



**ANDERSON DIAS DE CARVALHO**

**EXTRATOS DE NOZ DA ÍNDIA (*ALEURITES MOLUCCANA*):  
INIBIÇÃO DE ENZIMAS DIGESTIVAS**

**LAVRAS-MG**

**2019**

**ANDERSON DIAS DE CARVALHO**

**EXTRATOS DE NOZ DA ÍNDIA (*ALEURITES MOLUCCANA*): INIBIÇÃO DE ENZIMAS  
DIGESTIVAS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de bacharel.

Prof. Dr. Chrystian Araújo Pereira

Orientador

Prof. Dra. Luciana Lopes Silva Pereira

Co-Orientadora

**LAVRAS-MG**

**2019**

**ANDERSON DIAS DE CARVALHO**

**EXTRATOS DE NOZ DA ÍNDIA (*ALEURITES MOLUCCANA*): INIBIÇÃO DE ENZIMAS  
DIGESTIVAS**

**CANDLENUT (*ALEURITES MOLUCCANA*) EXTRACTS: INHIBITION OF DIGESTIVE  
ENZYMES**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de bacharel.

APROVADO em 05 de julho de 2019.  
Dra. Luciana Lopes Silva Pereira  
MSc. Marcus Vinicius Cardoso Trento

Prof. Dr. Chrystian Araújo Pereira  
Orientador

**LAVRAS-MG**  
**2019**

## AGRADECIMENTOS

Escuto com bastante frequência que estou apenas no início da vida, que tenho um longo caminho a percorrer e que essa é apenas mais uma etapa. Sendo assim, venho por meio deste prestar meus mais profundos agradecimentos a todos que participaram e me direcionaram para essa trajetória.

Primeiramente agradeço a Deus, por me permitir fazer parte deste incrivelmente rico e extraordinário universo e habitar esse pequeno pontinho azul chamado Terra, repleto de seres fantásticos e uma beleza natural exuberante. Em segundo lugar agradeço aos meus pais Geraldo e Ândria pelo suporte e educação que me deram, tornando possível essa conquista. Aos meus irmãos André e Geovane que me ajudaram de várias maneiras. Agradeço as incontáveis amizades que fiz ao longo do caminho, em especial Maria, Jean, Laís, Kevin, Mateus (vulgo plebiscito), Hallen (vulgo moita), Caio Eduardo, Fábio, Marcus (vulgo marcu véio), Isabella e Suelba. Amizades que compartilhei os melhores e os piores momentos da vida acadêmica e que levarei comigo para o resto da vida. Tenho um apreço enorme também pelo núcleo de estudos (Neodia), no qual aprendi muito, com pessoas incríveis, cheias de vontade em ajudar e a fazer diferença, mesmo em pequenos atos como mostrar a uma criança a importância de ingerir uma simples fruta. Apesar de ter um imenso apreço por todos no núcleo, há sempre aquelas pessoas especiais das quais nos identificamos e nos tornamos mais próximos, no meu caso tive a felicidade em conhecer duas incríveis pessoas, Evelyn e Antônio. Obrigado por me deixar conhece-los.

Gostaria de agradecer também a todos os meus familiares que estiveram presentes em minha vida, sempre me apoiando e incentivando. Em especial meu primo Álvaro Chelone com o qual tive o prazer de compartilhar as alegrias e tristezas que a vida nos proporcionou e continua nos proporcionando. Agradeço também as outras pessoas que de alguma forma participaram da minha vida, saibam que tenho profundo respeito e gratidão por todos vocês e só não estão listados por nome, pois não haveria espaço suficiente para agradece-los e por isso peço que me perdoem. Mas tenham certeza de que não passaram despercebidos por mim.

Por fim agradeço a todos os professores que me instruíram ao decorrer desses longos anos, em especial a professora Luciana e o professor Chrystian, que se dispuseram a me ensinar e orientar durante minha jornada acadêmica dentro da universidade apesar dos meus incontáveis atrasos nas entregas dos resultados. Saibam que levarei tudo que aprendi com vocês pelo resto da vida, por isso dirijo a vocês meus mais profundos e sinceros agradecimentos, OBRIGADO!

## RESUMO

O diabetes mellitus e a obesidade vem ganhando destaque nas últimas décadas devido ao seu crescente aumento no número de ocorrências. Atualmente, 425 milhões de pessoas no mundo têm diabetes, já a obesidade possui números ainda maiores, segundo estimativa feita pela OMS em 2016, cerca de 1,9 bilhões de pessoas estavam com excesso de peso, sendo que mais de 650 milhões eram obesos. Devido a isso a prospecção de novos medicamentos e auxiliares no tratamento tanto do diabetes quanto da obesidade, tem sido alvo de diversas pesquisas nos últimos anos. Nesse contexto, a Noz da Índia (*Aleurites moluccana*) vem ganhando destaque por seu suposto efeito emagrecedor e hipoglicemiante. Portanto, objetivou-se avaliar o potencial inibitório desta noz sobre enzimas digestivas, antes e após simulação com fluido gástrico. Amostras de Noz da Índia foram pesadas, raladas, solubilizadas em água na proporção 1:1 (p/v) e depois filtradas em tecido organza. A atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase e tripsina foram determinadas segundo as metodologias propostas por Noelting & Bernfeld (1948), Kwon et al. (2006) e por Erlanger (1961) respectivamente. A inibição das enzimas foi obtida a partir da determinação das inclinações das retas (absorbância x tempo) dos ensaios de atividade da enzima controle (sem amostra) e enzima + inibidor (com amostra). Posteriormente foram realizados ensaios simulando condições fisiológicas, utilizando fluido gástrico simulado, para verificar se o extrato de Noz da Índia sofreria alguma alteração. Os resultados mostraram que dentre as enzimas estudadas, apenas a  $\alpha$ -amilase sofreu inibição por Noz da Índia. Entretanto, o potencial inibitório da noz sobre a enzima sofreu alteração em contato ao fluido gástrico, mas permaneceu dentro da faixa considerada ideal pela literatura. A presença dessa atividade inibitória poderia explicar, portanto, parte do efeito emagrecedor e hipoglicemiante aos quais tem sido associada. No entanto, é de extrema relevância a obtenção de maiores estudos relacionados à eficácia e segurança no uso dos extratos de Noz da Índia.

