positivos.

A inibição do radical livre DPPH· em porcentagem foi calculada de acordo com a equação:

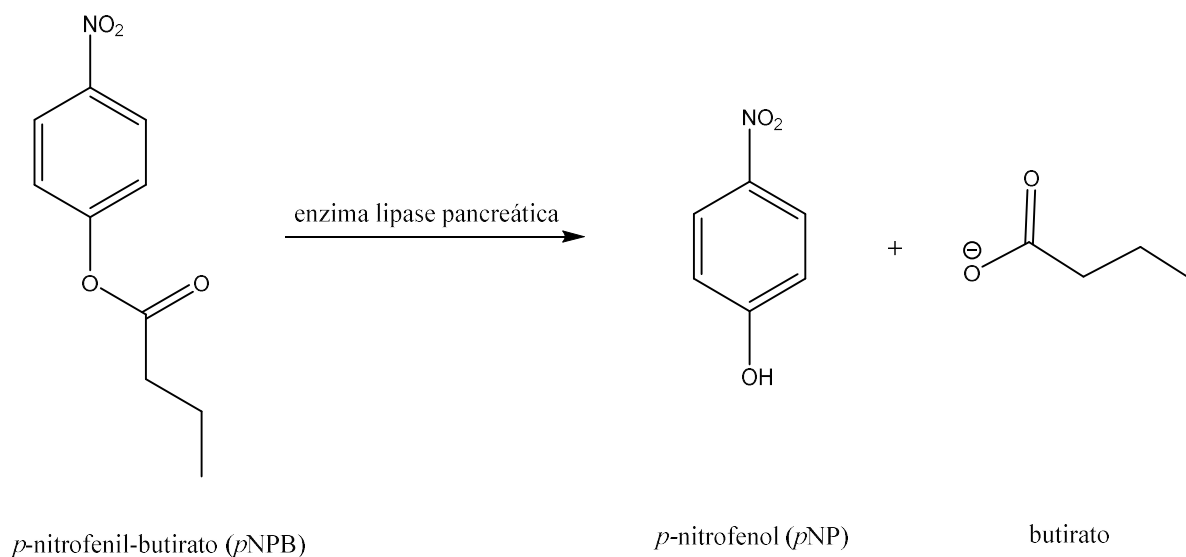
$$IV(\%) = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{amostra}}{Abs_{DPPH}} \times 100 \quad (I)$$

O IC₅₀, a concentração de amostra ou padrão que inibe 50% da concentração inicial de DPPH, foi determinado a partir de regressão linear. Foram plotados os valores de IV% versus concentração, para cada extrato.

3.2.2 Ensaio da inibição da enzima lipase pancreática

A capacidade em inibir a atividade da enzima lipase pancreática foi determinada segundo o método colorimétrico adaptado de Zaid e colaboradores (2017), com algumas modificações. A inibição enzimática ocorre através da estimativa da decomposição do *p*-nitrofenil-butirato (*p*NPB) com a liberação do *p*-nitrofenol (*p*NP), de coloração amarela medida em 405 nm (Figura 6).

Figura 6 – Representação da reação envolvida no ensaio de inibição da enzima lipase pancreática



Fonte: Elaborado pelo autor

Inicialmente, soluções estoque do extrato metanólico (1,0 mg/mL) foram dissolvidas em tampão fosfato 1,0 mM, pH 7,0 com 10 % de DMSO, a partir do qual diferentes soluções foram preparadas (31,26 – 1000 µg/mL). A solução estoque de 1,0 mg/mL da enzima lipase pancreática foi preparada no tampão fosfato com 10 % de DMSO.

Em tubos de ensaios contendo 100 µL de cada amostra, adicionou-se 50 µL da enzima lipase. A mistura reacional foi incubada a 37 °C por 15 minutos, sem agitação. A reação iniciou-se pela adição de 50 µL da solução de *p*NPB. A reação foi novamente incubada a 37 °C por 30 minutos, sob agitação de 400 rpm. Após o término da incubação, 100 µL de cada amostra foi transferido para uma microplaca de 96 poços e a absorbância foi medida a 405 nm em um leitor de microplacas ELISA.

Neste ensaio, foram feitos ensaios com a presença e ausência da enzima, visando eliminar variações relacionadas à coloração dos extratos e à absorbância da coloração do *p*-NPB. Utilizou-se o tampão fosfato em 10% de DMSO como o branco e o Orlistat como controle positivo.

A inibição da enzima lipase pancreática foi determinada de acordo com a seguinte fórmula:

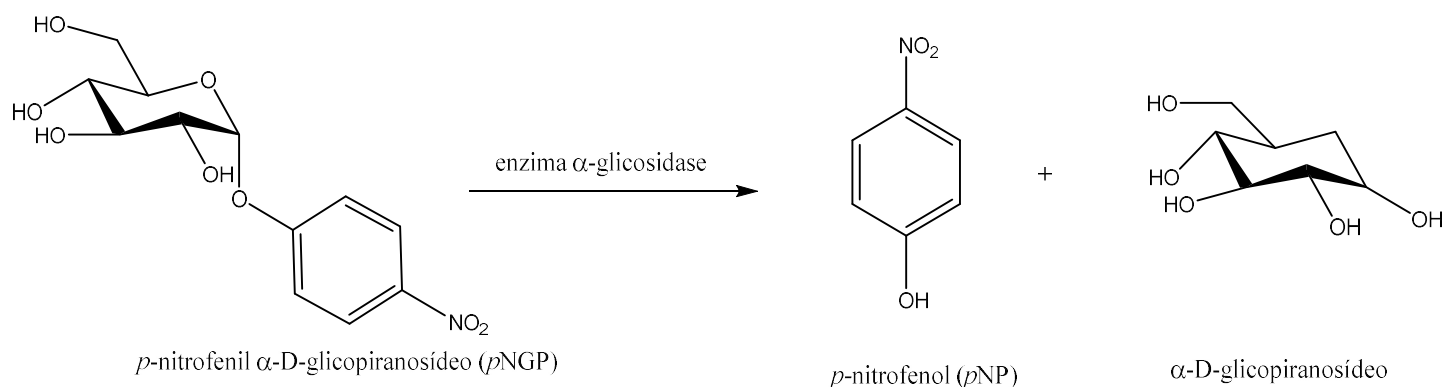
$$\text{Inibição (I\%)} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{branco}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{branco}}} \right) \times 100 \text{ (II)}$$

O IC₅₀ foi determinado a partir de uma curva dose-resposta.

3.2.3 Ensaio da inibição da enzima α -glicosidase

A inibição da atividade da enzima α -glicosidase foi avaliada segundo método desenvolvido por Shinde e colaboradores (2008), com modificações. A inibição enzimática baseia-se na determinação espectrofotométrica do *p*-nitrofenol (*p*NP), de coloração amarela, liberado a partir do *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo (*p*NPG) medido em 405 nm (Figura 7).

Figura 7 – Representação da reação envolvida no ensaio de inibição da enzima α -glicosidase



Fonte: Elaborado pelo autor

Inicialmente, soluções estoque do extrato metanólico (1,0 mg/mL) foram dissolvidas em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,8, a partir do qual diferentes soluções foram preparadas (31,26 – 1000 $\mu\text{g/mL}$). A solução estoque de 1,0 U/mL da enzima α -glicosidase, obtida a partir de *Saccharomyces cerevisiae*, foi preparada no tampão fosfato.

Em tubos de ensaios contendo 20 μL de cada amostra, adicionou-se 20 μL da enzima α -glicosidase. A mistura reacional foi incubada a 25 $^\circ\text{C}$ por 5 minutos, sem agitação. A reação iniciou-se pela adição de 40 μL da solução de *p*NPG. A reação foi novamente incubada a 37 $^\circ\text{C}$ por 30 minutos, sem agitação. Após o término da incubação, a reação foi interrompida pela adição de 100 μL de bicarbonato de sódio 10%.

Em uma microplaca de 96 poços, adicionou-se 100 μL de cada amostra e a absorbância foi medida a 405 nm em um leitor de microplacas ELISA.

De modo semelhante ao ensaio da enzima lipase pancreática, foram feitos ensaios com e sem enzima. Utilizou-se o tampão fosfato de sódio como o branco e Acarbose, obtido a partir do medicamento Glucobay[®], como controle positivo.

A inibição da enzima α -glicosidase foi determinada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Inibição (I\%)} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{branco}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{branco}}} \right) \times 100 \quad (\text{III})$$

O IC_{50} foi determinado a partir de uma curva dose-resposta.

3.3 Perfil químico dos extratos metanólicos obtidos por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD).

Os extratos obtidos foram dissolvidos em metanol e analisados por CLAE analítica de fase reversa acoplado com arranjo de diodo (DAD).

O experimento foi conduzido em um cromatógrafo líquido Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, São Paulo, Brasil) equipado com uma coluna de fase reversa C18 Gemini (250 mm, 4,6 mm d.i., 5 μ m; Phenomenex, São Paulo, Brasil).

Os extratos metanólicos das raízes e cascas do caule de *M. tinctoria* foram dissolvidos em metanol (10 mg/mL) e, quando necessário, posteriormente diluídos antes da injeção (10 μ L) no equipamento. A fase móvel consistiu de ácido acético 2% em água bidestilada (solvente A) e acetonitrila (solvente B) com vazão de 1,0 mL/minuto. A tabela 1 mostra o gradiente de eluição utilizado no experimento.

Os compostos presentes na eluição foram detectados em 257, 278, 320 e 340 nm, com um detector UV de arranjo de diodo (DAD). O tratamento de dados e controle do sistema foram realizados com software Agilent Chem Station.

Tabela 1 – Gradiente de eluição utilizado no experimento com CLAE-DAD

Tempo (min)	A (%)	B (%)
10	95	5
1	90	10
9	85	15
10	60	40
10	40	60
5	0	100

3.4 Quantificação de compostos polifenólicos presentes no extrato metanólico da casca do caule de *Maclura tinctoria*.

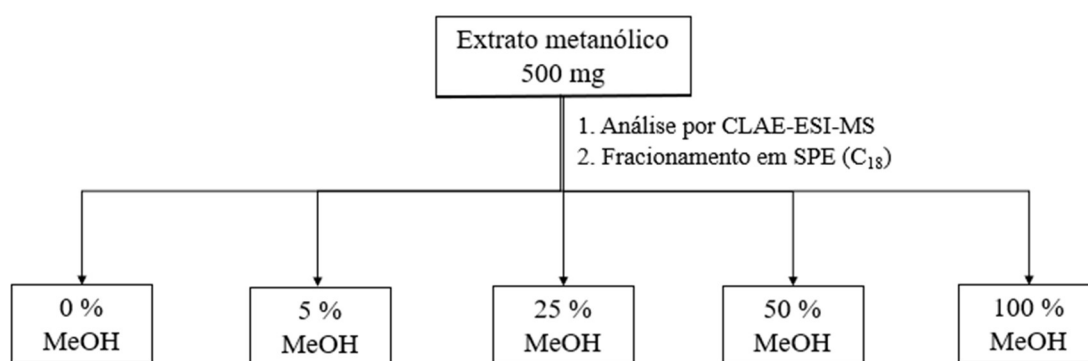
A quantificação de compostos polifenólicos do extrato metanólico das cascas do caule foram feitas utilizando técnicas cromatográficas, desenvolvidas no laboratório de Toxicologia e Fatores de Risco do Câncer do Centro de Pesquisas do Câncer (Heidelberg, Alemanha).

