

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos  
Área de Bromatologia

CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE  
FRUTAS NATIVAS BRASILEIRAS E ATIVIDADE  
INIBITÓRIA DAS ENZIMAS DIGESTÓRIAS  $\alpha$ -AMILASE E  
 $\alpha$ -GLICOSIDASE

Jacqueline Navarro

São Paulo  
2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos  
Área de Bromatologia

CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE  
FRUTAS NATIVAS BRASILEIRAS E ATIVIDADE  
INIBITÓRIA DAS ENZIMAS DIGESTÓRIAS  $\alpha$ -AMILASE E  
 $\alpha$ -GLICOSIDASE

Jacqueline Navarro

Versão original

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, na área de concentração de bromatologia.

Orientador Prof<sup>ª</sup>. Dr. Franco Maria Lajolo

São Paulo  
2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

N322 c	Navarro, Jacqueline de Oliveira Sanches Valerio Caracterização de compostos fenólicos de frutas nativas brasileiras e atividade inibitória das enzimas digestórias $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase / Jacqueline de Oliveira Sanches Valerio Navarro. - São Paulo, 2021. 133 p.
	Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Orientador: Lajolo, Franco Maria
	1. Eugenia involucrata. 2. Eugenia pyriformis. 3. Flavonoides. 4. Inibição enzimática. 5. Ancoramento molecular. I. T. II. Lajolo, Franco Maria, orientador.

Jacqueline Navarro

**Caracterização de compostos fenólicos de frutas nativas  
brasileiras e atividade inibitória das enzimas digestórias  $\alpha$ -  
amilase e  $\alpha$ -glicosidase**

Comissão Julgadora da Dissertação para obtenção do Título de  
Mestre

---

Prof. Dr. Franco Maria Lajolo

Orientador

---

1º Examinador

---

2º Examinador

---

3º Examinador

---

4º Examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2021.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu estimado orientador - Dr. Franco Maria Lajolo por sua inestimável supervisão, apoio e tutela durante o curso do meu mestrado. Além disso, gostaria de expressar minha gratidão à Dra. Neuza Hassimotto por seu precioso apoio, que foi realmente influente na definição de meus métodos de experimento e na crítica de meus resultados.

Agradeço também ao Dr. Roberto Parise Filho, por sua orientação na parte do ancoramento molecular sem você não seria possível e ao Dr. Angelo Pedro Jacomino, pela idealização do Projeto Temático e por me proporcionar a experiência em participar de um grupo multidisciplinar.

As integrantes do ‘viver não cabe no lattes’, Alessandra, Aline, Jéssica, Karina, Lara e Sara e aos dois mosqueteiros, Layanne e Lucas por sempre me apoiar e incentivar a continuar meu trabalho. Compartilhamos momentos de alegria, apoio, desespero e angústias, obrigada por tudo! Isto é muito pouco perto do meu sentimento de gratidão por vocês!

Tânia Shiga, sem o seu apoio, eu não sei mesmo se teria conseguido. Obrigado por ter me acompanhado durante todo esse caminho. Agradeço por cada minuto da sua atenção e dedicação! Por me dar várias broncas e por ter me acompanhado tão de perto, hoje posso dizer que somos mais que amigas somos *friends*. Meu coração guarda uma gratidão enorme por tudo o que fez.

À bandeirão da alegria, Ellen, Janayra, Magner, Mayra obrigada por todos os almoços inesquecíveis, sempre vou me lembrar com um grande carinho e felicidade como todos vocês se mostraram disponíveis em me ajudar e me mostrar formas de desestressar.

Dedico essa nova conquista à minha mãe, Marilene e a minha irmã Gabrielle, pelo imensurável carinho, apoio e dedicação, vocês me impulsionaram nos momentos mais conturbados dessa trajetória. Bem como, também a minha família pelo apoio, suporte, paciência e alegrias divididas durante esses três anos de trabalho.

Vinicius Gonçalves, também agradeço a você! Grande incentivador deste projeto e de tantos outros. Obrigada pelo amor, carinho, apoio e por você apenas estar lá e não poderia deixar de citar que também agradeço por não me levar a museus para corrigir a

ortografia aos finais de semana, o trabalho ficou muito melhor, espero que você tenha se divertido fazendo isso como eu me diverti!

Minha gratidão estende-se ao Corpo Docente do Programa Ciência dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, as técnicas Aline, Luciene e Lúcia e aos colegas do laboratório química, bioquímica e biologia molecular de alimentos com que tive contato e com os quais tive a oportunidade de criar uma rede de suporte e risadas.

Agradeço o incentivo do Food Research Center (FORC) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2013/07914-8, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 134141/2018-0 que contribuíram para a realização deste estudo. E por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma a minha formação (pessoal e profissional) e a Deus por todas as oportunidades até o momento.

## RESUMO

NAVARRO, Jacqueline. **Caracterização de compostos fenólicos de frutas nativas brasileiras e atividade inibitória das enzimas digestórias  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase.** 2021. 133 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A biodiversidade brasileira é vasta e promissora, rica em frutas com potencial econômico. Estas, possuem compostos bioativos, como compostos fenólicos que apresentam capacidade antioxidante e têm a propriedade de inibir enzimas chaves para a degradação de carboidratos, tais como a  $\alpha$ -amilase e a  $\alpha$ -glicosidase. Isso as tornam importantes agentes de redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os compostos fenólicos e potencial atividade biológica in vitro de duas frutas nativas brasileiras: a cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.) e a uvaia (*Eugenia pyriformis*). Os frutos foram coletados em 2018 em diferentes regiões dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Foram analisados os pesos médios dos acessos (polpa + casca) e realizadas as análises de açúcares totais, ácido elágico total, antocianinas monoméricas totais (apenas para os frutos vermelhos), fenólicos totais, DPPH e ORAC, ensaios da atividade de inibição de  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase e identificação de flavonoides. Esta última, realizada por LC-qTOF-MS/MS e quantificada por CLAE-DAD. Os estudos de ancoramento molecular permitiram sugerir um modelo de interação com os compostos fenólicos e a  $\alpha$ -amilase. Todos os acessos possuem alto teor de polpa e elevado conteúdo de açúcares solúveis em 100 g b.u. Os acessos CE035 (Salesópolis / SP) e Uvaia Comum (Rio Claro / SP) foram as amostras que apresentaram melhor capacidade antioxidante. Os flavonoides identificados na cereja-do-rio-grande vermelha pertencem às subclasses antocianinas, flavon-3-ol e flavanol; já a cereja-do-rio-grande amarela apresentaram as subclasses flavan-3-ol e flavanol. A uvaia apresentou duas subclasses flavan-3-ol e flavanol. O ácido elágico foi detectado em maior conteúdo em 95% os acessos do que o conteúdo de compostos fenólicos. Os acessos CE057 (Ibitinga / SP) e UV068 (Cabo Verde / MG) foram as amostras mais eficientes em inibir a  $\alpha$ -amilase. O extrato de uvaia que mais inibiu  $\alpha$ -glicosidase foi a de Uvaia Pera (Rio Claro / SP). Diante dos resultados de score do ancoramento molecular, todos os compostos fenólicos obtiveram média de ranqueamento mais significativa do que a acarbose (inibidor de  $\alpha$ -amilase), exceto o dímero de proantocianidina. Desta forma, conclui-se que frutos cereja-do-rio-grande e

uvaia possuem boa capacidade antioxidante e podem ser considerados bons inibidores de  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, os resultados de ancoramento molecular validaram os resultados visualizados nas análises in silico. A proposta é que a sociedade se aproprie desses resultados para obter retorno com o uso e valorização adequados do seu patrimônio genético.