**Palavras-chave:** diabetes, obesidade, fitoterápicos.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Caracterização do problema</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1.1</b>	<b>Obesidade</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Diabetes Mellitus</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2</b>	<b>Fitoterapia</b> .....	<b>11</b>
<b>3.3</b>	<b>Caracterização da Noz da Índia (<i>Aleurites Moluccana</i>)</b> .....	<b>12</b>
<b>3.4</b>	<b>Inibidores de enzimas digestivas</b> .....	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
<b>4.1</b>	<b>Local do experimento</b> .....	<b>14</b>
<b>4.2</b>	<b>Obtenção da amostra de Noz da Índia (<i>Aleurites moluccana</i>) e preparo dos extratos</b> ..	<b>14</b>
<b>4.3</b>	<b>Obtenção das enzimas</b> .....	<b>14</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Atividade das enzimas digestiva digestivas</b> .....	<b>14</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Atividade da <math>\alpha</math>-amilase</b> .....	<b>14</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Atividade da <math>\alpha</math>-glicosidase</b> .....	<b>15</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Atividade da tripsina</b> .....	<b>15</b>
<b>4.4</b>	<b>Determinação da inibição</b> .....	<b>15</b>
<b>4.5</b>	<b>Preparo do fluido gástrico</b> .....	<b>16</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>23</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Anualmente milhões de pessoas são assoladas por diversas doenças. Dentre essas encontram-se o diabetes mellitus e a obesidade, que vem ganhando destaque nas últimas décadas devido ao seu crescente aumento.

A obesidade é definida pela Organização mundial da Saúde (OMS) como sendo uma condição crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura. É pontuada também como sendo um fator de risco para diversas outras doenças como, hipertensão, diabetes mellitus tipo 2, doenças respiratórias, distúrbios do sono, doenças hepáticas e problemas psicológicos como baixa autoestima e depressão (WHO, 2018).

O diabetes mellitus tipo 2 é uma doença metabólica que se caracteriza por uma hiperglicemia crônica, resultante da ação deficitária da insulina. Esse tipo de diabetes tem sido identificado como um dos problemas de saúde pública de elevada magnitude (VIVEIROS et al., 2015). Segundo a Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e síndrome metabólica (ABESO), mais de 50% dos brasileiros estão acima do peso, ou seja, na faixa do sobre peso e obesidade.

Diante do crescente aumento da prevalência do diabetes e outras doenças crônicas, a procura por compostos fitoterápicos e alimentos que auxiliam na prevenção e tratamento dessas comorbidades associadas a obesidade, tem se tornado cada vez mais frequentes.

A utilização de plantas medicinais no tratamento de várias doenças ocorre há milhares de anos. As civilizações antigas conheciam o poder medicinal de algumas plantas, porém, com o passar dos anos e o advento da medicina este tipo de conhecimento passou a ser desvalorizado pelos profissionais da saúde, que começaram a focar no tratamento alopático. Atualmente, no entanto, a ciência e as políticas de saúde tem buscado restabelecer o uso de plantas medicinais pela população através da elaboração da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos em 2006 (FEIJÓ et al., 2012).

Devido a facilidade de acesso da população às plantas e aos fitoterápicos, a crença de que o medicamento natural é inofensivo e também por ser uma alternativa mais econômica, acabam por estimular o consumo desse tipo de tratamento (GELATTI; OLIVEIRA; COLET, 2016).

Na busca por esses tratamentos alternativos e adjuvantes, diversas pesquisas relacionadas a inibição de enzimas digestivas por meio de compostos presentes em determinados alimentos, tem sido conduzidas. Vários estudos têm demonstrado a eficácia do

uso de inibidores de enzimas digestivas no tratamento da obesidade e comorbidades associadas, e reforçam a necessidade da busca por novas fontes desses inibidores (PEREIRA et al., 2011).

Nesse contexto, recentemente tem ganhado bastante publicidade a utilização da Noz da Índia (*Aleurites moluccana*), proveniente da árvore de mesmo nome, originária da Índia e Malásia (LORENZI et al., 2003), como suposto agente emagrecedor e hipoglicemiante.

## **2 OBJETIVO**

Objetivou-se avaliar o potencial inibitório de amostras de Noz da Índia (*Aleurites moluccana*) sobre enzimas digestivas antes e após incubação a um fluido gástrico como hipótese dos supostos efeitos hipoglicemiantes e emagrecedores.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 Caracterização do problema**

##### **3.1.1 Obesidade**

A Organização Mundial de Saúde aponta a obesidade como um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. A projeção é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso; e mais de 700 milhões, obesos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2016 estimou que mais 1,9 bilhões de pessoas apresentavam excesso de peso, sendo que mais de 650 milhões eram obesas (WHO, 2018). O número de crianças com sobrepeso e obesidade no mundo poderia chegar a 75 milhões (ABESO, 2016)

Sobrepeso e obesidade são definidos pela Organização Mundial da Saúde como acúmulo anormal ou excessivo de gordura. O índice mais comumente utilizado para classificar sobrepeso e obesidade em adultos é índice de massa corporal (IMC). Este é definido como o peso de uma pessoa em quilogramas dividido pelo quadrado da sua altura em metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (WHO, 2018).

A OMS correlaciona a gravidade da obesidade e doenças associadas em: obesidade grau I é quando o IMC encontra-se entre 30 e  $34,9 \text{ kg}/\text{m}^2$  e possui elevado risco de doença; obesidade grau 2 com IMC entre 35 e  $39,9 \text{ kg}/\text{m}^2$  e risco muito levado de doença; e por fim, obesidade grau III na qual o IMC ultrapassa  $40 \text{ kg}/\text{m}^2$  e o risco de doença é muitíssimo elevado de doença. (ABESO, 2016).

No Brasil, dados da Vigitel (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico) do Ministério da saúde, realizada em 2016, revelou que 53,8% dos brasileiros adultos estavam acima do peso ideal. A proporção de pessoas obesas com mais de 18 anos de idade era de 18,9% (VIGITEL, 2017).

A obesidade é um fator de risco de diversas outras doenças como vem mostrando vários estudos ao decorrer dos últimos anos. Dentre essas doenças estão a hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus do tipo 2 (DMT2), certos tipos de câncer, dislipidemias, entre outras. Isso implica em uma maior incidência da doença cardíaca isquêmica (DCI), aumento da mortalidade cardiovascular e risco de morte súbita (POIRIER et al., 2006).

O tratamento da obesidade é complexo e multidisciplinar. Em linhas gerais, o tratamento farmacológico é adjuvante das terapias dirigidas com foco na modificação dos hábitos de vida relacionados com orientações nutricionais para diminuir o consumo de calorias na alimentação e exercícios para aumentar o gasto calórico. No Brasil atualmente

existem três medicamentos aprovados para tratamento da obesidade a Sibutramina, Orlistate e Liraglutida (ABESO, 2016).

### **3.1.2 Diabetes Mellitus**

Em 2017 havia cerca de 425 milhões de indivíduos adultos com diabetes no mundo todo. Estimativas preveem que em 2045 esse número alcance 693 milhões de acometidos, caso não sejam tomadas ações de prevenção. No Brasil, já são cerca de 14,3 milhões de pacientes diabéticos (IDF, 2017).

