

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

LARISSA LORRANE RODRIGUES BORGES

PROPRIEDADES HIPOGLICÊMICAS, ANTIGLICAÇÃO E ANTIOXIDANTES *IN VITRO* DE EXTRATOS FENÓLICOS DA CASCA DE JABUTICABA (*Plinia cauliflora*)

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2021**

LARISSA LORRANE RODRIGUES BORGES

PROPRIEDADES HIPOGLICÊMICAS, ANTIGLICAÇÃO E ANTIOXIDANTES *IN VITRO* DE EXTRATOS FENÓLICOS DA CASCA DE JABUTICABA (*Plinia cauliflora*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Paulo César Stringheta

Coorientadores: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior

Leandro Licursi de Oliveira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

B732p
2021
Borges, Larissa Lorrane Rodrigues, 1996-
Propriedades hipoglicêmicas, antiglicação e antioxidantes *in vitro* de extratos fenólicos da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) / Larissa Lorrane Rodrigues Borges. – Viçosa, MG, 2021.

84 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Paulo César Stringheta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 67-84.

1. Casca de jabuticaba - Análise. 2. Produtos de glicação avançada. 3. Diabetes mellitus. 4. Enzimas. 5. Enzimas - Inibidores. 6. Polifenóis. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.80442

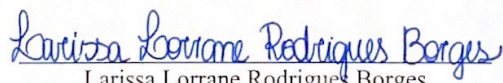
LARISSA LORRANE RODRIGUES BORGES

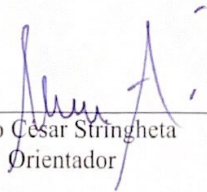
PROPRIEDADES HIPOGLICÊMICAS, ANTIGLICAÇÃO E ANTIOXIDANTES *IN VITRO* DE EXTRATOS FENÓLICOS DA CASCA DE JABUTICABA (*Plinia cauliflora*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2021.

Assentimento:


Larissa Lorrane Rodrigues Borges
Autora


Paulo César Stringheta
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar, abençoar e me dar forças para enfrentar todos os desafios com sabedoria e paciência.

Aos meus pais, Gina Maria Rodrigues Borges e Geraldo Valdeir Alves Borges, por tudo que fazem por mim, pelo amor incondicional e apoio.

Aos meus irmãos Jefferson, Jéssica e Lucas, minha tia Luciana, meu primo Pablo e minha afilhada Thayna pelo apoio e momentos de felicidade.

Ao meu orientador, professor Paulo César Stringheta, pelos ensinamentos, pelo apoio e confiança depositada em mim.

Ao meu coorientador, professor Leandro Licursi de Oliveira, por todo apoio, ensinamentos e por ter disponibilizado o laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia do Departamento de Biologia Geral para realização das análises.

Ao meu coorientador, professor Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior, por todo apoio, ensinamentos e contribuições no desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas do LaCBio, pelos ensinamentos e pelas palavras de incentivo.

Ao meu amigo e colega de laboratório Valdeir, pelo companheirismo e amizade ao longo dessa jornada e pela ajuda fundamental no desenvolvimento do experimento.

Aos meus amigos de Viçosa e da vida, Alécia, Alisson, Ludmylla, Mariana, Valdeir e Rafaela, pela amizade, pelo apoio e por todos os momentos compartilhados em Viçosa.

A todos os meus amigos da vida, pela amizade e apoio incondicional.

As minhas companheiras de república por todos os momentos compartilhados.

Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, por todos os ensinamentos e momentos vivenciados.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Bioclin por ceder os kits para realização das análises.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

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

RESUMO

BORGES, Larissa Lorrane Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2021. **Propriedades hipoglicêmicas, antiglicação e antioxidantes *in vitro* de extratos fenólicos da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*)**. Orientador: Paulo César Stringheta. Coorientadores: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior e Leandro Licursi de Oliveira.

A jabuticaba (*Plinia cauliflora*) é uma fruta nativa do Brasil rica em compostos fenólicos, que tem potenciais benefícios à saúde. No entanto, os maiores teores de seus nutrientes e fitoquímicos que podem apresentar benefícios à saúde são encontrados na casca, que geralmente é descartada. Neste trabalho, extratos fenólicos da casca de jabuticaba foram estudados quanto aos potenciais efeitos inibitórios *in vitro* de enzimas digestivas ligadas ao diabetes mellitus (DM) e à obesidade, assim como a inibição da glicação da albumina sérica bovina (BSA) e atividades antioxidantes. O impacto da digestão gastrointestinal *in vitro* na estabilidade dos compostos fenólicos e bioatividades também foi avaliado. Os extratos mostraram-se eficazes inibidores das enzimas α -glicosidase e α -amilase, com valores de IC₅₀ variando de 0,47 a 5,20 mg/mL e 0,45 a 1,88 mg/mL, respectivamente. Em relação a enzima lipase, os extratos apresentaram uma moderada inibição, com valores de IC₅₀ variando de 13,52 a 111,51 mg/mL. Os extratos também foram capazes de inibir a glicação de BSA mediada pelos açúcares ribose e glicose e sequestrar os radicais livres ABTS e DPPH, além de ter o seu potencial antioxidante relatado pelo poder de redução do ferro. Os resultados indicaram as antocianinas como os principais compostos contribuintes para as atividades bioativas estudadas. Posteriormente, em estudo cinético da inibição, os resultados mostraram que a inibição das enzimas α -glicosidase, α -amilase e lipase pelas antocianinas do extrato purificado é do tipo competitivo. Após a digestão gastrointestinal *in vitro*, houve diminuição do conteúdo de antocianinas do extrato, bem como redução das atividades antioxidantes e inibitórias das enzimas digestivas de carboidratos e da glicação de BSA. Apesar disso, ainda houveram significativas atividades bioativas ao final da digestão. Considerando sua composição e potenciais benefícios à saúde, este estudo forneceu dados científicos para reforçar a exploração das cascas de jabuticaba. A suplementação da dieta com esses compostos poderá ainda impactar no risco de desenvolvimento do DM e também auxiliar em maior controle das complicações relacionadas a essa doença. Os resultados obtidos são uma primeira abordagem para entender o potencial dos extratos da casca de jabuticaba no manejo do DM e os efeitos induzidos pela digestão gastrointestinal nas propriedades bioativas e no perfil fenólico. No

entanto, estudos adicionais *in vivo* são necessários para compreender completamente os efeitos à saúde, estabilidade e biodisponibilidade dos compostos fenólicos da casca de jaboticaba.

Palavras-chave: AGEs. Diabetes mellitus. Enzimas. Inibição enzimática. Polifenóis.

ABSTRACT

BORGES, Larissa Lorrane Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2021. **Hypoglycemic, anti-glycation and antioxidants *in vitro* properties of phenolic extracts from jabuticaba peel (*Plinia cauliflora*)** Adviser: Paulo César Stringheta. Co-advisers: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior and Leandro Licursi de Oliveira

Jabuticaba (*Plinia cauliflora*) is a native fruit from Brazil rich in phenolic compounds, which has potential health benefits. However, the highest levels of its nutrients and phytochemicals that can have health benefits are found in the peel, which is usually discarded. The aim of this work was to study the jabuticaba peel phenolic extracts regarding its potential *in vitro* inhibitory effects of digestive enzymes linked to diabetes mellitus (DM) and obesity, as well as the inhibition of glycation of bovine serum albumin (BSA) and antioxidant activities. The impact of *in vitro* gastrointestinal digestion on the stability of phenolic compounds and bioactivities was also evaluated. The extracts were effective inhibitors of the enzymes α -glucosidase and α -amylase, with IC₅₀ values ranging from 0.47 to 5.20 mg/mL and 0.45 to 1.88 mg/mL, respectively. Regarding the lipase enzyme, the extracts presented a moderate inhibition with IC₅₀ values ranging from 13.52 to 111.51 mg/mL. The extracts also inhibited the BSA glycation mediated by the sugars ribose and glucose and sequester the free radicals ABTS and DPPH, in addition to present antioxidant potential reported by its iron-reducing power. The results indicated anthocyanins as the main contributing compounds for the bioactive activities studied. Subsequently, in the inhibition kinetic study, the results showed that the inhibition of α -glucosidase, α -amylase, and lipase enzymes by the anthocyanins purified extract is competitive. After *in vitro* gastrointestinal digestion, there was a decrease in the anthocyanin content of the extract, as well as a reduction of the antioxidant and inhibitory activities of carbohydrate digestive enzymes and BSA glycation. Despite this, there were still significant bioactive activities at the end of digestion. Considering the composition of jabuticaba and its potential health benefits, this study provided scientific data to contribute to more studies regarding the jabuticaba peel. Supplementing the diet with these compounds may also influence the risk of developing DM and assist in greater control of complications related to this disease. The results obtained are a first approach to understand the potential of jabuticaba peel extracts in the management of DM and the effects induced by gastrointestinal digestion on its bioactive properties and phenolic profile. However, additional *in vivo* studies are needed to fully understand the health effects, stability, and bioavailability of the phenolic compounds from the jabuticaba peel.

Keywords: AGEs. Diabetes mellitus. Enzymes. Enzymatic inhibition. Polyphenols.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - Esquema da regulação da glicemia pelos hormônios insulina e glucagon | 18 |
| Figura 2 - Estrutura química dos principais flavonoides | 19 |
| Figura 3 - Classificação estrutural das antocianinas mais comuns | 21 |
| Figura 4 - Estrutura química da acarbose | 23 |
| Figura 5 - Estrutura química do orlistate | 26 |
| Figura 6 - Esquema geral das vias de formação de AGEs | 30 |
| Figura 7 - Análise cinética de inibição de α -glicosidase pelos inibidores (1) EAJ e (2) Acarbose. (A) Gráfico de Lineweaver-Burk (LB); (B) Gráfico de Dixon e (C) Gráfico da inclinação das retas do gráfico de LB versus [I] | 50 |
| Figura 8 - Análise cinética de inibição de α -amilase salivar pelos inibidores (1) EAJ e (2) Acarbose. (A) Gráfico de Lineweaver-Burk (LB); (B) Gráfico de Dixon e (C) Gráfico da inclinação das retas do gráfico de LB versus [I] | 51 |
| Figura 9 - Análise cinética de inibição de lipase pelos inibidores (1) EAJ e (2) Orlistate. (A) Gráfico de Lineweaver-Burk (LB); (B) Gráfico de Dixon e (C) Gráfico da inclinação das retas do gráfico de LB versus [I] | 52 |
| Figura 10 - Esquema geral de reação enzimática com inibição competitiva (E = enzima, I = inibidor, S = substrato, P = produto) | 54 |
| Figura 11 - Mudanças nas atividades antioxidantes (ABTS, DPPH e FRAP) e no conteúdo de antocianinas totais (AT) do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>) antes e após a digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> | 58 |
| Figura 12 - Mudanças na coloração do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>) antes e após a digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> | 61 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Composição das soluções estoque de fluidos de digestão simulada | 42 |
| Tabela 2 - Atividades antioxidantes (DPPH, ABTS, FRAP) e conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas dos extratos da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>)..... | 44 |
| Tabela 3 - Coeficientes de correlação (r) entre a composição fenólica dos extratos da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>) e atividades bioativas testadas <i>in vitro</i> | 45 |
| Tabela 4 - Atividades inibitórias <i>in vitro</i> (IC ₅₀ : mg/mL) dos extratos da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>) em relação às enzimas digestivas e glicação da albumina sérica bovina (BSA).... | 47 |
| Tabela 5 - Parâmetros cinéticos da inibição das enzimas α -glicosidase, α -amilase salivar e lipase pelo EAJ e drogas comerciais..... | 53 |
| Tabela 6 - Parâmetros colorimétricos (L*, a*, b*, h* e C*) do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>) antes e após a digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> | 62 |
| Tabela 7 - Atividades inibitórias <i>in vitro</i> (IC ₅₀ : mg/mL) do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>) em relação às enzimas digestivas e glicação da albumina sérica bovina (BSA) antes e depois da digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> | 63 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2. OBJETIVOS..... | 14 |
| 2.1. Objetivo geral | 14 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 14 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| 3.1. Jabuticaba (<i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel)..... | 15 |
| 3.2. Diabetes mellitus | 16 |
| 3.3. Compostos fenólicos | 18 |
| 3.4. Antocianinas | 20 |
| 3.5. Enzimas digestivas de carboidratos e diabetes | 22 |
| 3.6. Obesidade e diabetes | 25 |
| 3.7. Estresse oxidativo e diabetes | 27 |
| 3.8. Produtos de glicação avançada (AGEs) e diabetes..... | 28 |
| 3.9. Digestão <i>in vitro</i> no estudo da estabilidade de compostos bioativos | 32 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 33 |
| 4.1. Coleta de amostras e obtenção do extrato hidroalcoólico de jabuticaba (EHJ)..... | 33 |
| 4.2. Purificação do extrato hidroalcoólico..... | 33 |
| 4.3. Conteúdo de antocianinas totais (AT) | 34 |
| 4.4. Conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) | 35 |
| 4.5. Ensaio de atividade antioxidante..... | 35 |
| 4.5.1 Atividade de eliminação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) | 35 |
| 4.5.2. Atividade de eliminação do radical 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolína-6-sulfonato (ABTS) | 35 |
| 4.5.3. Poder Antioxidante Redutor Férrico (FRAP)..... | 36 |
| 4.6. Ensaio de inibição de enzimas digestivas <i>in vitro</i> | 36 |
| 4.6.1. Ensaio de inibição de α -amilase | 36 |

| | |
|---|----|
| 4.6.2. Ensaio de inibição de α -glicosidase..... | 37 |
| 4.6.3. Ensaio de inibição de lipase | 38 |
| 4.6.4. Determinação dos valores de IC ₅₀ | 39 |
| 4.6.5. Cinética de inibição | 39 |
| 4.7. Inibição da formação de AGEs..... | 41 |
| 4.8. Digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> | 41 |
| 4.9. Análise colorimétrica..... | 43 |
| 4.10. Análise estatística | 43 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 43 |
| 5.1. Conteúdo fenólico e atividades antioxidantes | 43 |
| 5.2. Inibição de enzimas digestivas <i>in vitro</i> | 46 |
| 5.2.1. Cinética de inibição | 49 |
| 5.3. Inibição <i>in vitro</i> da glicação de BSA..... | 56 |
| 5.4. Impacto da digestão gastrointestinal (DGI) <i>in vitro</i> na estabilidade e atividades bioativas do extrato purificado de antocianinas da casca de jabuticaba (<i>P. cauliflora</i>)..... | 57 |
| 5.4.1 Efeito da DGI no conteúdo de antocianinas totais (AT) e atividades antioxidantes | 58 |
| 5.4.2 Efeito da DGI <i>in vitro</i> nos parâmetros colorimétricos do EAJ..... | 61 |
| 5.4.3 Efeito da DGI <i>in vitro</i> na capacidade inibitória do EAJ frente as enzimas α -glicosidase, α -amilase e lipase | 62 |
| 5.4.4 Efeito da DGI <i>in vitro</i> na capacidade do EAJ de inibir a glicação de BSA | 65 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 66 |
| 7. REFERÊNCIAS | 67 |

1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica de alta incidência mundial caracterizada por hiperglicemia resultante de deficiências na secreção de insulina e/ou resistência associada ao efeito normal desse hormônio (LAMMERT; ZEEB, 2014). Os tratamentos do DM têm foco principal no controle da hiperglicemia, que promove o desenvolvimento das complicações diabéticas que podem afetar múltiplos sistemas e órgãos em todo o corpo, causadas por meio do aumento da incidência de condições como o estresse oxidativo e a formação de produtos de glicação avançada (AGEs) (OGUNTIBEJU, 2019; RHEE; KIM, 2018; WU et al., 2018a).

Uma das abordagens para o controle do DM via agentes antidiabéticos orais é o uso de inibidores de enzimas digestivas de carboidratos. A inibição da atividade dessas enzimas pode retardar e prolongar o tempo de digestão de carboidratos, reduzindo assim, a quantidade de glicose absorvida, e, conseqüentemente, o aumento dos níveis séricos de glicose após uma refeição (NAVEEN; BASKARAN, 2017). Inibidores sintéticos das enzimas hidrolisadoras de carboidratos (acarbose, miglitol, voglibose) são usados como agentes hipoglicêmicos. No entanto, seu uso tem sido associado a efeitos colaterais como inchaço, náusea, diarreia e flatulência (CHITTURI; GEORGE, 2002; HSIAO et al., 2006; KUMAR; GOYAL; THAKUR, 2018; ZHANG et al., 2016). Há um grande interesse em abordagens terapêuticas alternativas para a prevenção e controle desta doença e suas complicações. Nesse contexto, compostos naturais derivados de alimentos e plantas se destacam, pois estes geralmente não possuem efeitos colaterais adversos e simplificam o regime terapêutico, podendo ser incorporados por meio da dieta (GUO; XIA, 2018; NAVEEN; BASKARAN, 2017).

A investigação científica sobre a eficácia de compostos derivados de alimentos e plantas como compostos alternativos no tratamento do DM têm sido amplamente explorada. Alguns estudos evidenciaram que os compostos fenólicos de frutas podem efetivamente atuar na prevenção e controle do DM por meio da inibição de enzimas digestivas responsáveis pelo metabolismo de carboidratos e lipídeos (BARIK et al., 2020; FIDELIS et al., 2020; SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018; ZHANG et al., 2019). Ademais, a alta capacidade antioxidante desses compostos pode atuar diminuindo a incidência do estresse oxidativo e ainda a formação de produtos de glicação avançada (CHEN et al., 2014; HARRIS et al., 2014; SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2019; SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018).

A jabuticaba (*Plinia cauliflora*) é uma fruta nativa do Brasil, pertencente à família Myrtaceae, do bioma Mata Atlântica (CITADIM; DANNER; SASSO, 2010). Os frutos nativos

brasileiros da família Myrtaceae se destacam pelo seu elevado conteúdo de compostos fenólicos, que podem atuar na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas como o DM e a obesidade. Nesta visão, a jabuticaba apresenta-se como uma fonte em evidência de compostos bioativos, porém, os maiores teores de seus nutrientes e fitoquímicos que podem apresentar benefícios à saúde são encontrados na casca, que geralmente é descartada (MARQUES et al., 2019; MEIRA; PEREIRA, 2017; NEVES et al., 2018). Alguns estudos *in vitro*, *in vivo* e ensaios clínicos demonstraram o potencial dessa fruta para regular e melhorar a homeostase da glicose, proteger contra o estresse oxidativo e ainda propriedades antimicrobianas e antiproliferativas (ALBUQUERQUE et al., 2020; ASSIS et al., 2019; BATISTA et al., 2014; DRAGANO et al., 2013; PLAZA et al., 2016).

Embora muitos estudos relatem benefícios dos compostos fenólicos à saúde, para elucidar seu real potencial biológico é essencial conhecer como a estrutura desses compostos é afetada durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Isso é importante, uma vez que para promover alguma ação biológica os compostos devem permanecer em uma forma bioativa até atingirem o seu local de ação (DE SOUZA et al., 2019; GIOXARI et al., 2015; MINATEL et al., 2017). Na tentativa de estimar esse impacto, muitos estudos têm utilizado métodos de digestão simulada *in vitro*. Para isso, são empregados modelos que simulam os eventos físico-químicos e fisiológicos que ocorrem no trato gastrointestinal humano (ALMINGER et al., 2014; GUTIÉRREZ-GRIJALVA et al., 2017).

Apesar do seu alto teor de fitoquímicos e potenciais benefícios à saúde dos compostos da casca da jabuticaba, poucas pesquisas foram publicadas sobre suas propriedades bioativas e sobre como a composição fenólica e estas propriedades podem ser afetadas durante a digestão gastrointestinal. Nesta visão, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antidiabético de extratos da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) por meio da inibição de enzimas digestivas de carboidratos e lipídeos, assim como a inibição da glicação da albumina sérica bovina (BSA) e atividades antioxidantes *in vitro*. O impacto da digestão gastrointestinal *in vitro* na estabilidade dos compostos fenólicos e bioatividades também foi avaliado.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antidiabético de extratos da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) por meio da inibição de enzimas digestivas de carboidratos e lipídeos, assim como a inibição da glicação da albumina sérica bovina (BSA) e atividades antioxidantes *in vitro*. O impacto da digestão gastrointestinal *in vitro* na estabilidade dos compostos fenólicos e bioatividades também foi avaliado.

2.2. Objetivos específicos

- Obter um extrato da casca de jabuticaba rico em compostos fenólicos, especialmente antocianinas;
- Realizar a purificação dos extratos visando a obtenção do extrato fenólico purificado e do extrato de antocianinas purificado;
- Determinar o conteúdo de fenólicos totais e antocianinas totais do extrato hidroalcoólico e dos extratos purificados;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos extratos pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP;
- Avaliar a atividade de inibição das enzimas α -amilase, α -glicosidase e lipase pelos extratos;
- Avaliar o potencial inibitório dos extratos na formação de produtos de glicação avançada (AGEs);
- Avaliar o impacto da digestão gastrointestinal *in vitro* na composição fenólica e propriedades bioativas do extrato de antocianinas de jabuticaba (EAJ).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Jabuticaba (*Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel)

A jabuticaba é uma fruta nativa do Brasil, pertencente à família Myrtaceae, do bioma Mata Atlântica. É originária da região de Minas Gerais, porém já se encontra distribuída em uma ampla área territorial do país, com maior produção pelos estados do Sudeste (MARQUES et al., 2019; NEVES et al., 2018; NUNES et al., 2014). Existem nove espécies de jabuticaba, dentre as quais se destacam as variedades Jabuticaba paulista e a Jabuticaba Sabará. Estas são as variedades mais cultivadas comercialmente e se diferenciam principalmente pelo sabor doce e porte (CITADIN; DANNER; SASSO, 2010; NUNES et al., 2014). A jabuticaba se apresenta sob a forma de uma baga globosa, com diâmetro entre 2 e 3,5 cm, com casca de coloração que varia entre vermelho, roxo e preto. A polpa dessa fruta é esbranquiçada, mucilaginosa, agrídoce e pode apresentar de 1 a 4 sementes (NUNES et al., 2014; WU; LONG; KENNELLY, 2013).

A jabuticaba, devido ao seu elevado conteúdo de compostos fenólicos, tornou-se uma nova fonte em evidência de compostos bioativos. Apesar disso, os maiores teores de nutrientes e fitoquímicos da jabuticaba que podem apresentar benefícios à saúde são encontrados na casca, que geralmente é descartada (MARQUES et al., 2019; MEIRA; PEREIRA, 2017; NEVES et al., 2018). Nesse contexto, a exploração do potencial bioativo dos compostos da casca da jabuticaba é uma alternativa promissora visando seus benefícios para a saúde e seu potencial uso para incorporação em alimentos e fármacos, além de redução do impacto ambiental e econômico gerado pelo descarte desse resíduo (KUMAR et al., 2015; MIRABELLA; CASTELLANI; SALA, 2014).

A jabuticaba possuiu uma vasta gama de nutrientes, como carboidratos, minerais, aminoácidos, lipídios e vitaminas (WU; LONG; KENNELLY, 2013). Porém, conforme já mencionado, os componentes de maior destaque presentes nessa fruta são os compostos fenólicos, com mais de 50 já encontrados. Entre estes incluem-se antocianinas, quercetina, elagitaninos, e ácidos, principalmente, o ácido elágico e o gálico (ALEZANDRO et al., 2013). Outros flavonoides também foram identificados na jabuticaba como a quercetina-3-glicosídeo, quercetina-3-ramnosídeo, miricetina-3-ramnosídeo, quercetina-7-glicosídeo e quercetina-3-galactosídeo (INADA et al., 2015; NEVES et al., 2018; WU; LONG; KENNELLY, 2013).

Dentre os compostos presentes na casca da jabuticaba, essa fruta se destaca pelo elevado conteúdo e perfil diferenciado de antocianinas. Apresenta majoritariamente as antocianinas cianidina-3-glicosídeo e delphinidina-3-glicosídeo (LIMA et al., 2011;

RODRIGUES et al., 2015; SANTOS; VEGGI; MEIRELES, 2010; WU et al., 2012), e em menor proporção peonidina-3-glicosídeo (TREVISAN; BOBBIO; BOBBIO, 1972). Essas antocianinas são relatadas na literatura como potentes antioxidantes, o que atribui à jabuticaba potencial contra o estresse oxidativo e complicações associadas ao DM.

Recentemente, alguns estudos foram desenvolvidos visando demonstrar os benefícios potenciais da jabuticaba para a saúde, em função principalmente do seu conteúdo de compostos fenólicos e seu poder antioxidante. A suplementação da dieta de ratos obesos com casca de jabuticaba em pó proporcionou minimização dos danos do estresse oxidativo decorrentes da obesidade em muitos tecidos e aumento da atividade antioxidante do plasma, fígado, cérebro e rim (BATISTA et al., 2014). Em outro estudo, nesse caso com o fruto inteiro de jabuticaba em pó, foi observada redução do colesterol plasmático e triacilgliceróis e aumento da capacidade antioxidante no plasma (ALEZANDRO; GRANATO; GENOVESE, 2013). Em relação ao DM, estudos *in vivo* demonstraram que polifenóis da casca de jabuticaba foram efetivos na redução dos níveis de insulina em humanos saudáveis (PLAZA et al., 2016) e que a suplementação da dieta de ratos obesos com pó de casca de jabuticaba liofilizado foi eficaz para reduzir a resistência à insulina (DRAGANO et al., 2013).

3.2. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica caracterizada por um aumento anormal na concentração sérica de glicose, devido à ausência de secreção de insulina pelas células pancreáticas ou à ineficiência das células para usar a insulina que produz. Esta doença está associada a uma série de graves complicações que resultam em redução da qualidade de vida e mortalidade prematura (BRUTTI et al., 2019; IDF, 2014).