3.4.1 Extração em fase sólida

Tendo em vista a otimização da purificação por CLAE semi-preparativo, os extratos foram previamente fracionados em coluna cromatográfica usando C18 (octadecil) como fase estacionária reversa. Os extratos (500 mg) foram dissolvidos em 50 mL de ácido acético 2% e, então, fracionados em coluna cromatográfica (Figura 8).

A coluna foi pré-condicionada com 4 mL de metanol e 4 mL de ácido acético 2%. A eluição foi realizada com misturas de solventes contendo concentrações crescentes de metanol (0, 5, 25, 50 e 100%) em ácido acético 2%. As frações obtidas foram concentradas e secadas.

Figura 8 – Esquema de fracionamento por SPE do extrato metanólico das cascas do caule de *M. tinctoria*



Fonte: Elaborado pelo autor

3.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência semi-preparativa (CLAE-SP)

O experimento foi conduzido em um cromatógrafo líquido HP 1100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha) equipado com uma coluna de fase reversa C18 Agilent Zorbax Eclipse Plus (250 x 10 mm d.i.) nas mesmas condições de fase móvel e eluição descritas para o CLAE - DAD analítico, na temperatura de 30 °C. O fluxo de fase móvel foi 3,0 mL/minuto com volume de injeção de 50 µL. Os cromatogramas foram obtidos nos comprimentos de onda de 257, 278, 320 e 340 nm.

3.4.3 Curva-padrão de compostos polifenólicos

A quantificação dos compostos polifenólicos nos extratos foi calculada a partir de curvas padrões de compostos analíticos autênticos ou purificados aromadendrina, 3,4-DHBA (ácido 3,4-dihidroxibenzóico), kaempferol, maclurina, morina, narigenina, resveratrol glucosídeo e ácido vanílico na faixa de concentrações 0-1000 µM em 278, 257, 320 e 340 nm. No caso dos flavonoides, quando as curvas de padrões autênticos ou purificados não estavam disponíveis, a concentração dos compostos foi calculada contra as curvas-padrão da molécula central, quercetina ou kaempferol com correções de massa molecular. Os dados foram expressos em mg/Kg de extrato.

3.4.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN apresentados nesse trabalho foram obtidos em equipamentos da Embrapa Agroindústria Tropical, sob a supervisão do Dr. Edy Sousa de Brito.

Os espectros de RMN foram adquiridos usando um espectrômetro de RMN Agilent 600-MHz, equipado com uma sonda de detecção inversa de 5 mm One Probe™ com capacidade de gradiente de eixo triplo (z), operando a 600 e 151 MHz para núcleos ^1H e ^{13}C , respectivamente a 303 K. Os espectros de RMN ^1H foram adquiridos usando a sequência de pulso PRESAT.

O solvente utilizado para a dissolução das amostras e obtenção dos espectros foi DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63).

Os deslocamentos químicos dos núcleos ^1H e ^{13}C foram determinados em relação ao tetrametilsilano (TMS) ($\delta = 0$ ppm para ambos os núcleos), usando os sinais do solvente como referências internas secundárias ($\delta_{\text{H}} = 3,31$ ppm e $\delta_{\text{C}} = 49,05$ ppm para soluções de CD $_3$ OD)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção dos extratos de *Maclura tinctoria*

Os rendimentos dos extratos obtidos através da extração à quente via Soxhlet estão organizados na tabela 2. É possível observar que os extratos das cascas do caule apresentaram os maiores rendimentos.

Na extração em aparelho de Soxhlet, o material vegetal entra em contato com o solvente renovado a cada ciclo. Assim, esse procedimento possibilita uma extração eficiente, além de necessitar de uma quantidade menor de solvente, em comparação a outros métodos de extração, como extração à frio. (SIMÕES *et al.*, 2017)

Tabela 2 – Rendimento dos extratos de *Maclura tinctoria* obtidos via Soxhlet

Parte botânica	Massa (g)	Solvente	Massa do extrato (g)	Rendimento (%)
MTRA	5,0116	Hexano	0,1570	3,13
		Metanol	0,4676	9,33
MTCC	5,0114	Hexano	0,2386	4,76
		Metanol	0,5916	11,80

MTRA: *Maclura tinctoria* raízes; MTCC: *Maclura tinctoria* cascas do caule

4.2 Avaliação biológica dos extratos metanólicos das raízes e cascas do caule de *Maclura tinctoria*

4.2.1 Avaliação *in vitro* da atividade antioxidante via ensaio DPPH

A tabela 3 mostra os resultados obtidos no ensaio antioxidante via método de sequestro do radical livre DPPH. Os dados foram expressos como valores de IC₅₀, definido como a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial do DPPH em 50%. Os valores de IC₅₀ foram calculados a partir da equação da reta do gráfico que relaciona absorvância e inibição (IV).

Outra abordagem utilizada na determinação de atividade antioxidante é a denominada Índice de Atividade Antioxidante (IAA), expresso pela equação:

$$IAA = \frac{\text{Concentração final de DPPH } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)}{IC_{50} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)}$$

Nessa abordagem, a atividade antioxidante da amostra é classificada como *fraca* quando $IAA < 0,5$; *moderada* quando $0,5 < IAA < 1,0$; *forte* quando $1,0 < IAA < 2,0$ e, por fim, *excelente* quando $IAA > 2,0$. Os valores de IAA obtidos para todas as amostras, extratos e padrões, estão organizados na tabela 3, considerando a concentração final de DPPH como 0,657 mg/mL. (SCHERER; GODOY, 2009)

Tabela 3 – Atividade antioxidante do extrato metanólico das cascas do caule de *M. tinctoria*

Amostra	IC₅₀ (mg/mL)	IAA	Classificação
MTCC	0,888	0,739	Moderado
MTRA	0,692	0,949	Moderado
Quercetina	0,057	11,521	Excelente
Rutina	0,133	4,938	Excelente
BHT	0,175	3,752	Excelente

MTRA: Maclura tinctoria raízes; MTCC: Maclura tinctoria cascas do caule

Conforme o consumo de DPPH aumenta, o valor de IC₅₀ tornou-se menor e, portanto, a atividade antioxidante será maior.

Os dados obtidos indicam que ambos os extratos apresentam atividade antioxidante moderada, com base na comparação direta entre os valores de IC₅₀ e utilizando, também, os valores de IAA.

4.2.2 Ensaio da inibição da enzima lipase pancreática

Acerca dos valores referentes ao ensaio da inibição da enzima lipase pancreática (Tabela 4), os resultados mostram que os extratos apresentaram notória capacidade inibitória da atividade enzimática, onde a amostra MTCC foi a mais ativa.

Entretanto, a porcentagem de inibição promovida por ambos extratos foi menor do que o controle positivo Orlistat. Por outro lado, a capacidade de inibição do extrato da casca do caule é evidenciada com o valor de IC₅₀ obtido, sendo este bem próximo ao Orlistat.

Na literatura já é relatado que muitos compostos polifenólicos, tais como flavonas, flavonóis, taninos e chalconas são ativos na inibição da enzima lipase pancreática.

Cardullo e colaboradores (2021) investigaram a ação inibitória promovida por três isoflavonas, daidzeína, genisteína e formononetina. A avaliação *in vitro* mostrou que a genisteína apresentou o resultado mais promissor dentre os compostos estudados. Além disso, foi observado, através de estudos de estrutura-atividade, que a posição e o número de grupos hidroxilas presentes nos anéis aromáticos é determinante para a atividade.

Tabela 4 – Inibição da enzima lipase pancreática.

Amostra	Inibição* (%)	IC₅₀ (mg/mL)
MTCC	78,326 ± 0,050	0,386
MTRA	72,989 ± 0,043	0,617
Orlistat	98,310 ± 0,141	0,359

MTRA: Maclura tinctoria raízes; MTCC: Maclura tinctoria cascas do caule

*Expresso como média ± desv.padrão

4.2.3 Ensaio da inibição da enzima α -glicosidase

Os resultados obtidos para os extratos metanólicos de *M. tinctoria* revelaram satisfatória inibição da atividade da enzima α -glicosidase, como mostrado na tabela 5.

A amostra MTRA apresentou maior porcentagem de inibição (93,11%) e o menor valor de IC₅₀ (0,731 mg/mL), em comparação com a amostra MTCC e a acarbose, o que a torna mais eficiente na inibição da atividade enzimática.

Em relação aos valores de inibição do controle positivo, acarbose, é observado que a porcentagem de inibição da atividade enzimática foi bem próxima ao da amostra MTRA, entretanto, o seu valor de IC₅₀ foi 7,3 vezes maior do que os extratos. Esse alto valor de IC₅₀ é justificado pelo fato de que a concentração da acarbose utilizada no ensaio correspondeu a apenas 1,0% da concentração recomendada pela posologia do Glucobay®, que indica o consumo de até 2 comprimidos, de 50 mg cada, 3 vezes ao dia, totalizando uma concentração de 100 mg/mL.

Tabela 5 – Inibição da enzima α -glicosidase

Amostra	Inibição* (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
MTCC	73,710 \pm 0,026	0,852
MTRA	93,110 \pm 0,007	0,731
Acarbose	92,700 \pm 0,019	5,353

MTRA: *Maclura tinctoria* raízes; MTCC: *Maclura tinctoria* cascas do caule

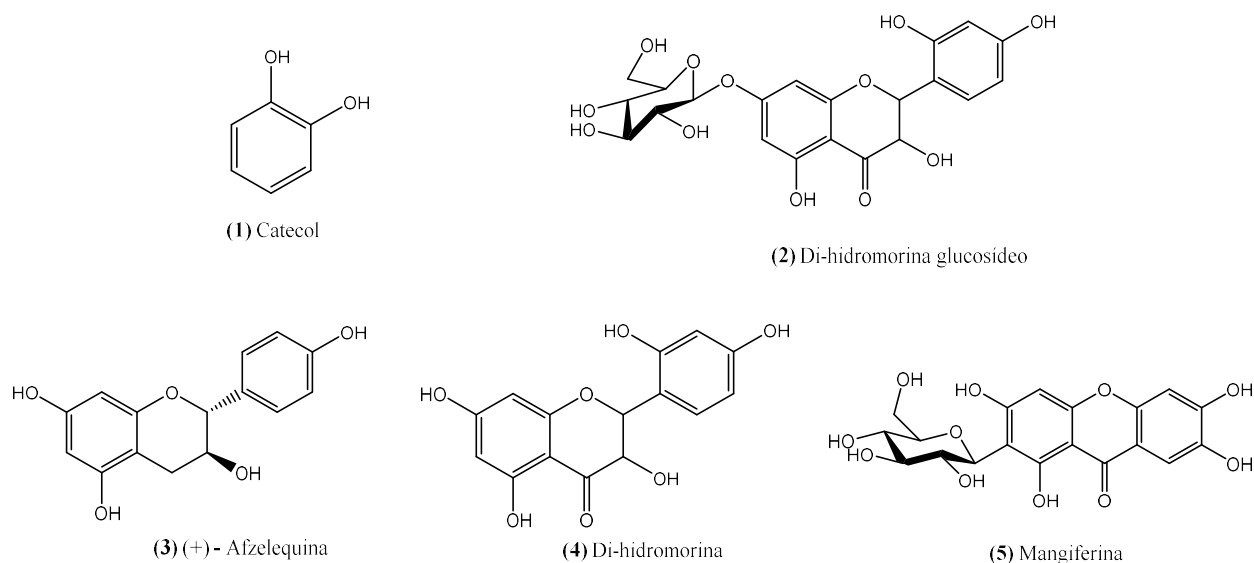
*Expresso como média \pm desv.padrão

4.3 Perfil químico dos extratos metanólicos obtidos por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD).

Os perfis cromatográficos dos extratos metanólicos das raízes e cascas do caule de *Maclura tinctoria* obtidos estão organizados nas figuras 8 e 9, respectivamente.