Dados apresentados pela OMS (WHO, 2018) apontam que o diabetes matou apenas em 2016, cerca de 1,6 milhões de pessoas ao redor do mundo, ocupando o sétimo lugar dentre as doenças que mais levaram pessoas a óbito.

A Federação Internacional de Diabetes (IDF) pontua dois principais tipos de diabetes. São eles, o diabetes mellitus tipo 1 (DMT1), diabetes mellitus tipo 2 (DMT2).

Pessoas que possuem o DMT1 representam cerca de 10% de todas as pessoas acometidas pela doença. Caracterizando-se por uma reação auto-imune, onde o sistema de defesa do corpo ataca as células produtoras de insulina, resultando em pouca ou nenhuma produção de insulina. As causas estão ligadas a uma combinação de condições genéticas e ambientais (IDF, 2017)

O DMT2 é o tipo mais comum, representando cerca de 90% de todos os casos de diabetes. É caracterizado pela resistência à insulina, em que o corpo não responde totalmente a insulina, ocasionando um aumento da glicose no sangue, o que eventualmente pode exaurir o pâncreas devido ao excesso de produção de insulina, levando a um quadro de hiperglicemia (IDF, 2017).

O diabetes mellitus representa um considerável encargo econômico para o indivíduo e para a comunidade. Em 2015 o gasto mundial com a doença, levando em conta gastos diretos e indiretos, foi de 1,3 trilhões de dólares. A perspectiva é de que até 2030 esse valor possa chegar em 2,5 trilhões de dólares. Somente no Brasil foram gastos US\$57,7 bilhões em 2015, com projeção de US\$97 bilhões em 2030. Na China a projeção é que os gastos relacionados a diabetes praticamente tripliquem na próxima década, passando de US\$222 bilhões para US\$631 bilhões (BOMMER et al., 2018).

### 3.2 Fitoterapia

A utilização da natureza para fins terapêuticos é tão antiga quanto a civilização humana. Historicamente, as plantas medicinais são importantes como fitoterápicos e na descoberta de novos fármacos (BRASIL, 2012)

Medicamentos, em geral, são produzidos por matéria-prima vegetal, dentre elas, as plantas medicinais, droga vegetal e derivado vegetal, conforme Lei Federal Brasileira nº 6.360 de 1976. Segundo Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), planta medicinal corresponde a espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos. Enquanto que, as drogas vegetais são caracterizadas por: plantas medicinais, ou suas partes, que contenham as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta/colheita, estabilização, quando aplicável, e secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada. Já o derivado vegetal corresponde ao produto da extração da planta medicinal fresca ou da droga vegetal, que contenha as substâncias responsáveis pela ação terapêutica, podendo ocorrer na forma de extrato, óleo fixo e volátil, cera, exsudato e outros (ANVISA, 2018).

Segundo a RDC nº 26/2014, são considerados medicamentos fitoterápicos aqueles obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e eficácia sejam baseadas em evidências clínicas e que sejam caracterizados pela constância de sua qualidade. Os produtos tradicionais fitoterápicos são os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e efetividade sejam baseadas em dados de uso seguro e efetivo publicados na literatura técnico-científica e que sejam concebidos para serem utilizados sem a vigilância de um médico para fins de diagnóstico, de prescrição ou de monitorização (ANVISA, 2018).

O reconhecimento do uso tradicional, como parte da comprovação da eficácia e segurança de produtos naturais, é recomendado pela OMS desde a Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde, realizada em Alma Ata, antiga União das Repúblicas Socialistas Soviética, em 1978 (MENDONÇA et al., 2018).

No Brasil, o Ministério da Saúde estimula a aplicação de plantas medicinais no tratamento complementar do DMT2 e de outras doenças, por meio do Sistema Único de Saúde (SUS), com base em projetos promovidos pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (ZENI et al., 2017).

O uso de plantas medicinais em nível mundial, tem ganhado cada vez mais importância na área da saúde, em virtude do crescente número de pessoas a procura de remédios naturais e menos tóxicos, com menos efeitos colaterais, maior disponibilidade e preços acessíveis (SEM; CHAKRABORTY; BIPLAB, 2011). Segundo um levantamento realizado pela empresa de consultoria Analyze and Realize mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de US\$ 44 bilhões, e no Brasil as estimativas variam entre US\$ 350 milhões e US\$ 550 milhões (BRASIL, 2012). A OMS estima que cerca de 30% dos medicamentos disponíveis no mercado são derivados direta ou indiretamente de princípios ativos vegetais (WHO, 2011).

Apesar da magnitude da biodiversidade brasileira, o país detentor da maior diversidade biológica do mundo, ainda explora muito pouco seu acervo, de cerca de 55 mil espécies de planta. Com relação ao uso médico há relatos de investigação de apenas 0,4% da flora (GURIB-FAKIM, 2006).

### **3.3 Caracterização da Noz da Índia (*Aleurites Moluccana*)**

*Aleurites moluccana* (L.) Willd, pertencente à família Euphorbiaceae e popularmente conhecida no Brasil como “Nogueira de Iguape” e “Noz da Índia”, é uma árvore nativa da Indonésia que se aclimatou e se adaptou bem ao sul e sudoeste do Brasil. Na medicina popular, folhas de *A. moluccana* têm sido usadas para tratar febre, asma, hepatite, dor de cabeça, úlcera gástrica e processo inflamatório em geral (VILLALOBOS; CASTELLANOS, 1992; FOSTER, 1996; QUINTÃO, 2014).

Estudos recentes mostram que o principal constituinte ativo presente em extratos de *A. moluccana* teria atividade anti-hipersensibilidade e anti-inflamatória. Em testes feitos em ratos, o extrato foi eficaz na reparação de dano articular em cobaias com artrite reumatoide induzida por FCA (Adjuvante Completo de Freund). Desta forma, pode-se apontar esse produto fitoterápico como uma ferramenta promissora e segura para o tratamento da artrite reumatoide e de outras doenças crônicas associadas (QUINTÃO, 2019).

### **3.4 Inibidores de enzimas digestivas**

Em humanos, entre 40% a 80% da ingestão calórica total é proveniente dos carboidratos, tornando-os a fonte de energia mais importante e com implicações diretas na glicemia pós-prandial em diabéticos (ENGLYST; ENGLYST, 2005).

Para que os monossacarídeos possam ser absorvidos os polissacarídeos devem ser digeridos por enzimas (MIAO et al., 2015). Na dieta humana, os principais carboidratos digeríveis compreendem dissacarídeos, como sacarose, lactose, e polissacarídeos maiores, como o amido (TUCCI; BOYLAND; HALFORD, 2010). As  $\alpha$ -amilases catalisam a hidrólise da ligação glicosídica  $\alpha$ -1,4 do amido, glicogênio, e vários oligossacarídeos para posterior ação das glicosidases, liberando monossacarídeos (glicose, frutose e galactose) para serem absorvidos pelos enterócitos. A inibição da atividade dessas enzimas no trato digestivo de humanos é considerada importante do ponto de vista energético, pois auxilia na redução de hiperglicemia pós-prandial (PEREIRA et al., 2011).