A incidência do DM e suas complicações tornaram-se uma das mais importantes questões atuais de saúde pública. A Organização Mundial de Saúde (OMS) relatou que em 2014 cerca de 422 milhões de pessoas estavam vivendo com diabetes. Já no ano de 2017, de acordo com a Federação Internacional de Diabetes (IDF), aproximadamente 425 milhões de adultos com idade entre 20 e 79 anos apresentavam esta doença. Estima-se ainda que o número de casos de DM deva crescer para 629 milhões no ano de 2045.

Existem dois tipos principais de diabetes, diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) e diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). O DMT1 é causado por uma reação autoimune, na qual o sistema de defesa do corpo ataca as células produtoras de insulina. Como resultado disso, o corpo produz muito pouca ou nenhuma insulina. Os sintomas incluem excreção excessiva de urina (poliúria),

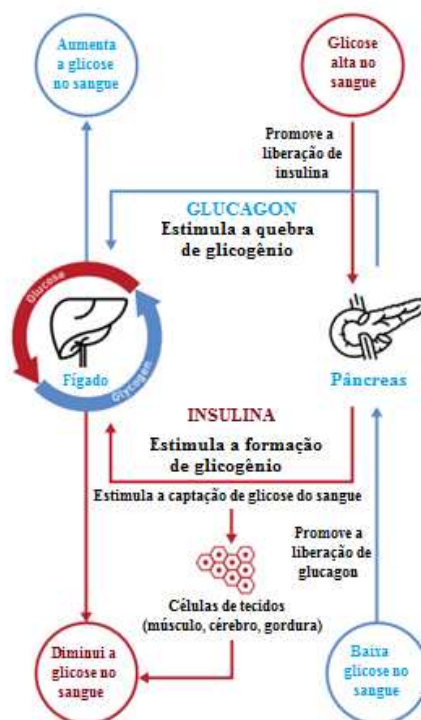
sede (polidipsia), fome constante, perda de peso, alterações na visão e fadiga. O DMT1 representa apenas 10% dos casos de diabetes, afetando aproximadamente 20 milhões de pessoas em todo o mundo (IDF, 2014; OMS, 2019).

O DMT2 é o tipo mais comum de diabetes, sendo responsável por cerca de 90% de todos os casos. Sua ocorrência é resultante em grande parte do excesso de peso corporal e falta de atividade física. É caracterizado pela resistência à insulina, em que as células do corpo resistem ao efeito normal da insulina, que é levar a glicose do sangue para o interior das células. Como a insulina não pode funcionar adequadamente, os níveis de glicose no sangue aumentam. O DMT2 apresenta sintomas semelhantes ao DMT1, mas geralmente menos marcantes. Como resultado, a doença pode ser diagnosticada vários anos após o início, uma vez que as complicações já tenham surgido (NAM HAN et al., 2017; OMS, 2019).

Os tratamentos do DM visam a restauração da homeostase da glicose ao normal, que é fundamental para as funções normais do organismo. Vários órgãos estão envolvidos na manutenção dos níveis séricos de glicose como o pâncreas, fígado, cérebro, intestino, tecido adiposo e muscular. O pâncreas desempenha um papel fundamental ao secretar o hormônio insulina e seu oponente glucagon. Após uma refeição, há aumento no nível de glicose no sangue, isso estimula as células β a secretarem insulina. A insulina induz a glicogênese no fígado e inicia a captação de glicose a partir de vários tecidos, como músculo e tecido adiposo, diminuindo os níveis de glicose na corrente sanguínea (Figura 1) (GUO; XIA, 2018; KOMATSU et al., 2013; RÖDER et al., 2016).

Para controlar a hiperglicemia pós-prandial, ou seja, um nível elevado de glicose no sangue após uma refeição, os tratamentos do DM incluem: controle da dieta e atividade física regular, aplicação de insulina e alguns agentes antidiabéticos orais, como tiazolidinedionas, biguanidas, sulfonilureias, meglitinida e inibidores de enzimas digestivas, que podem ser usados em combinação para uma regulação glicêmica mais eficiente (CHAUDHURY; MIRZA, 2017; NAM HAN et al., 2017).

Figura 1 - Esquema da regulação da glicemia pelos hormônios insulina e glucagon



Fonte: Adaptado de Nam Han et al., (2017).

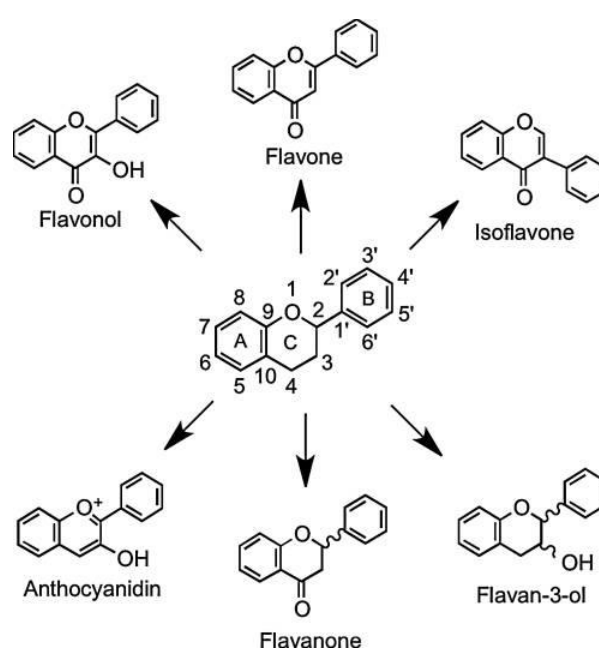
3.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são compostos fitoquímicos derivados de plantas e que apresentam em sua estrutura pelo menos um anel aromático que contenha um ou mais grupos hidroxila. Esses compostos são classificados em diversas categorias de acordo o número de anéis aromáticos e os elementos estruturais que se ligam a esses anéis. Existem mais de 8000 compostos fenólicos identificados e eles podem ser classificados em dois grupos principais: flavonoides e não flavonoides. Uma dieta rica em compostos fenólicos tem sido associada à redução da incidência de algumas doenças crônicas. Dessa forma, há uma crescente demanda por alimentos e plantas ricos nesses compostos, sendo vários mecanismos propostos para as suas propriedades bioativas que dependem de seu alvo celular e da estrutura química da molécula (CHEN et al., 2019a; DE LA ROSA et al., 2019; REIN et al., 2013; XU; WANG; LI, 2019).

Dentre os compostos fenólicos, a classe com maior destaque é a de flavonoides, com mais de 4000 compostos já identificados. A estrutura básica desses compostos é constituída de 15 carbonos (C6 – C3 – C6), com dois anéis fenólicos (A e B) unidos através de um anel pirano heterocíclico (anel C), que podem ter numerosos grupos substituintes. Esses compostos são

agrupados em diversas subclasses como flavonas, flavonóis, flavan-3-óis, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas (Figura 2). Além dessas, outras subclasses de flavonoides encontradas na natureza são as chalconas, diidrocalos, di-hidroflavonóis, flavan-3,4-dióis, cumarinas e auronas (DE LA ROSA et al., 2019; DEL RIO et al., 2013; IGNAT; VOLF; POPA, 2011). Os flavonoides são conhecidos por sua elevada capacidade antioxidante, que é decorrente da sua estrutura química que apresenta elevado potencial de oxidação e redução (IGNAT; VOLF; POPA, 2011).

Figura 2 - Estrutura química dos principais flavonoides



Fonte: Adaptado de Del rio et al., (2013).

O grupo mais importante de não flavonoides em frutas e vegetais são os ácidos fenólicos, que contêm um único grupo fenil substituído por um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxila. Os ácidos fenólicos podem ser divididos em ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos e outros ácidos hidroxifenólicos, que se diferenciam pelo comprimento da cadeia contendo o grupo carboxílico (DE LA ROSA et al., 2019). Dos ácidos hidroxibenzóicos os mais comuns são o ácido gálico e o seu dímero, o ácido elágico. Esses ácidos raramente são encontrados em sua forma livre, eles geralmente aparecem glicosilados, ligados a ácidos orgânicos ou ligados a componentes estruturais das células vegetais (DE LA ROSA et al., 2019; DEL RIO et al., 2013). Dos ácidos hidroxicinâmicos, os mais difundidos na natureza, são o ácido p-cumárico, o ácido cafeico e o ácido ferúlico (SIMÕES et al., 2004).

Os benefícios associados à ingestão de compostos fenólicos na dieta são atribuídos principalmente à sua elevada capacidade antioxidante. Esses compostos podem reduzir a incidência de estresse oxidativo e modular a ação de algumas enzimas, atuando assim na proteção do organismo contra danos oxidativos e diminuindo o risco de ocorrência de doenças crônicas, como o DM (DE LA ROSA et al., 2019; GONÇALVES et al., 2017, 2018). Evidências sugerem que compostos fenólicos podem atuar na modulação do DM diminuindo a resistência à insulina e marcadores inflamatórios; aumentando a captação de glicose em alguns tecidos; protegendo contra o estresse oxidativo; e promovendo a secreção de insulina e a proliferação de células β pancreáticas (BABU; LIU; GILBERT, 2013; GONÇALVES et al., 2018; SCALBERT et al., 2005).

3.4. Antocianinas

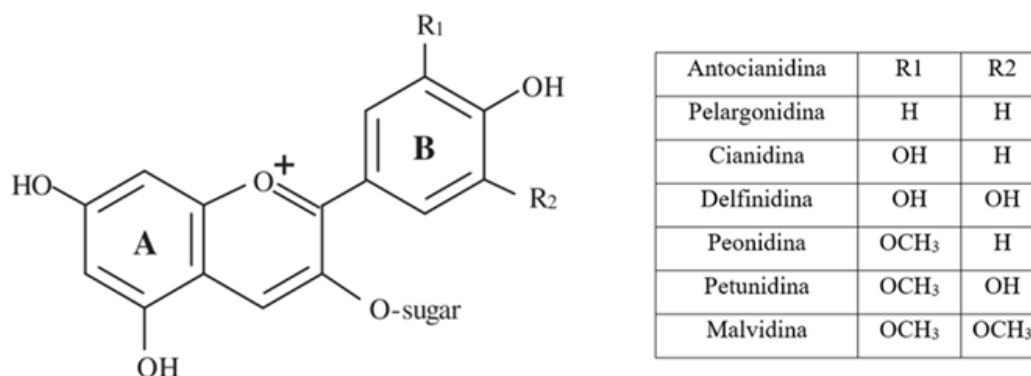
As antocianinas são sintetizadas pelas vias do acetato e do chiquimato em plantas (DIXON; LIU; JUN, 2013; SMERIGLIO et al., 2016). São pigmentos de fontes naturais encontrados em frutas, vegetais e cereais pigmentados. Representam, entre os muitos pigmentos naturais, o mais importante grupo de pigmentos vegetais solúveis em água, sendo responsáveis pela maioria das cores vermelhas, azuis e roxas nos tecidos vegetais (CHUNG et al., 2015; FERNANDES et al., 2013; SMERIGLIO et al., 2016; WICKZOWSKI; TOPOLSKA; HONKE, 2014).

Quimicamente, as antocianinas são moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides e são derivadas da estrutura básica do cátion flavilium, possuindo dois anéis de benzoíla (A e B) separados por um anel heterocíclico de oxigênio (C). Apresentam um esqueleto básico de C6-C3-C6 com um total de 15 carbonos (Figura 3). As massas moleculares da maioria das antocianinas variam de 400 a 1200 Da e elas têm uma absorção máxima entre 465 e 550 nm (ANDERSEN; JORDHEIM, 2013; SMERIGLIO et al., 2016).

As antocianinas existem principalmente na forma de glicosídeos e suas porções não glicosiladas são chamadas de antocianidinas, também conhecidas como agliconas. Os tipos mais comuns de antocianidinas em alimentos são cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, petunidina e malvidina. Existem mais de 700 tipos de antocianinas identificadas na natureza, dos quais cianidina-3-glicosídeo é o mais amplamente distribuído. Os diferentes tipos de antocianinas se distinguem de acordo com os diferentes números e posições de grupos hidroxila e metoxila nos anéis A e B do esqueleto básico de antocianidina, pelo tipo e número de açúcares conjugados e a presença ou ausência de um grupo acilo (Figura 3) (ANDERSEN;

JORDHEIM, 2013; CHUNG et al., 2015; KHOO et al., 2017; SMERIGLIO et al., 2016; TSUDA, 2012).

Figura 3 - Classificação estrutural das antocianinas mais comuns



Fonte: Adaptado de Sancho e Pastore, 2012.

As antocianinas são encontradas comumente glicosiladas com açúcares que estabilizam a molécula. Os principais açúcares que se ligam às moléculas são a glicose, ramnose, galactose, xilose ou arabinose. As unidades glicosídicas ligam-se às antocianinas por ligação α ou β , com a fração de açúcar ligada geralmente à posição 3 no anel C. O resíduo de açúcar pode ser acilado com um ácido fenólico ou alifático, sendo os mais comuns os ácidos cinâmico, cafeico, ferúlico, sinápico, acético, málico, malônico e oxálico (GUO; XIA, 2018; PRIOR; WU, 2006).

As antocianinas têm atraído atenção como compostos alimentares promissores para a saúde humana. Devido às suas propriedades antioxidantes as antocianinas foram relacionadas a diminuições no estresse oxidativo com efeitos de proteção das β -células pancreáticas e aumento da produção de insulina (GUO; XIA, 2018; LEE et al., 2015; SANCHO; PASTORE, 2012). Propriedades antiinflamatórias também foram atribuídas às antocianinas como efeito antidiabético devido à diminuição da ocorrência de inflamação crônica (GUO et al., 2012; GUO; XIA, 2018). Além disso, atividade de inibição de enzimas digestivas de carboidratos é outra propriedade das antocianinas que foi estudada como efeito antidiabético (AKKARACHIYASIT et al., 2010; CASTRO-ACOSTA et al., 2016).

3.5. Enzimas digestivas de carboidratos e diabetes

Sérias complicações relacionadas ao coração, vasos sanguíneos, rins, nervos e olhos de pacientes com DM são observadas quando há frequente ocorrência de níveis elevados de glicose no sangue. Deste modo, a principal abordagem no tratamento do DM é o controle glicêmico, visando a prevenção ou retardo das complicações agudas e crônicas, para melhorar a qualidade de vida dos pacientes e reduzir a mortalidade associada ao DM (FIGUEIRA et al., 2017; KIRAKOSYAN et al., 2018; TAN; CHANG; ZHANG, 2017).

As enzimas α -amilases e α -glicosidases são responsáveis pela hidrólise dos carboidratos ingeridos na dieta humana, principalmente o amido e a sacarose, sendo estes a principal fonte de glicose para o organismo (MALUNGA; ECK; BETA, 2016; SU; LAI; NG, 2013). As α -amilases são enzimas da família de endoamilases, compostas de 512 aminoácidos com peso molecular de 57,6 kDa. São secretadas pelo pâncreas e pelas glândulas salivares e são responsáveis pela hidrólise do amido, principalmente para maltose e oligossacarídeos mais curtos por meio da clivagem das ligações glicosídicas α -1,4 (BERG; STRYER; TYMOCZKO, 2014; DE SALES et al., 2012; WHITCOMB; LOWE, 2007).

As enzimas glicosidases estão localizadas na membrana da borda em escova de células intestinais e são enzimas essenciais para a digestão dos carboidratos. Hidrolisam as ligações glicosídicas entre os resíduos de açúcar, e sua especificidade depende do tipo de ligação. As α -glicosidases hidrolisam os α -glicosídeos como a sacarose, maltose e trealose. Já as β -glicosidases hidrolisam os β -glicosídeos como a celobiose. Após a hidrólise do amido pela α -amilase, as enzimas α -glicosidases catalisam a clivagem das ligações glicosídicas α -1,4, α -1,6 e α -1,2 de oligossacarídeos e dissacarídeos liberando glicose durante a etapa final na digestão dos carboidratos (CHEN; GUO, 2017; KLOWDEN, 2008; LEE et al., 2012). Isso disponibiliza a glicose para ser absorvida e transportada para a circulação sanguínea (EL ABED et al., 2017; GOWD; JIA; CHEN, 2017; SHINDE et al., 2008).

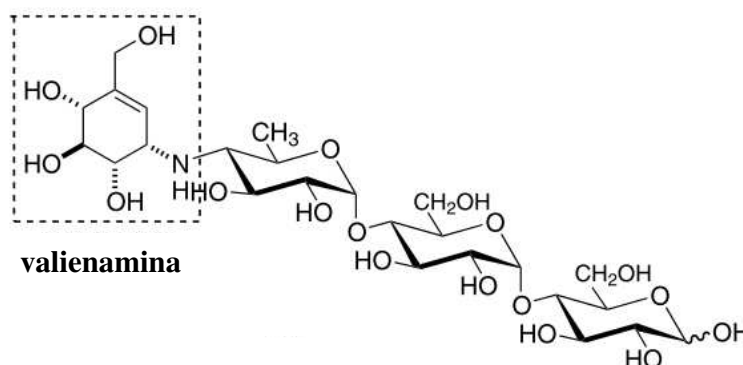
Uma abordagem terapêutica no tratamento do diabetes é retardar a absorção de glicose pela inibição de enzimas digestivas, como α -amilases e α -glicosidases, diminuindo assim o aumento pós-prandial de glicose no sangue. Esses inibidores são classificados como hipoglicemiantes orais de terceira categoria e levam à redução significativa da glicemia pós-prandial em pacientes com DM2, sendo recomendados pela Federação Internacional do Diabetes (IDF). Acarbose, miglitol e voglibose são os antidiabéticos orais usados atualmente com esta finalidade. O inibidor mais empregado é a acarbose, que inibe as α -amilases e a α -

glicosidases, enquanto que, o miglitol e a voglibose inibem apenas as α -glicosidases (CHEN; GUO, 2017; ETXEBERRIA et al., 2012; VAN DE LAAR, 2008).

Além de serem empregados no tratamento do DM, os agentes antidiabéticos como a acarbose, desempenham importante papel na prevenção do desenvolvimento de DM2 em pacientes que apresentam pré-diabetes, reduzindo as chances de que esses pacientes se tornem de fato diabéticos. O pré-diabetes é uma condição que surge antes do desenvolvimento de diabetes em que a glicose no sangue é anormalmente alta (entre 100 e 125 mg/dl), mas não atinge o limiar de diagnóstico de DM2 (>125 mg/dl). A hiperglicemia pós-prandial é um dos primeiros indicadores identificáveis de controle deficiente de glicose, contribui para a progressão da intolerância à glicose ao DM2 e acentua a hiperglicemia crônica no diabetes estabelecido (CHENG; JOSSE, 2004; MAHAT et al., 2019; ZEYMER, 2006).

Acarbose é um pseudotetrassacárideo que é estruturalmente semelhante aos oligossacarídeos derivados da digestão do amido. A fórmula molecular desse composto é $C_{25}H_{43}NO_{18}$ e apresenta em sua estrutura uma porção aminociclitol insaturada, chamada valienamina ligada via uma ponte de nitrogênio a uma desoxihexose, que por sua vez é ligada à maltose (Figura 4) (ARAKAWA et al., 2003; BOWERS; MAHMUD; FLOSS, 2002). A acarbose é pouco absorvida pelo trato gastrointestinal, com apenas 1% a 2% da dose sendo absorvida. Devido a esta baixa absorção, é transportada através do trato intestinal para o cólon, onde a degradação pode ocorrer por enzimas digestivas e por microrganismos intestinais (AHR et al., 1989).

Figura 4 - Estrutura química da acarbose



Fonte: Adaptado de Arakawa et al., (2003).

A acarbose liga-se ao sítio ativo de ligação de α -glicosidases e α -amilases de forma reversível e inibe de forma potente as atividades dessas enzimas. Por conseguinte, devido à natureza reversível desta interação inibidor-enzima, a conversão de oligossacarídeos e

dissacarídeos em monossacarídeos só é retardada em vez de completamente bloqueada (FURMAN, 2017; ITSUO *et al.*, 1981; SALVATORE; GIULIANO, 1996). Apesar de eficaz no controle da glicemia pós-prandial, este inibidor possui algumas consequências gastrointestinais adversas durante a sua administração, como diarreia, dor e distensão abdominal, que são decorrentes da fermentação dos carboidratos não digeridos no intestino grosso (FURMAN, 2017; NAVEEN; BASKARAN, 2017; WEINERT; CAMARGO; SILVEIRO, 2015). Nesse contexto, há um grande interesse em compostos naturais derivados de alimentos e plantas com potencial inibitório das enzimas ligadas ao DM, visando um efeito antidiabético com nenhuma ou menos reações colaterais aos usuários deste tipo de medicamento (ATANASOV *et al.*, 2015; FIGUEIREDO-GONZÁLEZ *et al.*, 2016).

Compostos naturais derivados de alimentos e plantas são encontrados em abundância na natureza e apresentam geralmente baixo custo, podendo ser incorporados por meio da dieta visando os seus benefícios à saúde. Diversas plantas e compostos derivados de alimentos já demonstraram capacidade de inibir as enzimas α -amilase e α -glicosidase. Extratos de seis plantas medicinais do Parque Nacional do Meru Betiri (Jember, Indonesia) foram estudados quanto ao seu potencial antidiabético e apresentaram maior inibição da α -amilase e α -glicosidase quando comparadas ao inibidor padrão, a acarbose (RATNADEWI *et al.*, 2018). Extratos aquosos de *Hibiscus sabdariffa* mostraram-se eficazes inibidores da α -glicosidase, no entanto, com menor inibição em comparação com o controle positivo acarbose (RASHEED *et al.*, 2018). As antocianinas do extrato de melão amargo (*Momordica charantia* Linn.) também mostraram atividade inibitória das enzimas α -glicosidase e α -amilase (GUDER, 2016).

Estudos experimentais *in vitro* sugerem que os compostos fenólicos estão associados à inibição de enzimas digestivas de carboidratos, como α -amilase e α -glicosidase, atuando, então, no controle do DM. Apesar dessas evidências, esses estudos apresentam limitações, fornecendo uma base para novos ensaios. As interações ocorridas na inibição dessas enzimas, assim como o tipo de inibição ainda não estão bem elucidadas. Ademais, frequentemente os estudos são realizados utilizando-se extratos brutos que apresentam um conjunto de polifenóis e diferentes compostos. Consequentemente, é difícil identificar e atribuir a quais compostos específicos a atividade inibitória contra essas enzimas está associada (GOWD; JIA; CHEN, 2017; SUI; ZHANG; ZHOU, 2016).

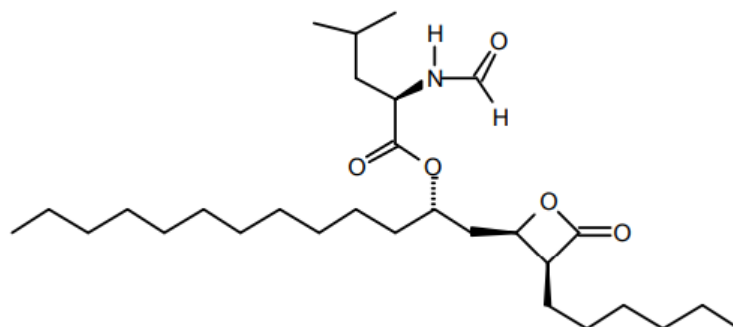
3.6. Obesidade e diabetes

A obesidade está associada a diversas doenças crônicas como DM, sendo considerada um dos mais fortes fatores de risco para o desenvolvimento de DMT2 (SHENOY; SEIXAS; GRANDNER, 2019). Dentre os fatores que influenciam o desenvolvimento dessa doença, os mais influentes são o consumo de alimentos não saudáveis e estilos de vida sedentários. Já foi demonstrado que a modificação do estilo de vida com atividade física e/ou dieta saudável pode atrasar ou prevenir o aparecimento dessa doença (NAM HAN et al., 2017). Para otimizar o controle glicêmico é imprescindível atingir e manter um peso corporal saudável e prevenir a recuperação de peso. No entanto, muitas vezes a perda de peso é especialmente difícil para pessoas com obesidade e diabetes, o que pode estar relacionado à terapia insulínica intensiva e alguns medicamentos anti-hiperglicêmicos que estão associados ao ganho de peso (WHARTON; SHARMA; LAU, 2013).

O orlistate é um medicamento empregado no tratamento da obesidade em pessoas em que intervenções com mudança de hábitos alimentares e atividade física não foram suficientes para melhorar significativamente o quadro de obesidade, atuando como um adjuvante da alimentação saudável e atividade física (LAU; TEOH, 2015). A terapia com orlistate auxilia na redução do peso corporal e diminuição do risco de desenvolvimento de DM em pessoas com sobrepeso ou obesidade, enquanto que em pessoas diagnosticadas com DMT2 resulta em um melhor controle glicêmico a partir da perda de peso (JACOB et al., 2009; STEVENS et al., 2015; TORGERSON et al., 2004; YANOVSKI; YANOVSK, 2002).

O orlistate apresenta fórmula molecular $C_{29}H_{53}NO_5$ (Figura 5) e atua na inibição das enzimas lipase gástrica e lipase pancreática, tornando as enzimas incapazes de hidrolisar a gordura da dieta na forma de triglicerídeos para ácidos graxos livres e monoglicerídeos absorvíveis. Como os triglicerídeos não digeridos não são absorvidos e sim excretados, o déficit calórico resultante pode ter um efeito positivo no controle do peso. A absorção desse medicamento é relatada como de aproximadamente 1%, sendo a maior parte da droga administrada excretada em sua forma intacta nas fezes (BALLINGER; PEIKIN, 2002; KANG; PARK, 2012; LUCAS; KAPLAN-MACHLIS, 2001; YUN, 2010).

Figura 5 - Estrutura química do orlistate



Fonte: Adaptado de Al-Omar et al., (2006).