**Palavras-chaves:** *Eugenia involucrata* DC., *Eugenia pyriformis*, ancoramento molecular, biodiversidade, flavonoides



## ABSTRACT

NAVARRO, Jacqueline. **Characterization of phenolic compounds from native Brazilian fruits and inhibitory activity of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase digestive enzymes.** 2021. 133 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

The Brazilian biodiversity is vast and promising, rich in fruits with economic potential. These fruits have bioactive compounds, such as phenolic compounds that have antioxidant capacity and have the property of inhibiting key enzymes for carbohydrate degradation, such as  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. This makes them important agents for reducing the risk of developing non-communicable chronic diseases. The aim of this work was to characterize the phenolic compounds and potential in vitro biological activity of two Brazilian native fruits: cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.) and uvaia (*Eugenia pyriformis*). The fruits were collected in 2018 in different regions of the states of São Paulo and Minas Gerais. The average weights of the accessions (pulp + peel) were analyzed and the analyses of total sugars, total ellagic acid, total monomeric anthocyanins (only for red fruits), total phenolics, DPPH and ORAC,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity assays, and flavonoid identification were performed. The latter, performed by LC-qTOF-MS/MS and quantified by CLAE-DAD. Molecular docking studies allowed suggesting an interaction model with phenolic compounds and  $\alpha$ -amylase. All accessions have high pulp content and high content of soluble sugars in 100 g w.b. The accessions CE035 (Salesópolis / SP) and Uvaia Comum (Rio Claro / SP) were the samples that showed the best antioxidant capacity. The flavonoids identified in the red cereja-do-rio-grande belong to the anthocyanins, flavon-3-ol and flavanol subclasses, while the yellow cereja-do-rio-grande showed the subclasses flavan-3-ol and flavanol. Uvaia presented two subclasses, flavan-3-ol and flavanol. Ellagic acid was detected in higher content in 95% of the accessions than the content of phenolic compounds. The accessions CE057 (Ibitinga / SP) and UV068 (Cabo Verde / MG) were the most efficient samples in inhibiting  $\alpha$ -amylase. The uvaia extract that most inhibited  $\alpha$ -glucosidase was that of Uvaia Pera (Rio Claro / SP). Given the molecular docking score results, all phenolic compounds obtained more significant rank average than acarbose ( $\alpha$ -amylase inhibitor), except proanthocyanidin dimer. Thus, it is concluded that cereja-do-rio-grande and uvaia have good antioxidant capacity and can be considered good inhibitors of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase, the molecular docking

results validated the results visualized in the in silico analyses. The proposal is that society appropriates these results to obtain return with the proper use and valuation of its genetic heritage.

**Key-words:** *Eugenia involucrata* DC., *Eugenia pyriformis*, molecular docking, biodiversity, flavonoids

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Aspecto da árvore de cereja-do-rio-grande (A); Estádios de desenvolvimento das flores (B); Variabilidade no formato (C); Frutos com sintomas de ferrugem (D). .....	17
Figura 2. Aspecto da árvore de uvaia (A); Frutos no galho (B); Uvaia aberta (C). .....	20
Figura 3. Estruturas químicas das principais subclasses de flavonoides.....	23
Figura 4. Substituinte galoila .....	24
Figura 5. Propriedades físico-químicas dos compostos fenólicos baseado na estrutura básica do fenol.....	25
Figura 6. Mecanismos de atividade antioxidante dos compostos fenólicos baseado na estrutura básica do fenol.....	25
Figura 7. Imagem da estrutura cristalográfica da enzima $\alpha$ -amilase em complexo com a acarbose (PDB: 1OSE). Imagem gerada utilizando o programa Mol* .....	39
Figura 8. Conteúdo de antocianina monomérica e fenólicos totais. Capacidade antioxidante analisada pelos métodos DPPH e ORAC de cerejas-do-rio-grande coletadas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG. ....	44
Figura 9. Cromatograma obtido por LC-DAD ( $\lambda=270$ nm) e ( $\lambda=525$ nm) para a cereja-do-rio-grande CE001 (Piracicaba/SP).....	45
Figura 10. Cromatograma obtido por LC-DAD ( $\lambda=270$ nm) para a cereja-do-rio-grande CE057 (Ibitinga/SP).....	46
Figura 11. Conteúdo de elagitaninos de cerejas-do-rio-grande coletadas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.....	49
Figura 12. Atividade de inibição de $\alpha$ -amilase das cerejas-do-rio-grande coletadas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG. ....	49
Figura 13. Gráfico de pontuação 3D entre os CPs selecionados.....	50
Figura 14. Conteúdo de fenólicos totais (FT), capacidade antioxidante (B) analisada pelos métodos DPPH e ORAC de uvaia coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG. ....	53
Figura 15. Cromatograma obtido por LC-DAD ( $\lambda=270$ nm) da uvaia dura.....	54
Figura 16. Conteúdo de elagitaninos de uvaia coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG. ....	59
Figura 17. Atividade de inibição de $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase das uvaia coletadas nas regiões de Rio Claro /SP e Cabo Verde/MG. ....	60
Figura 18. Gráfico de pontuação 2D entre os CPs selecionados .....	61

Figura 19. Análise visual da acarbose cristalografada e reencaixada (estrutura em amarelo) para validação do método. Imagem gerada no software Chimera*. .....	62
Figura 20. Atividade de inibição de $\alpha$ -amilase por padrões comerciais, expresso como IC50. ....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Locais de coleta, nomenclatura dos acessos e coloração dos frutos de cereja do-rio-grande. ....	31
Tabela 2. Locais de coleta, nomenclatura dos acessos e coloração dos frutos de uvaia. ....	31
Tabela 3. Massa média dos frutos inteiros de cereja-do-rio-grande coletados nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis e Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.....	42
Tabela 4. Conteúdo de açúcares solúveis de cerejas-do-rio-grande coletados nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis e Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.....	43
Tabela 5. Espectro de massas de compostos fenólicos obtidos por LC_ESI-qTOF/MS/MS e conteúdo dos compostos fenólicos em cada acesso de cereja-do-rio-grande coletadas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga/SP e Campestre/MG.....	48
Tabela 6. Massa média de uvaia coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG.....	51
Tabela 7. Conteúdo de açúcares solúveis de uvaia coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG. ....	52
Tabela 8. Espectro de massas de compostos fenólicos obtidos por LC_ESI-qTOF/MS/MS e conteúdo dos compostos fenólicos dos acessos de uvaia de Rio Claro/SP.....	57
Tabela 9. Espectro de massas de compostos fenólicos obtidos por LC_ESI-qTOF/MS/MS e conteúdo dos compostos fenólicos dos acessos de uvaia de Cabo Verde/MG.....	58
Tabela 10. Média dos <i>scores</i> de ancoramento e descrição dos aminoácidos que realizam ligação entre o composto fenólico e a enzima IOSE. ....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{M}$	Micromolar
$\mu\text{mol}$	Micromol
AAPH	2,21-azobis (2-metilpropionamidina) dihidrocloro
AG	Ácido Gálico
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjos de Diodos
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
LC-ESI-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometro de Massa com Ionização por Spray Eletrônico
mL	Mililitros
mM	Milimolar
mg	Miligramas
$m/z$	Relação massa-carga íon
NaOH	Hidróxido de Sódio
Nd	Não detectado
$\text{NH}_3$	Amônia
ORAC	Capacidade de Absorção dos Radicais Oxigenados
TR	Tempo de retenção
v/v	Volume/volume
$\lambda$	Lambida