Em vista disso a inibição dessas enzimas vem sendo avaliada como uma interessante alternativa para auxiliar no tratamento da obesidade e hiperglicemia associada ao diabetes tipo 2, por meio da diminuição da absorção da glicose resultante da limitação da quebra do amido. Assim, inibidores de enzimas digestivas que ajudem a limitar a absorção intestinal de carboidratos e gorduras na fase inicial podem revelar-se úteis como auxiliares no tratamento de doenças crônicas. (KWON; APOSTOLIDIS; SHETTY, 2006).

Por outro lado, no caso da digestão e absorção de proteínas, os inibidores de protease são reconhecidos tradicionalmente, no alimento, como fator antinutricional (CHOUGULE et al., 2004). A presença de níveis elevados de inibidores de tripsina em dietas com soja, feijão ou outras leguminosas têm sido relatados como causadoras de reduções substanciais em digestibilidade de proteínas e aminoácidos (até 50%) e qualidade proteica (até 100%) em ratos e/ou porcos (GILANI et al., 2012; ASSIS et al., 2017).

Nesse contexto, a investigação da presença de inibidores de enzimas digestivas em amostras vegetais a partir de levantamentos etnofarmacológicos e etnobotânicos apresenta-se como uma alternativa promissora na prospecção de potenciais auxiliares no tratamento da obesidade e diabetes.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local do experimento**

As análises foram conduzidas no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

### **4.2 Obtenção da amostra de Noz da Índia (*Aleurites moluccana*) e preparo dos extratos**

Amostras de Noz da Índia foram adquiridas em farmácias, drogarias e lojas especializadas em fitoterapia e produtos naturais no município de Lavras, Minas Gerais. As amostras foram levadas para o Laboratório de Bioquímica (DQI/UFLA), onde foram pesadas 3 gramas, raladas, aliquotadas e armazenadas.

Foi preparado um extrato aquoso em água destilada na proporção 1:1 (p/v), a partir das amostras raladas, posteriormente as amostras foram divididas em dois grupos, sem diluição e diluídas na proporção 1:2 (p/v), em seguida os extratos foram armazenados em eppendorfs e congelados para realização das análises.

### **4.3 Obtenção das enzimas**

Foram utilizadas nos ensaios a enzima  $\alpha$ -amilase pancreática suína do tipo VIB (Sigma®), enzima tripsina suína (Merck®) e a enzima  $\alpha$ -glicosidase foi obtida a partir do duodeno suíno fresco, cedido por matadouro localizado no entorno da cidade de Lavras, após a coleta do duodeno, o mesmo foi levado para o laboratório, onde devidamente limpo foi cortado em partes menores, batido em um mixer e coados em tecido organza. Para que se pudesse obter a enzima, localizada na parede dos enterócitos.

#### **4.3.1 Atividade das enzimas digestiva digestivas**

#### **4.3.2 Atividade da $\alpha$ -amilase**

A atividade da  $\alpha$ -amilase foi determinada segundo a metodologia proposta por Noelting e Bernfeld (1948). Assim 50 $\mu$ L da amostra e 50 $\mu$ L da enzima  $\alpha$ -amilase foram pré-incubados, por 20 minutos, em banho-maria a 37°C. O substrato utilizado foi o amido 1% preparado em tampão Tris 0,05 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 acrescidos de NaCl 38 mmol L<sup>-1</sup> e CaCl<sub>2</sub> 0,1 mmol L<sup>-1</sup>. Após adição de 100 $\mu$ L do substrato, a mistura foi incubada por quatro períodos de tempo (10, 20, 30 e 40 minutos). A reação foi interrompida adicionando-se 200 $\mu$ L do reagente ácido 3,5 dinitrosalicílico e o produto lido em espectrofotômetro, a 540nm.

Para realização do experimento controle foi utilizada a mesma metodologia citada logo acima, no entanto, foram substituídos os 50µL de amostra (Noz da Índia) por 50µL de água destilada.

#### 4.3.3 Atividade da $\alpha$ -glicosidase

A atividade de  $\alpha$ -glicosidase foi determinada segundo Kwon et al. (2006), utilizando *p*-nitrofenil- $\alpha$ -Dglicopiranosideo 5 mmol.L<sup>-1</sup> em tampão citrato-fosfato 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, pH 7,0 como substrato. No ensaio, 50 µL da amostra e 100 µL de enzima foram incubados em banho-maria a 37 °C por quatro períodos de tempo (10, 20, 30 e 40 minutos). Após adição de 50 µL do substrato. A reação foi interrompida adicionando-se 1 mL de NaOH 0,05 mol.L<sup>-1</sup>, e a leitura do produto feita em espectrofotômetro, a 410 nm.

Para realização do experimento controle foi utilizada a mesma metodologia citada logo acima, no entanto, foram substituídos os 50µL de amostra (Noz da Índia) por 50µL de água destilada.

#### 4.3.4 Atividade da tripsina

A atividade de tripsina foi determinada segundo a metodologia proposta por Erlanger (1961). Assim, 200 µL da amostra e 200 µL de enzima foram incubados em banho-maria a 37°C por quatro períodos de tempo (10, 20, 30 e 40 minutos). Após adição de 800 µL do substrato *p*-benzoil-D-L arginina *p*-nitroanilida (BApNA), preparado em tampão TRIS (trihidroximetilaminometano) 0,05 mol.L<sup>-1</sup>, pH 8,2. A reação foi interrompida adicionando-se 200 µL de ácido acético 30% e o produto lido em espectrofotômetro, a 410 nm.

Para realização do experimento controle foi utilizada a mesma metodologia citada logo acima, no entanto, foram substituídos os 200µL de amostra (Noz da Índia) por 200µL de água destilada.

#### 4.4 Determinação da inibição

A inibição das enzimas foi obtida a partir da determinação das inclinações das retas (absorbância x tempo) dos ensaios de atividade das enzimas controle (sem amostra) e enzimas + inibidor (com amostra). A inclinação da reta é decorrente da velocidade de formação de produto por minuto de reação e a presença do inibidor ocasiona uma diminuição nessa inclinação. A inibição foi calculada a partir das inclinações (a) das retas controle e amostra, de acordo com a seguinte fórmula:

$$I\% = \frac{(controle) - (inibido)}{controle} \times 100$$

#### 4.5 Preparo do fluido gástrico

Com o objetivo de simular o processo de digestão no estômago *in vitro*, foram também realizados os ensaios de atividades enzimáticas na presença de um fluido gástrico simulado com pH 2,5, aproximadamente. Para tal, foram necessárias correções nas diluições dos extratos, logo após, ocorreu incubação com o fluido gástrico simulado preparado segundo a USP (1995), por 1 hora em banho-maria a 37 °C. Após esse período, foram neutralizados com o sal bicarbonato de sódio até o pH fisiológico e só então realizados os ensaios de atividade. O experimento controle não é influenciado pelo fluido gástrico.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados na Tabela 1 os resultados de inibições das enzimas digestivas a partir de extratos de Noz da Índia.