A análise qualitativa dos extratos foi feita por comparação dos tempos de retenção de padrões analíticos disponíveis na biblioteca de padrões. Com isso, foi possível identificar a presença de flavonóides, di-hidromorina glicosídeo (**2**) e (+) - Afzelequina (**3**), di-hidromorina (**4**) e de xantona, mangiferina (**5**) (Figura 9).

Figura 9 – Compostos polifenólicos identificados nos extratos de *M. tinctoria*.



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 10 – Cromatogramas do extrato metanólico das raízes de *M. tinctoria* obtidos por CLAE-DAD.

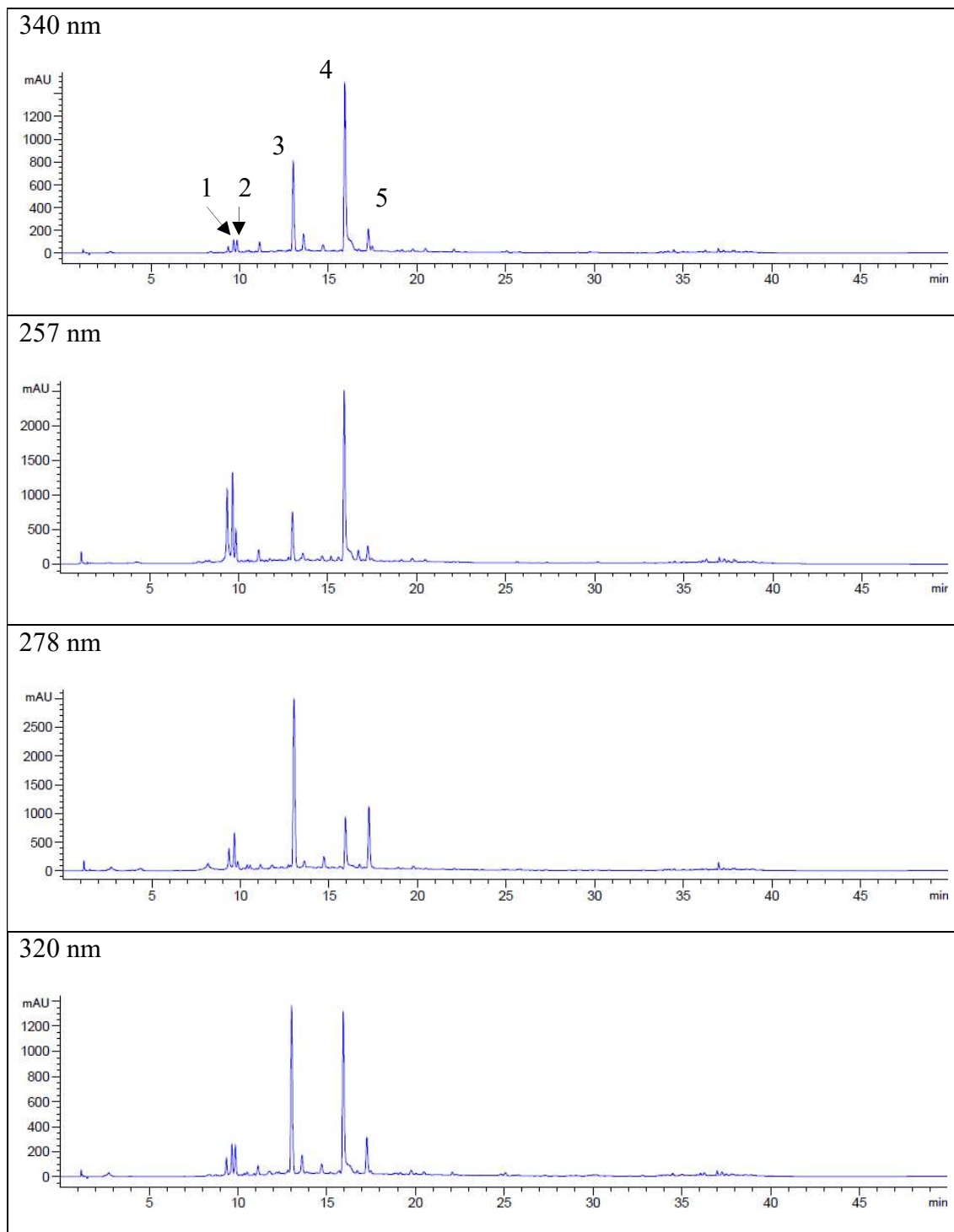
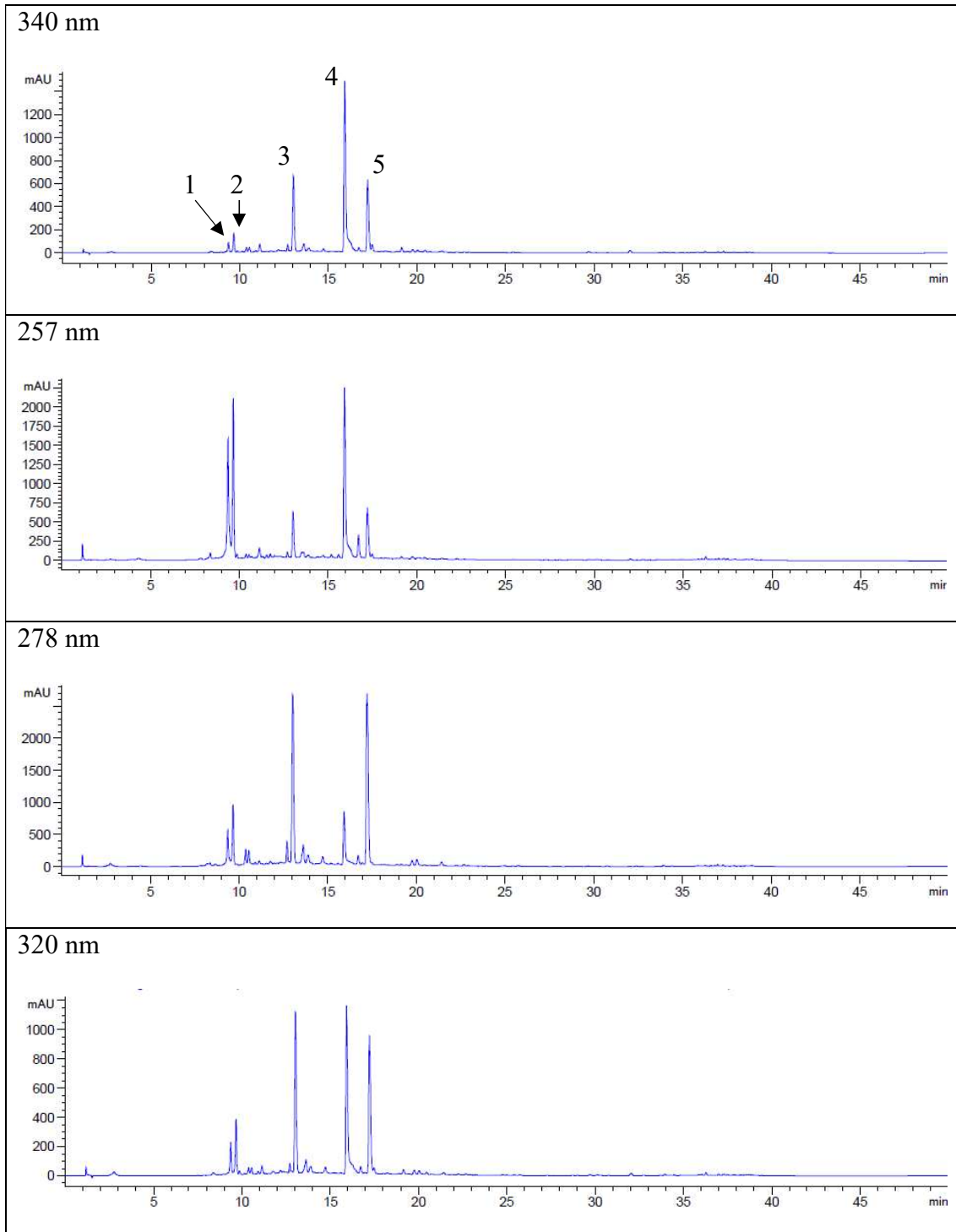


Figura 11 – Cromatogramas do extrato metanólico das cascas do caule de *M. tinctoria* obtidos por CLAE-DAD.



4.4 Quantificação de compostos polifenólicos presentes no extrato metanólico da casca do caule de *Maclura tinctoria*.

A tabela 6 reúne os dados referentes aos compostos polifenólicos presentes no extrato metanólico das cascas do caule de *Maclura tinctoria*, quantificados a partir de curvas-padrão de padrões analíticos autênticos.

Tabela 6 – Compostos polifenólicos identificados e quantificados no extrato metanólico de *M. tinctoria*.

	Composto	Tempo de retenção (min)	Quantidade (g/Kg de extrato)
1	Catecol	9,51	0,493
2	Di-hidromorina glicosídeo	10,00	0,389
3	Di-hidromorina isômero	12,28	9,425
4	Maclurina	12,90	10,904
5	(+)-Afzelequina	13,17	28,283
6	Morina glicosídeo	13,72	9,997
7	3,4-DHBA	13,74	1,599
8	(-)-Epiáfzelequina	14,16	2,574
9	Noratiriol- <i>O</i> -glicosídeo	15,47	7,633
10	Di-hidromorina	16,03	14,912
11	Aromadendrina	18,26	4,478
12	Resveratrol glicosídeo	19,46	2,297
13	Morina/Noratiriol	19,62	112,129
14	Noratiriol	19,77	3,893
15	Steppogenina	20,79	5,256
16	Ácido vanílico	21,13	0,408
17	Naringenina	23,53	2,327
18	Metil-noratiriol	24,07	1,878
19	Kaempferol	24,58	0,507
20	Garcinona	24,67	3,474
21	Noratiriol prenilado	27,17	0,595
22	Di-hidromorina prenilada	29,60	1,647
23	Noratiriol prenilado	34,52	1,040
Total (g/Kg de extrato)			226,138

De acordo com os dados obtidos, é possível observar grande quantidade dos compostos Morina glicosídeo, (+)-Afzelequina, Di-hidromorina e Noratiriol-*O*-glicosídeo.

Na tabela 7 estão organizados os dados referentes a quantificação dos compostos polifenólicos presentes nas frações obtidas por extração em fase sólida (SPE). As frações, após a obtenção, foram purificadas por CLAE semi-preparativa e analisadas por CLAE-IES-EM.

Com base na tabela 7, as amostras **CC25F2**, **CC50F2**, **CC50F3** e **CC50F6** foram selecionadas para a caracterização por espectroscopia de RMN.