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. COMPOSTOS PRINCIPAIS E ESTRUTURAS BÁSICAS .....	21
1.2. AÇÃO ANTIOXIDANTE .....	24
1.3. AÇÃO INIBIDORA DE AMILASES E GLICOSIDASES.....	26
2. JUSTIFICATIVA .....	28
3. OBJETIVO.....	29
3.1. OBJETIVO GERAL.....	29
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
4. MATERIAL & MÉTODOS .....	30
4.1. MATERIAL.....	30
4.2. MÉTODOS.....	32
4.2.1. Peso do fruto inteiro, peso das sementes e peso da polpa e casca.....	32
4.2.2. Açúcares solúveis .....	32
4.2.3. Extração .....	32
4.2.3.1. Antocianinas monoméricas .....	33
4.2.3.2. Ácido elágico total.....	33
4.2.3.3. Fenólicos totais.....	34
4.2.3.4. Atividade sequestrante do radical DPPH.....	34
4.2.3.5. Capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC).....	35
4.2.3.6. Inibições in vitro.....	35
4.2.3.6.1. Inibição de $\alpha$ -amilase .....	35
4.2.3.6.2. Inibição de $\alpha$ -glicosidase.....	36
4.2.4.1. Extração.....	36
4.2.4.2. Separação em fase sólida (SPE) .....	37
4.2.4.3. Identificação .....	37
4.2.4.4. Quantificação.....	38
4.2.5. Ancoramento molecular.....	38
4.2.5.1. Estrutura das proteínas .....	39
4.2.5.2. Protocolo de ancoramento .....	39
4.2.6. Desenho de estruturas .....	40
4.2.7. Estatística.....	40
5. RESULTADOS .....	42
5.1. CEREJA-DO-RIO-GRANDE .....	42
5.1.1. Características físicas e de açúcares solúveis.....	42
5.1.2. Composição de antocianinas monoméricas e capacidade antioxidante .....	43
5.1.3. Identificação e conteúdo de compostos fenólicos.....	45
5.1.4. Atividade inibitória de $\alpha$ -amilase.....	49
5.1.5. Análise estatística multivariada .....	50
5.2. UVAIA.....	51
5.2.1. Características físicas e açúcares solúveis .....	51
5.2.2. Capacidade antioxidante .....	52
5.2.3. Identificação e conteúdo de compostos fenólicos.....	54
5.1.4. Atividade inibitória de $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase.....	59
5.2.5. Análise estatística multivariada .....	61
5.3. ANCORAMENTO MOLECULAR.....	62
5.3.1. Validação do método .....	62

5.3.2. Ensaio de ancoramento molecular .....	63
5.3.3. Atividade inibitória de $\alpha$ -amilase por padrões comerciais .....	64
6. DISCUSSÃO .....	66
6.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E AÇÚCARES SOLÚVEIS .....	67
6.2. COMPOSIÇÃO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	70
6.3. IDENTIFICAÇÃO E CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS .....	73
6.4. ATIVIDADE INIBITÓRIA .....	75
6.5. ANCORAMENTO MOLECULAR .....	76
7. CONCLUSÃO .....	80
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	81



## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, fonte abundante e praticamente inexplorada de recursos, que oferece oportunidade sem precedentes para descoberta de novos frutos ricos em compostos bioativos. As espécies nativas apresentam elevado potencial nutricional e servem de abrigo e alimento para a avifauna local (INFANTE et al., 2016; CETAP, 2016).

A mata atlântica, presente em 17 estados brasileiros e classificada como o quarto bioma do país em extensão territorial, se caracteriza por um conjunto de dez diferentes formações florestais, criadas ao longo dos anos por alterações em variáveis geofísicas, como latitude e altitude (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2005; CAMPANILI; SCHÄFFER, 2010).

Embora sua presença geográfica seja fragmentada quando comparada com a floresta amazônica, a mata atlântica apresenta maior diversidade biológica por unidade de área. Estima-se que ela possua cerca de 20.000 espécies vegetais, representando, aproximadamente,

33 a 36% das espécies existentes no Brasil, sendo classificada como uma das regiões ecológicas mais ricas do mundo. De espécies vasculares conhecidas, 50% não se encontram em nenhum outro lugar do mundo (CAMPANILI; SCHÄFFER, 2010).

São encontradas, exclusivamente na mata atlântica, 636 espécies de angiospermas, plantas vasculares que apresentam como característica marcante a presença de flores e frutos. Uma das famílias de maior predominância é a Myrtaceae, dos gêneros *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Leptospermum*, *Malaleuca*, *Myrtus*, *Pimenta*, *Plinia*, *Pseuocaryophyllus*, *Psidium* e *Syzygium* (MORAIS et al., 2014; GOVAERTS et al., 2019).

Embora diversas espécies frutíferas da família Myrtaceae sejam conhecidas, como a jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), a pitanga (*Eugenia uniflora*), a goiaba (*Psidium guajava*) e a cabeludinha (*Plinia globerata*), seu plantio em escala comercial ainda é relativamente inexpressivo (MORAIS et al., 2014). Outras espécies de frutos comestíveis desta família são cultivadas e conhecidas apenas em regiões específicas, como, por exemplo, a cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.) e a uvaia (*Eugenia pyriformis*).

A espécie *Eugenia involucrata* DC., mais comumente conhecida por cereja-do-rio-grande, também é chamada de cerejeira, cerejeira-do-mato, cerejeira-da-terra, cereja-preta, ibaiba ou ivai (Figura 1), a depender do seu local de ocorrência, que varia de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul (DONADIO et al., 2002; DEGENHARDT; FRANZON; COSTA, 2007).

Esta árvore frutífera de porte médio pode atingir, em fase adulta, de 5 a 15 metros de altura e possuir tronco de 30 a 40 cm de diâmetro. Sua floração ocorre no início da primavera e têm como principal polinizadora as abelhas, que visitam as flores no início da manhã e final da tarde. Estudos reportam que a principal doença que atinge seus ramos, flores e frutos, é a ferrugem, causada pelo fungo *Puccinia* sp (REGO et al., 2006a; CARVALHO, 2008; REGO et al., 2006b).

O fruto maduro apresenta grande variabilidade de coloração da epiderme, do vermelho escuro ao violáceo, devido, primariamente, ao alto teor de antocianinas. Possui ainda formato arredondado, ovalado, alongado ou periforme e comprimento e diâmetro que variam de 2 cm a 4 cm e 1,3 cm a 2,7 cm, respectivamente. De uma a quatro sementes são geralmente encontradas em cada unidade (CARVALHO, 2008).

A cereja-do-rio-grande possui alto teor de compostos fenólicos, elevada capacidade antioxidante e conteúdo considerável de minerais, como fósforo e potássio. Pode ser consumida in natura ou em forma processada, como doces, geleias ou licores (ARAUJO et al., 2012; DAMETTO, 2014).

A árvore desperta interesse também no desenvolvimento de novos fármacos, em especial fitoterápicos. A avaliação da composição química do óleo volátil revelou a presença de 11 substâncias, principalmente esquiterpenos, que representam aproximadamente 92% do conteúdo total. Na medicina popular, suas folhas são comumente utilizadas no preparo de chás, que possuem ação antidiarreica e digestiva. (LORENZI et al., 2006; WAGNER, 2017).

Figura 1. Aspecto da árvore de cereja-do-rio-grande (A); Estádios de desenvolvimento das flores (B); Variabilidade no formato (C); Frutos com sintomas de ferrugem (D).



Fonte: DEGENHARDT; FRANZON; COSTA, 2007.

A uvaia (*Eugenia pyriformis*), popularmente conhecido como uvalheira, uvaieira ou uvalha cuja sinonímia é *Pseudomyrcianthes pyriformis* (Camb.) Kaus., tem seu nome originário da língua Tupi-Guarani, na qual significa “fruta ácida”. Presente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Minas Gerais, esta espécie arbórea apresenta crescimento relativamente rápido e frutificação precoce, além de porte médio, copa alongada e grande potencial ornamental (JACOMINO et al., 2018).

Sua frutificação ocorre de setembro a novembro, depois de, em média, dois meses da floração, a qual é caracterizada por flores brancas de quatro pétalas. Seus frutos, de baga carnosa, possuem coloração que varia do amarelo ao alaranjado, são geralmente pequenos – de 2 cm a 4 cm de diâmetro – e de formato arredondado, piriforme ou oval (Figura 2) (DE FREITAS, 2017).

Estudos da composição química da uvaia mostram que os frutos possuem alto valor nutricional, são uma boa fonte de vitamina C (73 a 120 mg / 100 g de base úmida) e possuem alto teor de carotenoides (1300 mg / 100 g de base úmida) (ANGELO; JORGE, 2007; DA SILVA et al., 2019; DE ARAÚJO et al., 2019a; HAMINIUK et al., 2011; JACOMINO et al., 2018; KLEIN et al., 2018a, 2018b; PEREIRA et al., 2014).

As uvaia podem ser consumidas in natura ou em forma de produtos industrializados, como sucos, licores, doces e geleias, dado conteúdo significativo da

polpa. É uma espécie altamente valiosa por possuir madeira dura e resistente às doenças (DA SILVA et al., 2019).

Figura 2. Aspecto da árvore de uvaia (A); Frutos no galho (B); Uvaia aberta (C).