As lipases pancreáticas desempenham papel fundamental no metabolismo da gordura ingerida na dieta. São secretadas pelo pâncreas e catalisam a hidrólise dos triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos (MENDES; OLIVEIRA; DE CASTRO, 2012). O processo de metabolismo lipídico se inicia na boca, continua no estômago mediante ação da lipase gástrica, e se completa no duodeno pela ação da lipase pancreática que atua na conversão dos triglicerídeos em mono e diglicerídeos, ácidos graxos livres e glicerol. Os produtos liberados pela hidrólise de lipídios são absorvidos pelos enterócitos para sintetizar novas moléculas de triglicerídeos, que são transportadas para os diferentes órgãos por meio de lipoproteínas (ARMAND, 2007; DE LA GARZA et al., 2011; NELSON; COX, 2008).

A inibição da lipase tem sido amplamente utilizada para a determinação do potencial de diferentes compostos como agentes antiobesidade. A inibição dessa enzima é considerada uma estimada terapia no tratamento da obesidade (YUN, 2010). No entanto, o orlistate tem seu uso associado a efeitos gastrointestinais adversos como constipação, indigestão, fezes gordurosas e incontinência fecal, devido ao aumento de gordura nas fezes (BIRARI; BHUTANI, 2007; GADDE; APOLZAN; BERTHOUD, 2018; WILDING, 2013). Dessa maneira, há um crescente interesse em compostos naturais que apresentam propriedades inibitórias da atividade dessa enzima, mas que apresentem menos ou nenhum efeito adverso.

Os compostos fenólicos se destacam com alguns estudos atestando sua capacidade inibitória frente às enzimas lipases. A inibição da lipase pancreática foi verificada pelos extratos de *Vigna unguiculata* que é rico em compostos fenólicos, especialmente flavonoides (VIJAYARAJ; NAKAGAWA; YAMAKI, 2019). A atividade inibitória de lipase do extrato de fruta preta de chokeberry foi atribuída aos compostos fenólicos, principalmente as procianidinas e antocianinas presentes em sua composição (SOSNOWSKA et al., 2018). Extratos fenólicos de 4 espécies de legumes também se mostraram potenciais inibidores da atividade da lipase

pancreática (SREERAMA; TAKAHASHI; YAMAKI, 2012). Doze flavonoides isolados de raízes de *Glycyrrhiza glabra* foram avaliados quanto à atividade inibitória da lipase pancreática *in vitro* e apresentaram inibição contra essa enzima (BIRARI et al., 2011). Procianidinas de extrato de maçã também mostraram atividade de inibição da lipase pancreática (SUGIYAMA et al., 2007).

Apesar de vários estudos relatarem as propriedades inibitórias de compostos naturais contra enzimas lipases, não há ainda um inibidor de lipase de fontes vegetais aprovado para o tratamento do diabetes e obesidade. Portanto há necessidade de mais estudos atestando o potencial de compostos de fontes naturais frente a essas enzimas, para que estes possam ser de fato empregados no tratamento da obesidade e conseqüentemente do DM2. Além disso, muitos destes compostos são derivados de alimentos, fazendo com que possam ser incorporados em quantidades adequadas na dieta visando seus benefícios à saúde (SINGH et al., 2015).

3.7. Estresse oxidativo e diabetes

Semelhante a várias outras doenças, o estresse oxidativo (EO) tem sido amplamente associado à incidência do DM e suas complicações. O EO está relacionado ao aumento excessivo dos níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO são produzidas fisiologicamente e são importantes para o sistema imunológico, a sinalização celular, expressão gênica e muitas outras funções do corpo. Porém, o aumento excessivo dos níveis intracelulares dessas espécies reativas pode causar danos potenciais a lipídios, DNA, proteínas, o que promove danos celulares que levam a diversas complicações, como inflamação, doenças cardiovasculares, câncer e distúrbios metabólicos (ALLEN; TRESINI, 2000; HALIM; HALIM, 2019; SMERIGLIO et al., 2016; WANG et al., 2011).

O mecanismo de geração das ERO possui duas vias endógenas principais, a que ocorre nas mitocôndrias por meio da cadeia transportadora de elétrons e por meio da ação das enzimas NADPH oxidases (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidases). As principais ERO formadas são os radicais superóxido ($O_2\bullet$), radical hidroxila ($OH\bullet$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (HUANG; NAN, 2019; RADOMSKA-LEŚNIEWSKA; BAŁAN; SKOPIŃSKI, 2017; SCHREML et al., 2010).

O EO exerce um papel fundamental no DM, uma vez que está ligado ao desenvolvimento da doença e as suas complicações associadas. Esse processo surge devido a um desequilíbrio entre a produção e a eliminação das ERO e implica no comprometimento da função das células β causada por reações autoimunes, citocinas e proteínas inflamatórias. Além

disso, o EO também está relacionado à resistência à insulina, influenciando na secreção e na ação desse hormônio (HALIM; HALIM, 2019; IGHODARO, 2018; PRATTICHIZZO et al., 2018).

Para inibir e/ou reduzir a ação das ERO e evitar os danos ocasionados, os sistemas de defesa antioxidante desempenham um papel crucial. Essa proteção pode ser alcançada por meio de sistemas enzimáticos e não-enzimáticos, que podem ter origem endógena ou dietética. Os antioxidantes enzimáticos endógenos incluem as enzimas glutathione peroxidase, superóxido dismutase e catalase, enquanto os antioxidantes não enzimáticos incluem principalmente compostos de origem dietética como os carotenóides, vitaminas E, A e C, flavonoides e outros compostos (AGUILAR; NAVARRO; PÉREZ, 2016; NEHA et al., 2019).

A inibição ou redução do EO é uma das estratégias empregadas na prevenção ou no controle das complicações do DM. Nesse sentido, os compostos fenólicos em geral se destacam, pois os seus efeitos benéficos à saúde humana são comumente associados à sua capacidade antioxidante. Extratos de diferentes plantas e alimentos ricos em compostos fenólicos já foram estudados quanto à capacidade antioxidante. Valores significantes de atividade antioxidante foram verificados para mirtilo (*Vaccinium* sp.), amora-preta (*Rubus* sp.), morango (*Fragaria* sp.), uva (*Vitis vinifera*) e kiwi (*Actinidia*) que apresentam quantidades relevantes de fenólicos, como antocianinas, ácido clorogênico e ácido gálico (LIU et al., 2019; NOWICKA et al., 2019; RODRIGUES et al., 2011; SCHULZ et al., 2019; SOETHE et al., 2016; ZEGHAD et al., 2019).

Outros estudos demonstraram diferentes efeitos benéficos dos compostos fenólicos no controle do estresse oxidativo e consequente redução de doenças associadas a esse processo. Alguns desses compostos são depuradores de radicais superóxido, atuam na redução das EROs e no aumento do sistema de defesa antioxidante, além de provocarem a elevação das atividades das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx) (CHUN; KIM; LEE, 2003; LIU et al., 2015; WU et al., 2014, 2018b). Essas descobertas sugerem que a redução do estresse oxidativo e a melhora do sistema de defesa antioxidante durante o DM por esses compostos poderia ser uma estratégia terapêutica na prevenção e no tratamento das complicações do DM.

3.8. Produtos de glicação avançada (AGEs) e diabetes

A hiperglicemia crônica promove a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) e a expressão do seu receptor (RAGE). Os AGEs acumulam-se com o tempo e são irreversivelmente depositados em vários tecidos do corpo, desempenhando um papel

fundamental para o desenvolvimento e agravamento de muitas complicações diabéticas por danos celulares e teciduais. Os efeitos patológicos dos AGEs estão relacionados à modificação das propriedades químicas e funcionais de diversas estruturas biológicas. Como resultado disso promovem estresse oxidativo e aumento da expressão de mediadores inflamatórios (ISLAM et al., 2014; JUD; SOURIJ, 2019; SIMÓ-SERVAT et al., 2018)

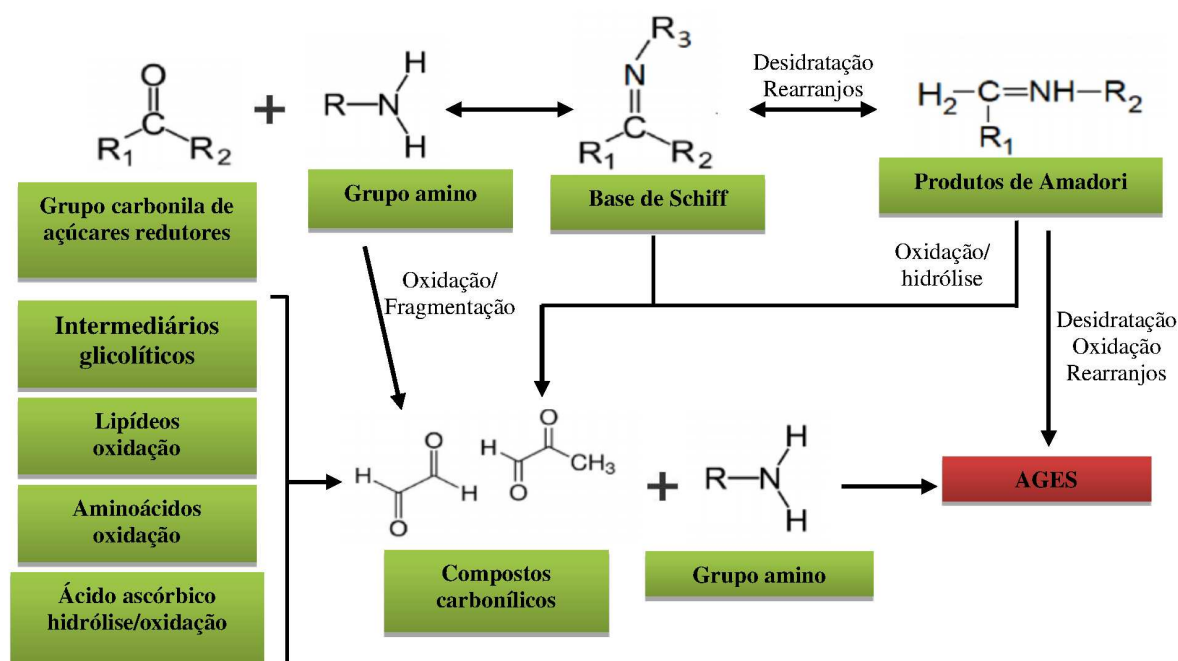
Os AGEs são uma classe complexa e heterogênea de compostos que podem ser classificados em 3 grupos principais com base em suas estruturas químicas: (1) AGEs com propriedade de fluorescência e estrutura *crosslinking*, como a pentosidina. (2) AGEs de estruturas *crosslinking* não fluorescentes, como dilisina imidazólio. (3) AGEs sem propriedade de fluorescência e sem estrutura *crosslinking*, tais como N^ε-carboxietilisina e N^ε-carboximetilisina (WU et al., 2011; YEH et al., 2016).

Os AGEs podem ser originados de fontes exógenas, relacionadas a fontes de alimentação e fumo ou endógenas em condições de hiperglicemia e/ou condições de estresse oxidativo (TABREZ; AL-SHALI; AHMAD, 2015). Endogenamente, são formados pela interação de grupos carbonila de açúcares redutores, como a glicose, com os grupos amino de proteínas e ácidos nucleicos (SINGH et al., 2001). Pessoas com DM apresentam um ambiente propício para a formação de AGEs, pois a taxa de formação desses compostos depende da concentração e reatividade do precursor de AGE (por exemplo, glicose) e a disponibilidade de grupos amino livres para a modificação de proteínas e peptídeos (DHANANJAYAN; FORBES; MÜNCH, 2018; OTT et al., 2014).

Esses compostos são formados por meio da reação de glicação ou reação de Maillard, que é uma reação não enzimática, de ocorrência no meio biológico ou em alimentos (Figura 6). Na primeira etapa dessa reação, o grupo carbonila da molécula de açúcar reage com um grupo amino de ácidos nucleicos, aminoácidos livres ou seus resíduos em peptídeos, aminofosfolipídeos ou proteínas. O produto resultante é uma base de imina ou Schiff, que se dissocia em seus produtos ou é convertida em um produto de Amadori pelo rearranjo de Amadori. Os produtos de Amadori sofrem então desidratação, oxidação e rearranjos, gerando os produtos finais de glicação avançada (AGEs), ou sofrem oxidação ou hidrólise formando compostos carbonílicos. Existem outras vias reacionais (Figura 6) que levam à formação de compostos carbonílicos no organismo e contribuem para a formação dos AGEs. Esses compostos podem ser formados por exemplo, pela reação de glicólise ou pela oxidação de açúcares, de lipídios e de aminoácidos; por meio do processo de oxidação de açúcares, quando catalisado por metais, que é chamado “Oxidação de Wolff”; e a partir da hidrólise da base de Schiff formada a partir da reação de glicação inicial, em um processo chamado de “Rota de

Namiki". (BARBOSA et al., 2016; JUD; SOURIJ, 2019; SINGH et al., 2014; TORRES; XAVIER; GOULART, 2018; YEH et al., 2016).

Figura 6 - Esquema geral das vias de formação de AGEs



Fonte: Adaptado de Barbosa et al., (2016) e Melo, (2018).

Depois de formados, os AGEs podem causar efeitos danosos em diferentes tecidos devido à sua composição química, seu efeito oxidante e inflamatório. Esses efeitos estão diretamente relacionados a danos causados a estrutura biológica das proteínas e ao metabolismo da matriz extracelular e também os relacionados ao seu receptor, os RAGE (CHINCHANSURE et al., 2015; LUEVANO-CONTRERAS; CHAPMAN-NOVAKOFSKI, 2010). O receptor para os AGEs (RAGE) é uma proteína transmembrânica expressa em uma ampla variedade de células (linfócitos, macrófagos, células musculares, endoteliais). Este receptor se liga a diversos ligantes extracelulares e ativa vias de transdução de sinal que desempenham um importante papel na inflamação aguda e/ou crônica. A ativação deste receptor tem sido observada em diversas doenças, inclusive no diabetes (NEDIĆ et al., 2013).

Uma das proteínas mais afetadas pela glicação é a albumina sérica humana (HSA) que é a mais abundante no plasma e apresenta sensibilidade à glicação. Pelo fato de a HSA estar em contato direto com o sangue, a glicação dessa proteína ocorre principalmente pela glicose

plasmática, o que provoca grandes impactos na estrutura tridimensional da proteína e em suas propriedades funcionais. A albumina glicada tem uma importante implicação clínica, sendo correlacionada na maioria dos estudos *in vivo* e *in vitro* a complicações diabéticas como retinopatia, nefropatia, neuropatia e doença arterial coronariana (ARASTEH et al., 2014).

O organismo possui sistemas de defesa responsáveis pela remoção e eliminação dos AGEs, porém, a taxa de formação de AGEs pode exceder a capacidade do organismo em degradá-los e eliminá-los. Assim, agentes que inibem a formação de AGEs têm potencial terapêutico no controle de doenças associadas à glicação. Dessa maneira, há um crescente interesse em compostos, especialmente compostos naturais, que possuam propriedades terapêuticas na inibição da glicação visando à minimização da patogênese das complicações de doenças como o diabetes (BARBOSA; DE OLIVEIRA; SEARA, 2009; CHINCHANSURE et al., 2015). Assim, estudos em busca de abordagens terapêuticas com efeito inibitório da formação de AGEs têm sido realizados. Os estudos *in vitro* são realizados com a albumina bovina, que é semelhante em aproximadamente em 80% em propriedades estruturais com a albumina humana (SZAPACS et al., 2006).

Compostos que apresentam propriedades antiglicação podem atuar em diferentes etapas da reação de formação dos AGEs, por meio de mecanismos que podem atrasar ou reduzir a síntese desses compostos. Alguns dos principais mecanismos são: (1) Captura de radicais livres formados durante a reação de glicação e a diminuição da produção de grupos reativos de carbonila pela oxidação de compostos de Schiff. (2) Redução da produção de base de Schiff e produtos de Amadori, por meio do bloqueio dos grupos carbonila ou dicarbonila dos açúcares redutores. (3) Ligação com grupos amino, mascarando resíduos de aminoácidos e protegendo proteínas. (4) Captura de compostos carbonilas reativos. (5) Quelação de íons metálicos que estão envolvidos na produção de AGEs. (6) Bloqueio da função do RAGE e redução do subsequente desenvolvimento de estresse oxidativo e inflamação (MELO, 2018; YEH et al., 2016).

Muitos produtos naturais, particularmente extratos de plantas e frutas, têm sido avaliados quanto à sua capacidade de prevenir a formação de AGEs. Extratos de *Myrica faya* mostraram forte atividade inibitória em relação à glicação da albumina sérica bovina (BSA), sendo a antocianina cianidina-3-O-glicosídeo e elagitaninos os principais agentes bioativos envolvidos nos efeitos antidiabéticos dessa espécie (SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2019). Extratos de mirtilo mostraram inibição efetiva de glicação de proteínas, sendo a composição fenólica fortemente correlacionada com a bioatividade relatada (SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018). Diversos extratos de frutos silvestres reduziram a

formação de AGEs de uma maneira dependente da concentração que se correlacionou positivamente com o conteúdo fenólico total de cada extrato e, em menor grau, com o teor total de antocianinas (HARRIS et al., 2014). O extrato de groselha negra (*Ribes nigrum*) que é conhecido por conter alto teor de antocianinas, também apresentou potencial antiglicação, sendo as antocianinas delphinidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-rutinosídeo identificadas como pigmentos principais na amostra (CHEN et al., 2014). Os resultados destas pesquisas sugerem que a ação antiglicação por compostos fenólicos pode ter grande potencial terapêutico para a prevenção e tratamento de complicações diabéticas.

3.9. Digestão *in vitro* no estudo da estabilidade de compostos bioativos

Muitos estudos com compostos naturais derivados de alimentos e plantas atestam seus benefícios à saúde baseando-se em testes *in vitro*. No entanto, após a ingestão, a passagem pelo trato gastrointestinal pode afetar a composição e estrutura dos compostos presentes e, portanto, suas propriedades bioativas. Assim, muitos estudos têm utilizado métodos de digestão simulada *in vitro* para verificar mudanças na composição e propriedades bioativas de diversos compostos, como os compostos fenólicos. Para isso, são empregados modelos de digestão que simulam os eventos físico-químicos e fisiológicos que ocorrem no trato gastrointestinal humano (ALMINGER et al., 2014; GUTIÉRREZ-GRIJALVA et al., 2017).

Os modelos de digestão *in vitro* tem por objetivo mimetizar as condições fisiológicas do trato gastrointestinal, especificamente, a composição química dos fluídos digestivos, pH, e tempo de permanência (ALMINGER et al., 2014; HUR et al., 2011). Embora os sistemas *in vitro* sejam limitados na reprodução efetiva da complexidade do trato gastrointestinal, esses modelos têm sido cada vez mais utilizados, sendo considerados eficientes na determinação da estabilidade de compostos fitoquímicos sob condições gastrointestinais (GUERRA et al., 2012).

Alterações na composição e propriedades bioativas de compostos fenólicos após a digestão *in vitro* já foram verificadas em alguns estudos. Em um trabalho com extratos da espécie *S. lanceolata* foram observadas após a digestão simulada diferenças significativas nos perfis fenólicos de folhas e frutos frescos. Redução da atividade antioxidante também foi verificada, porém essa ainda foi considerada elevada (PINTO et al., 2017). Em outro estudo a digestão intestinal resultou na perda substancial de antocianinas em extrato etanólico de *Rubus occidentalis* L. (RYU; KOH, 2018). O conteúdo fenólico total de extratos de *J. glutinosa* também apresentou redução após a digestão *in vitro*, porém ainda foi observada atividade

antioxidante nos extratos digeridos (ORTEGA-VIDAL et al., 2019). Em extratos de frutos de *V. opulus* esses efeitos também foram verificados (BARAK et al., 2019).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Corantes Naturais e Compostos Bioativos (LaCBio) do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) e no Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia do Departamento de Biologia Geral, ambos na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais.

4.1. Coleta de amostras e obtenção do extrato hidroalcoólico de jabuticaba (EHJ)

Os frutos de jabuticaba (*P. cauliflora*), jabuticaba Sabará, foram coletados no setor de Fruticultura da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (latitude 20° 45' 14" S, longitude 42° 52' 55" W). Após a colheita, os frutos foram selecionados, higienizados com água corrente e armazenados a -18 °C.

Para a extração fenólica, 100 g da casca da jabuticaba foram trituradas em mixer com 1000 mL de uma solução de etanol 75% (v/v) acidificada com ácido clorídrico (HCl) até pH 2,0. Posteriormente essa mistura foi submetida a tratamento ultrassônico a 40 kHz, na temperatura de 40 °C por 50 min, utilizando-se banho ultrassônico (Elmasonic TI-H10, Elma, Alemanha). Após sonicação, as soluções foram filtradas em papéis de filtro Whatman n° 1 e concentradas até a obtenção do teor de sólidos solúveis totais (SST) de 12 °Brix (aproximadamente 20% do volume inicial) em um evaporador rotativo (IKA RV 10 digital, Staufen, Alemanha) a 50 °C. O extrato concentrado foi congelado, liofilizado e armazenado a -20 °C protegido da luz até o momento das análises (ROCHA et al., 2018).

4.2. Purificação do extrato hidroalcoólico

Para obtenção do extrato fenólico de jabuticaba purificado (EFJ), os compostos interferentes foram removidos por meio da extração em fase sólida em cartucho de separação C18 (Sep-Pak Vac 35 cc – Waters, Milford, EUA). Inicialmente, o cartucho foi condicionado com 50 mL de metanol acidificado (0,01% de HCl (v/v)) e 50 mL de água destilada acidificada (0,01% de HCl (v/v)). Em seguida, uma alíquota de 50 mL do EHJ foi eluída no cartucho. Os interferentes foram removidos por meio da passagem de 50 mL de água destilada acidificada

(0,01% de HCl (v/v)) pelo cartucho, permanecendo os polifenóis adsorvidos no mesmo. Para remoção dos compostos fenólicos adsorvidos e obtenção do EFJ foi realizada a passagem no cartucho de 50 mL de metanol (NORATTO et al., 2010).

Para obtenção do extrato de antocianinas de jabuticaba purificado (EAJ), o cartucho foi condicionado com 50 mL de metanol acidificado (0,01% de HCl (v/v)) e 50 mL de água destilada acidificada (0,01% de HCl (v/v)). Em seguida, uma alíquota de 50 mL do EHJ foi eluída no cartucho. Os interferentes foram removidos por meio da passagem de 50 mL de água destilada acidificada (0,01% de HCl (v/v)) pelo cartucho, permanecendo os polifenóis adsorvidos no mesmo. Visando à remoção dos compostos fenólicos não antociânicos, foi feita a passagem adicional de 50 mL de acetato de etila, permanecendo apenas as antocianinas adsorvidas no cartucho. Para remoção das antocianinas adsorvidas e obtenção do EAJ foi realizada a passagem no cartucho de 50 mL de metanol (RODRIGUEZ-SAONA; WROLSTAD, 2011). Os extratos purificados obtidos foram concentrados em um evaporador rotativo (IKA RV 10 digital, Staufen, Alemanha) a 50 °C, dissolvidos em água destilada, liofilizados e armazenados a -20 °C até o momento das análises.

4.3. Conteúdo de antocianinas totais (AT)

O conteúdo de antocianinas totais foi medido de acordo com método descrito por Fuleki & Francis (1968). Uma alíquota do extrato foi diluída nas soluções tampão pH 1,0 (KCl (0,2 N) e HCl (0,2 N) na proporção 25:67 v/v) e pH 4,5 (CH₃COONa (1 N), HCl e água na proporção 100:60:90 v/v). A absorbância foi medida a 535 nm em um espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão), visando a obtenção de um valor entre 0,200 e 0,800. O cálculo do teor de antocianinas totais (AntT) foi baseado na Lei de Lambert-Beer (Equação 1) e calculado por meio das Equações 2 e 3, utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo (26900 L/mol cm). Os resultados finais foram expressos em mg de antocianinas totais (AntT) por g de extrato seco (ES).

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C \quad (1)$$

$$\text{AntT (mg Ant/L de extrato)} = \frac{A \cdot FD \cdot MM}{\epsilon \cdot b} \quad (2)$$

$$\text{AntT (mg Ant/g de extrato seco)} = \frac{[\] \text{ mg Ant/L de extrato}}{[\] \text{ da solução do extrato (g/L)}} \quad (3)$$

Onde A é a absorbância, ϵ é o coeficiente de absorvidade molar, b é o caminho ótico (1 cm), C é a concentração da amostra, FD é o fator de diluição e MM é a massa molar da cianidina-3-glicosídeo.

4.4. Conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT)

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com método descrito por Singleton & Rossi (1965). Em tubos de ensaio, 0,6 mL de extrato foram misturados com 3 mL do reagente Folin-Ciocalteau (diluído 1:10 com água v/v) e 2,4 mL de solução de Na_2CO_3 a 7,5% (m/v). Após 1 h no escuro à temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 765 nm em espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão). O conteúdo de fenólicos totais foi expresso em mg equivalente de ácido gálico (EAG) por g de ES.

4.5. Ensaio de atividade antioxidante

4.5.1 Atividade de eliminação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

A determinação da atividade antioxidante com o radical DPPH foi realizada de acordo com método descrito por Kim et al. (2002): 0,5 mL de extrato (5 diluições diferentes) foram adicionados a 3,5 mL de solução de radical DPPH (0,1 mmol/L em etanol 80%). A absorbância a 517 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão) foi medida após 60 minutos de reação no escuro (temperatura ambiente). A inibição do radical DPPH pelas amostras foi calculada de acordo com a Equação 4.

$$\% \text{ inibição} = \left(\frac{\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde Abs controle é a absorbância do controle e a Abs amostra é a absorbância na presença dos extratos. Os valores de IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) foram calculados por meio de análise de regressão linear e usados para indicar a capacidade antioxidante.