4.4.1 Determinação estrutural do composto 1

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 13) da fração CC25F2 mostra 15 átomos de carbono, sendo visível 13 sinais. O sinal em δ_c 27,45 refere-se a um carbono metílico, enquanto que em δ_c 67,42 e 81,42 referem-se a carbonos metilênicos diretamente ligados a um oxigênio. A região do carbono aromático apresenta dois picos intensos, em δ_c 114,65 e 128,20, consistente com um anel *para*-substituído. Quatro sinais são observados na região entre δ_c 155,48 e 156,90, correspondendo a carbonos não hidrogenados aromáticos ligados diretamente a hidroxila (-OH) (Tabela 8).

O espectro de RMN ^1H (Figura 14) revelou dois sinais duplo dubletos em δ_H 2,45 e 2,83 referentes a hidrogênios diastereotópicos. Além disso, observa-se um sinal em δ_H 3,92 (ddd) referente a hidrogênio metínico. Os sinais em δ_H 6,72 e 7,14 referem-se a hidrogênios de carbonos aromáticos, que mostram um padrão de *para*-dissubstituição.

Fazendo-se a comparação com dados espectrais encontrados na literatura (GLENSK, M. *et al.* 2019), concluiu-se que trata-se do composto (+)-Afzelequina (Figura 12).

Figura 12 – Representação estrutural do (+)-Afzelequina

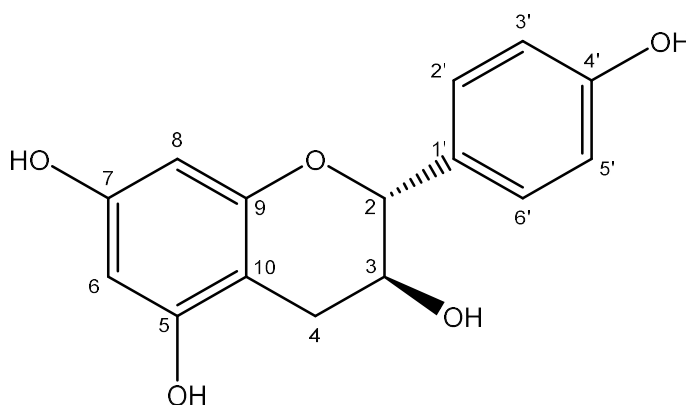


Tabela 7 – Quantificação e pureza de compostos polifenólicos das frações obtidas por SPE do extrato metanólico das cascas do caule de *M. tinctoria*.

Fração	Composto	M.M. (g/mol)	TR (min)	Área do pico (278 nm)	Área do pico (257 nm)	Quantidade (g/Kg extrato)	Pureza (%)	
5%	CC5F1	Di-hidromorina glicosídeo	466	10.00	1279	-	1.5	96
	CC5F2	3,4-DHBA	154	14.26	-	1654	0.7	97
	CC5F3	Cis-Di-hidromorina	304	12.3	2128	-	2.6	32
		Maclurina	262	12.94	4401	-	-	68
	CC5F4	(+)-Afzelequina	274	13.26	1069	-	1.9	91
25%	CC25F1	Cis-Di-hidromorina	304	12.31	13797	-	4.1	82
		Maclurina	262	12.96	2488	-	-	18
	CC25F2	(+)-Afzelequina	274	13.20	6230	-	8.1	80
	CC25F3	Di-hidromorina	304	16.10	34153	-	12.5	99

Tabela 8 – Quantificação e pureza de compostos polifenólicos das frações obtidas por SPE do extrato metanólico das cascas do caule de *M. tinctoria*. (Continuação)

50%	CC50F2	Di-hidromorina	304	16.03	35906	-	9.9	100
	CC50F3	Noratiriol- <i>O</i> -glicosídeo	422	15.55	-	18858	5.7	87
	CC50F4	Resveratrol glicosídeo	390	19.46	-	1174	2.0	55
	CC50F5	Aromadendrina	288	18.25	5691	-	5.6	47
	CC50F6	Morina	302	19.62	-	30976	10.4	95
	CC50F7	Noratiriol	260	20.22	-	19736	2.4	100
	CC50F8	Steppogenina	288	21.37	4085	-	1.3	97
	CC50F9	Naringenina	272	23.53	5700	-	4.8	67

Tabela 9 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC25F2.

Carbono N°	Experimental		Literatura*	
	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)
2R	81.42 (CH, d)	4.53 (d)	82.7	4.56
3S	67.42 (CH, d)	3.92 (ddd)	68.4	3.92
4a	27.45 (CH ₂ , t)	2.45 (dd)	29.2	2.50
4e	-	2.83 (dd)	-	2.91
5	156.28 (C, s)	-	157.8	-
6	95.05 (CH, d)	5.88 (d)	96.2	5.99
7	156.03 (C, s)	-	157.2	-
8	94.3 (CH, d)	5.81 (d)	95.5	5.84
9	155.48 (C, s)	-	157.0	-
10	99.53 (C, s)	-	100.7	-
1'	130.08 (C, s)	-	131.4	-
2'	128.20 (CH, d)	7.14 (d)	129.6	7.22
3'	114.65 (CH, d)	6.72 (d)	115.8	6.79
4'	156.90 (C, s)	-	158.0	-
5'	114.65 (CH, d)	6.72 (d)	115.8	6.79
6'	128.20 (CH, d)	7.14 (d)	129.6	7.22
CD ₃ OD	48.29 (CD ₃)	3.216 (CHD ₂)		
DMSO-d ₆	39.53 (CD ₃)	2.565 (CHD ₂)		
TMS	0.00	0.000		

*GLENSK, M. *et al.* (2019)

s: singleto; d: dubleto;

Figura 13 – Espectro de RMN ^{13}C [150 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC25F2

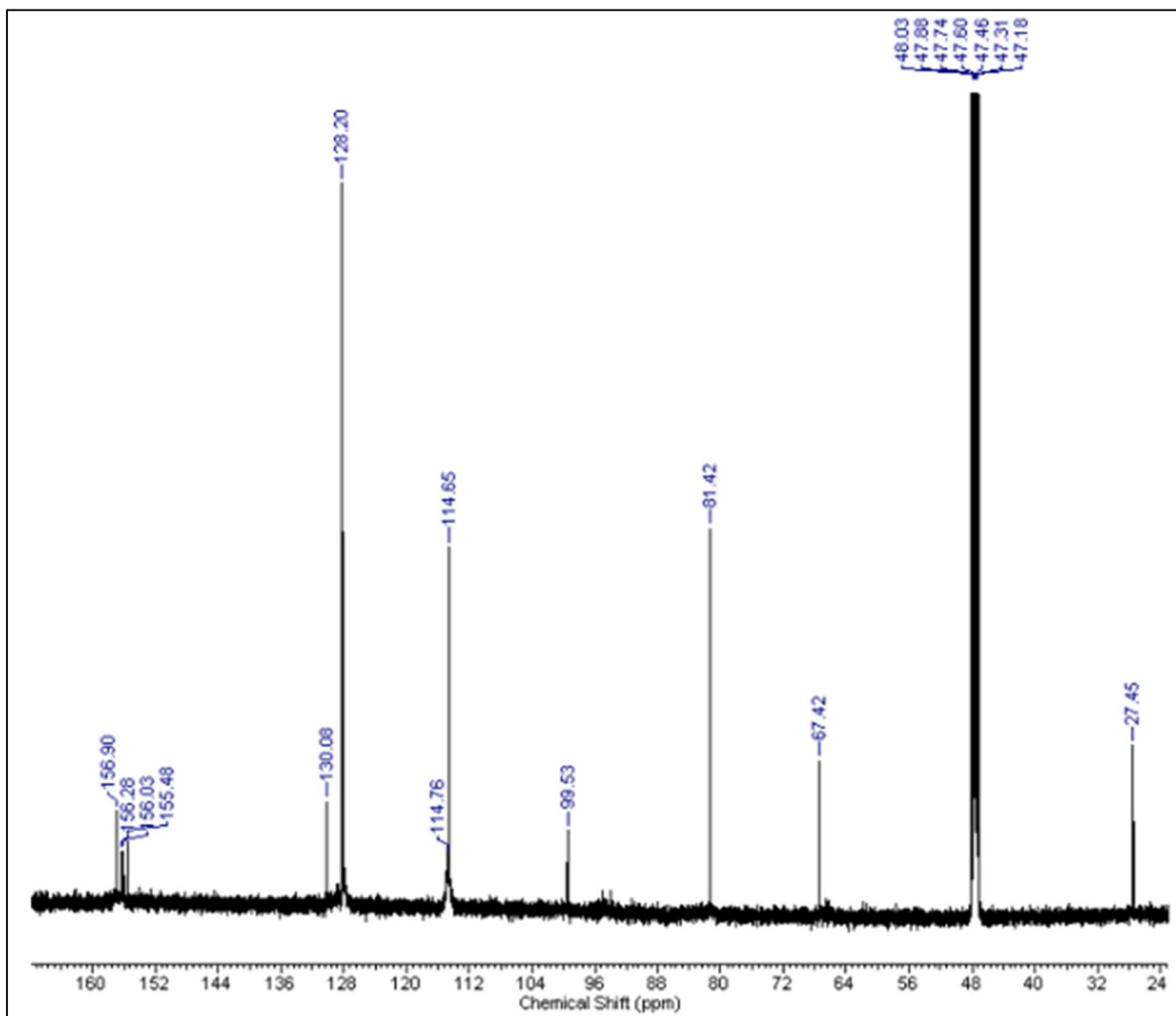
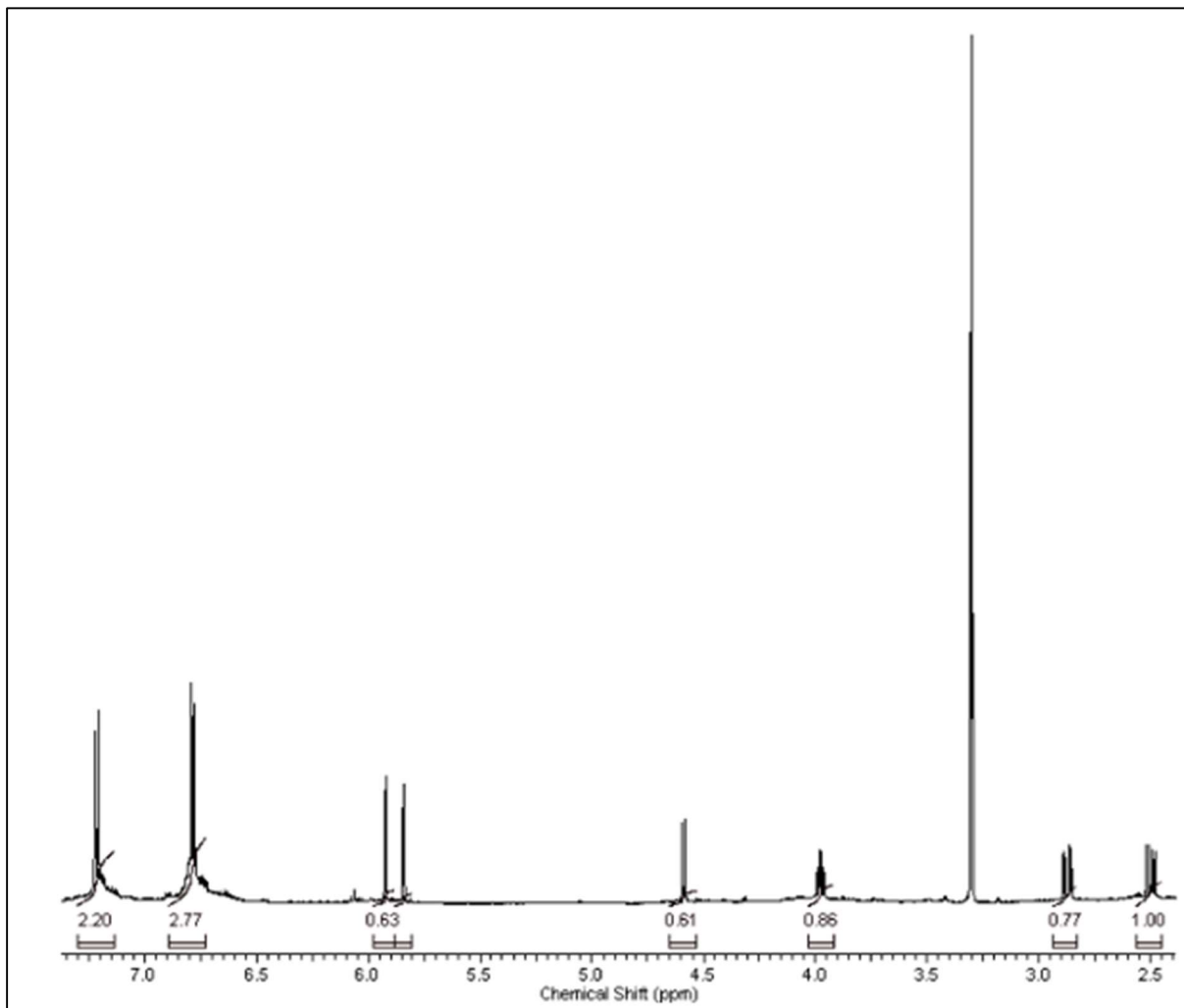