Fonte: autora

Ambos os frutos, cereja-do-rio-grande e uvaia, são comumente encontrados em quintais de casas ou em pequenas plantações, desta forma, consumidos localmente pela população regional (DONADO-PESTANA et al., 2018; JACOMINO et al., 2018). Fatores que corroboram a manutenção deste cenário derivam do fato de ambas possuírem uma curta vida de prateleira, resultado da grande variabilidade fenotípica dado o método de propagação por semente (RUFINO, 2008).

Há uma complexa teia que abrange o desenvolvimento de uma nova cadeia alimentar a qual é composta por produção, comercialização, abastecimento e consumo. Na tentativa de ampliar o consumo, aumentar a difusão e fomentar o mercado das frutas nativas brasileiras, foi publicada em julho de 2021 a Portaria Interministerial nº10, a qual lista espécies nativas da sociobiodiversidade de valor alimentício relevante, para fins de comercialização in natura ou de seus produtos derivados (BRASIL, 2021).

Anteriormente, no ano de 2016, foi lançada uma portaria do Ministério do Meio Ambiente a qual insere no cardápio escolar da educação básica pública do país espécies nativas denominadas “frutíferas da sociobiodiversidade” (BRASIL, 2016).

Em âmbito global, o estudo “Estado da Biodiversidade Mundial para Alimentação e Agricultura”, lançado pela Food and Agriculture Organization (FAO), foca no combate ao desaparecimento da biodiversidade.

Dado este panorama, estudos epidemiológicos diversos ressaltam a importância do consumo de frutas e hortaliças como alimentos que atuam na promoção à saúde e prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), além de importante associação entre o consumo adequado destes alimentos a um menor risco de mortalidade por DCNTs, devido aos compostos biologicamente ativos presentes que atuam como promotores da saúde, reduzindo os efeitos causados pelo estresse oxidativo (SOUZA et al., 2019; INFANTE et al., 2016).

Com o incentivo governamental e de organizações supranacionais, foi observado que a exploração de frutos nativos já está despertando interesse devido a sua qualidade sensorial e potencial funcional, com vistas a comercialização em diferentes setores, como o alimentício, farmacêutico e cosmético (CORADIN et al., 2011).

Este potencial funcional presente nos frutos nativos é atribuído aos compostos bioativos, que são constituintes extra nutricionais encontrados em pequenas quantidades nos alimentos de origem vegetal, os quais proporcionam benefícios à saúde, como efeitos fisiológicos e imunológicos. Esses compostos variam amplamente e são agrupados de acordo com sua estrutura e função química (HAMZALIOĞLU & GÖKMEN, V., 2016).

### **1.1. Compostos principais e estruturas básicas**

Os compostos biologicamente ativos de vegetais devem ser entendidos como os metabólitos secundários das plantas e têm classificação conforme suas rotas biossintéticas. Sua estrutura contém, pelo menos, um anel benzênico em que o hidrogênio é substituído por uma hidroxila. São divididos em três grupos principais: (a) ácidos fenólicos, (b) flavonoides, e (c) outros fenólicos, formados por estilbenos, ligninas e taninos (DE LA ROSA et al., 2019; RASOULI et al., 2017).

Todas as famílias de metabólitos secundários fornecem cores às plantas, o que atrai pássaros e insetos que promovem a polinização, germinação e dispersão de sementes. Também desempenham papel importante em seu crescimento e desenvolvimento, pois as protegem de: (a) agentes nocivos, como insetos e micro-organismos; (b) eventos

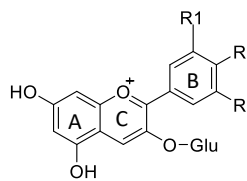
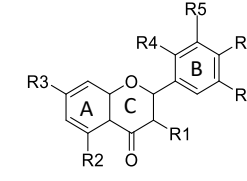
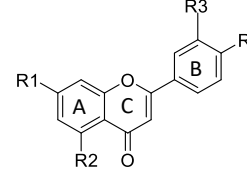
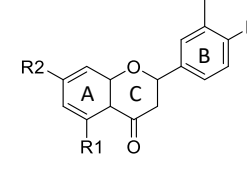
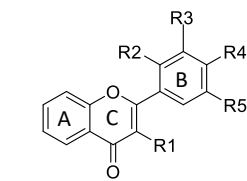
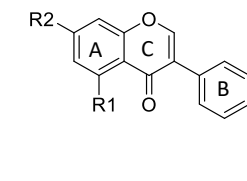
estressantes, como a radiação ultravioleta (UV); (c) e temperaturas extremas (MARTINEZ, et al., 2017).

Os flavonoides possuem estrutura química molecular baseada em dois anéis aromáticos (anéis A e B) com seis carbonos cada e um anel heterocíclico (anel C) com três carbonos. De acordo com as variações do padrão de substituição, hidroxilação e oxidação do anel C, os flavonoides podem ser classificados em diferentes subclasses, fornecendo uma gama extremamente diversa de derivados. Essas subclasses são encontradas em uma ampla variedade de alimentos vegetais, como frutas, hortaliças, grãos e chás (KARAKAYA, 2004; TSIMOGIANNIS; OREOPOULOU, 2019).

Dentre as diferentes subclasses, os flavonoides podem ocorrer nas formas de: (a) agliconas, estrutura básica dos flavonoides; (b) glicosídeos, onde o carboidrato pode ser L- ramnose, D-glicose, glucoramnose, galactose ou arabinose e a ligação glicosídica está normalmente localizada nas posições 3 ou 7 e; (c) derivados metilados, éteres metílicos ou ésteres acetílicos. Já as hidroxilações das subclasses ocorrem frequentemente nas posições 3, 5, 7, 2, 3', 4' e 5' (KUMAR; PANDEY, 2013).

Os flavonoides são divididos em seis subclasses, as quais incluem: (a) flavonas, que possui uma ligação dupla entre as posições 2 e 3 e um grupo cetona na posição 4 do anel C; (b) flavanol, em comparação com as flavonas, os flavonóis têm um grupo hidroxila na posição 3 do anel C, o qual pode ser glicosilado; (c) isoflavonas, o grupo fenil no anel benzopirano está na posição 3 em relação ao oxigênio do anel; (d) flavanonas, também chamadas de diidroflavonas, têm o anel C saturado; portanto, ao contrário das flavonas, a ligação dupla entre as posições 2 e 3 é saturada e esta é a única diferença estrutural entre os dois subgrupos de flavonoides; (e) flavan-3-ol, possui um grupo hidroxila ligado à posição 3 do anel C; e (f) antocianinas, depende do pH, metilação ou acilação nos grupos hidroxila nos anéis A e B (Figura 3) (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

Figura 3. Estruturas químicas das principais subclasses de flavonoides.

	Antocianidinas	R1	R2	R3				
	Cianidina-3-O-glicosídeo	OH	OH	H				
	Delfinidina-3-O-glicosídeo	OH	OH	OH				
	Malvidina-3-O-glicosídeo	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>				
	Flavan-3-ols	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
	Catechin	OH	OH	OH	H	OH	OH	H
	Flavonas	R1	R2	R3	R4			
	Apigenina	OH	OH	H	OH			
	Luteolina	OH	OH	OH	OH			
	Crisina	OH	OH	H	H			
	Flavononas	R1	R2	R3	R4			
	Naringenina	OH	O-Alk	OH	OH			
	Hesperidina	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>			
	Flavonol	R1	R2	R3	R4	R5		
	Quercetina	OH	H	OH	OH	H		
	Kaempferol	OH	H	H	OH	H		
	Miricetina	OH	H	OH	H	OH		
	Rutina	O-Alk	OH	H	OH	H		
	Isoflavonas	R1	R2					
	Genisteína	OH	OH					
	Daidzeína	H	O-Glu					

Legenda:

O-Glu

Glicosídeo

O-Alk

Grupo alcóxi

Fonte: autora.