4.5.2. Atividade de eliminação do radical 2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado (ABTS)

O ensaio com o radical ABTS foi realizado de acordo com método descrito por Re et al., (1999): 0,5 mL de extrato (5 diluições diferentes) foram adicionados a 3,5 mL de solução

de radical ABTS (diluído em etanol 80% até a absorvância de $0,700 \pm 0,05$ a 734 nm). Depois de 6 min de reação no escuro (temperatura ambiente) a absorvância foi medida a 734 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão) e os resultados foram expressos em mmol equivalente de Trolox (ET)/g de ES.

4.5.3. Poder Antioxidante Redutor Férrico (FRAP)

A atividade antioxidante estimada com o ensaio FRAP foi realizada de acordo com método adaptado de Boroski et al. (2015). O reagente FRAP foi preparado por mistura de 125 mL tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 12,5 mL de reagente TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) (10 mM em HCl 40 mM) e 12,5 mL de FeCl_3 (20 mM). Em tubos de ensaio, 0,5 mL de extrato (4 diluições diferentes) foram adicionados a 270 μL de água destilada e 2,7 mL de reagente FRAP. Depois de 30 min de reação em banho maria a 37 °C, a absorvância foi medida a 595 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão). Os resultados foram expressos em mmol equivalente de Sulfato Ferroso (ESF)/g de ES, com base na curva de calibração de sulfato ferroso.

4.6. Ensaio de inibição de enzimas digestivas *in vitro*

4.6.1. Ensaio de inibição de α -amilase

O ensaio foi realizado como descrito anteriormente por HemLata et al., (2019), com modificações. Todas as soluções foram preparadas em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0). Para o experimento foi utilizada α -amilase de saliva humana. Para obtenção da α -amilase salivar foi feita a coleta da saliva humana, que foi armazenada a -20 °C por 48 h. Após esse período, a saliva foi descongelada e centrifugada a 4000 rpm por 15 min e o sobrenadante utilizado como extrato enzimático (DE GOUVEIA et al., 2013). Anteriormente à realização dos ensaios de inibição foi realizado um ensaio para determinar a atividade enzimática do extrato salivar obtido e o estudo cinético para determinação da constante de Michaelis Menten aparente (K_m^{ap}), com a finalidade de determinar a atividade de α -amilase do extrato salivar, bem como a melhor concentração de substrato a ser empregada nos ensaios de inibição.

Para isso, foram realizados ensaios utilizando-se como substrato o amido solúvel de batata (500 μL) com concentrações variando de 1,0 a 6,0 % (m/v), na presença de 50 μL de solução de enzima, com medições da atividade enzimática em diferentes tempos (2, 4, 6, 8 e 10

min). Após a incubação a 37 °C, a reação foi interrompida nos diferentes tempos pela adição de 1 mL de reagente de ácido dinitrosalicílico (DNS) e incubação em banho-maria em ebulição por 10 minutos. A mistura reacional foi removida do banho de água, arrefecida à temperatura ambiente e diluída para 10 mL com água destilada. A absorbância foi lida a 540 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão). A velocidade de reação (v) para cada concentração de substrato $[S]$, foi calculada utilizando-se uma curva padrão de glicose. Os valores de absorbância foram convertidos em mM utilizando-se a equação da curva-padrão e a velocidade de reação (v) encontrada a partir do gráfico de mM de produto versus tempo de incubação. A constante de Michaelis-Menten aparente (K_m^{ap}) foi estimada por regressão não linear com o procedimento de ajuste de curva do SigmaPlot 12.0 (Systat Software), conforme modelo de Michaelis-Menten (Equação 5). O valor obtido para o K_m^{ap} foi $2,47 \pm 0,28 \%$ ($0,025 \pm 0,003$ mM) e o valor da atividade enzimática do extrato salivar foi $13,97 \pm 1,03$ U/mL.

$$v = \frac{V_{\text{máx}} [S]}{K_m + [S]} \quad (5)$$

Nos ensaios de inibição, os extratos foram dissolvidos em tampão de fosfato 0,1 M (pH 7,0) para obtenção de concentrações variando de 0,05 a 7,0 mg/mL. A acarbose em várias concentrações (0,00005 a 0,4 mg/mL) foi usada como controle positivo. Em tubos de ensaio, a mistura de reação contendo 50 μ L de solução de amilase salivar ($13,97 \pm 1,03$ U/mL) e 50 μ L de extrato ou tampão fosfato (controle negativo) foi incubada a 37 °C por 10 min. Em seguida, 500 μ L de solução de amido (2,0 % (m/v)) foram adicionados em cada tubo para iniciar a reação. Após 10 min de reação à 37 °C, foi adicionado 1 mL de reagente de ácido dinitrosalicílico (DNS) para paralisar a reação, seguido da incubação em banho-maria em ebulição por 10 minutos. A mistura reacional foi removida do banho de água, arrefecida à temperatura ambiente e diluída para 10 mL com água destilada. A absorbância foi lida a 540 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão). Os resultados foram expressos como valor de IC_{50} , calculados conforme o item 4.6.4.

4.6.2. Ensaio de inibição de α -glicosidase

O ensaio foi realizado conforme descrito por Adisakwattana et al., (2009), com modificações. Todas as soluções foram preparadas em tampão fosfato 0,1 M (pH 6,9). Uma solução enzimática bruta obtida a partir do intestino de ratos, foi utilizada como fonte de α -glicosidases para hidrólise da sacarose. O tecido foi triturado com tampão para extração das

enzimas e processado em mixer até completa homogeneização. O homogeneizado foi centrifugado por 10 minutos a 4000 rpm e o sobrenadante foi recolhido e utilizado como extrato enzimático (PEREIRA et al., 2011). Anteriormente à realização dos ensaios de inibição foi realizado o ensaio de atividade enzimática do extrato enzimático obtido e o estudo cinético para determinação da constante de Michaelis Menten aparente (K_m^{ap}).

Para isso, foram realizados ensaios utilizando-se como substrato a sacarose com concentrações variando de 3,0 a 15 % (m/v), com medições da atividade enzimática em diferentes tempos (8, 16, 32 e 48 min). A velocidade de reação (v) para cada concentração de substrato [S], foi calculada utilizando uma curva padrão de glicose. As velocidades de reação (v) e a constante de Michaelis Menten aparente (K_m^{ap}) foram estimadas como descrito anteriormente no item 4.6.1. O valor obtido para o K_m^{ap} foi $5,78 \pm 0,52$ % ($168,78 \pm 15,13$ mM) e o valor da atividade enzimática foi $6,98 \pm 0,12$ U/mL.

Nos ensaios de inibição, antes da reação, os extratos foram dissolvidos em tampão fosfato 0,1 M (pH 6,9) para obtenção de concentrações variando de 0,05 a 20 mg/mL. A acarbose em várias concentrações (0,02 a 2,0 mg/mL) foi usada como controle positivo. Em tubos de ensaio, 30 μ L de extrato ou tampão fosfato (controle negativo) foram misturados com 30 μ L de uma solução de α -glicosidase ($6,98 \pm 0,12$ U/mL) e 430 μ L de tampão fosfato (pH= 6,9). Após 10 min de pré-incubação a 37 °C, a reação foi iniciada pela adição de 500 μ L de solução de sacarose 5,0 % (m/v). A incubação foi realizada a 37 °C por 30 min. As concentrações de glicose liberadas das misturas de reação foram determinadas pelo método da glicose oxidase, utilizando-se o kit Glicose Monorreagente K082 (Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil). A absorbância foi lida a 505 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão). Os resultados foram expressos como valor de IC_{50} , calculados conforme o item 4.6.4.

4.6.3. Ensaio de inibição de lipase

A atividade de inibição frente à enzima lipase de pâncreas suíno (EC 3.1.1.3, Tipo II, 100-500 unidades/mg proteína) foi avaliada utilizando-se o Kit Lipase K025 (Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil). Anteriormente à realização dos ensaios de inibição foi realizado o ensaio de atividade enzimática da solução enzimática (0,05 mg/mL) e o estudo cinético para determinação da constante de Michaelis Menten (K_m).

Para isso, foram realizados ensaios utilizando-se como substrato o 2-3-Dimercapto-1-Propanol Tributirato com concentrações variando de 1,0 a 10,0 mM, com medições da atividade enzimática em diferentes tempos (2, 4, 8 e 10 min). As atividades enzimáticas foram calculadas

de acordo com a fórmula fornecida no Kit Lipase K025 e os valores convertidos para velocidades de reação (v). A constante de Michaelis Menten (K_m) foi estimada como descrito anteriormente no item 4.6.1. O valor obtido para o K_m foi $4,02 \pm 0,08$ mM e o valor da atividade enzimática foi $11,20 \pm 0,28$ U/mL.

Nos ensaios de inibição, antes da reação, os extratos foram dissolvidos no tampão para obtenção de concentrações variando de 5,0 a 200 mg/mL. O orlistate em várias concentrações (0,3 a 8,0 mg/mL) foi usado como controle positivo. Em tubos de ensaio, 50 μ L de extrato foram misturados com 50 μ L de uma solução de lipase ($11,20 \pm 0,28$ U/mL), 1 mL de tampão e 100 μ L do reagente de cor ácido Ditionitrobenzóico (DTNB). Após 2 min de pré-incubação a 37 °C, a reação foi iniciada pela adição de 100 μ L de solução do substrato 2-3-Dimercapto-1-Propanol Tributirato (4,0 mM). A mistura de reação foi incubada a 37 °C por mais 30 min e, no final do período de incubação, a reação foi encerrada pela adição de 2 mL de solução terminadora de reação. Depois de homogeneizar e deixar os tubos em repouso por 3 minutos a temperatura ambiente, as reações foram centrifugadas a 3.500 rpm por 5 minutos e os sobrenadantes límpidos foram transferidos para cubetas do espectrofotômetro. O 2,3 dimercaptopropanol (BAL) liberado foi medido a 410 nm (Shimadzu UV-Vis 1601PC, Quioto, Japão). Os resultados foram expressos como valor de IC_{50} , calculados conforme o item 4.6.4.

4.6.4. Determinação dos valores de IC_{50}

IC_{50} é o valor da concentração de um inibidor necessária para reduzir em 50% a atividade enzimática. Os valores de IC_{50} foram calculados a partir do ajuste de curvas dose-resposta sigmoidais do logaritmo da concentração do inibidor versus inibição percentual (Equação 6), usando o software Sigma Plot 12.0 (Systat Software Inc., San Jose, IL, EUA).

$$\% \text{ Inibição} = \left(1 - \frac{\text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Onde Abs amostra é a absorbância na presença dos extratos ou controles positivos e Abs controle é a absorbância do controle com 100% de atividade enzimática.

4.6.5. Cinética de inibição

O modo de inibição da atividade das enzimas pelo extrato EAJ e controles positivos foi determinado por meio do estudo cinético. Os experimentos foram realizados como descrito

anteriormente (itens 4.6.1, 4.6.2, 4.6.3) empregando concentrações crescentes dos respectivos substratos para as enzimas estudadas, na ausência e presença de diferentes concentrações dos inibidores. As concentrações de substrato utilizadas foram inferiores ou iguais ao valores de K_m ou K_m^{ap} encontrados para as enzimas. É essencial executar a reação sob condições de velocidade inicial, na porção linear inicial da reação enzimática, com concentrações de substrato iguais ou abaixo do valor K_m (BROOKS et al., 2012). Para os estudos da cinética de inibição da α -amilase salivar as concentrações do substrato amido foram 0,008; 0,010, 0,015 e 0,02 mM. Para a enzima α -glicosidase as concentrações do substrato sacarose foram 58,4; 87,6; 116,9 e 146,1 mM. No estudo de inibição da lipase as concentrações do substrato 2-3-Dimercapto-1-Propanol Tributirato foram 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mM. As concentrações de inibidores foram escolhidas a partir dos resultados do IC_{50} , utilizando concentrações de inibidores que produziram inibições de 30% a 75%. Para verificar o modo de inibição e determinar os parâmetros cinéticos, foi utilizado o gráfico do duplo recíproco de Lineweaver-Burk (LB). A equação 7 é do gráfico de Lineweaver-Burk para o mecanismo de inibição competitivo.

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \quad (7)$$

Onde v é a velocidade inicial, $[I]$ e $[S]$ são as concentrações de inibidor e substrato, respectivamente, $V_{m\acute{a}x}$ é a velocidade máxima, K_m é a constante de Michaelis-Menten e K_i é a constante de inibição.

Para identificação do mecanismo de inibição foi ajustado também o gráfico de Dixon. A equação 8 é do gráfico de Dixon para o mecanismo de inibição competitivo.

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x} K_i [S]} [I] + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}} \left(1 + \frac{K_m}{[S]} \right) \quad (8)$$

Para estimar a constante de inibição (K_i), foram construídos gráficos secundários da inclinação das retas do gráfico de LB versus a concentração de inibidor, de acordo com a Equação 9.

$$\text{inclinação} = \frac{K_m}{V_{\text{max}} K_i} [I] + \frac{K_m}{V_{\text{max}}} \quad (9)$$

4.7. Inibição da formação de AGEs

Os modelos de glicação BSA-ribose (BSA-RIB) e BSA-glicose (BSA-GLI) foram desenvolvidos com base no método de Séro et al. (2013) adaptado por Spínola; Pinto e Castilho (2018) com pequenas modificações. Para estes ensaios, foram adicionados em placas pretas de 96 poços, 50 µL de solução de BSA (10 mg/mL), 80 µL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4) contendo azida de sódio (3 mM) para prevenir crescimento microbiano, 50 µL de solução de ribose (0,5 M) ou glicose (0,5 M) e 20 µL de extrato (0,001 a 20 mg/mL). No ensaio BSA-RIB as placas foram mantidas na estufa a 37 °C por 48 horas e no ensaio BSA-GLI por 5 dias. A intensidade de fluorescência da reação foi verificada a um comprimento de onda de excitação de 370 nm e de emissão de 440 nm por meio de leitor de microplaca (Molecular Devices SpectraMax M5, San José, EUA). Para extrair a fluorescência intrínseca dos extratos, foi realizado um controle nas mesmas condições, incubando BSA (10 mg/mL) e os extratos (0,01 a 20 mg/mL) na ausência dos açúcares. O controle de 100 % de formação de AGEs, consistiu em poços com BSA e ribose ou glicose (0,5 M). O branco, sem formação de AGEs, consistiu em poços com apenas BSA. A quercetina (0,001 a 5,0 mg/mL) foi usada como controle positivo e a porcentagem de inibição de glicação (IG) calculada por meio da Equação 10. As atividades antiglicação foram expressas como valor de IC₅₀ (mg/mL) calculado como descrito anteriormente (item 4.6.4).

$$IG (\%) = \left(1 - \frac{IF \text{ amostra} - IF \text{ branco amostra}}{IF \text{ controle} - IF \text{ branco}} \right) \times 100 \quad (10)$$

Onde IF amostra é a intensidade de fluorescência na presença de extrato, IF branco amostra é a intensidade de fluorescência do controle dos extratos, IF controle é a intensidade de fluorescência do controle com 100% da formação de AGEs e IF branco é a intensidade de fluorescência do controle sem formação de AGEs.

4.8. Digestão gastrointestinal *in vitro*

O sistema de digestão gastrointestinal simulado incluiu duas etapas (digestão gástrica e intestinal) e foi adaptado de Minekus et al., (2014). Nesse caso, não se realizou a etapa salivar porque o extrato (em forma de infusão ou capsulas) é diretamente consumido e o tempo de permanência na cavidade oral é insignificante. Em tubos Falcon de 50 mL, 1 g de extrato liofilizado foi dissolvido em 10 mL de água destilada acidificada (pH=2,0) com HCl 1 M (v/v).

Para a etapa da digestão gástrica, as amostras foram misturadas com 7,5 mL de fluido gástrico simulado (FGS), 1,6 mL de solução estoque de pepsina suína (25000 U/mL; pepsina da mucosa gástrica suína ≥ 500 U/mg proteína, Sigma-Aldrich) preparada no FGS, 15 μL de CaCl_2 (0,1 M), 710 μL de HCl (1,0 M) para atingir pH 2,0 e 175 μL de água destilada. A mistura foi incubada (37 °C, 200 rpm) em um agitador com banho de água (G76D, New Brunswick Scientific Co, Edison, EUA) ao abrigo da luz por 2 h. Após esse período, para a etapa de digestão intestinal, foram adicionados 11 mL de fluido intestinal simulado (FIS), 5,0 mL de uma solução de pancreatina (800 U/mL; pancreatina de pâncreas suíno, 4 x USP, Sigma-Aldrich) preparada no FIS com base na atividade de tripsina, 3,0 mL de uma solução de sais biliares (200 mg/mL), 40 μL de CaCl_2 (0,3 M), 660 μL de NaOH 1 M para atingir pH 7,0 e 300 μL de água destilada. As soluções foram reincubadas a 37 °C por 2 h a 200 rpm. A composição detalhada dos fluidos digestivos é apresentada na Tabela 1.

No final da incubação, nas etapas gástrica e intestinal, as misturas foram congeladas a -80 °C para interromper as reações. Para a recuperação dos compostos fenólicos, as amostras da solução gástrica e intestinal foram descongeladas, centrifugadas e adsorvidas em um cartucho C18 (Sep-Pak Vac 35 cc – Waters). Os cartuchos foram pré-condicionados com metanol e água destilada. As amostras foram carregadas nos cartuchos, lavadas com água destilada para eliminar resíduos de digestão polar, e os fenólicos foram subsequentemente dessorvidos com metanol (BURGOS-EDWARDS et al., 2017). As soluções foram rotaevaporadas, liofilizadas e mantidas a -20 °C até análises posteriores. Três digestões replicadas independentes foram realizadas para cada amostra.

Tabela 1 - Composição das soluções estoque de fluidos de digestão simulada

| Soluções estoque | Concentração (mol/L) | FGS | | FIS | |
|---|-------------------------|----------|----------------------|----------|----------------------|
| | | Vol (mL) | [] mmol/L no FGS | Vol (mL) | [] mmol/L no FIS |
| KCl | 0,5 | 6,9 | 6,9 | 6,8 | 6,8 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,5 | 0,9 | 0,9 | 0,8 | 0,8 |
| NaHCO ₃ | 1,0 | 12,5 | 25 | 42,5 | 85 |
| NaCl | 2,0 | 11,8 | 47,2 | 9,6 | 38,4 |
| MgCl ₂ (H ₂ O) ₆ | 0,15 | 0,4 | 0,1 | 1,1 | 0,33 |
| (NH ₄) ₂ CO ₃ | 0,5 | 0,5 | 0,5 | - | - |

Os volumes são calculados para um volume final de 400 mL para cada fluido simulado (gástrico ou intestinal).

4.9. Análise colorimétrica

A caracterização da cor foi realizada pela leitura direta de reflectância do sistema de coordenadas retangulares “L*” (luminosidade), “a*” (intensidade de vermelho e verde) e “b*” (intensidade de amarelo e azul), empregando-se a escala de cor CIELAB, com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, utilizando-se colorímetro Hunter Lab, modelo Colorquest XE (Reston, USA). Os valores de C* (cromaticidade ou saturação de cor) e h* (ângulo de tonalidade cromática) foram calculados a partir dos dados de a* e b*, pelas equações 11 e 12.

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (11)$$

$$h^* = \arctan (b^*/a^*) \quad (12)$$

4.10. Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em 3 repetições e os resultados são apresentados como médias ± desvio padrão. Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey usando o software R (R Core Team, Vienna, Austria). Um valor de p<0,01 foi considerado estatisticamente significativo. Os coeficientes de correlação de Pearson (r) foram determinados para corroborar relações entre os parâmetros selecionados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Conteúdo fenólico e atividades antioxidantes

Os resultados da determinação da capacidade antioxidante dos extratos pelo poder de redução do ferro (FRAP), potencial de eliminação dos radicais DPPH e ABTS, assim como o conteúdo fenólico total (CFT) e conteúdo de antocianinas totais (AT) são apresentados na Tabela 2. Extratos brutos geralmente contêm outras substâncias além dos fenólicos desejados, que podem interferir nas análises. Conseqüentemente, uma etapa de purificação é necessária para remoção dessas substâncias e para se obter frações concentradas ricas em polifenóis. Os extratos EAJ e EFJ apresentaram maior CFT e AT em relação ao extrato EHJ (p<0,01). Após a etapa de purificação, o CFT aumentou 4,63 ± 0,08 e 4,48 ± 0,04 vezes nos extratos EFJ e EAJ, respectivamente. Em relação ao conteúdo de AT, os extratos EFJ e EAJ não diferiram entre si

($p > 0,01$), com aumentos no teor de AT de $9,65 \pm 0,66$ e $10,53 \pm 1,46$ vezes em relação ao teor do EHJ. O EFJ apresentou maior CFT que as demais amostras ($p < 0,01$).

Tabela 2 - Atividades antioxidantes (DPPH, ABTS, FRAP) e conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas dos extratos da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*)

| | Potencial de eliminação de radicais DPPH | Potencial de eliminação de radicais ABTS | Poder antioxidante Redutor Férrico (FRAP) | Conteúdo de fenólicos totais (CFT) | Antocianinas totais (AT) |
|-------|--|--|---|------------------------------------|--------------------------|
| Unid. | IC ₅₀ (µg/mL) | mmol ET/g | mmol ESF/g | mg EAG/g | mg AnT/g |
| EHJ | $80,0 \pm 0,2^A$ | $1,29 \pm 0,00^B$ | $5,58 \pm 0,26^B$ | $155,26 \pm 1,92^C$ | $3,68 \pm 0,30^B$ |
| EFJ | $10,0 \pm 0,8^B$ | $5,83 \pm 0,80^A$ | $35,07 \pm 1,63^A$ | $718,90 \pm 6,59^A$ | $35,40 \pm 0,64^A$ |
| EAJ | $20,0 \pm 0,3^B$ | $5,06 \pm 0,19^A$ | $35,77 \pm 1,60^A$ | $695,13 \pm 3,51^B$ | $38,49 \pm 2,23^A$ |

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,01$). Valores são expressos como médias \pm desvio padrão ($n=3$).

Os extratos EAJ e EFJ apresentaram maiores atividades antioxidantes ($p < 0,01$) (Tabela 2), o que está de acordo com a maior composição fenólica, não diferindo entre si. Esse resultado pode indicar que as antocianinas são os principais compostos ativos dos extratos contribuintes para a atividade antioxidante. De fato, foi encontrada uma alta correlação significativa (Tabela 3) entre o conteúdo de antocianinas totais (AT) e as atividades antioxidantes *in vitro* em relação aos radicais sintéticos ABTS ($r = 0,89$) e DPPH ($r = -0,86$) e ao poder redutor do ferro ($r = 0,97$). A correlação negativa significativa indica que os valores de IC₅₀ (µg/mL) para o radical DPPH diminuem com o aumento do teor de antocianinas, e as correlações positivas para o radical ABTS e para o FRAP indicam que quanto maior o conteúdo de AT, maior a concentração correspondente em equivalente de trolox ou sulfato ferroso, respectivamente.

Outros trabalhos também notaram uma forte correlação entre o conteúdo de antocianinas e as atividades antioxidantes. Popović et al., (2020) estudaram a correlação entre a composição fenólica de abrunheiro (*Prunus spinosa* L.) e atividades antioxidantes e encontraram que a antocianina cianidina-3-glicosídeo foi fortemente correlacionada com essas atividades. Acero et al., (2019) também estudaram essa associação em extratos de cereja e encontraram que as antocianinas parecem ser o principal grupo fenólico responsável pela atividade antioxidante *in vitro*. Em extratos de mirtilo e jabuticaba, as antocianinas também

foram associadas como um dos principais contribuintes para as atividades antioxidantes verificadas (PLAZA et al., 2016; SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018).

Tabela 3 - Coeficientes de correlação (r) entre a composição fenólica dos extratos da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*) e atividades bioativas testadas *in vitro*

| | DPPH | ABTS | FRAP | CFT | AT | α -AMI | LIP | α -GLI | GLIC |
|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|-------------|---------------|-------------|
| DPPH | 1,00 | | | | | | | | |
| ABTS | -0,90 | 1,00 | | | | | | | |
| FRAP | -0,89 | 0,92 | 1,00 | | | | | | |
| CFT | -0,92 | 0,96 | 0,98 | 1,00 | | | | | |
| AT | -0,86 | 0,89 | 0,97 | 0,79 | 1,00 | | | | |
| α -AMI | 0,42 | -0,58 | -0,71 | -0,71 | -0,79 | 1,00 | | | |
| LIP | 0,85 | -0,67 | -0,64 | -0,63 | -0,56 | -0,03 | 1,00 | | |
| α -GLI | 0,91 | -0,76 | -0,73 | -0,73 | -0,67 | 0,10 | 0,98 | 1,00 | |
| GLIC | 0,90 | -0,71 | -0,74 | -0,71 | -0,68 | 0,13 | 0,97 | 0,98 | 1,00 |

Valores em negrito indicam correlações significativas entre os parâmetros ($p < 0,01$).

Os resultados da determinação da capacidade antioxidante dos extratos sugerem o elevado potencial de atuação desses na redução do estresse oxidativo e consequentemente das complicações diabéticas. A hiperglicemia pode estimular a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) por diferentes vias, levando ao estresse oxidativo (EO), que ocasiona morte celular por vários mecanismos e danos aos tecidos (FAKHRUDDIN; ALANAZI; JACKSON, 2017; ROCHETTE et al., 2014; VOLPE et al., 2018). Esses efeitos são associados ao desenvolvimento de complicações diabéticas e, por isso, a inibição ou redução do EO é uma das estratégias no manejo do DM. Em vista disso, compostos que apresentam capacidade antioxidante se destacam no controle do estresse oxidativo e consequente redução de complicações associadas a esse processo (BURGOS-MORÓN et al., 2019; IGHODARO, 2018; NEHA et al., 2019).