Figura 14 – Espectro de RMN ^1H [600 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC25F2



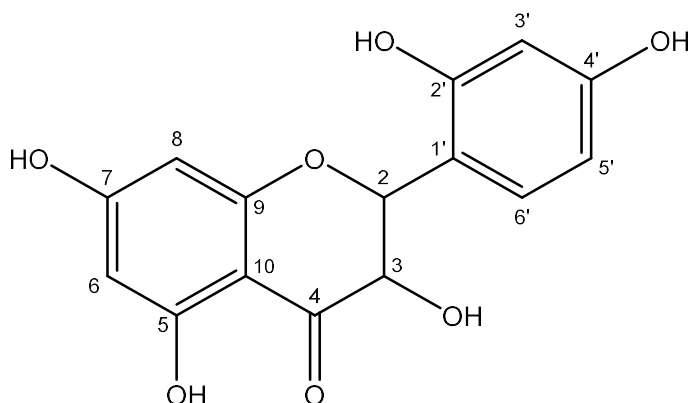
4.4.2 Determinação estrutural do composto 2

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 16) para a fração CC50F2 mostrou 49 sinais espectrais, onde sinais em δ_c 71.08 e 78.60 correspondem a carbonos metínicos (CH) oxigenados. Os sinais em δ_c 94.78, 95.71, 100.48, 106.46 e 129.43 correspondem a carbonos metínicos aromáticos, enquanto que o sinal δ_c 197.52 corresponde a carbono de carbonila (C=O) (Tabela 9).

No espectro de RMN ^1H (Figura 17) são observados dubletos em δ_H 4.79 e 5.38 característicos de hidrogênio de carbono oxigenado. Dois sinais em δ_H 5.87 e 5.90 pertencem a hidrogênios aromáticos com hidroxilas ligados a carbono vicinais, além do sinal em δ_H 7.21 correspondente, também, a hidrogênios aromáticos.

A comparação dos deslocamentos químicos dos espectros de RMN ^{13}C e ^1H com os obtidos da literatura permitiu identificar na fração CC50F2 o composto Di-hidromorina (Figura 15) (ZHENG, *et al.* 2008).

Figura 15 – Representação estrutural do Di-hidromorina



4.4.3 Determinação estrutural do composto 3

O espectro de RMN ^{13}C para a fração CC50F3 apresentou 19 linhas espectrais, sendo que os sinais em δ_c 144.03, 150.96, 151.93, 158.13, 162.99 e 165.28 referem-se a carbonos não hidrogenados com oxigênio ligados diretamente. O sinal em δ_c 179.72 refere-se a um carbono de carbonila. Os sinais em δ_c 69.85, 76.00 e 77.11 e 101.18 referentes a carbonos metínicos oxigenados (-CH-O-) em conjunto com sinais em δ_c 60.99 e 73.21 relacionados a carbonos metilênicos indicam a presença de um glicosídeo (Figura 18).

Em relação ao espectro de RMN ^1H , foram observados dubletos em δ_H 6.16 e 6.30 referentes a hidrogênios aromáticos com carbonos oxigenados vicinais, além disso, dois singletos em δ_H 7.25 e 7.50 pertencentes, também a hidrogênio aromáticos (Figura 17). Um dubleto de dubleto é observado em δ_H 3.74 e 3.96, indicando a presença de hidrogênios diastereotópicos (Figura 19).

A comparação dos deslocamentos químicos da fração CC50F3 com a literatura foi feita usando dados referentes aos compostos Noratiriol e mangiferina (Tabela 10) (SOUZA *et al.* 2020). Com base nos resultados na fração foi identificado o composto Noratiriol-6-O-glicosídeo (Figura 21).

Tabela 9 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F2.

Carbono N°	Experimental		Literatura*	
	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)
2	78.60 (CH,d)	5.38 (d)	80.2	5.37
3	71.08 (CH, d)	4.78 (d)	72.7	4.77
4	197.52 (C, s)		199.1	
5	167.13 (C, s)		168.7	
6	95.71 (CH, d)	5.87 (d)	96.4	5.85
7	163.55 (C, s)		165.1	
8	94.78 (C, d)	5.90 (d)	97.3	5.89
9	163.87 (C, s)		165.5	
10	102.26 (C, s)		102.1	
1'	114.09 (C, s)		115.7	
2'	157.17 (C, d)		158.8	
3'	102.26 (CH, d)	6.34 (sobr.)	103.8	6.34
4'	158.71 (C, s)		160.3	
5'	106.46 (CH, d)	6.34 (sobr.)	108.0	6.34
6'	129.43 (CH, d)	7.21 (d)	131.0	7.20
CD ₃ OD	48.29	3.216 (CHD ₂)		
DMSO-d ₆	39.53	2.565 (CHD ₂)		
TMS	0.00	0.000		

*ZHENG, *et al.* 2008

sobr.: sobreposição; s: singleto; d: dubleto

Figura 16 – Espectro de RMN ^{13}C [150 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F2

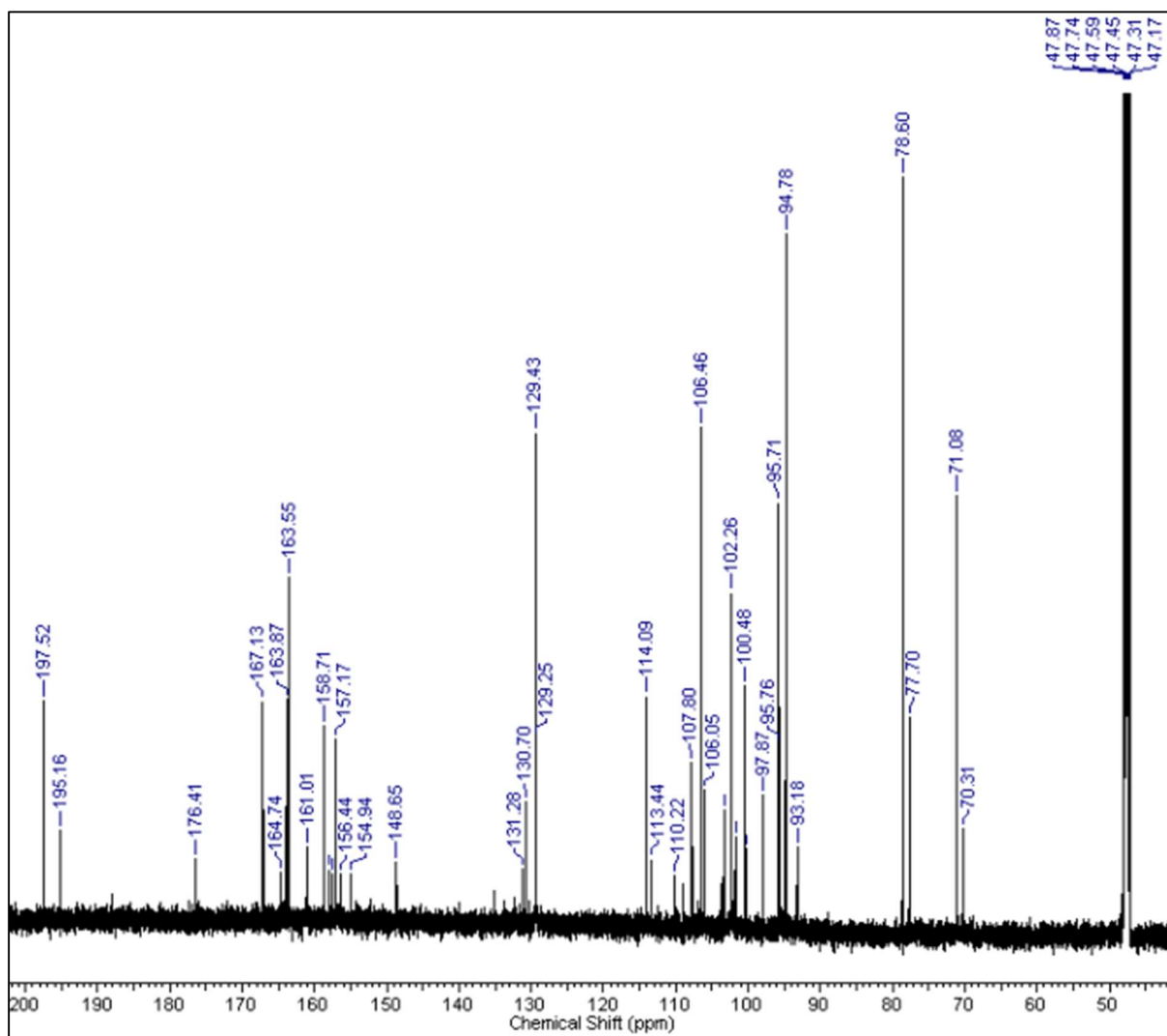


Figura 17 – Espectro de RMN ^1H [600 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F2