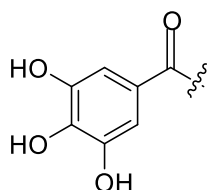
Outros compostos biologicamente ativos comumente encontrados nas frutas incluem a família dos taninos, considerados polifenóis de alto peso molecular, encontrados

exclusivamente nos vacúolos das plantas. A presença de múltiplos grupos funcionais na estrutura química dos taninos, como as hidroxilas, confere-lhes a capacidade de criar ligações cruzadas para alcançar estabilidade dentro de diferentes moléculas, como proteínas ou carboidratos, característica esta que permite diferenciá-los do grupo flavonoides. São abundantes em frutas vermelhas como, por exemplo, romãs, framboesas e morangos, além de nozes e sementes (FRAGA-CORRAL et al., 2020; SHAHAT & MARZOUK, 2013; LANDETE, 2011).

Historicamente, foram divididos em dois grupos principais, o primeiro denominado tanino hidrolisável, cuja estrutura base é formada a partir de ligações de unidades galoil (Figura 4). Este grupo é composto por duas subclasses, os (a) galotaninos, formados a partir do ácido gálico ou outros ácidos fenólicos e (b) elagitaninos, formados pela junção do radical galiola com glicose (FRAGA-CORRAL et al., 2020; BULE et al., 2020).

O segundo grupo principal é denominado tanino condensado, também conhecido por proantocianidinas. Mais comuns que os taninos hidrolisáveis caracterizados como polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol (BULE et al., 2020).

Figura 4. Substituinte galoila



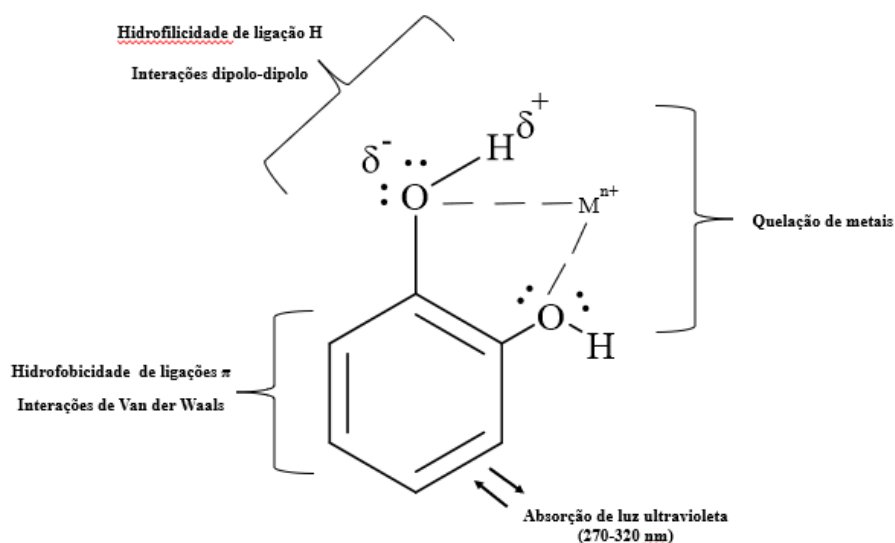
Fonte: autora

## 1.2. Ação antioxidante

Uma das principais razões que atraem a atenção de cientistas e consumidores pelos compostos bioativos é a ampla gama de propriedades que estes exibem, em especial, a propriedade antioxidante, a qual é correlacionada com a sua estrutura molecular (Figura 5) (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2018).



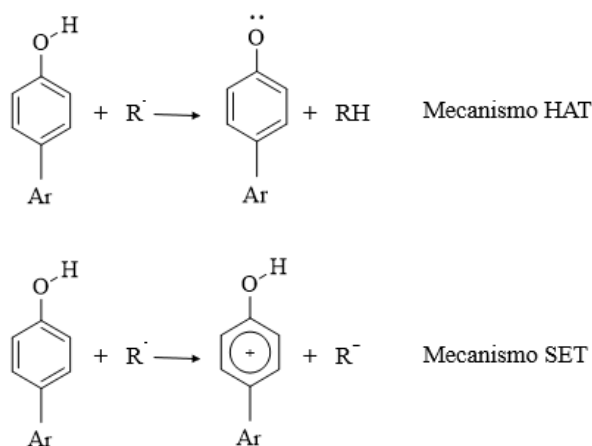
Figura 5. Propriedades físico-químicas dos compostos fenólicos baseado na estrutura básica do fenol



Fonte: Adaptado de BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2018.

Comprovou-se que os compostos bioativos possuem alta capacidade antioxidante, estabilizando os radicais livres através de dois mecanismos de ação: (a) transferência de um átomo de hidrogênio (HAT), do anel fenólico para o radical livre, e (b) transferência de um elétron (SET), onde o antioxidante representado pelo anel fenólico ArOH transfere um único elétron para um radical livre R (Figura 6) (BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2018).

Figura 6. Mecanismos de atividade antioxidante dos compostos fenólicos baseado na estrutura básica do fenol.



Fonte: Adaptado de BELŠČAK-CVITANOVIĆ et al., 2018.

### 1.3. Ação inibidora de amilases e glicosidases

Araújo et al. (2021), demonstrou que as espécies de *Eugenia*, além de apresentarem alta capacidade antioxidante, devido, principalmente, à diversidade de compostos fenólicos presentes, também atuam como moderadores da diabetes mellitus tipo II, dada a ação de inibição de enzimas digestivas, como a  $\alpha$ -amilase e a  $\alpha$ -glicosidase. Evidências recentes apontam que os compostos fenólicos fazem ligações não covalentes específicas com os aminoácidos de enzimas que hidrolisam carboidratos (GIUBERTI; ROCCHETTI; LUCINI, 2020).

As enzimas digestivas podem ser categorizadas em duas famílias sendo elas: (a) endoamilases que tem como representante as amilases, as quais catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 do amido, que por sua vez formam unidades menores de oligossacarídeos e (b) exoamilases, representadas pelas  $\alpha$ -glicosidases, catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 de dissacarídeos ou oligossacarídeos, tendo como produto unidades de glicose (WHITCOMB e LOWE, 2007; OTA et al., 2009).

A co-aplicação de compostos fenólicos como inibidores de enzimas sintéticas para controlar a glicemia pós-prandial, umas das formas de mensuração e diagnóstico da diabetes, assim como a glicemia de jejum, pode reduzir a dose efetiva de inibidores sintéticos necessários. Para que isto aconteça, outros fatores devem ser considerados, como: (a) subclasse estrutural, (b) grau de hidroxilação e polimerização, (c) substituições e (d) conjugações (GONÇALVES & ROMANO, 2017; KUMAR, & PANDEY, 2013).

Estudos recentes expõem que a atividade inibitória de um composto fenólico, especificamente os flavonoides, sob a  $\alpha$ -amilase propõem que a existência de hidroxilas (-OH) nas posições 5, 6, 7 do anel A e na posição 4' do anel B são capazes de aumentar a atividade inibitória porque as hidroxilas desempenham um papel crítico na formação de ligações de hidrogênio no sítio ativo da enzima (SUN; WANG; MIAO, 2020).

Para buscar compreender quais compostos fenólicos, presentes nas amostras de cereja-do-rio-grande e uvaia, levam a este processo de inibição enzimática, podem ser realizados ensaios *in vitro* complementados por métodos computacionais *in silico*, os quais se tornam importantes pois confirmam, identificam e propõem como ocorre a resposta de inibição enzimática observada nos ensaios *in vitro*. Este conjunto de métodos têm sido amplamente utilizado na descoberta inicial de substâncias sem perfil toxicológico para as células humanas (SLIWOSKI et al., 2014).

O ancoramento molecular, método computacional *in silico* utilizado, é, resumidamente, executado em duas etapas: (a) busca conformacional, por um algoritmo, que envolve todos os graus de liberdade do ligante com a enzima (translacional, rotacional e conformacional) e (b) função de pontuação que ranqueia as prováveis posições espaciais para o referido conjunto de ligantes (TROTT & OLSON, 2010).

Além de todos os benefícios de promoção à saúde que o consumo dos frutos supracitados até aqui apresenta, Rufino (2008) mostra que basear o cultivo de espécies nativas viabilizando a sustentabilidade assim como gerando empregos, renda, serviços e outras externalidades positivas de cunho social, econômico e ambiental.