5.2. Inibição de enzimas digestivas *in vitro*

Atividades inibitórias de enzimas digestivas foram investigadas por testes *in vitro* e os valores de IC₅₀ são apresentados na Tabela 4. Para a enzima α -glicosidase, os extratos EAJ e EFJ foram mais ativos que o extrato EHJ ($p < 0,01$) e não diferiram quanto ao potencial inibitório da acarbose, droga comercial empregada no tratamento do DM ($p > 0,01$). A atividade inibidora da α -glicosidase foi correlacionada significativamente com CFT e AT, com coeficientes de correlação de $r = -0,73$ e $r = -0,67$ ($p < 0,01$) (Tabela 3), respectivamente. Esses resultados sugerem que os compostos fenólicos, principalmente as antocianinas, são os maiores contribuintes para o poder inibidor dos extratos, o que é corroborado pelos resultados do IC₅₀, nos quais não houve diferença significativa na atividade biológica do extrato puro de antocianinas (EAJ) e do extrato fenólico purificado (EFJ).

As antocianinas já foram relatadas como eficazes inibidores de enzimas digestivas, em particular a cianidina-3-glicosídeo, antocianina descrita na literatura como predominante na jabuticaba, podendo assim ser considerada um dos principais compostos ativos para a atividade inibitória dos extratos do presente estudo (AKKARACHIYASIT et al., 2010; BOATH; STEWART; MCDUGALL, 2012; INADA et al., 2015; LEITE-LEGATTI et al., 2012; SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2019; WU et al., 2012). Em estudo realizado por Barik et al., (2020) as antocianinas de groselha preta inibiram a α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (IC₅₀: 0,7 mg/mL). Em extratos de *Rumex maderensis* as antocianinas juntamente com os flavonóis foram os principais contribuintes para a inibição da α -glicosidase de rato (SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2020). Em contraste às antocianinas que inibiram significativamente a atividade da α -glicosidase de levedura, outros compostos fenólicos individuais, como o ácido gálico e o ácido clorogênico, não mostraram inibição significativa da atividade dessa enzima, em um estudo da atividade individual desses compostos (BARIK et al., 2020). O ácido gálico já foi descrito como um dos principais compostos presentes na casca da jabuticaba (OHANNA et al., 2020). Em comparação com o presente estudo, este fato poderia explicar o resultado obtido, uma vez que o extrato EFJ que continha outros fenólicos além das antocianinas não apresentou maior atividade inibitória frente a α -glicosidase de rato.

Tabela 4 - Atividades inibitórias *in vitro* (IC₅₀: mg/mL) dos extratos da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*) em relação às enzimas digestivas e glicação da albumina sérica bovina (BSA)

| Extratos | α -glicosidase de rato | α -amilase salivar | Lipase pancreática | Glicação BSA | |
|---------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | | | ribose | glicose |
| EHJ | 5,20 ± 0,53 ^A | 1,88 ± 0,18 ^A | 111,51 ± 7,96 ^A | 7,07 ± 0,51 ^A | 2,87 ± 0,21 ^A |
| EFJ | 0,47 ± 0,04 ^B | 0,45 ± 0,01 ^B | 15,05 ± 0,98 ^B | 0,46 ± 0,02 ^B | 0,27 ± 0,01 ^{BC} |
| EAJ | 0,59 ± 0,02 ^B | 0,63 ± 0,02 ^B | 13,52 ± 0,93 ^B | 0,37 ± 0,01 ^B | 0,23 ± 0,04 ^C |
| Controles positivos | | | | | |
| Acarbose | 0,13 ± 0,02 ^B | 0,004 ± 0,00 ^C | - | - | - |
| Orlistate | - | - | 1,06 ± 0,04 ^C | - | - |
| Quercetina | - | - | - | 0,18 ± 0,02 ^B | 0,64 ± 0,01 ^B |

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,01$). Valores são expressos como médias ± desvio padrão ($n=3$).

Para os ensaios de inibição da α -amilase salivar, os resultados mostraram uma efetiva inibição da atividade dessa enzima (Tabela 4), porém todos os extratos apresentaram valores de IC₅₀ mais altos que o da acarbose ($p < 0,01$). Os extratos EAJ e EFJ foram novamente os mais ativos, não diferindo entre si ($p > 0,01$). Altas correlações entre o CFT ($r = -0,71$) e AT ($r = -0,79$) e inibição de α -amilases ($p < 0,01$) foram observadas. Assim como neste estudo, no qual as antocianinas parecem ser os principais contribuintes para essa atividade inibitória, outros estudos anteriores mostraram que a α -amilase é suscetível a inibição por antocianinas, particularmente a cianidina-3-glicosídeo. Além dessa, outras antocianinas, como a delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-galactosídeo e malvidina-3,5-diglicosídeo também mostraram efeito de inibição da α -amilase (AKKARACHIYASIT et al., 2010; BARIK et al., 2020; HOMOKI et al., 2016). Em outro estudo, as enzimas α -amilases mostraram-se menos susceptíveis a ação de outros compostos fenólicos. Demonstrou-se que compostos como ácidos fenólicos livres (ácido ferúlico, ácido cafeico e ácido 3,4 dimetoxicinâmico) são inibidores fracos de α -amilase (NYAMBE-SILAVWE; WILLIAMSON, 2018).

Os extratos também inibiram a atividade da enzima lipase pancreática (Tabela 4). O extrato de antocianinas purificado (EAJ) mostrou novamente a mesma atividade inibitória que o extrato EFJ ($p > 0,01$), enquanto a menor atividade foi encontrada no EHJ. Os resultados da

correlação (Tabela 3) mostraram que as atividades inibitórias da lipase tiveram uma significativa correlação negativa ($p < 0,01$) com o CFT ($r = -0,63$) e AT ($r = -0,56$). Como no caso das demais enzimas estudadas, isso pode indicar que a maior contribuição para a atividade inibitória de lipase pode ser das antocianinas. A forte atuação dos compostos fenólicos, especialmente as antocianinas, na inibição da lipase pancreática já foi relatada em outros estudos, realizados tanto com extratos de polifenóis como polifenóis puros. Um estudo realizado por You et al., (2011) relatou que os extratos metanólicos da fruta e da casca de uvas apresentaram atividades inibitórias contra a lipase com valores de IC_{50} de 16,90 e 11,15 mg/mL. Esses extratos apresentavam uma composição rica em antocianinas, com cinco antocianinas individuais identificadas. Antocianinas estudadas individualmente também apresentaram atividade inibitória de lipase pancreática. Já foram estudadas por exemplo a cianidina-3-glicosídeo (188,28 μ M) (VIJAYARAJ; NAKAGAWA; YAMAKI, 2019) e a cianidina-3,5-diglicosídeo (0,89 mg/mL) (YOU et al., 2011). Embora os extratos tenham se demonstrado fortes inibidores da lipase pancreática, eles ainda foram significativamente mais fracos em comparação com o orlistate, inibidor sintético utilizado no tratamento da obesidade. Ainda assim, esses resultados sugerem que os compostos fenólicos da jabuticaba, principalmente as antocianinas, podem ser úteis na alimentação para controle do peso corporal e obesidade.

Entre os extratos testados, o extrato de antocianinas purificado se destacou não diferindo significativamente da ação do EFJ, que continha maior conteúdo de compostos fenólicos. Ademais, todos os ensaios inibitórios das enzimas digestivas foram significativamente correlacionados ao conteúdo de antocianinas totais dos extratos, corroborando que esses compostos foram os principais contribuintes para as inibições observadas. Diferenças na composição e conteúdo de compostos fenólicos podem afetar a atividade inibitória em relação às enzimas. Além disso, quando se trabalha com misturas de compostos, efeitos sinérgicos e/ou antagônicos entre os diferentes componentes podem potencializar ou reduzir a inibição (BOATH; STEWART; MCDUGALL, 2012). Neste trabalho, a etapa de purificação proporcionou a obtenção de extratos com frações concentradas de polifenóis que foram significativamente mais efetivos em todos os ensaios realizados. Apesar de apresentar maior CFT, efeitos sinérgicos não foram observados para o extrato EFJ, enquanto que efeitos antogônicos podem ter ocorrido no EHJ, que apresentou atividade inibitória significativamente inferior frente as enzimas (maiores valores de IC_{50}). Ressalta-se também que a menor atividade do EHJ também está associada a menor concentração de compostos fenólicos presentes. Contudo, não se pode ignorar o efeito que os extratos EFJ e EHJ

exerceram frente as enzimas estudadas, pois como discutido anteriormente, todos apresentaram atividades inibitórias e podem ser uma alternativa na modulação da atividade dessas enzimas.

5.2.1. Cinética de inibição

Grande parte das pesquisas publicadas sobre inibidores de enzimas digestivas relataram essa atividade determinando apenas seus valores de IC_{50} . No entanto, a determinação do valor de IC_{50} para inibidores é um tipo de análise preliminar, que é importante em uma triagem inicial desses inibidores. Para se entender de fato a eficácia das moléculas e elucidar o mecanismo de ação dos inibidores, os dados de IC_{50} precisam ser complementados com o estudo da cinética de inibição (RAHIM; TAKAHASHI; YAMAKI, 2015; VIJAYARAJ; NAKAGAWA; YAMAKI, 2019). Devido aos resultados obtidos indicarem que as antocianinas foram os maiores contribuintes para as inibições enzimáticas observadas, o extrato de antocianinas de jabuticaba purificado (EAJ) foi selecionado para uma investigação mais aprofundada, a fim de obter informações sobre a cinética de inibição. O tipo de inibição foi caracterizado por meio da inspeção visual dos gráficos (Figuras 7, 8 e 9), bem como por meio da avaliação das constantes cinéticas obtidas (Tabela 5).

Figura 7 - Análise cinética de inibição de α -glicosidase pelos inibidores (1) EAJ e (2) Acarbose. (A) Gráfico de Lineweaver-Burk (LB); (B) Gráfico de Dixon e (C) Gráfico da inclinação das retas do gráfico de LB versus [I]

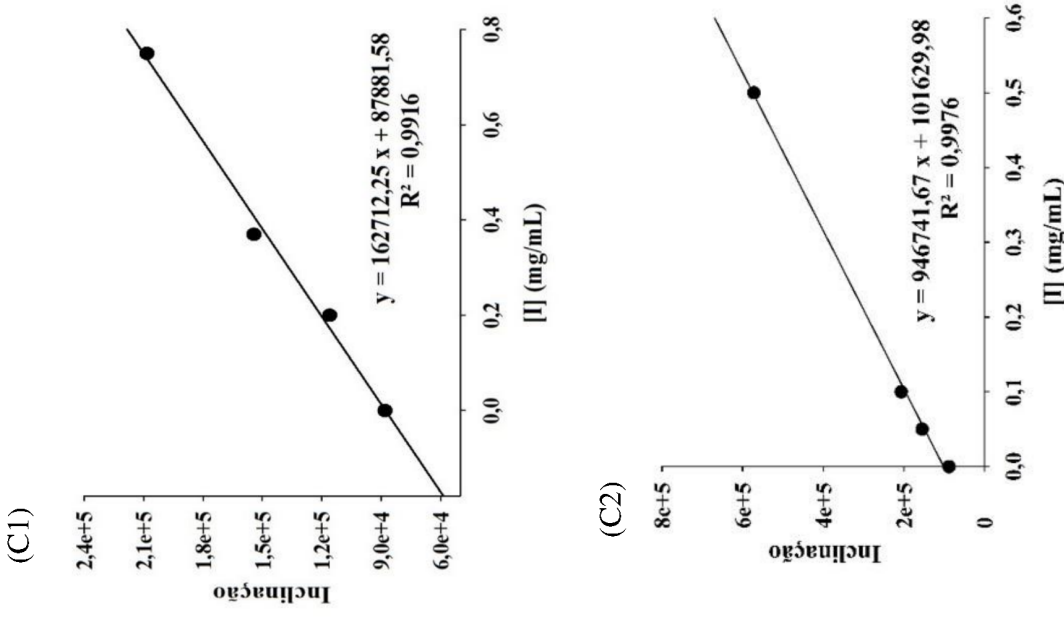
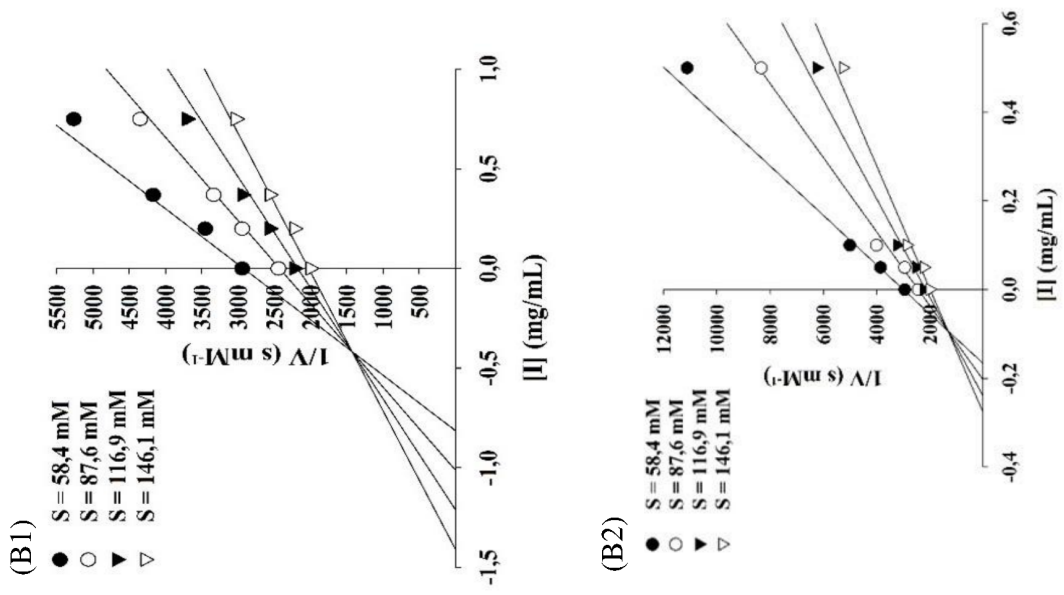
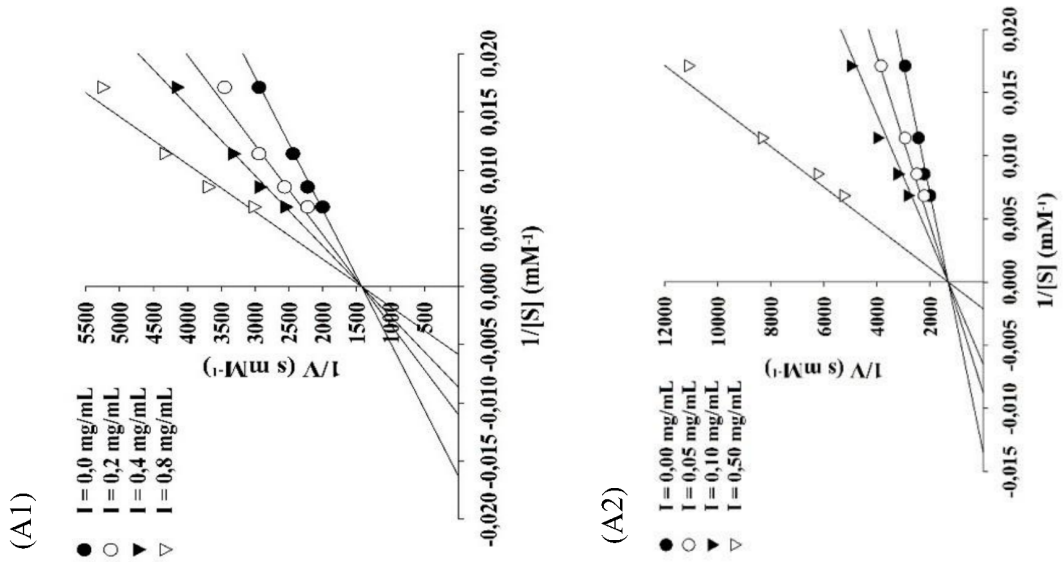


Figura 8 - Análise cinética de inibição de α -amilase salivar pelos inibidores (1) EAJ e (2) Acarbose. (A) Gráfico de Lineweaver-Burk (LB); (B) Gráfico de Dixon e (C) Gráfico da inclinação das retas do gráfico de LB versus [I]

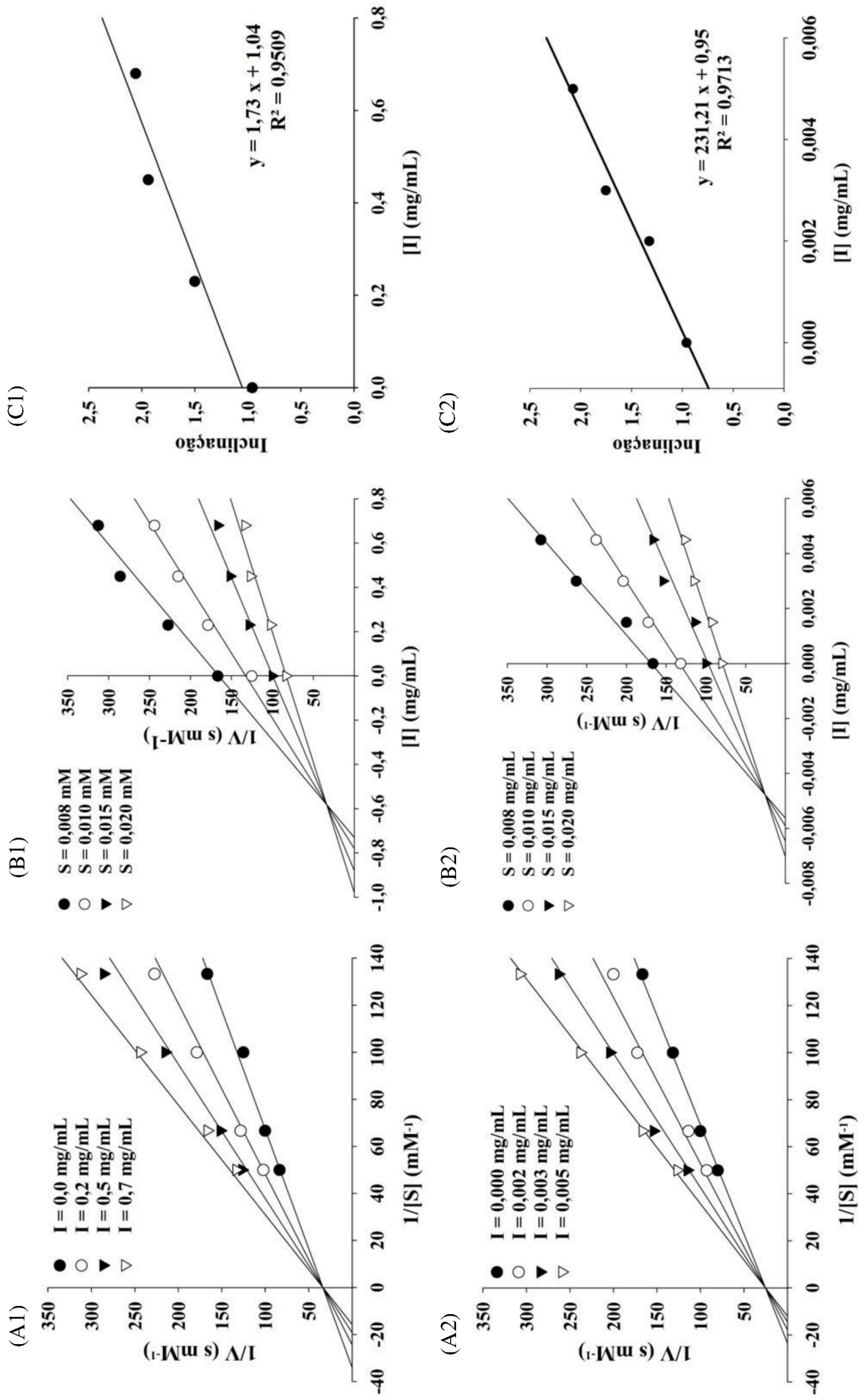


Figura 9 - Análise cinética de inibição de lipase pelos inibidores (1) EAJ e (2) Orlistate. (A) Gráfico de Lineweaver-Burk (LB); (B) Gráfico de Dixon e (C) Gráfico da inclinação das retas do gráfico de LB versus [I]

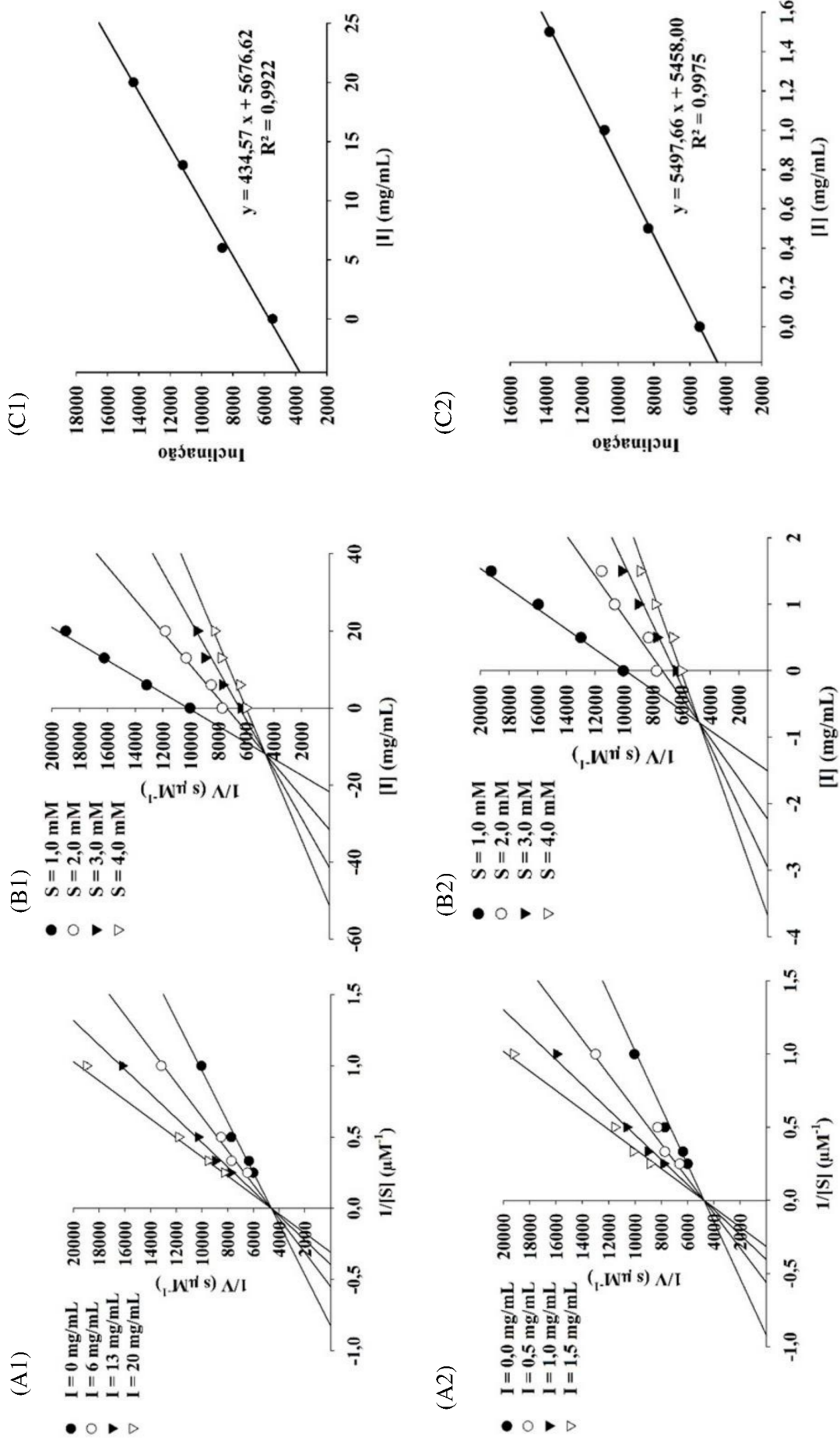


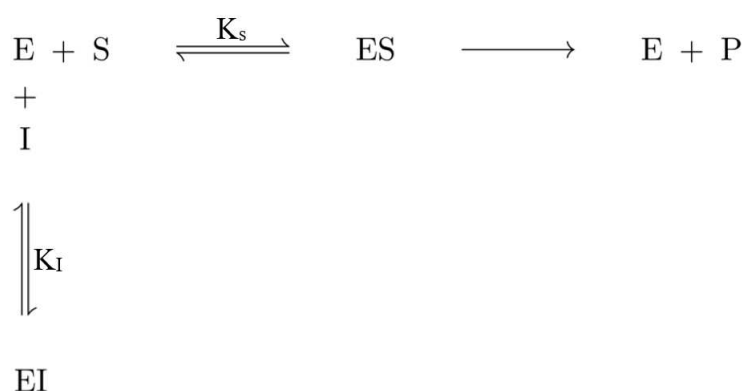
Tabela 5 - Parâmetros cinéticos da inibição das enzimas α -glicosidase, α -amilase salivar e lipase pelo EAJ e drogas comerciais

| α -GLI | K_m^{ap} (mM) | | | | $V_{m\acute{a}x}^{ap}$ (mM/s) | | | | K_i (mg/mL) | Tipo de inibição |
|---------------|-----------------|-------------|-------------|--------------|-------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|---------------------|
| | A | B | C | D | A | B | C | D | | |
| EAJ | 60,88±2,67 | 76,44±1,64 | 99,64±4,90 | 114,73±0,48 | 0,001±0,0000 | 0,001±0,0000 | 0,001±0,0000 | 0,001±0,0000 | 0,54±0,02 ^A | Competitiva |
| Acarbose | 60,88±2,67 | 129,99±1,00 | 136,94±8,05 | 386,34±10,30 | 0,001±0,0000 | 0,001±0,0000 | 0,001±0,0000 | 0,001±0,0000 | 0,09±0,00 ^B | Competitiva |
| α -AMI | K_m^{ap} (mM) | | | | $V_{m\acute{a}x}^{ap}$ (mM/s) | | | | K_i (mg/mL) | Tipo de inibição |
| | A | B | C | D | A | B | C | D | | |
| EAJ | 0,03±0,01 | 0,05±0,00 | 0,07±0,01 | 0,08±0,03 | 0,030±0,0007 | 0,030±0,0003 | 0,030±0,0001 | 0,031±0,0006 | 0,57±0,03 ^A | Competitiva |
| Acarbose | 0,03±0,01 | 0,04±0,00 | 0,05±0,00 | 0,06±0,00 | 0,030±0,0007 | 0,033±0,0001 | 0,031±0,0002 | 0,035±0,0003 | 0,004±0,001 ^B | Competitiva |
| LIP | K_m (mM) | | | | $V_{m\acute{a}x}$ (mM/s) | | | | K_i (mg/mL) | Tipo de inibição |
| | A | B | C | D | A | B | C | D | | |
| EAJ | 1,17 ± 0,06 | 1,96±0,18 | 2,24±0,07 | 3,11±0,31 | 0,0002±0,000 | 0,0002±0,000 | 0,0002±0,000 | 0,0002±0,000 | 12,56±0,31 ^A | Competitiva |
| Orlistate | 1,17±0,06 | 1,83±0,13 | 2,04±0,02 | 2,63±0,11 | 0,0002±0,000 | 0,0002±0,000 | 0,0002±0,000 | 0,0002±0,000 | 0,99±0,05 ^B | Competitiva |

Os caracteres (A:D) representam as concentrações de extratos e controles (A = 0; D = concentração mais alta). Valores de K_i (constante de inibição) seguidos de letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,01$). Valores são expressos como médias \pm desvio padrão ($n=3$).