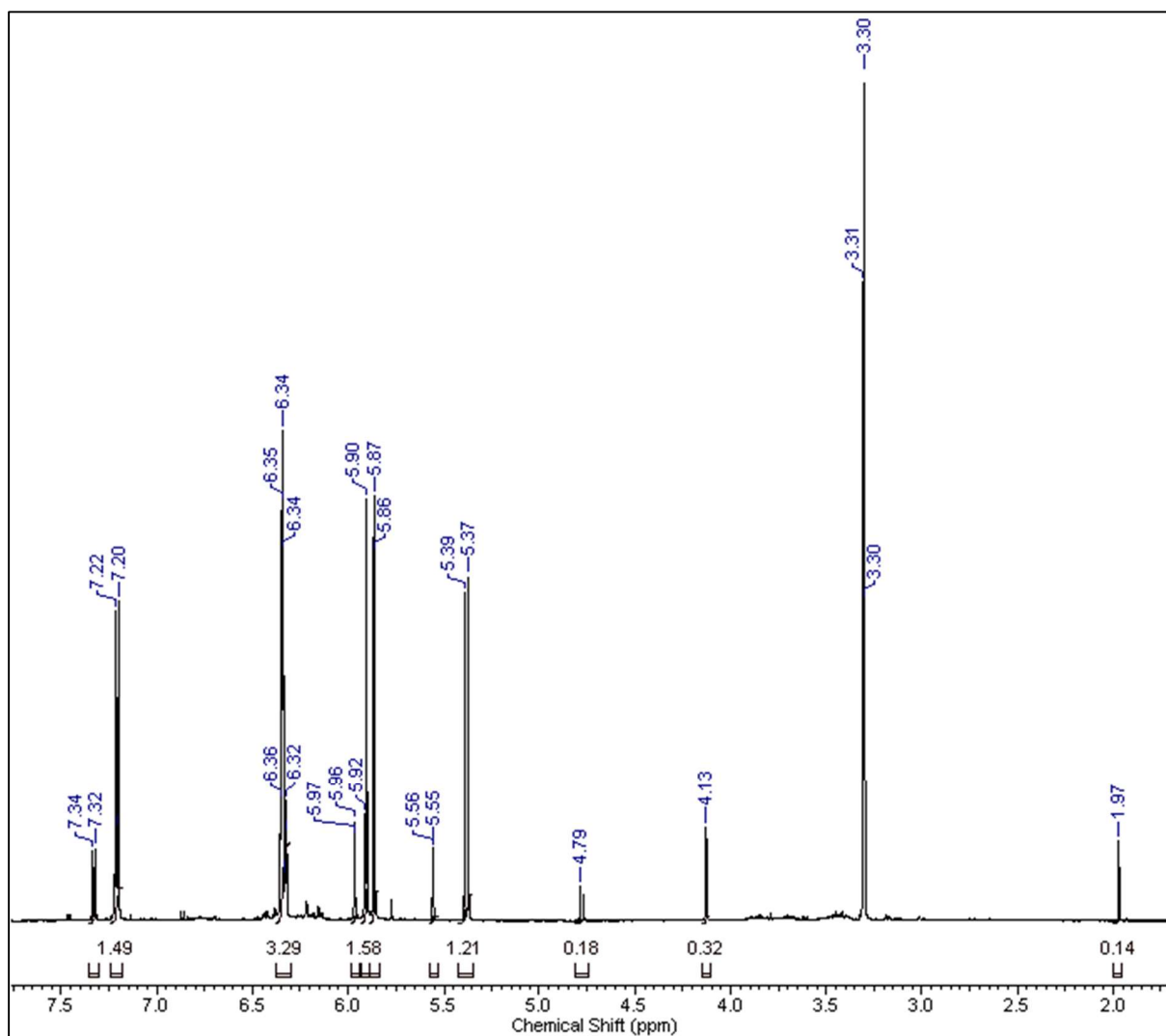


Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C [150 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F3

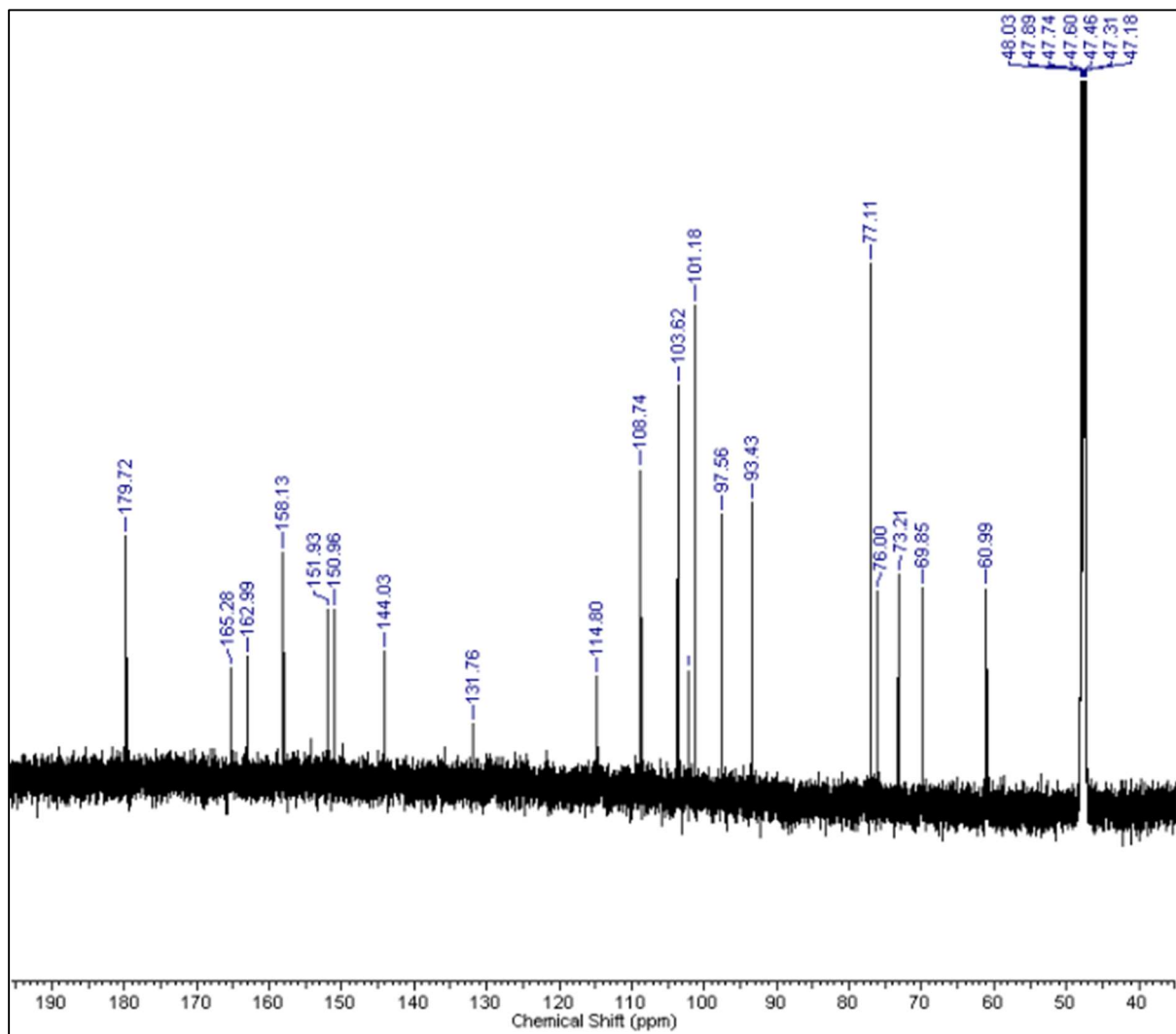


Figura 19 – Espectro de RMN ^1H [600 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F3

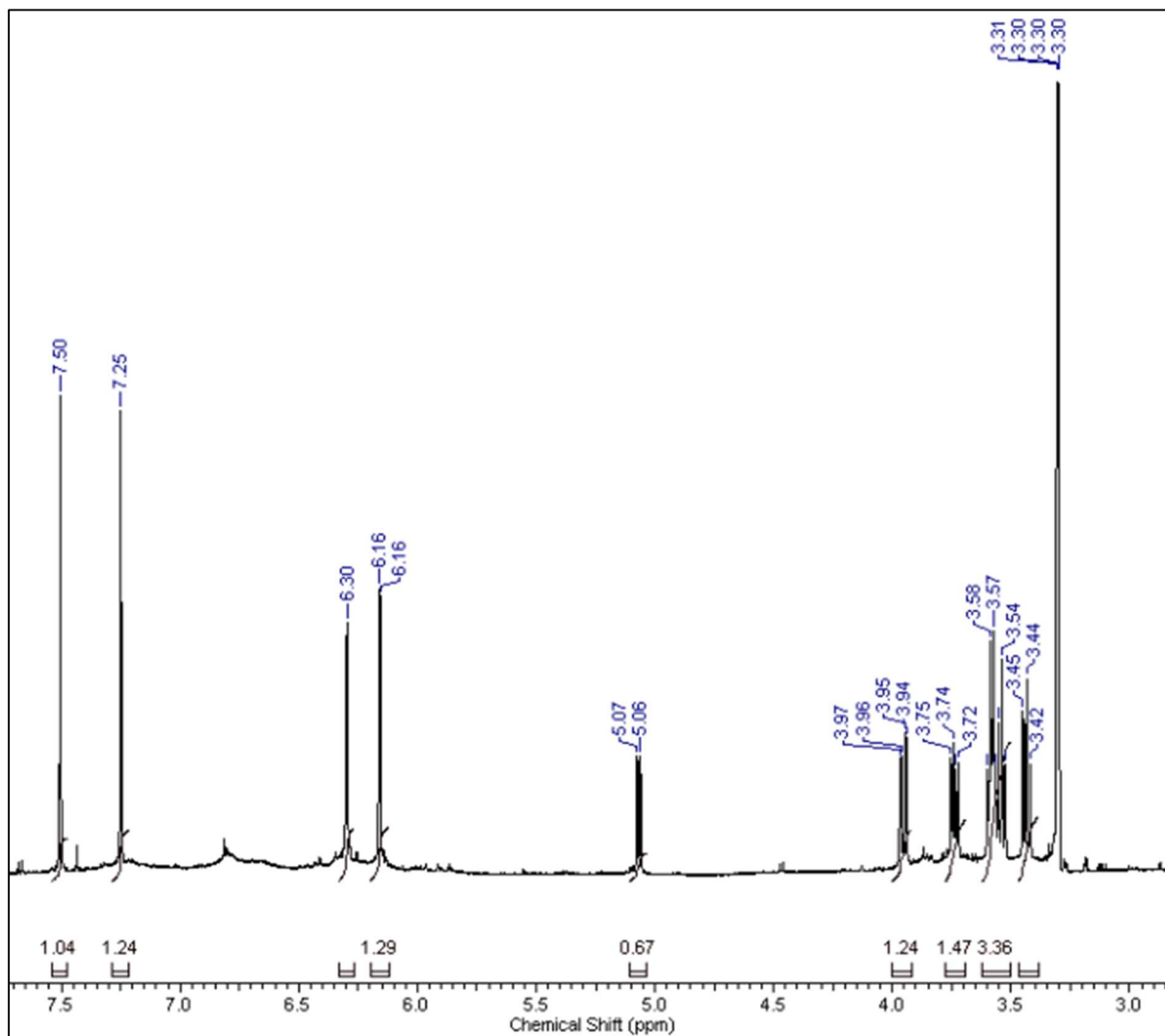


Figura 20 – Ampliação do espectro de RMN ^1H [600 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F3