## 2. JUSTIFICATIVA

O projeto temático ‘Frutas da Mata Atlântica potencialmente funcionais: caracterização, multiplicação de plantas e conservação pós-colheita’ (Processo FAPESP: 2014/12606-3), iniciado em 2017 e coordenado pelo Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), possui como objetivo geral a valorização da riqueza nacional e a defesa da biodiversidade brasileira, através do estudo e pesquisa de quatro espécies frutíferas da Mata Atlântica, respectivamente: cambuci (*Campomanesia phaea*), cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.), grumixama (*Eugenia brasiliensis*) e uvaia (*Eugenia pyriformis*).

O projeto, por meio de objetivos específicos, gera conhecimentos nas mais diversas áreas da ciência, seja pela caracterização molecular das plantas, técnicas de multiplicação vegetativa, caracterização dos frutos quanto aos aspectos físicos, químicos, sensoriais, de propriedades funcionais e compostos voláteis, ou pelos estudos de conservação dos frutos in natura, congelados e liofilizados.

Este trabalho, como parte integrante do projeto temático, visa identificar e quantificar compostos fenólicos presentes nos frutos de cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.) e uvaia (*Eugenia pyriformis*), demonstrada importância dos benefícios que estes compostos trazem à saúde humana.

É notório que as frutas nativas são ricas em compostos bioativos, e são conhecidas como saborosas pela população local, porém, devido à falta de informação e de incentivo ao plantio, são perdidas no campo, deixando de enriquecer a dieta humana como mais uma opção de alimento saudável. Para que esse fruto se torne comum na alimentação popular, dependemos de um processo que assegure a cadeia produtiva que envolve: (a) produção, (b) transporte, (c) armazenamento e a (d) distribuição adequadas desses frutos.

Por fim, o caráter interdisciplinar e multiprofissional deste projeto possibilitará a preservação da Mata Atlântica, além de viabilizar economicamente a pequena propriedade rural, especialmente para a população do Vale do Ribeira e do Paraíba.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1. Objetivo geral**

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar os compostos fenólicos e potencial biológico de diferentes acessos, definidos agronomicamente como árvores de genótipo individualizado, de cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.) e uvaia (*Eugenia pyriformis*), frutos ainda pouco explorados comercialmente.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Identificar e quantificar os compostos fenólicos dos acessos de cereja-do-rio-grande e uvaia;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos acessos de cereja-do-rio-grande e uvaia;
- Avaliar a atividade inibitória dos acessos de cereja-do-rio-grande e uvaia sobre as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase *in vitro*;
- Estabelecer a relação estrutura-atividade *in silico* de um painel de compostos fenólicos previamente identificado nos acessos de cereja-do-rio-grande e uvaia com a  $\alpha$ -amilase pancreática suína.

## 4. MATERIAL & MÉTODOS

### 4.1. Material

No ano de 2018, os frutos de cereja-do-rio-grande e uvaia foram colhidos manualmente pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino, segundo os seguintes critérios: frutos inteiros, maduros (de acordo com cor e textura próprios) e sem injúrias causadas por insetos. Depois de colhidos, os frutos foram acomodados em embalagens plásticas, etiquetados, colocados em caixas isotérmicas refrigeradas com placas de gelo e transportados ao Laboratório de Pós Colheita de Produtos Hortícolas (LPV-ESALQ/USP).

Ao chegarem no laboratório, os frutos foram higienizados por imersão em solução de hipoclorito a 100 ppm por 15 minutos, lavados em água corrente e secos. Após este processo, frutos inteiros (polpa, casca e semente), foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados à -80°C.

Posteriormente, foram analisados com relação aos parâmetros físico-químicos como: coloração, tamanho, formato e sólidos solúveis totais (SST). A partir destes parâmetros, frutos com os melhores dados quantitativos foram selecionados para este estudo. Ao serem recebidos no Laboratório de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (LQB-FCF/USP) os mesmos foram triturados com gral e pistilo na presença de nitrogênio líquido, etiquetados e armazenados, novamente, à -80°C.

Os acessos de cereja-do-rio-grande foram coletados em seis municípios diferentes, porém os frutos vermelhos (*Eugenia involucrata* DC.) foram coletados em cinco municípios, enquanto o fruto amarelo, em um somente, conforme Tabela 1, abaixo. As coletas foram realizadas entre outubro e dezembro de 2018.

Tabela 1. Locais de coleta, nomenclatura dos acessos e coloração dos frutos de cereja do-rio-grande.

Cidade e estado de coleta	Nomenclatura do acesso	Coloração do fruto	Nº de frutos que constitui a amostra
Piracicaba/SP	CE001	Vermelho	50
Rio Claro/SP	CE023	Vermelho	29
	CE025	Vermelho	20
Jundiaí/SP	CE028	Vermelho	28
	CE030	Vermelho	41
Salesópolis/SP	CE031	Vermelho	32
	CE033	Vermelho	20
	CE035	Vermelho	21
Ibitinga/SP	CE057	Amarelo	21
Campestre/MG	CE058	Vermelho	30

Os acessos de uvaia (*Eugenia pyriformis*) foram coletados em dois municípios diferentes, entre outubro e dezembro de 2018, conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Locais de coleta, nomenclatura dos acessos e coloração dos frutos de uvaia.

Cidade e estado de coleta	Nomenclatura do acesso	Coloração do fruto	Nº de frutos que constitui a amostra	
Rio Claro/SP	Uvaia comum	Amarelo	3	
	Uvaia dura	Amarelo	26	
	Uvaia pato de minas		Amarelo	3
			Amarelo	16
Cabo Verde/MG	Uvaia pera			
	UV032	Amarelo	6	
	UV036	Amarelo	9	
	UV043	Amarelo	19	
	UV044	Amarelo	17	
	UV048	Amarelo	39	
	UV049	Amarelo	14	
	UV068	Amarelo	4	
	UV072	Amarelo	9	
	UV077	Amarelo	4	
	UV080	Amarelo	20	
UV085	Amarelo	20		

## **4.2. Métodos**

### **4.2.1. Peso do fruto inteiro, peso das sementes e peso da polpa e casca**

O peso do fruto inteiro e o peso das sementes foi determinado através da pesagem de dez frutos, que constituem a amostra. Estes foram pesados um a um em balança semi-analítica e os resultados expressos em gramas (g). O peso da polpa e casca foi obtido pela diferença entre os pesos do fruto inteiro e a das sementes, também expresso em gramas (g).

### **4.2.2. Açúcares solúveis**

Os açúcares solúveis (glicose, sacarose e frutose) foram analisados de acordo com Cordenunsi et al. (2008). Amostras (150 mg) foram extraídas com etanol 80 % (v/v) a 80 °C por três vezes. Os sobrenadantes obtidos após centrifugação (12000 G; 15 °C; 15 minutos), foram combinados em balão volumétrico de 25 mL, que teve seu volume completo com etanol 80%. Uma alíquota do extrato etanólico foi evaporada em concentrador a vácuo (CentriVap, Labconco Corporation, Kansas, MO, Estados Unidos) a 45°C e o volume (2 mL) reconstituído com água. Os açúcares solúveis foram determinados por cromatografia a líquido com detecção por amperometria de pulso em um sistema Dionex DX-500 (Dionex DX 500, Sunnyvale, CA, Estados Unidos), equipado com coluna CarboPac PA1 (4x250mm, 5 µm tamanho de partícula) em corrida isocrática com fluxo de 1 mL/min de NaOH 18 mM, durante 25 minutos. Para as curvas de calibração, foram utilizados padrões de glicose (Sigma, Chemical CO, Saint Louis, MO, Estados Unidos; G-8270), frutose (Sigma F-0127) e sacarose (Sigma S-9378).

### **4.2.3. Extração**

Amostras de uvaia e cereja-do-rio-grande amarela (0,2 g) foram adicionadas em 10 mL de metanol 70%. Já as amostras de cerejas-do-rio-grande vermelha (0,2 g) foram adicionadas em 10 mL metanol/água/ácido acético (70:25:5 v/v). Todas as amostras foram homogeneizadas em Ultra-Turrax por 3 minutos (Polytron-Kinematica GmbH, Kriens-Luzern, Suíça).