Os gráficos de Lineweaver-Burk e Dixon para o EAJ e para o controle positivo acarbose frente a enzima α -glicosidase são encontrados na Figura 7. Por meio da inspeção visual do gráfico de Lineweaver-Burk (Figura 7: A1) para o EAJ, é possível observar a interseção das retas no eixo y e o aumento da inclinação das retas com concentrações crescentes do inibidor, comportamento característico dos inibidores competitivos (PATARROYO-VARGAS et al., 2020). O gráfico de Dixon (Figura 7: B1) foi caracterizado por linhas retas em diferentes concentrações de substrato que se cruzam no segundo quadrante, comportamento também característico de inibição competitiva (HERMAN et al., 2020). No gráfico da inclinação das retas do gráfico de Lineweaver-Burk versus a concentração de inibidor (Figura 7: C1) os dados se ajustaram linearmente com valor significativo de R^2 , comportamento descrito como de inibidores competitivos puros (MEIERING et al., 2005). Essas observações sugerem que a inibição da α -glicosidase pelas antocianinas do EAJ é do tipo competitivo e que as antocianinas podem competir com o substrato pelo sítio ativo da enzima, diminuindo o número de moléculas enzimáticas disponíveis para se ligar ao substrato. Na inibição competitiva os inibidores se combinam no mesmo local de ligação do substrato. As ligações são exclusivas entre si, formando um complexo enzima-substrato (ES) ou um complexo enzima-inibidor (EI), como mostrado na Figura 10 (LHYONE-MYONG, 1996).

Figura 10 - Esquema geral de reação enzimática com inibição competitiva (E = enzima, I = inibidor, S = substrato, P = produto)



Fonte: Adaptado de Lhyone-Myong, (1996).

A acarbose é um inibidor competitivo comumente reconhecido das enzimas α -glicosidases (ROSAK; MERTES, 2012). De fato, através da inspeção dos gráficos (Figura 7: A2, B2 e C2) verifica-se que o tipo de inibição da α -glicosidase pela acarbose foi competitivo.

Inspecionando os gráficos para a inibição da α -amilase salivar (Figura 8) e da lipase pancreática (Figura 9), os mesmos comportamentos descritos para a enzima α -glicosidase foram observados, o que indica que as antocianinas do EAJ também atuam de modo competitivo na inibição dessas enzimas. As drogas comerciais acarbose e orlistate também atuaram de modo competitivo na inibição das enzimas α -amilase salivar e da lipase pancreática, como verificado nas Figuras 8 e 9.

As constantes cinéticas detalhadas são apresentadas na Tabela 5. Para um inibidor competitivo típico, o valor da constante de Michaelis-Menten (K_m) aumenta com concentrações crescentes de inibidor, enquanto a velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$) permanece a mesma (SUN et al., 2016). Consistente a isso, para as enzimas α -glicosidase e α -amilase salivar, o K_m^{ap} aumentou com o aumento da concentração dos inibidores (EAJ ou acarbose) e a $V_{m\acute{a}x}^{ap}$ permaneceu constante. Para a lipase pancreática o valor de K_m também aumentou e da $V_{m\acute{a}x}$ permaneceu o mesmo.

A constante de inibição (K_i) representa a potência de um inibidor, sendo que valores menores denotam maior capacidade inibidora da substância (BURLINGHAM; WIDLANSKI, 2003). Os valores de K_i são apresentados na Tabela 5. O EAJ inibiu a α -glicosidase melhor que as enzimas α -amilase e lipase, consistente com o resultado do IC_{50} . Os valores de K_i para o extrato foram significativamente maiores ($p < 0,01$) que os valores de K_i para as drogas comerciais. Esses resultados sugerem que esses compostos tem maior afinidade de ligação às enzimas do que o EAJ. Contudo, não se pode negligenciar o efeito das antocianinas do extrato, pois essas foram eficazes na inibição, podendo ser consideradas um promissor inibidor da atividade dessas enzimas. Deve-se ressaltar ainda que estas drogas comerciais têm seu uso associado a diversos efeitos colaterais e que o uso de compostos naturais pode ser vantajoso nesse sentido, pois estes geralmente não possuem efeitos colaterais adversos e podem ser incorporados por meio da dieta.

A cianidina-3-glicosídeo foi caracterizada como a antocianina dominante na jabuticaba em literaturas disponíveis. Essa antocianina já teve seu potencial de inibição avaliado e foi identificada como um inibidor competitivo das enzimas α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*, lipase do pâncreas suíno e α -amilase (VIJAYARAJ; NAKAGAWA; YAMAKI, 2019; YOU et al., 2011). Outras antocianinas também tiveram seu mecanismo de inibição estudado, como a cianidina-3-galactosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo que foram inibidores não-competitivos de α -glicosidase de levedura (ADISAKWATTANA et al., 2004; ADISAKWATTANA; CHAROENLERTKUL; YIBCHOK-ANUN, 2009). A análise cinética revelou em outro estudo que a α -amilase pancreática foi inibida pela cianidina-3-rutinosídeo de

maneira não competitiva (AKKARACHIYASIT et al., 2011). As atividades e mecanismos de inibição de quatro antocianinas, incluindo a cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3,5-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo e peonidina-3-glicosídeo, contra a α -amilase de pâncreas suíno foi investigada e o estudo de inibição *in vitro* demonstrou que as quatro antocianinas inibiram competitivamente a α -amilase pancreática, sendo que a cianidina-3-glicosídeo possuía a maior atividade de inibição (SUI; ZHANG; ZHOU, 2016). De acordo com Akkarachiyasit et al. (2010), diferenças estruturais na porção glicosídica das antocianinas podem ser cruciais para uma inibição mais potente das enzimas. Esses autores sugeriram que a diferença estrutural do açúcar na posição 3-O possa ser uma fator importante para modular a inibição da enzima sacarase intestinal e da α -amilase pancreática. Além disso, que a introdução de outra porção de glicose na posição 5 da cianidina-3-glicosídeo diminuiu significativamente a atividade inibitória. Isso pode explicar diferenças no potencial inibitório de extratos com diferentes perfis antociânicos e ainda diferentes mecanismos de inibição de antocianinas frente as enzimas digestivas.

5.3. Inibição *in vitro* da glicação de BSA

Neste estudo, os modelos BSA-RIB e BSA-GLI foram utilizados para avaliar os efeitos inibitórios dos extratos na formação de AGEs fluorescentes. Nesses ensaios ao incubar BSA/glicose ou ribose a intensidade da fluorescência aumentou significativamente com o tempo. Na presença de todos os extratos e da quercetina o aumento da intensidade da fluorescência diminuiu de maneira dose-dependente. Os valores de IC_{50} estão apresentados na Tabela 4. As atividades antiglicação *in vitro* dos extratos purificados para o ensaio BSA-RIB e BSA-GLI foram significativamente maiores ($p < 0,01$) que a atividade do extrato EHJ, como verificado pelos menores valores de IC_{50} . Nos modelos estudados os extratos EAJ e EFJ apresentaram valores de IC_{50} que não diferiram entre si e a atividade desses extratos, com exceção do EAJ no modelo BSA-GLI, foi comparável a quercetina ($p > 0,01$), que é um composto que já teve suas propriedades antiglicação atestadas (HARRIS et al., 2014; SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018). Os maiores valores de IC_{50} observados no modelo BSA-RIB podem ser explicados pela maior reatividade da ribose na reação de glicação não enzimática (WEI et al., 2012).

Correlações significativas foram observadas para a inibição da formação de AGEs e o CFT ($r = -0,71$) e AT ($r = -0,68$). Os resultados deste estudo fornecem evidências de que os compostos fenólicos, em especial as antocianinas presentes nos extratos, podem atuar como

inibidores da formação de AGEs fluorescentes, sendo eficazes na prevenção da modificação da proteína BSA mediada pelos agentes glicantes ribose e glicose. Estudos anteriores demonstraram que a cianidina-3-glicosídeo, apresentou potentes atividades inibitórias da formação de AGEs fluorescentes *in vitro*. Os autores utilizaram os modelos BSA-RIB e BSA-FRU e verificaram que essa antocianina apresentou valores de IC₅₀ de $0,24 \pm 0,01$ e $0,18 \pm 0,01$ mg/mL para esses modelos, respectivamente (SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2019). Outros extratos ricos em antocianinas também mostraram inibições da formação de AGEs fluorescentes *in vitro*. Extratos de mirtilo mostraram potencial inibitório *in vitro* para glicação de BSA com valores IC₅₀ $\leq 2,35$ mg/mL para modelos com ribose e frutose (SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018). O efeito anti-AGEs de extratos de frutos silvestres também já foi avaliado utilizando os modelos BSA-FRU e BSA-GLI. Todas as amostras reduziram a formação de AGEs, sendo os resultados correlacionados positivamente com o conteúdo fenólico total de cada extrato e, em menor grau, com o conteúdo total de antocianinas (HARRIS et al., 2014).

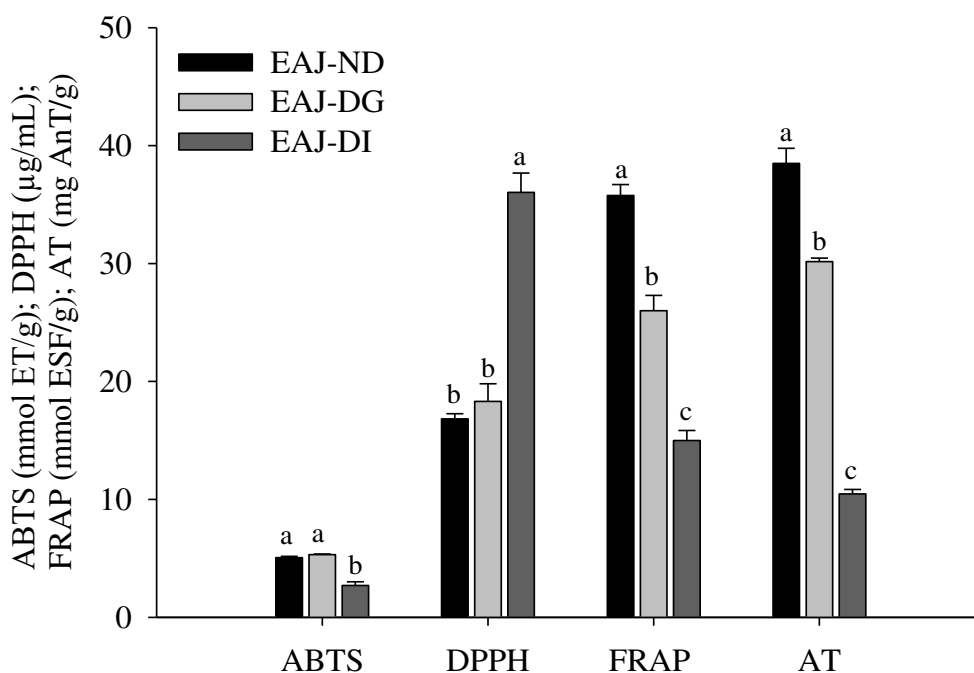
Um dos mecanismos propostos para a atuação dos compostos fenólicos na redução dos efeitos deletérios da formação de AGEs ocorre por meio de atividades antioxidantes, pela atuação na eliminação de radicais livres que são formados em diferentes etapas da reação de glicação, influenciando assim a formação subsequente de AGEs (PENG et al., 2011; YEH et al., 2016). No presente estudo, correlações significativas foram encontradas entre a atividade antiglicação e os ensaios de atividade antioxidante em relação aos radicais sintéticos ABTS ($r = -0,71$) e DPPH ($r = 0,90$) e ao FRAP ($r = -0,74$). Estes dados sugerem que quanto menor o IC₅₀ nos modelos de glicação estudados, maior a atividade antioxidante, ou seja, menores valores de IC₅₀ para o radical DPPH e maiores valores correspondentes em equivalente de trolox ou sulfato ferroso, para os métodos ABTS e FRAP, respectivamente. Outros estudos também apresentaram atividade antiglicante correlacionada com a capacidade antioxidante. Correlação positiva moderada foi encontrada entre a atividade de eliminação de radicais DPPH por extratos de ervas medicinais ricas em polifenóis e a atividade de captura de metilglioxal (MGO) e de seus derivados AGEs ($r = 0,534$, $p < 0,01$) (SOMPONG; ADISAKWATTANA, 2015). Kuo et al. (2015) estudaram extratos de azeitonas chinesas e encontraram significativa correlação entre o ensaio de glicação de BSA e os ensaios de eliminação dos radicais ABTS e DPPH ($r = 0,885$ e $r = 0,945$).

5.4. Impacto da digestão gastrointestinal (DGI) *in vitro* na estabilidade e atividades bioativas do extrato purificado de antocianinas da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*)

5.4.1 Efeito da DGI no conteúdo de antocianinas totais (AT) e atividades antioxidantes

As antocianinas foram os principais compostos contribuintes para as atividades bioativas dos extratos estudados, como discutido anteriormente. As antocianinas geralmente não são compostos estáveis e muitos fatores podem afetar sua estabilidade, como pH, oxigênio, estrutura química e presença de enzimas (FRANCIS; MARKAKIS, 1989; SIPAHLI; MOHANLALL; MELLEM, 2017). Em função disso, o extrato de antocianinas purificado (EAJ) foi submetido à digestão gastrointestinal (DGI) *in vitro*, visando avaliar o impacto na composição e bioatividade desse extrato. O conteúdo de antocianinas totais (AT) das amostras, bem como as atividades antioxidantes, foram avaliados antes e depois da DGI *in vitro* e os resultados são apresentados na Figura 11.

Figura 11 - Mudanças nas atividades antioxidantes (ABTS, DPPH e FRAP) e no conteúdo de antocianinas totais (AT) do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*) antes e após a digestão gastrointestinal *in vitro*



Fonte: Autor

* EAJ: extrato de antocianinas de jabuticaba purificado; ND: não digerido; DG: digestão gástrica; DI: digestão intestinal. Médias (valor de barra) seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,01$). Valores são expressos como médias \pm desvio padrão ($n=3$).

A digestão gastrointestinal (DGI) *in vitro* do extrato de antocianinas de jaboticaba levou a mudanças no conteúdo de antocianinas totais em comparação com o extrato não digerido ($p < 0,01$). O maior conteúdo de AT foi encontrado antes do processo de DGI ($38,49 \pm 2,23$ mg AnT/g); esse conteúdo foi reduzido em $21,39 \pm 5,56$ % após a etapa gástrica e em $72,77 \pm 1,67$ % no final da fase intestinal. A redução mais acentuada de antocianinas após a etapa da digestão intestinal pode ser explicada por a maior estabilidade das antocianinas em meio ácido em baixos valores de pH do que em soluções com alto pH. As antocianinas podem existir em quatro estruturas químicas principais em equilíbrio no meio, dependendo do pH: o cátion flavílium, a base quinoidal, a pseudobase carbinol e a chalcona. Sob condições ácidas ($\text{pH} \leq 2$), as antocianinas existem principalmente na forma de cátion flavílium apresentando cor vermelha, mas à medida que o pH aumenta as demais estruturas tornam-se progressivamente mais estáveis e crescentemente formadas (IACOBUCCI; SWEENEY, 1983; LIANG et al., 2012). Além disso, durante a digestão intestinal há presença de enzimas que favorecem a degradação das antocianinas para suas formas agliconas, bem como a formação e liberação de derivados fenólicos pela degradação parcial de sua estrutura original (CHEN et al., 2019b; DANGLES, 2018; KAY, 2006; WOJTUNIK-KULESZA; ONISZCZUK; ONISZCZUK, 2020), o que também pode ter contribuído para a redução observada.

Em um estudo da digestão gastrointestinal simulada da antocianina cianidina-3-glicosídeo (C3G), os autores observaram que a recuperação da C3G após a digestão gástrica foi de 88,31 % e após a etapa intestinal, a recuperação foi de apenas 0,71 %. Durante a digestão gástrica, houve predomínio da C3G em solução. Durante a digestão intestinal, a baixa recuperação de C3G foi atribuída ao pH das condições intestinais. Além disso, uma ampla gama de outros metabólitos foi liberada após a digestão da C3G, sendo que os produtos de degradação primária dessa antocianina foram os ácidos fenólicos e seus derivados (CHEN et al., 2019b). Em outro trabalho, se estudou a digestão gastrointestinal simulada *in vitro* de uma fração rica nas antocianinas cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo extraídas de amora (*Morus atropurpurea*). As antocianinas foram estáveis sob as condições gástricas, mas uma diminuição significativa na recuperação foi observada após a digestão intestinal, apenas cerca de 5% das antocianinas foram recuperadas. Ao final da digestão gastrointestinal, os resultados obtidos por HPLC–ESI-MS/MS indicaram que por meio da digestão, as antocianinas perderam sua forma glicosídica e deram origem a outras substâncias flavonoides e ácidos fenólicos e seus derivados (LIANG et al., 2012).

A mesma tendência de diminuição do conteúdo de AT foi observada para outros extratos ricos em antocianinas já estudados. Em extratos de framboesa preta, a digestão gástrica

não teve efeito significativo sobre as antocianinas e a digestão intestinal diminuiu o conteúdo de antocianinas totais em 55 % (RYU; KOH, 2018). Para extratos de cereja, após a digestão no intestino delgado, o conteúdo de antocianinas totais foi reduzido em mais de 70 % em comparação com a amostra não digerida (DAVID et al., 2019). Apesar da redução observada após a etapa de digestão intestinal, o conteúdo de antocianinas remanescentes no extrato do presente estudo foi 10,77 mg AnT/g, um valor ainda significativo quando comparado com outras frutas e com estudos com diferentes frações da jabuticaba. Cascas e sementes de jabuticabas liofilizadas apresentaram um conteúdo inicial de AT de 12,72 mg/g (cianidina-3-glicosídeo + delphinidina-3-glicosídeo) e após a digestão de 2,48 mg/g (INADA et al., 2020). O teor total de antocianinas do extrato de framboesa preta era de 19,34 mg de cianidina-3-glucosídeo equivalente/g e ao final da digestão 8,75 mg cianidina-3-glicosídeo equivalentes/g (RYU; KOH, 2018).

No presente trabalho, a capacidade antioxidante das amostras foi avaliada pelo poder de redução do ferro (FRAP) e potencial de eliminação dos radicais DPPH e ABTS. Em todos os ensaios, foi observada uma perda significativa ($p < 0,01$) da capacidade antioxidante ao final da DGI *in vitro* (Figura 11). A digestão gástrica não teve efeito significativo sobre a capacidade de eliminação (IC_{50}) do radical DPPH. No entanto, após a etapa intestinal houve um aumento do IC_{50} de $53,10 \pm 4,42$ % ($p < 0,01$). Esse aumento se deve à natureza do conceito IC_{50} , onde valores mais baixos significam maior atividade antioxidante, indicando nesse caso diminuição da capacidade antioxidante do extrato. No ensaio de eliminação de radicais ABTS a digestão gástrica não teve efeito significativo ($p > 0,01$) e após a etapa intestinal a capacidade antioxidante do extrato reduziu $52,46 \pm 2,60$ % em comparação com a amostra não digerida. No ensaio FRAP, constatou-se diminuição de $27,30 \pm 5,08$ % no poder redutor ao final da digestão gástrica e perda de $57,91 \pm 5,88$ % após a fase intestinal.

Para promover alguma ação biológica, como atividades antioxidantes, os compostos devem permanecer em uma forma bioativa até atingirem o seu local de ação. Muitos estudos avaliam a atividade antioxidante de extratos ou compostos individuais e não levam em consideração as alterações químicas que ocorrem durante a digestão e o consequente impacto na bioatividade dos compostos (SPÍNOLA et al., 2019). Neste trabalho, as atividades antioxidantes mais baixas observadas após a digestão são provavelmente resultado do conteúdo mais baixo de antocianinas nas amostras digeridas (Figura 11). Resultados semelhantes foram observados para extratos de morango chileno (THOMAS-VALDÉS et al., 2019), repolho roxo (PODSĘDEK et al., 2014) e cereja (DAVID et al., 2019) submetidos a DGI *in vitro*. Apesar da diminuição da capacidade antioxidante observada, os resultados obtidos indicam que mesmo

após as alterações na estrutura sofridas pelas antocianinas, seja em função do pH do meio ou por meio da ação de enzimas, ainda há significativa atividade antioxidante desses compostos. Dessa forma, os compostos que mantêm sua atividade antioxidante, após a digestão, podem exercer seus potenciais efeitos protetores no organismo contra a ação de radicais livres.

5.4.2 Efeito da DGI *in vitro* nos parâmetros colorimétricos do EAJ

Na figura 12 estão apresentadas figuras dos extratos antes e depois da DGI. Observa-se por meio da figura que o extrato não digerido (EAJ-ND), bem como o extrato pós digestão gástrica (EAJ-DG) apresentaram uma coloração mais clara e mais vermelha que o extrato pós digestão intestinal (EAJ-DI), que mostra uma coloração mais escura com tons mais voltados para a cor roxa. Os parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , C^* e h^*) do EAJ avaliados antes e depois da DGI *in vitro* são apresentados na Tabela 6. De fato, o EAJ-ND e o extrato EAJ-DG apresentaram maiores valores do parâmetro L^* ($p < 0,01$), que caracteriza o grau de claridade da cor (KORIFI et al., 2013). Quanto à coordenada a^* , que pode assumir valores de -80 (verde) a +100 (vermelho) (KORIFI et al., 2013), o EAJ-ND e o EAJ-DG apresentaram tons mais vermelhos do que o EAJ-DI, com valores de a^* mais próximos do valor +100. Para a coordenada b^* que pode variar de -50 (azul) a +70 (amarelo) (ALVES et al., 2008), os valores variaram de -0,40 a 5,30, sendo o extrato pós digestão intestinal o que apresentou tons mais próximos da cor azul.

Figura 12 - Mudanças na coloração do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*) antes e após a digestão gastrointestinal *in vitro*



Fonte: Autor.

* (A) = EAJ-ND; (B) = EAJ-DG e (C) = EAJ-DI

Tabela 6 - Parâmetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , h^* e C^*) do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*) antes e após a digestão gastrointestinal *in vitro*

| Extratos | L^* | a^* | b^* | h^* | C^* |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| EAJ-ND | $39,69 \pm 0,8^A$ | $11,73 \pm 1,4^B$ | $2,66 \pm 0,4^B$ | $12,74 \pm 0,6^B$ | $12,03 \pm 1,4^B$ |
| EAJ-DG | $38,63 \pm 0,5^A$ | $25,08 \pm 0,9^A$ | $5,30 \pm 0,6^A$ | $11,92 \pm 1,0^B$ | $25,63 \pm 1,0^A$ |
| EAJ-DI | $36,43 \pm 0,3^B$ | $1,07 \pm 0,80^C$ | $-0,40 \pm 0,0^C$ | $339,60 \pm 1,0^A$ | $1,14 \pm 0,1^C$ |

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,01$). Valores são expressos como médias \pm desvio padrão ($n=3$).

O ângulo hue (h^*) se relaciona ao conteúdo de antocianinas presentes de forma que quanto menor esse ângulo, mais intensa a cor vermelha e maior o conteúdo de antocianinas (LIMA; MÉLO; GUERRA, 2007). De fato, o extrato não digerido e o extrato pós digestão gástrica apresentaram maior conteúdo de antocianinas e menores valores de hue, quando comparadas ao extrato pós digestão intestinal ($p < 0,01$). Como relatado anteriormente, as antocianinas apresentam maior estabilidade em pH ácido, o que pode explicar a ausência de mudança significativa de cor após a etapa de digestão gástrica. O Chroma (C^*) ou saturação de cor indica se as cores são mais fortes ou mais leves (VIEIRA et al., 2019). De acordo com os resultados o EAJ-DG apresentou uma maior intensidade de cor comparado aos outros extratos ($p < 0,01$). Isso também pode estar relacionado ao pH 2,0 da fase gástrica.