TABELA 1 – Percentuais de inibição de enzimas digestivas por extratos de Noz da Índia.

Enzimas	Extratos	% de Inibição enzimática
$\alpha$ -amilase	s/d*	100,00
	1:2	59,00
$\alpha$ -glicosidase	s/d	nd**
	1:2	nd
Tripsina	s/d	nd
	1:2	nd

Legenda: s/d\* - extratos sem diluição. nd\*\* - inibição não detectada.

O extrato de Noz da Índia demonstrou inibição da enzima  $\alpha$ -amilase, em ambos extratos, sem diluição (100%) e na proporção 1:2 (p/v) (59%). No entanto não foram detectadas inibições das enzimas  $\alpha$ -glicosidase e tripsina.

A inibição de enzimas hidrolíticas podem ser potencialmente utilizadas como uma terapia complementar efetiva para hiperglicemia pós-prandial. Porém, a inibição da  $\alpha$ -amilase sem a inibição da  $\alpha$ -glicosidase não é considerada vantajosa, visto que apresenta mais efeitos colaterais, resultando no aumento da fermentação bacteriana anormal de carboidratos não digeridos no cólon, quando comparada com a situação inversa, onde houvesse a inibição da  $\alpha$ -glicosidase e pouca ou nenhuma inibição da  $\alpha$ -amilase (KWON; APOSTOLIDIS; SHETTY, 2006; PEREIRA et al., 2011).

Já a não inibição da tripsina é tido como algo positivo, visto que sua inibição é pontuada como algo ruim em alguns casos devido ao seu caráter antinutricional (MARQUES et al., 2014).

Adicionalmente são apresentados nas Figuras 1, 2 e 3 os resultados dos ensaios de inibição das enzimas digestivas com extratos da noz sem diluição e com diluição na proporção 1:2 (p/v).

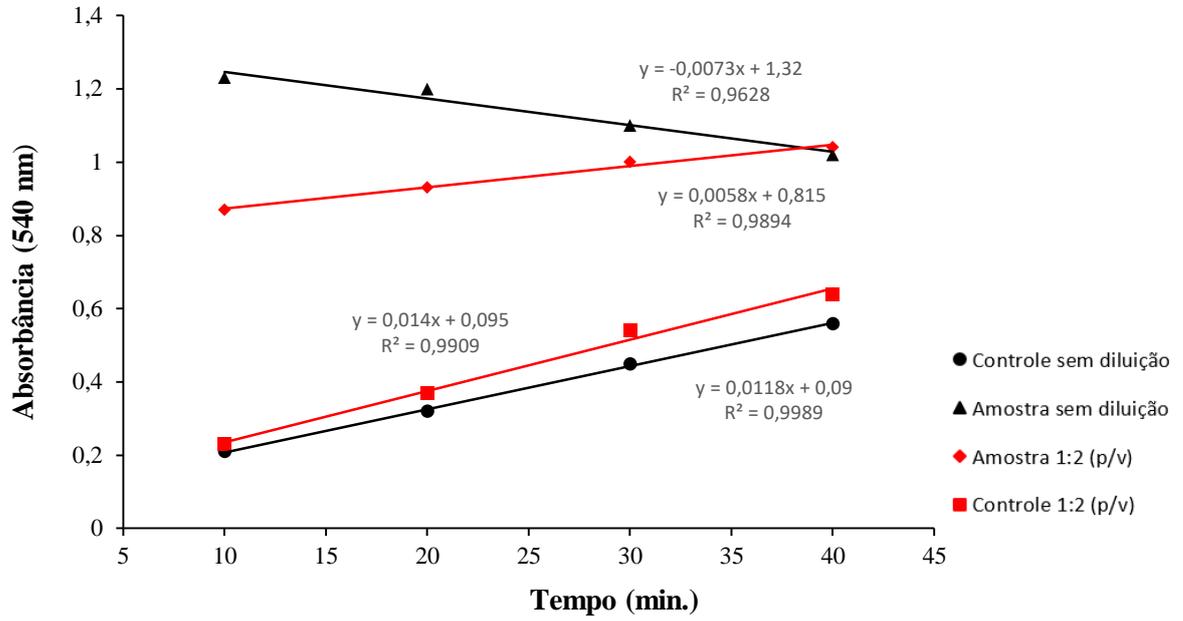
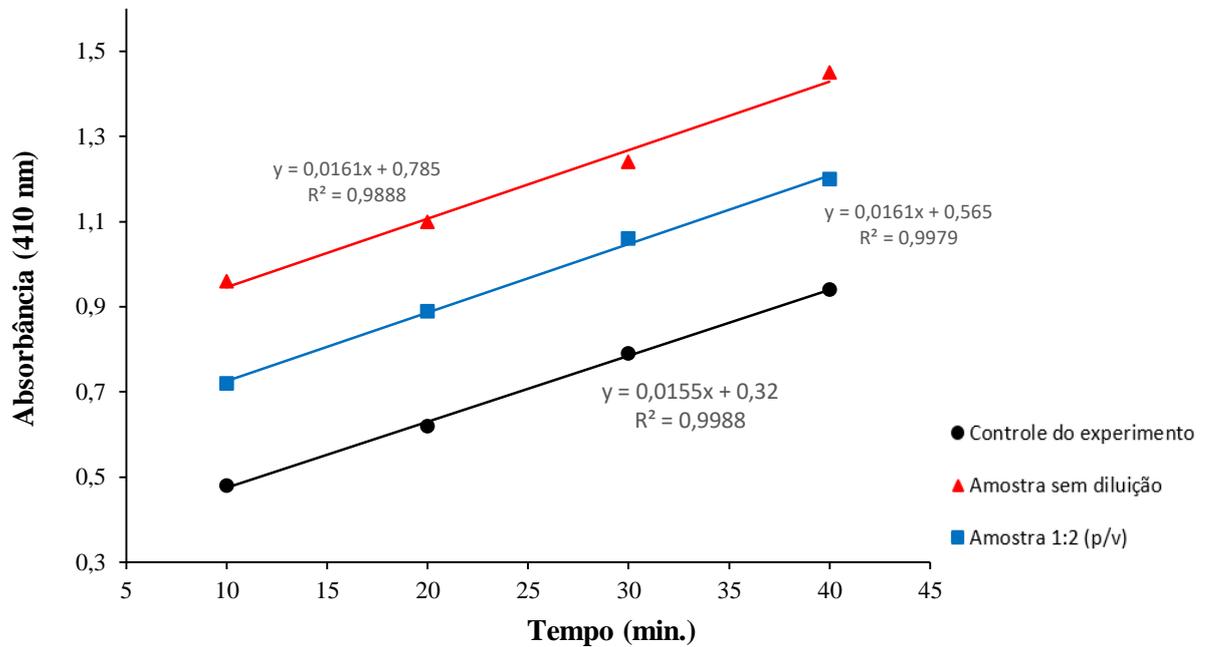
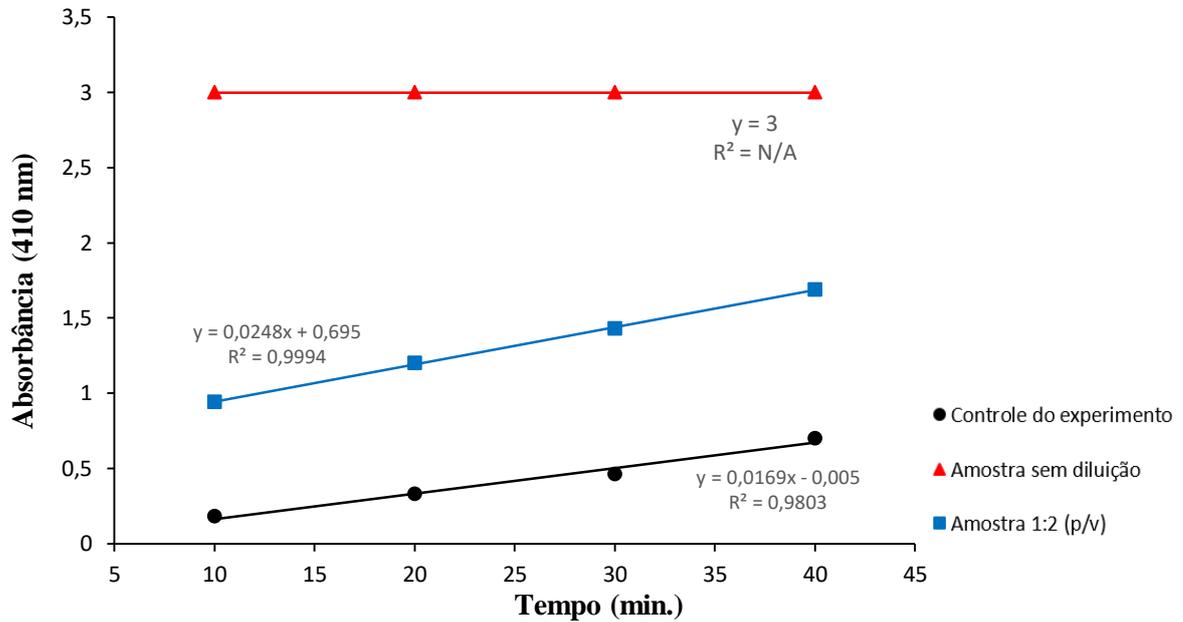
Figura 1 – Inibição da  $\alpha$ -amilase por extratos de Noz da Índia.Figura 2 – Inibição da  $\alpha$ -glicosidase por extratos de Noz da Índia.