Os extratos foram mantidos à 4°C e sob agitação constante em um agitador magnético por duas horas, e posteriormente filtrados em papel filtro qualitativo (Nalgon, 3 micras) sob vácuo. As extrações foram realizadas em triplicata e armazenadas em frascos âmbar em geladeira à 4°C. Os extratos foram utilizados para as análises de antocianinas monoméricas, ácido elágico total, fenólicos totais, capacidade



antioxidante pelos métodos de DPPH e ORAC, e inibição enzimática de  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase.

#### 4.2.3.1. Antocianinas monoméricas

As antocianinas monoméricas foram quantificadas nos extratos de cereja-do-rio-grande vermelha pelo método proposto por Lee et al. (2005), que tem como princípio a diferença de pH utilizando duas soluções tampão: cloreto de potássio com ácido clorídrico de pH 1 (0,025 M), e acetato de sódio com ácido clorídrico de pH 4,5 (0,4 M). Os extratos foram diluídos nos dois tampões e a leitura de absorvância realizada nos comprimentos de onda 520 nm e 700 nm (Hewlett Packard, modelo 8453). A concentração de antocianinas monoméricas foi calculada a partir da equação 1, e o resultado expresso em cianidina-3-glicosídeo (C3G) equivalente (mg/100 g).

$$\text{Equação 1: antocianina monomérica} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

Onde:

A = (A<sub>520nm</sub> – A<sub>700nm</sub>) em pH 1.0 – (A<sub>520nm</sub> – A<sub>700nm</sub>) em pH 4.5

MW (peso molecular) = 449.2 g/mol para C3G

DF = fator de diluição

l = caminho ótico percorrido

$\epsilon$  = 26900, coeficiente molar, para C3G

10<sup>3</sup> = fator de conversão de g para mg

#### 4.2.3.2. Ácido elágico total

A determinação de ácido elágico total foi realizada de acordo com as condições otimizadas por Pinto et al. (2008). As amostras foram secas em banho de 37°C sob fluxo contínuo de N<sub>2</sub> (Evaporador Analítico Organomation, Berlim, Alemanha) e hidrolisado em ácido trifluoroacético 2 M em metanol, a 120 °C durante 90 minutos. Após a hidrólise, o extrato foi seco novamente sob fluxo de N<sub>2</sub>, ressuspendido em metanol grau HPLC e filtrado com filtros de polietileno com membrana PTFE de 0,22 $\mu$ m. O ácido elágico foi separado por CLAE-DAD, para a quantificação de ácido elágico total, foi utilizada a coluna cromatográfica de fase reversa Luna 3  $\mu$  C18 (150 x 3,0mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido), com fluxo de 1 mL/min, a 25°C. A eluição foi

realizada com gradiente de solventes constituído por A: 1% ácido fórmico em água e B: 5% ácido fórmico em acetonitrila. O gradiente de concentração dos solventes constituiu em 0,5% de A no início, 10% em 5 min, 17% em 10 min, 25% em 15 min, 50% em 25 min, de 90% em 30 min, 50% em 32 e 8% em 35 min – o tempo total de corrida foram de 35 minutos. O comprimento de onda para a detecção foi de 270 nm e 370 nm. Sua quantificação foi realizada utilizando curva de calibração de ácido elágico e o resultado expresso em ácido elágico total equivalente (mg/100 g).

#### **4.2.3.3. Fenólicos totais**

A determinação da capacidade de redução do reagente Folin-Ciocalteau foi realizada pelo método de Swain e Hillis (1959). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Hewlett Packard, modelo 8453) no comprimento de onda de 765 nm. A curva de calibração de ácido gálico (AG) foi utilizada para a quantificação de fenólicos totais. Os resultados foram expressos como mg AG eq./100 g de base úmida (b.u.).

#### **4.2.3.4. Atividade sequestrante do radical DPPH**

A atividade sequestrante do Radical DPPH, foi avaliada pelo método proposto por Brand-Williams et al. (1995). Em uma placa de poliestireno de 96 poços de fundo U, foi adicionado 40 µL de metanol como branco, ou o mesmo volume com solução-padrão de Trolox ou extratos, devidamente diluídos, quando necessário. Posteriormente, foi adicionado 200 µL de solução de DPPH (0,05 mM), mantida no escuro por 20 minutos. A leitura de absorbância foi realizada a 517 nm em leitor de microplaca multidetecção Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, Estados Unidos). A curva de calibração foi preparada com uma solução de Trolox em diferentes concentrações (20 - 70µM). A porcentagem de inibição foi calculada seguindo a equação 2:

$$\text{Equação 2 - \% descolorimento do DPPH} = \frac{A(\text{Branco}) - A(\text{Amostra})}{A(\text{Branco})} \times 100$$

Onde:

A(Branco) refere-se à absorbância do branco (metanol+DPPH);

A(Amostra) refere-se à absorbância da amostra.

A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos em  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/100 g de base úmida (b.u.).

#### **4.2.3.5. Capacidade de absorção dos radicais oxigenados (ORAC)**

Para análise de ORAC, o protocolo utilizado foi Prior et al. (2003), onde todos os reagentes foram preparados em tampão fosfato 75 mM em pH 7,1. Foram utilizadas solução de fluoresceína 40 nM (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, Estados Unidos) e solução de 2,2'-Azobis (2-methylpropionitrile), comumente conhecido como AAPH, 153 nM, (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, Estados Unidos). Alíquotas de 25  $\mu\text{L}$  de tampão como branco, ou o mesmo volume de Trolox ou de extrato, devidamente diluídas quando necessário, foram distribuídas em placa de 96 poços seguidas da adição automática de 150  $\mu\text{L}$  de solução de fluoresceína e incubada a 37°C por 30 minutos. Posteriormente, a reação foi iniciada pela adição de 25  $\mu\text{L}$  de AAPH seguido de agitação por 10 segundos. O decaimento da intensidade de fluorescência (485 nm e 525 nm) foi realizado a cada 1 minuto durante 60 minutos de reação. A leitura de fluorescência foi realizada utilizando-se leitor de microplaca multidetecção Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, Estados Unidos).

A capacidade antioxidante foi obtida através do cálculo da área abaixo da curva de uma amostra subtraindo-se da área correspondente à do branco e utilizando-se curva padrão de Trolox, efetuada a cada ensaio, nas concentrações de 12,5 a 100  $\mu\text{M}$ . Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalente/100 g b.u. A análise foi realizada em triplicata.

#### **4.2.3.6. Inibições *in vitro***

##### **4.2.3.6.1. Inibição de $\alpha$ -amilase**

Para o ensaio da  $\alpha$ -amilase, o método foi adaptado de Johnson et al. (2011), onde 50  $\mu\text{L}$  de extrato previamente descrito no item (4.2.3. Extração), controle positivo (acarbose 1 mM), ou padrões comerciais foi adicionado a 50  $\mu\text{L}$  de solução 15U/ mL de  $\alpha$ -amilase do tipo VI-B do pâncreas porcino em fosfato de sódio 0,02 M tampão em pH 6,9 e incubados em eppendorfs a 25°C por 10 minutos. Posteriormente, 50  $\mu\text{L}$  de solução de amido solúvel a 1% (dissolvido em tampão fosfato de sódio) foi adicionada a cada eppendorf e incubada por mais 10 min. Finalmente, 500  $\mu\text{L}$  do reagente de ácido dinitrosalicílico foi adicionado e os tubos foram aquecidos a 100 ° C por 5 min. A

mistura foi diluída com 2 mL de água destilada e a leitura de absorbância foi realizada a 520 nm em leitor de microplaca multidetecção Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, Estados Unidos). Sua quantificação foi realizada utilizando curva de calibração de acarbose e o resultado expresso em acarbose equivalente mol/100 g b.u.