Como discutido anteriormente, em diferentes valores de pH a estrutura da molécula de antocianinas modifica resultando em diferentes cores. Sob condições ácidas ($pH < 2$), como na fase gástrica, as antocianinas existem principalmente na forma de cátion flavílium apresentando cor vermelha (IACOBUCCI; SWEENEY, 1983), o que pôde ser observado na figura 12 por meio da cor do extrato pós digestão gástrica. Com o aumento dos valores de pH a cor das antocianinas muda, até se tornarem incolores em pH aproximadamente 6, devido à predominância da espécie pseudobase carbinol. Aumentos adicionais no pH ($> 6,0$), dão origem as estruturas de base quinoidal com coloração azul ou violeta e pseudobase carbinol, que lentamente atingem o equilíbrio com a chalcona (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011; IACOBUCCI; SWEENEY, 1983). Essa mudança de coloração em função do pH, explica a cor observada no extrato (Figura 12) após a fase intestinal, na qual há a predominância do pH 7,0.

5.4.3 Efeito da DGI *in vitro* na capacidade inibitória do EAJ frente as enzimas α -glicosidase, α -amilase e lipase

Os extratos EAJ-ND, EAJ-DG e EAJ-DI inibiram significativamente a enzima α -glicosidase de maneira dependente da dose, os valores de IC₅₀ são apresentados na Tabela 7. As condições gástricas não interferiram significativamente na capacidade inibitória das antocianinas do extrato ($p > 0,01$), enquanto que após a etapa intestinal houve diminuição dessa capacidade, observada pelo maior valor de IC₅₀ ($p < 0,01$). Como discutido anteriormente, quando expostas às condições digestivas, uma porcentagem das antocianinas sofre transformações que resultam em metabólitos com diferentes estruturas/propriedades químicas e, em geral, bioatividades menores. A diminuição da capacidade de inibição da enzima α -glicosidase pelo EAJ pode estar associada então à formação de outros metabólitos com menor potencial inibitório. A perda da porção glicosídica parece influenciar positivamente na capacidade de inibição enzimática das antocianinas. A remoção de glicosídeos das antocianinas por hidrólise ácida aumentou sua atividade inibidora da α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (ZHANG et al., 2019). Em outro estudo, a cianidina exerceu forte atividade inibitória sobre α -glicosidase, com IC₅₀ de $5,293 \times 10^{-3}$ mM, enquanto que a cianidina-3-rutinósido (2 mM) e a cianidina-3-O-glicosídeo (2 mM) não mostraram atividade inibitória sobre a α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (CHEN et al., 2020).

Tabela 7 - Atividades inibitórias *in vitro* (IC₅₀: mg/mL) do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba (*P. cauliflora*) em relação às enzimas digestivas e glicação da albumina sérica bovina (BSA) antes e depois da digestão gastrointestinal *in vitro*

| Extratos | α -glicosidase de rato | α -amilase salivar | Lipase pancreática | Glicação BSA | |
|----------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | | | | ribose | glicose |
| EAJ- ND | 0,59 \pm 0,02 ^B | 0,63 \pm 0,02 ^B | 13,52 \pm 0,93 ^A | 0,37 \pm 0,01 ^B | 0,23 \pm 0,04 ^B |
| EAJ-DG | 0,59 \pm 0,02 ^B | 1,38 \pm 0,11 ^B | 14,67 \pm 1,33 ^A | 0,59 \pm 0,03 ^B | 0,25 \pm 0,01 ^B |
| EAJ-DI | 0,74 \pm 0,15 ^A | 4,10 \pm 0,49 ^A | 6,30 \pm 0,16 ^B | 1,58 \pm 0,36 ^A | 2,11 \pm 0,62 ^A |

Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,01$). Valores são expressos como médias \pm desvio padrão ($n=3$).

Ambas as amostras (antes e depois da digestão gastrointestinal *in vitro*) inibiram a atividade da α -amilase salivar de uma forma dependente da concentração. Os respectivos valores de IC₅₀ são mostrados na Tabela 7. Após a digestão, o extrato analisado ainda foi capaz de inibir a atividade da α -amilase salivar, embora em menor potência, como sugerido pelo valor

de IC₅₀ superior. A diminuição da eficácia inibitória está de acordo com os resultados do conteúdo de AT, que reduziu significativamente após a DGI *in vitro*. A porção glicosídica das antocianinas parece interferir positivamente na modulação da atividade da α -amilase salivar. Em um estudo da capacidade inibitória de antocianinas e antocianidinas individuais em relação a α -amilase salivar humana, a cianidina-3-glicosídeo apresentou capacidade inibitória superior quando comparada às agliconas cianidina e delphinidina (BARIK et al., 2020).

Em contraste aos resultados obtidos para as enzimas α -amilase e α -glicosidase, a eficácia inibitória da enzima lipase pelo EAJ após a DGI *in vitro* foi mais forte, como sugerido pelo valor de IC₅₀ inferior do EAJ-DI (Tabela 7). Esses resultados podem indicar que a passagem pelo trato gastrointestinal pode ser responsável por alterações e/ou liberação de compostos bioativos mais ativos na inibição da lipase pancreática. Já foi demonstrado que a cianidina exibiu uma atividade inibitória mais forte que a cianidina-3-glicosídeo, sugerindo que a glicosilação das antocianidinas reduz significativamente a inibição da lipase pancreática (VIJAYARAJ; NAKAGAWA; YAMAKI, 2019). O mesmo comportamento foi observado em outro estudo, a cianidina exibiu uma atividade antidiabética muito mais forte que a cianidina-3,5 diglucosídeo, sugerindo que as antocianinas podem ter maiores atividades inibitórias após serem digeridas (YOU et al., 2011).

Embora a atividade inibitória do EAJ tenha sido afetada pela DGI *in vitro*, ainda houve significativa eficácia inibitória após as etapas de digestão gástrica e intestinal. Outros estudos também relataram perdas nas atividades bioativas após a simulação da digestão gastrointestinal. Em estudo com *Chaenomeles speciosa* e *Crataegus pinnatifida*, duas frutas chinesas, houve alteração da composição fenólica, bem como diminuição das atividades inibitórias da α -glicosidase. Assim como no presente trabalho esses efeitos foram mais acentuados após a digestão intestinal do que após a digestão gástrica (ZHAO et al., 2020). Em extratos de guaraná a quantidade de compostos fenólicos totais também diminuiu após a digestão *in vitro*, porém os polifenóis restantes/resultantes foram capazes de inibir as atividades de α -glicosidase e α -amilase (SILVA et al., 2018). Por outro lado, em estudo com extratos de groselhas selvagens (*Ribes magellanicum* e *R. punctatum*), foi avaliada a capacidade inibitória das enzimas α -amilase, α -glicosidase e lipase pancreática e após a digestão gastrointestinal simulada apenas a inibição da α -glicosidase foi preservada (BURGOS-EDWARDS et al., 2017). Os resultados obtidos neste trabalho indicam que mesmo após a submissão às condições do trato gastrointestinal os compostos ainda mantêm alguma atividade inibitória, podendo exercer efeitos benéficos no trato gastrointestinal ao interagir com as enzimas presentes.

5.4.4 Efeito da DGI *in vitro* na capacidade do EAJ de inibir a glicação de BSA

As antocianinas do extrato de jabuticaba mostraram forte potencial inibitório para glicação de BSA *in vitro* (Tabela 7). As condições gástricas não interferiram significativamente na capacidade inibitória das antocianinas do extrato ($p > 0,01$), enquanto que o aumento do valor de IC_{50} após a digestão intestinal sugere que o extrato mostrou menor atividade inibitória contra a formação de AGEs fluorescentes. A menor atividade antiglicação da amostra após a digestão intestinal está de acordo com a degradação das antocianinas que foi observada durante a simulação da DGI *in vitro*. Como discutido anteriormente, as antocianinas podem sofrer transformações estruturais que resultam em metabólitos com diferentes estruturas químicas, que nesse caso, possuem propriedades inibitórias inferiores. No entanto, ao final da digestão o extrato ainda reteve algum efeito inibitório ($IC_{50} = 1,58 \pm 0,36$ e $2,11 \pm 0,62$ mg/mL) e possivelmente pode ajudar a fornecer um efeito protetor no organismo contra a formação dos produtos de glicação avançada (AGEs).

Os resultados deste estudo fornecem evidências de que as antocianinas e/ou os metabólitos formados após a submissão às condições da digestão gastrointestinal podem inibir significativamente a modificação da proteína BSA mediada pela glicose ou por a ribose. Compostos que apresentam propriedades terapêuticas na inibição da glicação são considerados agentes promissores na minimização da patogênese das complicações de doenças como o diabetes. Os resultados obtidos apoiam a hipótese de que os compostos fenólicos, especialmente as antocianinas, podem contribuir para diminuição da formação dos produtos de glicação avançada. O potencial de diferentes compostos fenólicos de inibir a glicação da albumina sérica bovina já foi relatado na literatura (BŁASZCZAK; JEŽ; SZWENGIEL, 2020; SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2019; SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2018). Ademais, outros estudos também relataram diminuição do potencial antiglicação após a simulação da digestão gastrointestinal. Extratos de *Elaeagnus umbellata* e *Sambucus lanceolata* ainda foram capazes de prevenir a glicação *in vitro* da BSA após a DGI *in vitro*, porém em menor potência. Os autores verificaram aumento dos valores de IC_{50} de 40-62 % (SPÍNOLA et al., 2019). Em estudo com extratos fenólicos de *Rumex maderensis*, a potência dos extratos contra a inibição de formação de AGEs diminuiu de 65,42-78,63 % após a digestão simulada em comparação com as amostras não digeridas (SPÍNOLA; LLORENT-MARTÍNEZ; CASTILHO, 2020).

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho relata o potencial dos compostos fenólicos da casca de jabuticaba, em particular as antocianinas, no controle da hiperglicemia e obesidade, além de propriedades antioxidantes e antiglicação. Esses efeitos foram verificados por meio da ação dos extratos no sequestro de radicais livres e redução do ferro, através da inibição de enzimas digestivas que são relevantes para o DM e obesidade e da inibição da glicação da proteína BSA. Este estudo relata também as mudanças induzidas pela DGI *in vitro* no conteúdo de antocianinas e na bioatividade do extrato de antocianinas da casca de jabuticaba. Como resultado da DGI *in vitro*, houve redução significativa do conteúdo de antocianinas após as etapas gástrica e intestinal, sendo essa redução mais acentuada após a etapa intestinal. Essa diminuição do conteúdo de antocianinas refletiu negativamente na capacidade antioxidante, na inibição das enzimas α -glicosidase e α -amilase e na inibição da formação de AGEs fluorescentes. Apesar disso, ainda houveram consideráveis atividades bioativas ao final da digestão, o que indica que mesmo após a submissão às condições do trato gastrointestinal as antocianinas e/ou os compostos resultantes das transformações químicas ainda apresentam atividades bioativas relevantes.

Considerando sua composição e potenciais benefícios à saúde, este estudo forneceu dados científicos para reforçar a exploração das cascas da jabuticaba, que são consideradas como um resíduo, visando o desenvolvimento de ingredientes funcionais de alto valor agregado para suplementos alimentares, nutracêuticos e/ou alimentos funcionais. A suplementação da dieta com esses compostos poderá ainda impactar no risco de desenvolvimento do DM e também auxiliar em maior controle das complicações relacionadas a essa doença. Os resultados obtidos são uma primeira abordagem para entender o potencial dos extratos da casca de jabuticaba no manejo do DM e os efeitos induzidos pela digestão gastrointestinal nas propriedades bioativas e no perfil fenólico. No entanto, estudos adicionais *in vivo* são necessários para compreender completamente os efeitos à saúde, estabilidade e biodisponibilidade dos compostos fenólicos da casca de jabuticaba.

7. REFERÊNCIAS

ACERO, N. et al. Comparison of phenolic compounds profile and antioxidant properties of different sweet cherry (*Prunus avium* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 279, p. 260–271, 2019.

ADISAKWATTANA, S. et al. Inhibitory activity of cyanidin-3-rutinoside on α -glucosidase. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 4, p. 313–316, 2004.

ADISAKWATTANA, S. et al. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α -glucosidase. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 1194–1200, 2009.

ADISAKWATTANA, S.; CHAROENLERTKUL, P.; YIBCHOK-ANUN, S. α -Glucosidase inhibitory activity of cyanidin-3-galactoside and synergistic effect with acarbose. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 65–69, 2009.

AGUILAR, T. A. F.; NAVARRO, B. C. H.; PÉREZ, J. A. M. Endogenous Antioxidants: A Review of their Role in Oxidative Stress. In: MORALES-GONZALEZ, A. (Ed.). **A Master Regulator of Oxidative Stress - The Transcription Factor Nrf2**. [s.l.] IntechOpen, 2016. p. 3–20.

AHR, H. J. et al. Pharmacokinetics of Acarbose. Part II: Distribution to and elimination from tissues and organs following single or repeated administration of Acarbose to rats and dogs. **Arzneim Forsch**, v. 39, p. 1261–1267, 1989.

AKKARACHIYASIT, S. et al. Inhibitory activities of cyanidin and its glycosides and synergistic effect with acarbose against intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 9, p. 3387–3396, 2010.

AKKARACHIYASIT, S. et al. *In vitro* inhibitory effects of cyanidin-3-rutinoside on pancreatic α -amylase and its combined effect with acarbose. **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2075–2083, 2011.

AL-OMAR, M. A. et al. Safety and Mechanism of Action of Orlistat (Tetrahydrolipstatin) as the First Local Antiobesity Drug. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 2, n. 4, p. 205–208, 2006.

ALBUQUERQUE, B. R. et al. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 309, p. 1–8, 2020.

ALEZANDRO, M. R. et al. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora*. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468–477, 2013.

ALEZANDRO, M. R.; GRANATO, D.; GENOVESE, M. I. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 650–659, 2013.

ALLEN, R. G.; TRESINI, M. Oxidative stress and gene regulation. **Free Radical Biology and**

Medicine, v. 28, n. 3, p. 463–499, 2000.

ALMINGER, M. et al. *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 413–436, 2014.

ALVES, C. C. DE O. et al. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenóides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 830–839, 2008.

ANDERSEN, Ø. M.; JORDHEIM, M. Basic Anthocyanin Chemistry and Dietary Source. In: WALLACE, T. C.; GIUSTI, M. M. (Eds.). **Anthocyanins in Health and Disease**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2013. p. 368.

ARAKAWA, K. et al. Biosynthetic studies on the α -glucosidase inhibitor acarbose: The chemical synthesis of isotopically labeled 2-epi-5-epi-valiolone analogs. **Carbohydrate Research**, v. 338, n. 20, p. 2075–2082, 2003.

ARASTEH, A. et al. Glycated albumin: An overview of the *In vitro* models of an *In vivo* potential disease marker. **Journal of Diabetes and Metabolic Disorders**, v. 13, n. 1, p. 1–9, 2014.

ARMAND, M. Lipases and lipolysis in the human digestive tract: Where do we stand? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 10, n. 2, p. 156–164, 2007.

ASSIS, P. M. DE et al. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: toxicological assays, biological activities, and elemental analysis of organic compounds. **Natural Product Research**, p. 1–5, 2019.

ATANASOV, A. G. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 8, p. 1582–1614, 2015.

BABU, P. V. A.; LIU, D.; GILBERT, E. R. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 11, p. 1777–1789, 2013.

BALLINGER, A.; PEIKIN, S. R. Orlistat: Its current status as an anti-obesity drug. **European Journal of Pharmacology**, v. 440, n. 2–3, p. 109–117, 2002.

BARAK, T. H. et al. Influence of *in vitro* human digestion on the bioavailability of phenolic content and antioxidant activity of *Viburnum opulus* L. (European cranberry) fruit extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 62–69, 2019.

BARBOSA, J. H. P. et al. A determinação dos produtos avançados de glicação (AGEs) e de lipoxidação (ALEs) em alimentos e em sistemas biológicos: avanços, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 39, n. 5, p. 608–620, 2016.

BARBOSA, J. H. P.; DE OLIVEIRA, S. L.; SEARA, L. T. E. Dietetics advanced glycation end-products and chronic complications of diabetes. **Revista de Nutricao**, v. 22, n. 1, p. 113–124, 2009.

BARIK, S. K. et al. The anthocyanins in black currants regulate postprandial hyperglycaemia primarily by inhibiting α -glucosidase while other phenolics modulate salivary α -amylase, glucose uptake and sugar transporters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 78, p. 1–12, 2020.

BATISTA, Â. G. et al. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, v. 6, n. 1, p. 450–461, 2014.

BERG, J. M.; STRYER, L.; TYMOCZKO, J. L. **Bioquímica**. 7. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

BIRARI, R. B. et al. Antiobesity and lipid lowering effects of Glycyrrhiza chalcones: Experimental and computational studies. **Phytomedicine**, v. 18, n. 8–9, p. 795–801, 2011.

BIRARI, R. B.; BHUTANI, K. K. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 19–20, p. 879–889, 2007.

BŁASZCZAK, W.; JEŹ, M.; SZWENGIEL, A. Polyphenols and inhibitory effects of crude and purified extracts from tomato varieties on the formation of advanced glycation end products and the activity of angiotensin-converting and acetylcholinesterase enzymes. **Food Chemistry**, v. 314, p. 1–10, 2020.

BOATH, A. S.; STEWART, D.; MCDUGALL, G. J. Berry components inhibit α -glucosidase *in vitro*: Synergies between acarbose and polyphenols from black currant and rowanberry. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 929–936, 2012.

BOROSKI, M. et al. **Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticos**. 1. ed. [s.l.] Appris, 2015.

BOWERS, S. G.; MAHMUD, T.; FLOSS, H. G. Biosynthetic studies on the α -glucosidase inhibitor acarbose: The chemical synthesis of dTDP-4-amino-4,6-dideoxy- α -D-glucose. **Carbohydrate Research**, v. 337, n. 4, p. 297–304, 2002.

BROOKS, H. B. et al. Basics of Enzymatic Assays for HTS. In: BROOKS, H. B. et al. (Eds.). **Assay Guidance Manual**. [s.l.] Bethesda, 2012. p. 1–12.

BRUTTI, B. et al. Diabete Mellitus: definição, diagnóstico, tratamento e mortalidade no Brasil, Rio Grande do Sul e Santa Maria, no período de 2010 a 2014. **Brazilian Journal of health Review**, v. 2, n. 4, p. 3174–3182, 2019.

BURGOS-EDWARDS, A. et al. Qualitative and quantitative changes in polyphenol composition and bioactivity of *Ribes magellanicum* and *R. punctatum* after *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 237, p. 1073–1082, 2017.

BURGOS-MORÓN et al. Relationship Between Oxidative Stress, ER Stress, and Inflammation in Type 2 Diabetes: The Battle Continues. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 9, p. 1385, 2019.

BURLINGHAM, B. T.; WIDLANSKI, T. S. Concepts in Biochemistry An Intuitive Look at the Relationship of K_i and IC_{50} : A More General Use for the Dixon Plot. **Journal of Chemical**

Education, v. 80, n. 2, p. 214–218, 2003.

CASTRO-ACOSTA, M. L. et al. Berries and anthocyanins: Promising functional food ingredients with postprandial glycaemia-lowering effects. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, n. 3, p. 342–355, 2016.

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems — An overview. **Food Research International**, v. 44, p. 499–509, 2011.

CHAUDHURY, A.; MIRZA, W. Clinical Review of Antidiabetic Drugs : Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. **Frontiers in Endocrinology**, v. 8, p. 1–12, 2017.

CHEN, G.; GUO, M. Rapid screening for α -glucosidase inhibitors from *Gymnema sylvestre* by affinity ultrafiltration-hplc-ms. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 1–8, 2017.

CHEN, J. GUANG et al. α -Glucosidase inhibitory effect of anthocyanins from *Cinnamomum camphora* fruit: Inhibition kinetics and mechanistic insights through *in vitro* and *in silico* studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 143, p. 696–703, 2020.

CHEN, L. et al. A review on advanced microencapsulation technology to enhance bioavailability of phenolic compounds : Based on its activity in the treatment of Type 2 Diabetes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 85, p. 149–162, 2019a.

CHEN, X. Y. et al. Anthocyanins in blackcurrant effectively prevent the formation of advanced glycation end products by trapping methylglyoxal. **Journal of Functional Foods**, v. 8, n. 1, p. 259–268, 2014.

CHEN, Y. et al. Bioaccessibility and biotransformation of anthocyanin monomer following *in vitro* simulated gastric-intestinal digestion and *in vivo* metabolism in rats. **Food & Function**, v. 10, p. 6052–6061, 2019b.

CHENG, A. Y. Y.; JOSSE, R. G. Intestinal absorption inhibitors for type 2 diabetes mellitus: Prevention and treatment. **Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies**, v. 1, n. 2, p. 201–206, 2004.

CHINCHANSURE, A. A. et al. Recent development of plant products with anti-glycation activity: A review. **RSC Advances**, v. 5, p. 31113–31138, 2015.

CHITTURI, S.; GEORGE, J. Hepatotoxicity of commonly used drugs: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antihypertensives, antidiabetic agents, anticonvulsants, lipid-lowering agents, psychotropic drugs. **Seminars in Liver Disease**, v. 22, n. 2, p. 169–183, 2002.

CHUN, O. K.; KIM, D. O.; LEE, C. Y. Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 27, p. 8067–8072, 2003.

CHUNG, C. et al. Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. **Food Research International**, v. 76, p. 761–768, 2015.

CITADIM, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 656, 2010.

CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. JABUTICABA TREES (*Plinia* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 343–356, 2010.

DANGLES, O. The Chemical Reactivity of Anthocyanins and its Consequences in Food Science and Nutrition. **Molecules**, v. 23, p. 1–23, 2018.

DAVID, L. et al. Effects of *In vitro* Gastrointestinal Digestion on the Antioxidant Capacity and Anthocyanin Content of Cornelian Cherry Fruit Extract. **Antioxidants**, v. 8, n. 114, p. 1–9, 2019.

DE GOUVEIA, N. M. et al. *Pouteria ramiflora* extract inhibits salivary amylolytic activity and decreases glycemic level in mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 85, n. 3, p. 1141–1148, 2013.

DE LA GARZA, A. L. et al. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. **Planta Med**, v. 77, n. 8, p. 773–785, 2011.

DE LA ROSA, L. A. et al. **Phenolic compounds**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.

DE SALES, P. M. et al. α -amylase inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 15, n. 1, p. 141–183, 2012.

DE SOUZA, E. L. et al. Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities—A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 10, p. 1645–1659, 2019.

DEL RIO, D. et al. Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818–1892, 2013.

DHANANJAYAN, K.; FORBES, J.; MÜNCH, G. Advanced Glycation, Diabetes, and Dementia. In: **Type 2 Diabetes and Dementia**. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. p. 169–193.

DIXON, R. A.; LIU, C.; JUN, J. H. Metabolic engineering of anthocyanins and condensed tannins in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 329–335, 2013.

DRAGANO, N. R. V. et al. Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 3, p. 447–455, 2013.

EL ABED, H. et al. Extraction optimization and *in vitro* and *in vivo* anti-postprandial hyperglycemia effects of inhibitor from *Phoenix dactylifera* L. parthenocarpic fruit. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 88, p. 835–843, 2017.

ETXEBERRIA, U. et al. Antidiabetic effects of natural. **Expert Opin**, v. 16, n. 3, p. 269–297, 2012.

FAKHRUDDIN, S.; ALANAZI, W.; JACKSON, K. E. Diabetes-Induced reactive oxygen species: Mechanism of their generation and role in renal injury. **Journal of Diabetes Research**, p. 1–30, 2017.

FERNANDES, I. et al. Antioxidant and antiproliferative properties of methylated metabolites of anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2923–2933, 2013.

FIDELIS, M. et al. Camu-camu seed (*Myrciaria dubia*) – From side stream to an antioxidant, antihyperglycemic, antiproliferative, antimicrobial, antihemolytic, anti-inflammatory, and antihypertensive ingredient. **Food Chemistry**, v. 310, p. 1–14, 2020.

FIGUEIRA, A. L. G. et al. Educational interventions for knowledge on the disease, treatment adherence and control of diabetes mellitus. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 25, p. 1–8, 2017.

FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M. et al. α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from *Myrcia* spp.: A stronger alternative to acarbose?. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 322–327, 2016.

FRANCIS, F. J.; MARKAKIS, P. C. Food colorants : Anthocyanins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273–214, 1989.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for Anthocyanins. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 1, p. 72–77, 1968.

FURMAN, B. L. Acarbose, Reference Module in Biomedical Sciences. **Reference Module in Biomedical Sciences**, n. 18, p. 1–2, 2017.

GADDE, K. M.; APOLZAN, J. W.; BERTHOUD, H. R. Pharmacotherapy for patients with obesity. **Clinical Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 118–129, 2018.

GIOXARI, A. et al. **Phenolic Compounds: Bioavailability and Health Effects**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2015.

GONÇALVES, A. C. et al. Sweet cherries from Fundão possess antidiabetic potential and protect human erythrocytes against oxidative damage. **Food Research International**, v. 95, p. 91–100, 2017.

GONÇALVES, A. C. et al. Sweet Cherry Phenolic Compounds: Identification, Characterization, and Health Benefits. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.). **Studies in Natural Products Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2018, v. 59, p. 31–78.

GOWD, V.; JIA, Z.; CHEN, W. Anthocyanins as promising molecules and dietary bioactive components against diabetes – A review of recent advances. **Trends in Food Science and Technology**, v. 68, p. 1–13, 2017.