Figura 3 – Inibição da tripsina por extrato de Noz da Índia.



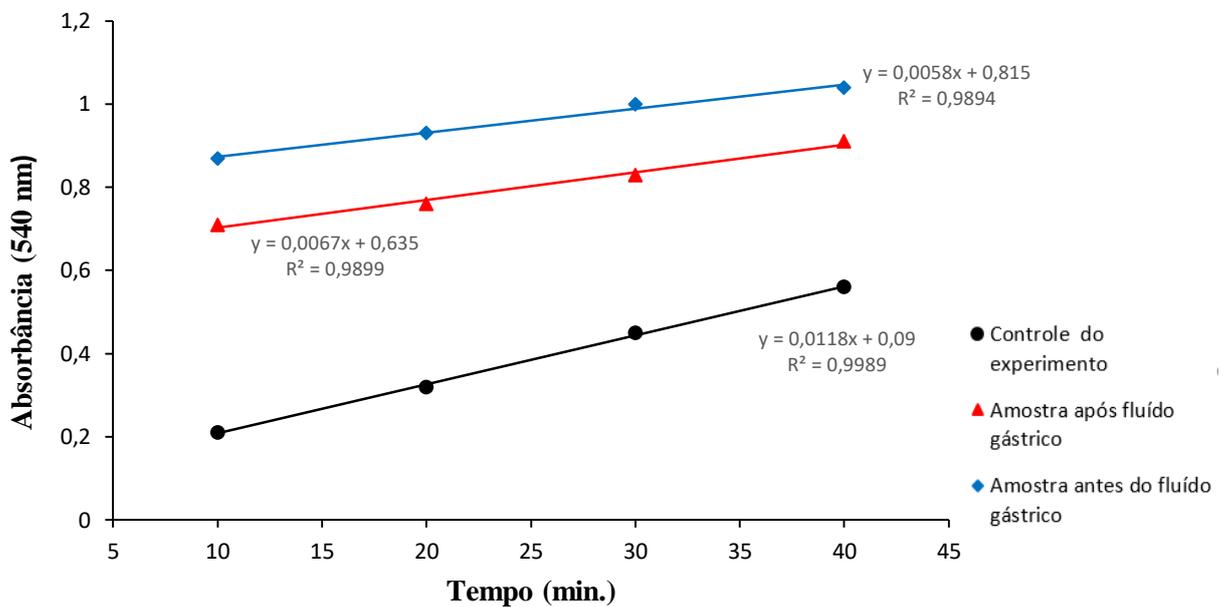
Diante dos resultados, foi selecionada a enzima  $\alpha$ -amilase e o extrato diluído na proporção 1:2 (p/v) para prosseguimento do experimento, já que a mesma apresentou percentual de inibição na faixa de 40 – 80%, considerado ideal pela literatura segundo (KWON; APOSTOLIDIS; SHETTY, 2008).

Na Tabela 2 e Figura 4 são apresentados os resultados do ensaio de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase por extratos de Noz da Índia diluído na proporção 1:2 (p/v), antes e após exposição ao fluído gástrico simulado.

TABELA 2 – Percentuais de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase por extratos de Noz da Índia.

Amostras	% de Inibição da $\alpha$ -amilase
Sem Fluído Gástrico	59,00
Com Fluído Gástrico	43,00

Figura 4 – Inibição da enzima  $\alpha$ -amilase por extratos de Noz da Índia antes e após exposição ao fluido gástrico simulado.