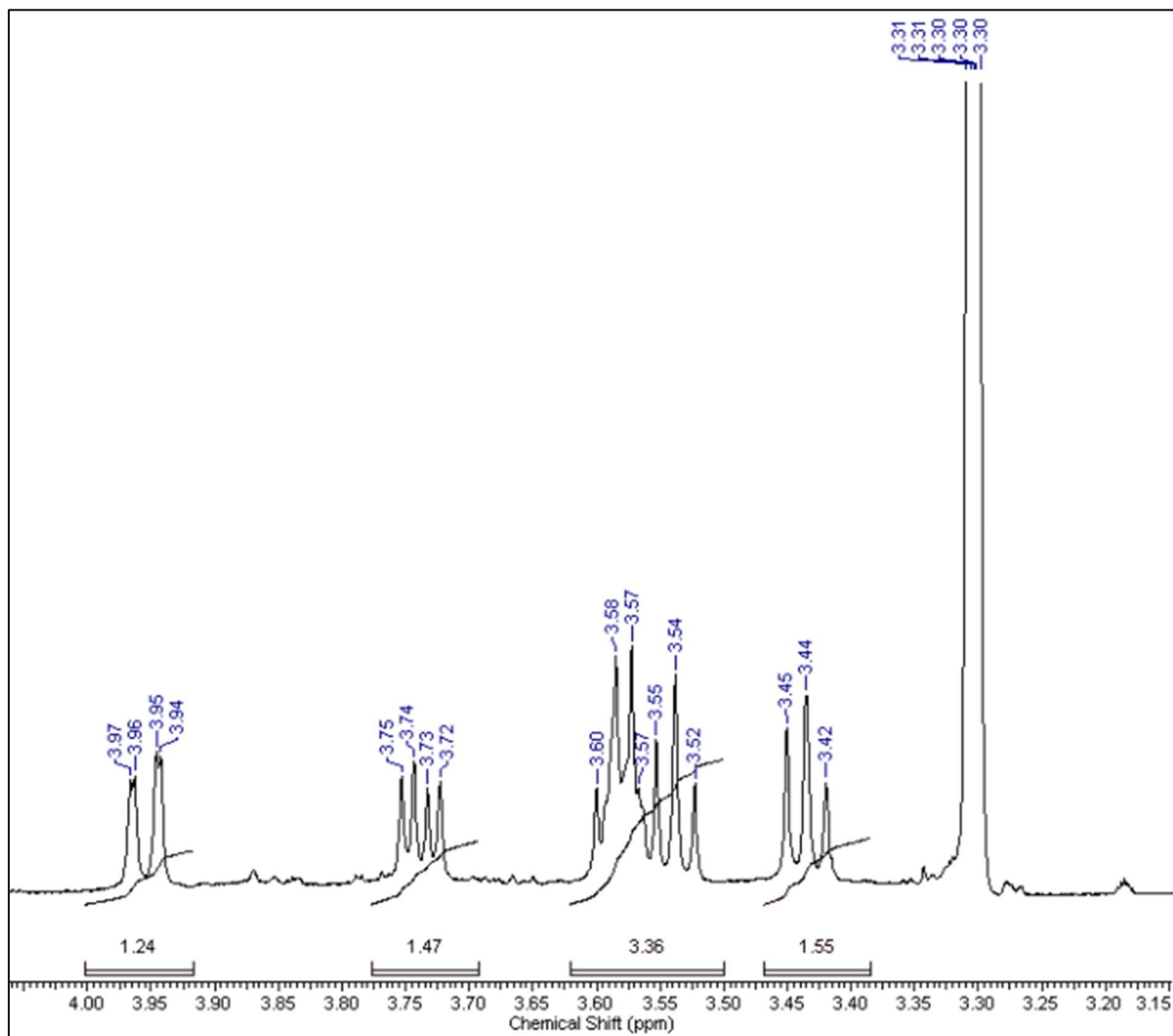
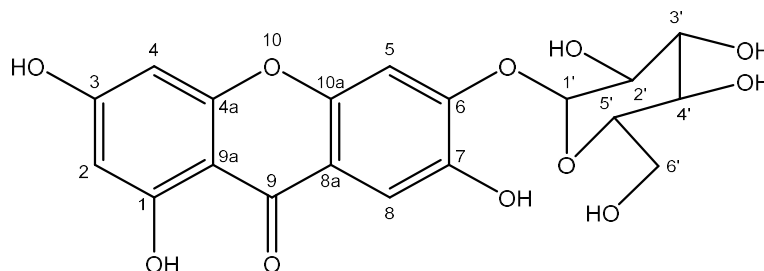


Figura 21 – Representação estrutural do Noratiriol-6-*O*-glicosídeoTabela 10 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F3.

Carbono	Experimental		Noratiriol*		Mangiferina*		HMBC correl. 1H
	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	
1	162.99 (C)		163.61		162.36		H1'
2	97.56 (CH)	6.16 (s)	98.37	6.17 (s)	107.85		H1', H4, H2'
3	165.28 (C)		165.54		164.42		H4', H1'
4	93.43 (CH)	6.30 (s)	94.34	6.32 (s)	94.26	6.392 (s)	
4a	158.13 (C)		158.60		157.51		H4
5	103.62 (CH)	7.25 (d)	103.28	6.85 (s)	103.19	6.868 (s)	H8(4J)
6	150.96 (C)		154.88		154.56		H5, H8(3J)
7	144.03 (C)		144.42		144.26		H5(3J), H8

Tabela 10 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F3. (Continuação)

Carbono	Experimental		Noratiriol		Mangiferina*		
	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	HMBC correl. 1H
8	108.74 (CH)	7.50 (d)	108.79	7.43 (s)	108.81	7.435 (s)	H5(4J)
8a	114.80 (C)		113.05		112.95		H5, H8
9	179.72 (C=O)		180.12		180.18		H4(4J), H5, H8
9a	102.06 (C)		102.69		102.35		H4
10a	151.93 (C)		152.33		151.96		H5, H8(3J)
1'	101.18 (CH)	5.06 (d)			74.25	4.784 (d, J = 9.8 Hz, H2')	H2', H4
2'	73.21 (CH)	3.52-3.60 (m)			71.48	4.007 (dd, J = 8.2 Hz, H3')	H1'
3'	76.00 (CH)				79.53	3.342 (dd, J = 9.2 Hz, H4')	H1', H5', H2'
4'	69.85 (CH)	3.54 (t)			71.19	3.308 (m)	H6'b, H3'

Tabela 10 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F3. (Continuação)

Carbono	Experimental		Noratiriol*		Mangiferina*		
	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	^{13}C δ (ppm)	^1H δ (ppm)	HMBC correl. ^1H
5'	77.11 (CH)	3.44 (t)			82.07	3.301 (m)	H1', H6'a, H4'
6'a	60.99 (CH ₂)	3.74 (dd)			62.13	3.576 (dd, J = 5.0, H5')	
6'b		3.96 (dd)				3.770 (dd, J = 1.2 Hz, H5')	
.	48.29 (CD ₃)	3.216 (CHD ₂)					
DMSO-d ₆	39.53 (CD ₃)	2.565 (CHD ₂)					
TMS	0.00	0.000					

*SOUZA *et al.* 2020

s: singleto; d: dubleto; t: tripleto; m: multipleto

 J : constante de acoplamento

4.4.4 Determinação estrutural do composto 4

O espectro de RMN ^1H da fração CC50F6 (Figura 22) apresentou sinais em δ_{H} 6.18, 6.33 e 6.44 referentes a hidrogênios aromáticos com acoplamento *meta* e com carbonos oxigenados vicinais. O duplete em δ_{H} 7.43 indica hidrogênios aromáticos, porém com acoplamento *orto*.

Através da comparação dos dados de RMN ^1H da literatura (WOŹNICKA *et al.* 2017) com os obtidos experimentalmente, foi possível afirmar na fração CC50F6 o composto morina (Figura 23).

Figura 22 – Espectro de RMN ^1H [600 MHz, DMSO- d_6 /CD $_3$ OD (1:0,63)] em 303 K de CC50F6

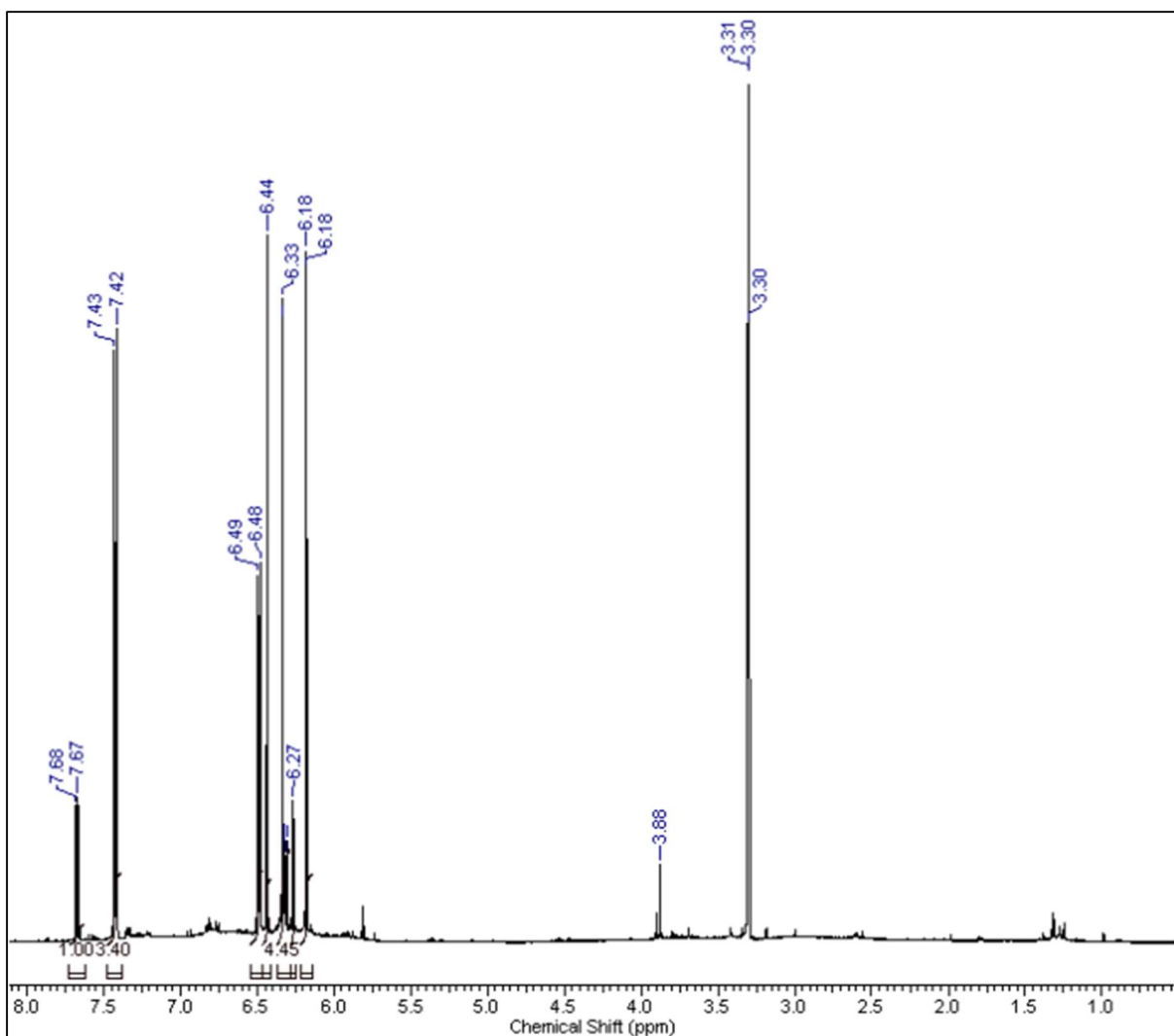
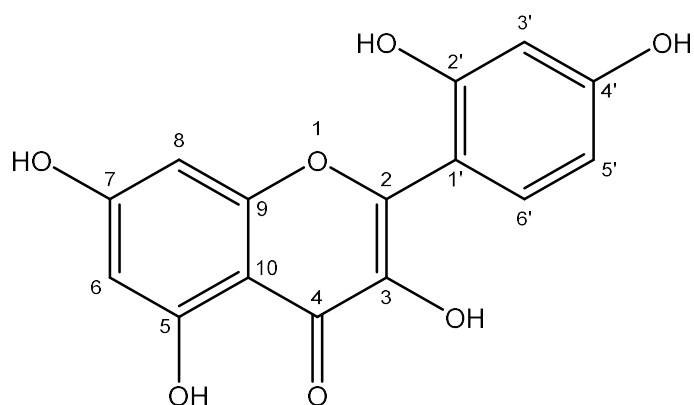