GUDER, A. Influence of Total Anthocyanins from Bitter Melon (*Momordica charantia* Linn.) as Antidiabetics and Radical Scavenging Agents. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 301–309, 2016.

GUERRA, A. et al. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 11, p. 591–600, 2012.

GUO, H. et al. Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 4, p. 349–360, 2012.

GUO, H.; XIA, M. Anthocyanins and Diabetes Regulation. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R.; ZIBADI, S. (Eds.). **Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease**. 2. ed. [s.l.] Academic Press, 2018. p. 135–145.

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P. et al. Effect of *In vitro* Digestion on the Total Antioxidant Capacity and Phenolic Content of 3 Species of Oregano (*Hedeoma patens*, *Lippia graveolens*, *Lippia palmeri*). **Journal of Food Science**, v. 82, n. 12, p. 2832–2839, 2017.

HALIM, M.; HALIM, A. The effects of inflammation, aging and oxidative stress on the pathogenesis of diabetes mellitus (type 2 diabetes). **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 2, p. 1165–1172, 2019.

HARRIS, C. S. et al. Investigating wild berries as a dietary approach to reducing the formation of advanced glycation end products: Chemical correlates of *in vitro* antiglycation activity. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 1, p. 71–77, 2014.

HEMLATA, B. et al. *In vitro* anti-amylase activity of some Indian dietary spices. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 7, n. 4, p. 70–74, 2019.

HERMAN, B. E. et al. Steroidal ferrocenes as potential enzyme inhibitors of the estrogen biosynthesis. **Biologia Futura**, v. 71, n. 3, p. 249–264, 2020.

HOMOKI, J. R. et al. Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). **Food Chemistry**, v. 194, p. 222–229, 2016.

HSIAO, S. H. et al. Hepatotoxicity associated with acarbose therapy. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 40, n. 1, p. 151–154, 2006.

HUANG, Y. J.; NAN, G. X. Oxidative stress-induced angiogenesis. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 63, p. 13–16, 2019.

HUR, S. J. et al. *In vitro* human digestion models for food applications. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 1–12, 2011.

IACOBUCCI, G. A.; SWEENEY, J. G. The Chemistry of anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. **Tetrahedron**, v. 39, p. 3005–3038, 1983.

IDF. Global Guideline for Type 2 Diabetes Older people. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 104, p. 1–52, 2014.

IGHODARO, O. M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 108, p. 656–662, 2018.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422–433, 2015.

INADA, K. O. P. et al. Bioaccessibility of phenolic compounds of jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) peel and seed after simulated gastrointestinal digestion and gut microbiota fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 1–10, 2020.

ISLAM, M. N. et al. Vicenin 2 isolated from *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 69, p. 55–62, 2014.

JACOB, S. et al. Orlistat 120 mg improves glycaemic control in type 2 diabetic patients with or without concurrent weight loss. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 11, n. 4, p. 361–371, 2009.

JUD, P.; SOURIJ, H. Therapeutic options to reduce advanced glycation end products in patients with diabetes mellitus: A review. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 148, p. 54–63, 2019.

KANG, J. G.; PARK, C. Y. Anti-obesity drugs: A review about their effects and safety. **Diabetes and Metabolism Journal**, v. 36, n. 1, p. 13–25, 2012.

KAY, C. D. Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. **Nutrition Research Reviews**, v. 19, p. 137–146, 2006.

KHOO, H. E. et al. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food and Nutrition Research**, v. 61, n. 1, p. 1–21, 2017.

KIM, D. O. et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3713–3717, 2002.

KIRAKOSYAN, A. et al. The inhibitory potential of Montmorency tart cherry on key enzymes relevant to type 2 diabetes and cardiovascular disease. **Food Chemistry**, v. 252, p. 142–146, 2018.

KLOWDEN, M. J. **Physiological Systems in Insects**. 2. ed. Estados Unidos: Academic Press, 2008.

KOMATSU, M. et al. Glucose-stimulated insulin secretion: A newer perspective. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 2, p. 1–6, 2013.

KORIFI, R. et al. CIEL*a*b* color space predictive models for colorimetry devices – Analysis of perfume quality. **Talanta**, v. 104, p. 58–66, 2013.

KUMAR, Y. et al. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796–812, 2015.

KUMAR, Y.; GOYAL, R.; THAKUR, A. Pharmacotherapeutics of miglitol: an α -glucosidase inhibitor. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 6, p. 617–619, 2018.

KUO, C. et al. Antioxidant and antiglycation properties of different solvent extracts from Chinese olive (*Canarium album* L.) fruit. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 8, n. 12, p. 1013–1021, 2015.

LAMMERT, E.; ZEEB, M. **Metabolism of Human Diseases**. 1. ed. [s.l.] Springer International Publishing, 2014.

LAU, D. C. W.; TEOH, H. Current and Emerging Pharmacotherapies for Weight Management in Prediabetes and Diabetes. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 39, n. 5, p. 134–141, 2015.

LEE, B.-H. et al. Inhibition of Maltase-Glucoamylase Activity to Hydrolyze α -1,4 Linkages by the Presence of Undigested Sucrose. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 55, p. 45–47, 2012.

LEE, J. S. et al. Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry fruits protects pancreatic β -cells against glucotoxicity-induced apoptosis. **Molecular Medicine Reports**, v. 11, n. 4, p. 2723–2728, 2015.

LEITE-LEGATTI, A. V. et al. Jaboticaba peel : Antioxidant compounds , antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, p. 596–603, 2012.

LHYONE-MYONG, E. Enzymes and Nucleic Acids. In: LHYONE-MYONG, E. (Ed.). . **Enzymology Primer for Recombinant DNA Technology**. 1. ed. [s.l.] Academic Press, 1996. p. 1–108.

LIANG, L. et al. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) following simulated gastro-intestinal digestion. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 76–82, 2012.

LIMA, A. DE J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jaboticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 877–887, 2011.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. D. A.; GUERRA, N. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, p. 51–55, 2007.

LIU, J. et al. Anthocyanins-rich extract of wild Chinese blueberry protects glucolipotoxicity-induced INS832/13 β -cell against dysfunction and death. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 5, p. 3022–3029, 2015.

LIU, Y. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity in red- and in green-fleshed kiwifruits. **Food Research International**, v. 116, p. 291–301, 2019.

LUCAS, K. H.; KAPLAN-MACHLIS, B. Orlistat - A novel weight loss therapy. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 35, n. 3, p. 314–328, 2001.

LUEVANO-CONTRERAS, C.; CHAPMAN-NOVAKOFSKI, K. Dietary advanced glycation end products and aging. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1247–1265, 2010.

MAHAT, R. K. et al. Health risks and interventions in prediabetes: A review. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, v. 13, n. 4, p. 2803–2811, 2019.

MALUNGA, L. N.; ECK, P.; BETA, T. Inhibition of Intestinal Glucosidase and Glucose Absorption by Feruloylated Arabinoxylan Mono- and Oligosaccharides from Corn Bran and Wheat Aleurone. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2016, p. 1–10, 2016.

MARQUES, T. R. et al. Jabuticaba (*Plinia jaborcoba*) skin extracts as inhibitors of phospholipases a2 and proteases. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 2, 2019.

MEIERING, S. et al. Inhibitors of Trypanosoma cruzi Trypanothione Reductase revealed by virtual screening and parallel synthesis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 15, p. 4793–4802, 2005.

MEIRA, N. D. A. N.; PEREIRA, N. D. P. Flavonóides e Antocianinas em Myrciaria Cauliflora (Jabuticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, p. 50–65, 2017.

MELO, J. B. **Correlação do efeito antiglicante e capacidade antioxidante de compostos fenólicos in vitro**. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2018.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; DE CASTRO, H. F. Properties and biotechnological applications of porcine pancreatic lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 78, p. 119–134, 2012.

MINATEL, I. O. et al. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. In: SOTO-HERNÁNDEZ, M.; PALMA-TENANGO, M.; GARCÍA-MATEOS, R. (Eds.). **Phenolic Compounds - Biological Activity**. [s.l.] IntechOpen, 2017. p. 1–24.

MINEKUS, M. et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. **Food and Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

MIRABELLA, N.; CASTELLANI, V.; SALA, S. Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 65, p. 28–41, 2014.

NAM HAN, C. et al. **IDF Diabetes Atlas**. 8. ed. [s.l.: s.n.].

NAVEEN, J.; BASKARAN, V. Antidiabetic plant-derived nutraceuticals: a critical review. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 4, p. 1275–1299, 2017.

NEDIĆ, O. et al. Molecular effects of advanced glycation end products on cell signalling pathways, ageing and pathophysiology. **Free Radical Research**, v. 47, p. 28–38, 2013.

NEHA, K. et al. Medicinal prospects of antioxidants: A review. **European Journal of**

Medicinal Chemistry, v. 178, p. 687–704, 2019.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 5. ed. New York: W.H. Freeman, 2008.

NEVES, N. DE A. et al. Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jaboticaba (*Plinia* spp.) identified by HPLC-DAD-ESI/MSn. **Food Chemistry**, v. 252, p. 61–71, 2018.

NORATTO, G. D. et al. Anticarcinogenic effects of polyphenolics from mango (*Mangifera indica*) varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4104–4112, 2010.

NOWICKA, A. et al. Comparison of polyphenol content and antioxidant capacity of strawberry fruit from 90 cultivars of *Fragaria* × *ananassa* Duch. **Food Chemistry**, v. 270, p. 32–46, 2019.

NUNES, J. S. et al. Obtenção e caracterização físico-química de polpa de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) congelada Collection and physico-chemical characterization of pulp blemish (*Myrciaria cauliflora* Berg) frozen. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n.1, p. 234–237, 2014.

NYAMBE-SILAVWE, H.; WILLIAMSON, G. Chlorogenic and phenolic acids are only very weak inhibitors of human salivary α -amylase and rat intestinal maltase activities. **Food Research International**, v. 113, p. 452–455, 2018.

OGUNTIBEJU, O. O. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 11, n. 3, p. 45–63, 2019.

OHANNA, K. et al. Bioaccessibility of phenolic compounds of jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) peel and seed after simulated gastrointestinal digestion and gut microbiota fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 1–10, 2020.

OMS. **Diabetes**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1>. Acesso em: 24 jul. 2019.

ORTEGA-VIDAL, J. et al. Phenolic profile and antioxidant activity of *Jasonia glutinosa* herbal tea. Influence of simulated gastrointestinal *in vitro* digestion. **Food Chemistry**, v. 287, p. 258–264, 2019.

OTT, C. et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. **Redox Biology**, v. 2, n. 1, p. 411–429, 2014.

PATARROYO-VARGAS, A. M. et al. Inhibition kinetics of digestive proteases for *Anticarsia gemmatalis*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 1, p. 1–12, 2020.

PENG, X. et al. Naturally occurring inhibitors against the formation of advanced glycation. **Food & Function**, v. 2, p. 289–301, 2011.

PEREIRA, C. A. et al. Inibição de enzimas digestivas por extratos de pó comercial de Hoodia

gordonii utilizado no tratamento da obesidade. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 3, p. 265–269, 2011.

PINTO, J. et al. Polyphenolic profile and antioxidant activities of Madeiran elderberry (*Sambucus lanceolata*) as affected by simulated *in vitro* digestion. **Food Research International**, v. 100, p. 404–410, 2017.

PLAZA, M. et al. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. **Food Chemistry**, v. 211, p. 185–197, 2016.

PODSĘDEK, A. et al. Matrix effects on the stability and antioxidant activity of red cabbage anthocyanins under simulated gastrointestinal digestion. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

POPOVIĆ, B. M. et al. Comparison between polyphenol profile and bioactive response in blackthorn (*Prunus spinosa* L.) genotypes from north Serbia-from raw data to PCA analysis. **Food Chemistry**, v. 302, p. 1–10, 2020.

PRATTICCHIZZO, F. et al. Short-term sustained hyperglycaemia fosters an archetypal senescence-associated secretory phenotype in endothelial cells and macrophages. **Redox Biology**, v. 15, p. 170–181, 2018.

PRIOR, R. L.; WU, X. Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. **Free Radical Research**, v. 40, n. 10, p. 1014–1028, 2006.

RADOMSKA-LEŚNIEWSKA, D. M.; BAŁAN, B. J.; SKOPIŃSKI, P. Angiogenesis modulation by exogenous antioxidants Dorota. **Central European Journal of Immunology** 2017, v. 42, n. 4, p. 370–376, 2017.

RAHIM, A. T. M. A.; TAKAHASHI, Y.; YAMAKI, K. Mode of pancreatic lipase inhibition activity *in vitro* by some flavonoids and non-flavonoid polyphenols. **Food Research International**, v. 75, p. 289–294, 2015.

RASHEED, D. M. et al. Comparative analysis of *Hibiscus sabdariffa* (roselle) hot and cold extracts in respect to their potential for α -glucosidase inhibition. **Food Chemistry**, v. 250, p. 236–244, 2018.

RATNADEWI, A. A. I. et al. Revealing anti-diabetic potency of medicinal plants of Meru Betiri National Park, Jember – Indonesia. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 1831–1836, 2018.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REIN, M. J. et al. Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 588–602, 2013.

RHEE, S. Y.; KIM, Y. S. The role of advanced glycation end products in diabetic vascular complications. **Diabetes and Metabolism Journal**, v. 42, n. 3, p. 188–195, 2018.

- ROCHA, J. DE C. G. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from jussara (*Euterpe edulis* M.) and blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruits. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 45–53, 2018.
- ROCHETTE, L. et al. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1840, n. 9, p. 2709–2729, 2014.
- RÖDER, P. V et al. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, p. 1–19, 2016.
- RODRIGUES, E. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of blueberry cultivars grown in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 4, p. 911–917, 2011.
- RODRIGUES, S. et al. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jaboticaba peel. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 400–407, 2015.
- RODRIGUEZ-SAONA, L.; WROLSTAD, R. The extraction, isolation and purification of an endogenous regulator for the 5-HT₂ receptor. **Pharmacological Research**, v. 64, n. 4, p. 312–313, 2011.
- ROSAK, C.; MERTES, G. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes : patient considerations. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 5, p. 357–367, 2012.
- RYU, D.; KOH, E. Stability of anthocyanins in bokbunja (*Rubus occidentalis* L.) under *in vitro* gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 267, p. 157–162, 2018.
- SANCHO, R. A. S.; PASTORE, G. M. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 378–386, 2012.
- SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 1, p. 23–31, 2010.
- SCALBERT, A. et al. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 4, p. 287–306, 2005.
- SCHREML, S. et al. Oxygen in acute and chronic wound healing. **British Journal of Dermatology**, v. 163, n. 2, p. 257–268, 2010.
- SCHULZ, M. et al. Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. **Food Research International**, v. 122, p. 627–634, 2019.
- SÉRO, L. et al. Tuning a 96-well microtiter plate fluorescence-based assay to identify AGE inhibitors in crude plant extracts. **Molecules**, v. 18, n. 11, p. 14320–14339, 2013.
- SHENOY, S.; SEIXAS, A.; GRANDNER, M. A. Diabetes and metabolic syndrome. In: SAVARD, J.; OUELLET, M. -CHRISTINE (Eds.). **Handbook of Sleep Disorders in Medical Conditions**. [s.l.] Academic Press, 2019. p. 153–176.

- SHINDE, J. et al. α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel *in vitro* and in Goto-Kakizaki (GK) rats. **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 7, p. 1278–1281, 2008.
- SILVA, C. P. et al. Polyphenols from guaraná after *in vitro* digestion: Evaluation of bioaccessibility and inhibition of activity of carbohydrate-hydrolyzing enzymes. **Food Chemistry**, v. 267, p. 405–409, 2018.
- SIMÓ-SERVAT, O. et al. Assessment of advanced glycation end-products as a biomarker of diabetic outcomes. **Endocrinología, Diabetes y Nutrición**, v. 65, n. 9, p. 540–545, 2018.
- SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC, 2004.
- SINGH, G. et al. Lipase inhibitors from plants and their medical applications. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, p. 1–5, 2015.
- SINGH, R. et al. Advanced glycation end-products: A review. **Diabetologia**, v. 44, n. 2, p. 129–146, 2001.
- SINGH, V. P. et al. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. **Korean J Physiol Pharmacol**, v. 18, p. 1–14, 2014.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of Total Phenolics with Phosmolybdicphosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.
- SIPAHLI, S.; MOHANLALL, V.; MELLEM, J. J. Stability and degradation kinetics of crude anthocyanin extracts from *H. sabdariffa*. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 209–215, 2017.
- SMERIGLIO, A. et al. Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. **Phytotherapy Research**, p. 1265–1286, 2016.
- SOETHE, C. et al. Qualidade, compostos fenólicos e atividade antioxidante de amoras-pretas “Tupy” e “Guarani” armazenadas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 51, n. 8, p. 950–957, 2016.
- SOMPONG, W.; ADISAKWATTANA, S. Inhibitory effect of herbal medicines and their trapping abilities against methylglyoxal-derived advanced glycation end-products. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, p. 1–8, 2015.
- SOSNOWSKA, D. et al. Inhibitory effect of black chokeberry fruit polyphenols on pancreatic lipase – Searching for most active inhibitors. **Journal of Functional Foods**, v. 49, p. 196–204, 2018.
- SPÍNOLA, V. et al. Changes in the phenolic compositions of *Elaeagnus umbellata* and *Sambucus lanceolata* after *in vitro* gastrointestinal digestion and evaluation of their potential anti-diabetic properties. **Food Research International**, v. 122, p. 283–294, 2019.

SPÍNOLA, V.; LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; CASTILHO, P. C. Polyphenols of *Myrica faya* inhibit key enzymes linked to type II diabetes and obesity and formation of advanced glycation end-products (*in vitro*): Potential role in the prevention of diabetic complications. **Food Research International**, v. 116, p. 1229–1238, 2019.

SPÍNOLA, V.; LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; CASTILHO, P. C. Inhibition of α -amylase, α -glucosidase and pancreatic lipase by phenolic compounds of *Rumex maderensis* (Madeira sorrel). Influence of simulated gastrointestinal digestion on hyperglycaemia-related damage linked with aldose reductase activity and prot. **LWT - Food Science and Technology**, v. 118, p. 1–6, 2020.

SPÍNOLA, V.; PINTO, J.; CASTILHO, P. C. Hypoglycemic, anti-glycation and antioxidant *in vitro* properties of two *Vaccinium* species from Macaronesia: A relation to their phenolic composition. **Journal of Functional Foods**, v. 40, p. 595–605, 2018.

SREERAMA, Y. N.; TAKAHASHI, Y.; YAMAKI, K. Phenolic Antioxidants in Some Vigna Species of Legumes and their Distinct Inhibitory Effects on α -Glucosidase and Pancreatic Lipase Activities. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 9, p. 1–7, 2012.

STEVENS, J. W. et al. Preventing the progression to Type 2 diabetes mellitus in adults at high risk: A systematic review and network meta-analysis of lifestyle, pharmacological and surgical interventions. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 107, n. 3, p. 320–331, 2015.

SU, C. H.; LAI, M. N.; NG, L. T. Inhibitory effects of medicinal mushrooms on α -amylase and α -glucosidase – enzymes related to hyperglycemia. **Food and Function**, v. 4, n. 4, p. 644–649, 2013.

SUGIYAMA, H. et al. Oligomeric procyanidins in apple polyphenol are main active components for inhibition of pancreatic lipase and triglyceride absorption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 4604–4609, 2007.

SUI, X.; ZHANG, Y.; ZHOU, W. *In vitro* and *in silico* studies of the inhibition activity of anthocyanins against porcine pancreatic α -amylase. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 50–57, 2016.

SUN, L. et al. 3 or 3' -Galloyl substitution plays an important role in association of catechins and theaflavins with porcine pancreatic α -amylase: The kinetics of inhibition of α -amylase by tea polyphenols. **Journal of Functional Foods**, v. 26, p. 144–156, 2016.

SZAPACS, M. E. et al. Covalent adduction of human serum albumin by 4-hydroxy-2-nonenal: Kinetic analysis of competing alkylation reactions. **Biochemistry**, v. 45, n. 35, p. 10521–10528, 2006.

TABREZ, S.; AL-SHALI, K. Z.; AHMAD, S. Lycopene powers the inhibition of glycation-induced diabetic nephropathy: A novel approach to halt the AGE-RAGE axis menace. **BioFactors**, v. 41, n. 5, p. 372–381, 2015.

TAN, Y.; CHANG, S. K. C.; ZHANG, Y. Comparison of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera. **Food Chemistry**, v. 214, p. 259–268, 2017.

THOMAS-VALDÉS, S. et al. Effect of simulated gastrointestinal digestion on polyphenols and bioactivity of the native Chilean red strawberry (*Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. *patagonica*). **Food Research International**, v. 123, p. 106–114, 2019.

TORGERSON, J. et al. Xenical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study. **Diabetes care**, v. 27, n. 1, p. 155–161, 2004.

TORRES, N. M. P. D. O.; XAVIER, J. D. A.; GOULART, M. O. F. A Química dos Produtos Finais de Glicação Avançada. **Revista virtual de Química**, v. 10, n. 2, p. 375–392, 2018.

TREVISAN, L. M.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Carbohydrates, organic acids and anthocyanins of *Myrciaria jaboticaba*, Berg. **Journal of Food Science**, v. 37, n. 6, p. 818–819, 1972.

TSUDA, T. Anthocyanins as Functional Food Factors — Chemistry, Nutrition and Health Promotion —. **Food Science and Technology Research**, v. 18, n. 3, p. 315–324, 2012.

VAN DE LAAR, F. A. Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. **Vascular Health and Risk Management**, v. 4, n. 6, p. 1189–1195, 2008.

VIEIRA, L. M. et al. Chromatic analysis for predicting anthocyanin content in fruits and vegetables. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 415–422, 2019.

VIJAYARAJ, P.; NAKAGAWA, H.; YAMAKI, K. Cyanidin and cyanidin-3-glucoside derived from *Vigna unguiculata* act as noncompetitive inhibitors of pancreatic lipase. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, n. 3, p. 1–10, 2019.

VOLPE, C. M. O. et al. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications review-Article. **Cell Death and Disease**, v. 9, p. 1–9, 2018.

WANG, S. et al. How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 14–22, 2011.

WEI, Y. et al. D -ribose in glycation and protein aggregation. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1820, p. 488–494, 2012.

WEINERT, L. S.; CAMARGO, E. G.; SILVEIRO, S. P. Tratamento Medicamentoso da Hiperglicemia no Diabetes Mellitus Tipo 2. **Clinical & Biomedical Research**, v. 30, n. 4, 2015.

WHARTON, S.; SHARMA, A. M.; LAU, D. C. W. Weight Management in Diabetes. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 37, p. 124–129, 2013.

WHITCOMB, D. C.; LOWE, M. E. Human pancreatic digestive enzymes. **Digestive diseases and sciences**, v. 52, n. 1, p. 1–17, 2007.

WICZKOWSKI, W.; TOPOLSKA, J.; HONKE, J. Anthocyanins profile and antioxidant capacity of red cabbages are influenced by genotype and vegetation period. **Journal of Functional Foods**, v. 7, n. 1, p. 201–211, 2014.

WILDING, J. Orlistat: Should we worry about liver inflammation? **BMJ**, v. 346, n. 7906, p. 1–2, 2013.

WOJTUNIK-KULESZA, K.; ONISZCZUK, A.; ONISZCZUK, T. Influence of *In vitro* Digestion on Composition, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Food Polyphenols — A Non-Systematic Review. **Nutrients**, v. 12, p. 1–29, 2020.

WU, C.-H. et al. Inhibition of advanced glycation endproduct formation by foodstuffs. **Food & Function**, v. 2, n. 5, p. 224–234, 2011.

WU, H. et al. Targeting Oxidative Stress in Diabetic Complications: New Insights. **Journal of diabetes research**, p. 1–2, 2018a.

WU, S. B. et al. Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 30, p. 7513–7525, 2012.

WU, S.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Phytochemistry and health-benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 148–159, 2013.

WU, T. et al. Inhibitory effects of sweet cherry anthocyanins on the obesity development in C57BL/6 mice. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 351–359, 2014.

WU, T. et al. Raspberry anthocyanin consumption prevents diet-induced obesity by alleviating oxidative stress and modulating hepatic lipid metabolism. **Food and Function**, v. 9, n. 4, p. 2112–2120, 2018b.

XU, J.; WANG, W.; LI, Y. Dough properties, bread quality, and associated interactions with added phenolic compounds: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 629–639, 2019.

YANOVSKI, S. Z.; YANOVSK, J. A. Obesity. **N Engl J Med**, v. 346, n. 8, p. 591–602, 2002.

YEH, W. et al. Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action : A review of recent findings. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 1, p. 84–92, 2016.

YOU, Q. et al. Inhibitory effects of muscadine anthocyanins on α -glucosidase and pancreatic lipase activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9506–9511, 2011.

YUN, J. W. Possible anti-obesity therapeutics from nature - A review. **Phytochemistry**, v. 71, n. 14–15, p. 1625–1641, 2010.

ZEGHAD, N. et al. Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria. **Heliyon**, v. 5, n. 4, p. 1–19, 2019.

ZEYMER, U. Cardiovascular benefits of acarbose in impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. **International Journal of Cardiology**, v. 107, n. 1, p. 11–20, 2006.

ZHANG, J. et al. Chemical compositions and α -glucosidase inhibitory effects of anthocyanidins

from blueberry, blackcurrant and blue honeysuckle fruits. **Food Chemistry**, v. 299, p. 1–11, 2019.

ZHANG, L. et al. Alpha-glucosidase inhibitors and hepatotoxicity in type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–8, 2016.

ZHAO, C. et al. Impact of *in vitro* simulated digestion on the chemical composition and potential health benefits of *Chaenomeles speciosa* and *Crataegus pinnatifida*. **Food Bioscience**, v. 35, p. 1–9, 2020.