Na Tabela 2 podemos verificar que houve uma redução no percentual de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase de 59% para 43% ao expor o extrato da noz ao fluido gástrico simulado. Embora existam muitos inibidores proteicos de  $\alpha$ -amilases descritos e bem caracterizados, sua potencial aplicação farmacológica como auxiliar no tratamento de obesidade, diabetes ou outros distúrbios pode ser questionada. A dúvida que reside é se o pH ácido do fluido gástrico poderia clivar as ligações peptídicas destes inibidores proteicos, levando à perda da atividade antes que a ação terapêutica ocorresse (PEREIRA et al., 2011). Contudo o percentual de inibição da enzima permaneceu, ainda dentro da faixa considerada ideal pela literatura durante os ensaios.

De acordo com Freitas et al. (2014), uma explicação para esses resultados deve-se ao pH ácido do fluido gástrico (pH 2,5) que pode causar a diminuição da atividade inibitória de alguns extratos, devido a uma mudança de conformação, reação química ou outro mecanismo que cause a inativação dos inibidores presentes, sugerindo a diminuição do potencial hipoglicêmico.

A passagem do extrato de Noz da Índia pelo trato gastrintestinal pode acarretar modificações estruturais nos inibidores em decorrência do pH ácido do estômago, inativando-os. A inativação observada pode ser decorrente da hidrólise ácida de ligações, como um éster

por exemplo, e conseqüentemente alteração da inibição das enzimas (MARQUES et al., 2014).

Pereira et al. (2010), avaliaram o potencial inibitório dos chás verde e preto sobre as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$  e  $\beta$ -glicosidases. Foi observado que ambos os chás inibiram as enzimas. Essa inibição tem sido relacionada com a presença de compostos fenólicos nos chás, devido à característica estrutural comum a todos eles, que é a presença de um anel aromático hidroxilado, que interage com as proteínas causando complexação (SALUNKHE; CHAVAN; KADAM, 1990). Porém, ao expor os chás a um fluido gástrico simulado, não houve inibição da enzima  $\alpha$ -amilase. Segundo os autores, na ingestão do chá a passagem pelo trato gastrintestinal pode acarretar modificações estruturais no inibidor em decorrência do pH ácido do estômago, inativando-o. Quando comparamos esses resultados com os da Noz da Índia podemos observar que a diminuição da capacidade inibitória da noz é bem menos acentuada, visto que a mesma ainda apresenta um percentual de inibição de 43%, mesmo após contato com o fluido gástrico.

Outro aspecto positivo é a não inibição da tripsina por parte da noz, considerando-se que a inibição desta enzima é pontuada como algo ruim do ponto de vista nutricional (MARQUES et al., 2014). Contudo, análises mais detalhadas ainda se fazem necessárias, para verificação de possíveis substâncias presentes na noz que possam justificar os resultados encontrados.

## 6 CONCLUSÃO

Extratos obtidos de Noz da Índia na diluição 1:2 (p/v) possuem efeito inibitório sobre a enzima digestiva  $\alpha$ -amilase. Entretanto, quando os mesmos extratos são expostos a um fluido gástrico simulado seu efeito inibitório sofre uma redução (de 59% para 43%), permanecendo contudo, ainda dentro da faixa considerada ideal pela literatura. Os mesmos extratos não apresentaram inibição nas enzimas digestivas tripsina e  $\alpha$ -glicosidase.

A presença dessa atividade inibitória, pode estar relacionada aos efeitos emagrecedor e hipoglicemiante aos quais tem sido associada. Análises mais detalhadas do potencial medicinal e toxicológico assim como a caracterização dos fitoquímicos presentes nesta planta ainda se fazem necessárias para melhor compreensão de seus eventuais mecanismos de ação.

A indicação da Noz da Índia para tratamento da obesidade e morbidades associadas depende da realização de mais estudos relacionados à eficácia e segurança.

## 7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Consolidado de normas de registro e notificação de fitoterápicos. 2018.** Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2501251/Consolidado\\_fitoterapicos\\_2018.pdf/a2f53581-43e5-47bb-8731-99d739114e10](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2501251/Consolidado_fitoterapicos_2018.pdf/a2f53581-43e5-47bb-8731-99d739114e10)>. Acesso em: 28 jun. 2019.

ASSIS L. O.; ANDRADE H. B. M. et al. **Determinação da atividade inibitória de enzimas digestivas em suplementos vendidos no comércio internacional a base de proteína vegetal.** Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo. v. 11. n. 67. Suplementar 1. p.925-933. Jan./Dez. 2017. ISSN 1981-9927.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes brasileiras de obesidade 2016 / ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica.** – 4.ed. - São Paulo, SP <<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/92/57fccc403e5da.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

BOMMER C.; SAGALOVA V.; HEESEMANN E. et al. **Carga econômica global de diabetes em adultos: projeções de 2015 a 2030.** Diabetes Care 2018; 41: 963-970. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/dc17-1962>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Anvisa. RDC nº 14, de 31 de março de 2010. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.** 2010 b. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

BRASIL. Lei Federal nº 6.360 de 1976. **Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências.** Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L6360.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6360.htm)>. Acesso em: 13 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Anvisa. RDC n.10 de 10 de março de 2010. **Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária e dá outras providências.** 2010a. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Anvisa. RDC nº 17/2010. **Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.** Disponível em: <<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/.html>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde.** Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31). Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas\\_integrativas\\_complementares\\_plantas\\_medicinais\\_cab31.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas_integrativas_complementares_plantas_medicinais_cab31.pdf)>. Acesso em: 13 jun. 2019.

CHOUGULE, N. P.; GIRI, A. P.; HIVRALE, V. K. et al. **Biochem Genet** (2004) 42: 165. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/B:BIGI.0000026632.17713.47>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

DECLARAÇÃO DE ALMA-ATA. **Conferência Internacional sobre cuidados primários de saúde**; 6-12 de setembro 1978; Alma-Ata; USSR. In: Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Políticas de Saúde. Projeto Promoção da Saúde. Declaração de Alma-Ata; Carta de Ottawa; Declaração de Adelaide; Declaração de Sundsvall; Declaração de Santafé de Bogotá; Declaração de Jacarta; Rede de Megapaíses; Declaração do México. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2001. p. 15

ENGLYST, K. N.; ENGLYST, H. N. **Carbohydrate bioavailability**. *British Journal of Nutrition*, v. 94, n. 1, p. 1-11, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/BJN20051457>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

ERLANGER, B. F; KOKOWSKY, N. & COHEN, W. 1961. **The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin**. *Archives Biochemistry Biophysics*, 95: 271-278.

FEIJÓ, A. M.; BUENO, M. E. N.; CEOLIN, T.; LINCK, C. L.; SCHWARTZ, E.; LANGE, C. ET AL. (2012). **Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença**. *Rev. Bras. Plant. Med.* 14, 50–56.