Figura 23 – Representação estrutural da Morina

Tabela 11 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CC50F6

Carbono N $^\circ$	Experimental	Literatura*
	^1H δ (ppm)	^1H δ (ppm)
2		
3		
4		
4a		
5		
6	6.18 (d)	6.19
7		
8	6.34 (d)	6.41
8a		
1'		
2'		
3'	6.44 (d)	6.31
4'		
5'	6.48 (d)	6.37
6'	7.43 (d)	7.25

CD ₃ OD	3.216 (CHD ₂)
DMSO-d ₆	2.565 (CHD ₂)
TMS	0.000

*WOŹNICKA *et al.* 2017

d: dubleto

5 CONCLUSÃO

A espécie *Maclura tinctoria*, apesar de ser amplamente utilizada na construção civil e na indústria têxtil, é pouca estudada no que diz respeito à sua composição química e atividades biológicas. Nesse trabalho, o extrato metanólico das raízes e cascas do caule foram avaliados quanto à atividade antioxidante e ação como inibidores enzimáticos.

A avaliação biológica dos extratos de *Maclura tinctoria* revelou que ambos os extratos apresentam capacidade antioxidante moderada pelo método DPPH, quando comparados aos padrões quercetina, rutina e BHT.

No que diz respeito aos ensaios de inibição enzimática, os extratos apresentaram-se promissores. O extrato metanólico da raiz apresentou potencial como agente antidiabético, com a melhor porcentagem de inibição (93%) da atividade da enzima α -glicosidase em comparação ao extrato da casca do caule e o padrão positivo Acarbose.

Por sua vez, o extrato metanólico da casca do caule apresentou porcentagem de inibição da enzima lipase pancreática (78,326 %) ligeiramente maior do que o extrato da raiz (72,989 %). Esse resultado é evidenciado, também, pelo seu valor de IC₅₀ (0,386 mg/mL) próximo ao do controle positivo Orlistat (0,359 mg/mL).

Diante desses resultados, pode-se afirmar a potencialidade dos extratos quanto à inibição enzimática. Esses resultados mostram que a espécie *Maclura tinctoria* pode ser um objeto de estudo motivador na área de produtos naturais, visando, futuramente, a produção de fitoterápicos antidiabéticos ou como agente antiobesidade.

A análise cromatográfica do extrato da casca do caule de *Maclura tinctoria* possibilitou a quantificação de compostos polifenólicos, onde foram isolados e caracterizados os compostos Morina, Di-hidromorina (+)-Afzelequina e Noratiriol-6-*O*-glicosídeo, sendo os dois últimos compostos conhecidos, porém inéditos na espécie. A presença de tais compostos nos extratos pode justificar as atividades biológicas avaliadas nesse trabalho. O sinergismo entre os compostos presentes nessa matriz complexa pode aumentar ou diminuir a ação biológica, sendo necessário maiores estudos relacionados à esse tema.

Conclui-se, portanto, que a espécie *Maclura tinctoria* mostra-se uma promissora fonte de compostos bioativos que podem ser percussores de fármacos ou fitoterápicos. Entretanto, torna-se necessário estudos mais amplos e a maior expansão da sua aplicação em outros setores tecnológicos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. *et al.* Prenylated flavonoid-enriched fraction from *Maclura tinctoria* shows biological activity against *Staphylococcus aureus* and protects *Galleria mellonella* larvae from bacterial infection. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 1-12, 2019. DOI: 10.1186/s12906-019-2600-y.
- ALVARO, M. R.; ALEJANDRA, H. H.; ANTONIO, D. C. In vitro Antibacterial Activity of *Maclura tinctoria* and *Azadirachta indica* against *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. **Journal of Pharmaceutical Research International**, [s.l.], p. 291-298, 2015. DOI: 10.9734/BJPR/2015/18308
- BIRARI, R. B.; BHUTANI, K. K. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. **Drug Discovery Today**, [s.l.], v. 12, n. 19-20, p. 879-889, 2007. DOI: 10.1016/j.drudis.2007.07.024
- CARDULLO, Nunzio *et al.* Natural Isoflavones and Semisynthetic Derivatives as Pancreatic Lipase Inhibitors. **Journal of Natural Products**, [s.l.], v. 84, n. 3, p. 654-665, 2021. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.0c01387
- CIOFFI, G. *et al.* Antioxidant Chalcone Glycosides and Flavanones from *Maclura (Chlorophora) tinctoria*. **Journal of Natural Products**, [s.l.], v. 66, n. 8, p. 1061-1064, 2003. DOI: 10.1021/np030127c
- DINO. Lista de plantas medicinais autorizadas pela Anvisa e usadas no SUS. **Estadão**, São Paulo, 14 jun. 2019. Disponível em: <http://patrocinados.estadao.com.br/medialab/projeto-navas/release-geral-lista-de-plantas-medicinais-autorizadas-pela-anvisa-e-usadas-no-sus/>. Acesso em: 25 abr. 2021
- EL-SOHLY, H. N. *et al.* Antifungal chalcones from *Maclura tinctoria*. **Planta Medica**, [s.l.], v. 67, n. 01, p. 87-89, 2001.
- EL-SOHLY, H. N. *et al.* Flavonoids from *Maclura tinctoria*. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 52, n. 1, p. 141-145, 1999.
- GLEŃSK, Michał *et al.* Isolation and structural determination of flavan-3-ol derivatives from the *Polypodium vulgare* L. rhizomes water extract. **Natural Product Research**, [s.l.], v. 35, n. 9, p. 1474-1483, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1655302>
- GROWEISS, A.; CARDELLINA, J. H.; BOYD, M. R. HIV-Inhibitory Prenylated Xanthenes and Flavones from *Maclura tinctoria*. **Journal of Natural Products**, [s.l.], v. 63, n. 11, p. 1537-1539, 2000. DOI: 10.1021/np000175m
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Diabetes Atlas 2019**. 2021. Disponível em: <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/individual-social-and-economic-impact.html>. Acesso em: 25 abr. 2021
- JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora do Brasil 2020**. Rio de Janeiro. 2021. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 25 abr. 2021

JUDD, W. S. *et al.* **Plant Systematics - A Phylogenetic Approach**. 3 ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2008. p. 392.

LAMOUNIER, K. C. **Estudo dos polifenóis, atividade antioxidante e antimicrobiana da madeira e casca de *Maclura tinctoria* (L .) D . Don ex Steud .** 2010. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

LORENZI, H. **Arvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa - SP: Plantarum, 1992. p. 251.

MENGUE, P.; FELIX, P. SP amplia uso de planta medicinal e distribui 6,7 milhões de fitoterápicos. **Estadão**, São Paulo, 20 de jan. 2020. Caderno Saúde. Disponível em: <https://saude.estadao.com.br/noticias/geral,sao-paulo-distribui-6-7-milhoes-de-fitoterapicos,70003165326>. Acesso em: 30 abr. 2021.

OYAMA, S. O. *et al.* Prenylated flavonoids from *Maclura tinctoria* fruits. **Química Nova**, [s.l.], v. 36, n. 6, p. 800–802, 2013.

PEREIRA, Geraldo M. **Moraceae: *Maclura tinctoria***. 2020. 3 fotografias digitais, formato jpeg. Disponível em: <https://floradobrasilemimagens.com.br/moraceae-maclura-tinctoria/>. Acesso em: 30 abr. 2021.

PIRES, Janaína *et al.* Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, p. 6, 2017. ISBN 978-85-85658-71-7

RANG, H. P. *et al.* **Farmacologia**. [s.l.], 8 ed. 2011. Cap. 31 e 32

SANTOS, M. G.; CARVALHO, A. C. B. Plantas medicinais: *saberes tradicionais e o sistema de saúde*. In: SANTOS, M. G.; QUINTERO, M. (org.). **Saberes tradicionais e locais: reflexões etnobiológicas**. Rio de Janeiro: EDUERJ, 2018. *E-book*. p.73. ISBN: 978-85-7511-485-8. DOI: <https://doi.org/10.7476/9788575114858>.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 112, n. 3, p. 654–658, 2009.

SHINDE, Jayantrao *et al.* α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto–Kakizaki (GK) rats. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 343, n. 7, p. 1278-1281, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2008.03.003>

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Florianópolis: UFRGS, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. **IBGE: Obesidade mais que dobra no país**. 15 abr. 2021. Disponível em: <https://www.endocrino.org.br/ibge-obesidade-mais-que-dobra-no-pais/>. Acesso em: 30 abr. 2021.

SOUZA, J. R. R. *et al.* Transformation of mangiferin to norathyriol by human fecal matrix in anaerobic conditions: comprehensive NMR of the xanthone metabolites, antioxidant capacity,

and comparative cytotoxicity against cancer cell lines. **Natural Product Communications**, [s.l.], v. 15, n. 3, p. 1-9, 2020. DOI: 10.1177/1934578X20910286

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química nova**, [s.l.], v. 28, p. 519-528, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>.

WHALEN, K.; FINKEL, R.; PANAVELIL, T. A. **Farmacologia Ilustrada**. 6ª Edição. Artmed Editora, 2016. Cap. 25 e 28

WOŹNICKA, Elżbieta *et al.* Synthesis, characterization and antibacterial studies of Tm (III), Yb (III) and Lu (III) complexes of morin. **Journal of Coordination Chemistry**, [s.l.], v. 70, n. 8, p. 1451-1463, 2017. DOI: 10.1080/00958972.2017.1291935

YEPEZ, B. *et al.* Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. **Fluid Phase Equilibria**, [s.l.], v. 194, p. 879-884, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-3812\(01\)00707-5](https://doi.org/10.1016/S0378-3812(01)00707-5).

ZAID, A. N.; ZAGHAL, E. Z.; JARADAT, N. Anti-lipase activity for *Portulaca oleracea*, *Urtica urens*, *Brassica napus* and *Lathyrus hierosolymitanus* wild plants from Palestine. **Marmara Pharmaceutical Journal**, [s.l.], v. 21, n. 4, p. 828–836, 2017. DOI: 10.12991/mpj.2017.9

ZHENG, Zong-Ping *et al.* Isolation of tyrosinase inhibitors from *Artocarpus heterophyllus* and use of its extract as antibrowning agent. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s.l.], v. 52, n. 12, p. 1530-1538, 2008. DOI: 10.1002/mnfr.200700481