FREITAS, T. C.; PEREIRA, C. A.; PEREIRA, L. L. S. **Syzygium sp (Myrtaceae) Extracts: Inhibition of Alpha Amylase**. *European Journal of Medicinal Plants*, v. 4, p. 116-125, 2014.

FOSTER P. I. **A taxonomic revision of Aleurites J.R.Forst. & G.Forst. (Euphorbiaceae) in Australia and New Guinea**. *Muelleria*, vol. 9, pp. 5–13, 1996.

GELATTI. GABRIELA TASSOTTI; OLIVEIRA, KARLA RENATA DE; COLET, CHRISTIANE DE FÁTIMA. **Potenciais interações relacionadas ao uso de medicamentos, plantas medicinais e fitoterápicos em mulheres no período do climatério**. *Revista de Pesquisa: Cuidado é Fundamental Online*, [S.l.], v. 8, n. 2, 2016, p. 4328-4346.

GILANI, G.; SARWAR; XIAO; CHAO WU; COCKELL; KEVIN A. **Impact of Antinutritional Factors in Food Proteins on the Digestibility of Protein and the Bioavailability of Amino Acids and on Protein Quality**. *British Journal of Nutrition*. Vol. 108. Num. 2. p. 315-332. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S0007114512002371>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

GURIB-FAKIM, A. **Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow**. *Molecular Aspects of Medicine*, [S.l.], v. 27, p. 1-93, 2006.

INTERNATIONAL FEDERATION OF DIABETES (IDF). **IDF Diabetes Atlas. 8<sup>th</sup> edition**. 145p, 2017. Disponível em: <<https://idf.org>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

KWON, Y. I.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. 2006. **Inhibitory potential of wine and tea against  $\alpha$ -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes.** Journal of Food Biochemistry, 32: 15-31

KWON, Y. I.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. **Inhibitory potential of wine and tea against  $\alpha$ -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes.** J. Food Biochemistry., v. 32, n.1, p.15-31, 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M.A.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil:** madeiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003.368p.

MARQUES T. R.; PEREIRA L. L. S. et al. **Inibição de enzimas digestivas por pellets de lúpulo (*Humulus lupulus* L.).** 2014. Revista brasileira. Biociências, Porto Alegre, v. 12, n. 4, p. 183-187, out./dez. 2014. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2854>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

MENDONÇA, VALÉRIA MELO et al. **Fitoterapia tradicional e práticas integrativas e complementares no sistema de saúde do Brasil.** Temas em Saúde, João Pessoa, v. 18, n. 1, p. 66-97, 2018.

MIAO, M. et al. **Slowly digestible starch a review. Critical reviews in food science and nutrition,** v. 55, n. 12, p. 1642-1657, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2012.704434>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

NOELTING, G.; BERNFELD, P. **Sur les enzymes amylolytiques III.** La amylase: dosage d'activate et controle de l' $\alpha$ -amilase. Helvetica Chimica Acta, v.31, n.1, p.286-90, 1948.

PEREIRA L. L. S.; SANTOS C. D. et al. Ação inibitória e estabilidade do extrato de farinha de feijão branco sobre enzimas digestivas na presença de fluido gástrico simulado. 2011. Revista Brasileira de Farmácia. 92(4): 367-372, 2011. Disponível em: <<http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2011-92-4-21-367-372.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

PEREIRA L. L. S.; SOUZA S. P.; SILVA M. C.; CARVALHO G. A.; SANTOS C. D.; CORREA A. D.; ABREU C. M. P. **Glucosidase activity in the presence of green tea and black tea.** Rev. Bras. Pl. Med. 2010;12(4):516-18.

PEREIRA, C. A.; Pereira, L. L.S.; CORREA, A. D.; CHAGAS, P.M.B.; SOUZA, S. P.; SANTOS, C. D. **Inibição de enzimas digestivas por extratos de pó comercial de *Hoodia gordonii* utilizado no tratamento da obesidade.** Revista Brasileira de Biociências (Impresso), v. 9, p. 265-269, 2011. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1621>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

POIRIER P.; GILES T. D.; BRAY G. A.; HONG Y.; STERN J. S.; PI-SUNYER F. X.; et al. **Obesity and cardiovascular disease:** pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart

Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006;113(6):898-918.

QUINTÃO N. L. M.; PASTOR M. V. D. et al. ***Aleurites moluccanus* and its main active constituent, the flavonoid 2''-O-rhamnosylswertisin, in experimental model of rheumatoid arthritis.** *Journal of Ethnopharmacology*. Volume 235, 10 May 2019, Pages 248-254. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.014>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

QUINTÃO N. L. M.; ROCHA L. W. et al. **Contribution of  $\alpha,\beta$ -Amyrenone to the Anti-Inflammatory and Antihypersensitivity Effects of *Aleurites moluccana* (L.) Willd.** Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. Volume 2014, Article ID 636839, 11 pages. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2014/636839>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S. **Dietarytannins: consequencesandremedies.** Boca Raton: CRC Press, 1990. 200p.

SEN S.; CHAKRABORTY R.; BIPLAB B. **Challenges and opportunities in the advancement of herbal medicine: India's position and role in a global context.** *Journal of Herbal Medicine*. v.1, p. 67- 75. 2011.

TUCCI, S. A.; BOYLAND, E. J.; HALFORD, J. C. **The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: a review of current and emerging therapeutic agents.** *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, v. 3, p. 125, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.2147/DMSO.S7005>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

USP. **The United States Pharmacopeia – The National Formulary NF 18** (Pharmacopeial Convention Ing) Rockvile, MD. Janeiro 1995.

VIGITEL BRASIL 2016: **vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico:** estimativas sobre frequência e distribuição sócio demográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2016 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 160p.: il. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/100/5949633674659.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

VILLALOBOS M. J. P.; AND CASTELLANOS E. C. **“La familia Euphorbiaceae como fuente de aceites vegetales para la industria tecnoquímica,”** *Grasas y Aceites*, vol. 43, pp. 39–44, 1992.

VIVEIROS A. S; BORGES M; MARTINS R; ANAHORY B; CARDEIRO M. S. **Estudo LIDIA: risco de diabetes mellitus tipo 2 numa população rural do Açores.** Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. 10(02); 124-127, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The world medicines situation 2011: Traditional medicines: global situation, issues and challenges.** Geneva: WHO Press, 2011

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (WHO). **Obesidade e excesso de peso.** 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

WORLD HEALTH STATISTICS: **monitoring health for the SDGs, sustainable development goals.** Geneva: World Health Organization; 2018. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272596/9789241565585-eng.pdf?ua=1&ua=1>>. Acesso em: 7 de junho de 2019.

ZENI, A. L. B. et al. **Use of medicinal plants as home remedies in Primary Health Care in Blumenau–State of Santa Catarina, Brazil.** Ciência & Saúde Coletiva, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017.