#### **4.2.3.6.2. Inibição de $\alpha$ -glicosidase**

De acordo com Johnson et al. (2011), em uma placa de 96 poços, 50  $\mu$ L de extrato bruto ou controle positivo (acarbose 1 mM) foi adicionado a 100  $\mu$ L de solução de  $\alpha$ -glucosidase 1,5U/mL (em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,9), e incubada por 10 min. Uma alíquota de 50  $\mu$ L de p-nitrofenil-R-D-glucopiranosídeo 5 mM (em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,9) foi adicionada brevemente a cada poço e incubado a 25°C por 5 min. A leitura de absorbância foi realizada a 405 nm em leitor de microplaca multidetecção Synergy H1 (Biotek Instruments, Winooski, VT, Estados Unidos). Sua quantificação foi realizada utilizando curva de calibração de acarbose e o resultado expresso em acarbose equivalente mol/100 g b.u.

#### **4.2.4. Identificação e quantificação de compostos fenólicos**

A identificação dos flavonoides foi realizada para os acessos de cereja-do-rio-grande vermelha (CE001) e amarela (CE057), e para o acesso de uvaia dura.

##### **4.2.4.1. Extração**

A extração da uvaia e cereja-do-rio-grande amarela foi realizada de acordo com o método descrito por Teixeira et al. (2015), onde aproximadamente 10g de amostra, em duplicata, foi extraída com 100 mL de metanol 70% em homogeneizador do tipo Ultra Turrax (Brinkmann Homogenizer, Suíça) e posteriormente filtrado sob vácuo, utilizando papel filtro qualitativo (Nalgon, 3 micras). O resíduo foi re-extraído mais duas vezes com 50 mL de metanol 70%. Este extrato foi combinado e concentrado em rotaevaporador (Rotaevaporador, R-3 HB, Buchi, Suíça) a 40°C até o volume aproximado de 10 mL. O extrato concentrado foi posteriormente ressuspendido em um balão volumétrico de 25 mL com água milli-Q. A extração foi realizada em duplicata.

A extração da cereja-do-rio-grande vermelha, foi realizada com 50 mL de metanol/ ácido acético/ água (70:5:25 v/v), e re-extraído mais duas vezes com 25 mL de metanol/ ácido acético/ água (70:5:25 v/v). O extrato foi rotaevaporado até o volume de

aproximadamente 5 ml e ressuspendido em balão volumétrico de 10 mL com água milli-Q. A extração foi realizada em duplicata.

#### **4.2.4.2. Separação em fase sólida (SPE)**

O extrato livre de metanol foi eluído em duplicata em coluna de 1 g de Poliamida (CC 6, Macherey-Nagel), preparado em seringa própria de 6 mL (HPLC Technology) previamente pré-condicionada pela passagem de metanol (50 mL) e água milli-Q (50 mL). Posteriormente, 5 mL de extrato foi aplicado na coluna a qual foi lavada com água milli-Q (50 mL). A eluição dos compostos fenólicos foi realizada com metanol, seguida de metanol:NH<sub>3</sub> (99,5:0,5v/v) para os acessos de uvaia e cereja-do-rio-grande amarela (CE057). Já a eluição dos acessos de cerejas-do-rio-grande vermelha foi realizada com uma solução de metanol acidificado com 0,3% de ácido clorídrico. Os eluatos foram completamente secos por rotaevaporação (Rotavapor, RE 120, Büchi, Flawil, Suíça), sob vácuo, a 40 °C e ressuspendidos em metanol grau HPLC para as amostras de uvaia e cereja-do-rio-grande amarela ou metanol acidificado com 5% ácido acético para a cereja-do-rio-grande vermelha. Todas as amostras foram filtradas em filtros PTFE (Millipore Ltd., Bedford, MA, Estados Unidos) de 0,22 µm. A identificação de compostos fenólicos foi realizada por LC-QTOF-MS/MS e a quantificação foi realizada por CLAE/DAD.

#### **4.2.4.3. Identificação**

Para a identificação dos compostos fenólicos, as amostras foram injetadas em espectrômetro de massa tipo QTOF, modelo Compact (Bruker Daltonics, Alemanha), acoplado a um cromatógrafo líquido modelo Nexera XR (LC-20AD, Shimadzu, Japão). Foi utilizada coluna cromatográfica de fase reversa Luna 3 µ C18 (150 x 3,0mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido), com fluxo de 0,5 mL/min a 25 °C. A eluição foi realizada com gradiente de solventes constituído por solvente A: ácido fórmico 0,5% em água e solvente B: ácido fórmico 0,5% em acetonitrila, e monitorado a 190 nm a 800 nm. As condições do LC-QTOF-MS/MS foram: modo positivo para antocianinas e modo negativo para os demais compostos fenólicos, N<sub>2</sub> como *dry gas*, capilar -3500 V, full scan m/z 50-1500. Os compostos foram identificados pela comparação do espectro de massas e a comparação com dados de literatura.

Os critérios de inclusão para a identificação de picos foram:

- Unidade de absorvância (mAu), nos comprimentos característicos de flavonoides;
- Picos com intensidade ( $10^6$ ) maior 0,30;
- Padrão de fragmentação característicos de flavonoides.

#### **4.2.4.4. Quantificação**

A quantificação de fenólicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência em equipamento Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, Estados Unidos) e detector com arranjo de diodo (CLAE/DAD). Para a separação de compostos fenólicos, foi utilizada a coluna cromatográfica de fase reversa Luna 3  $\mu$  C18 (150 x 3,0mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido), com fluxo de 1 mL/min, a 25°C. A eluição foi realizada com gradiente de solventes constituído por A: 0,5% ácido fórmico em água e B: 0,5% ácido fórmico em acetonitrila. O gradiente de concentração dos solventes constituiu em 8% de B no início, 10% em 5 min, 17% em 10 min, 25% em 15 min, 50% em 25 min, de 90% em 30 min, 50% em 32 e 8% em 35 min – o tempo total de corrida foram de 35 minutos. O comprimento de onda para a detecção foi de 270 nm e 370 nm.

Quanto a detecção de antocianinas, foi utilizada a coluna cromatográfica de fase reversa Luna 3  $\mu$  C18 (150 x 3,0mm) (Phenomenex Ltd., Reino Unido), com fluxo 0,8 mL/min, 25°C. A eluição realizada com gradiente de solventes constituídos por A: água/ ácido fórmico/ acetonitrila (96:1:3 v/v/v) e D: água/ ácido fórmico/ acetonitrila (48:1:51 v/v/v). O gradiente de concentração dos solventes constituiu em 10% de D no início, 25% em 10 min, 31% em 15 min, 40% em 20 min, 50% em 30 min, 100% em 40 min, 10% em 45 min e 10% em 50 min – o tempo total de corrida foram de 50 minutos. O comprimento de onda para a detecção foi de 525 nm.

A quantificação foi realizada utilizando curva de calibração com padrões de flavonoides e ácidos fenólicos identificados.

#### **4.2.5. Ancoramento molecular**

Os estudos *in silico* dos compostos fenólicos identificados nas frutas cereja-do-rio-grande e uvaia foram realizados em colaboração com o professor Roberto Parise Filho, do departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Inicialmente, realizou-se a construção dos compostos fenólicos identificados em modelo molecular tridimensional e a busca das enzimas alvo no *Protein Data Bank* (PDB). As

propriedades calculadas para os compostos fenólicos foram então comparadas com a acarbose cristalografada junto à proteína, seguindo o protocolo descrito no item 4.2.6.2. Protocolo de ancoramento realizado no GOLD 5.4.1.

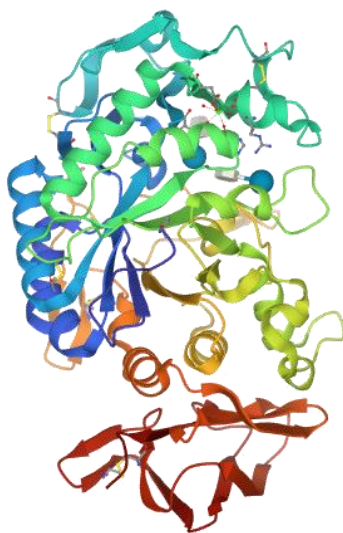
Esta etapa do trabalho foi realizada utilizando-se computador com sistema operacional Windows®, processador Intel®Core™ i5 de 2.20 GHz, 8.0 GB de memória RAM e placa de vídeo GeForce® GT 2 GB, modelo 910M.

Por meio da abordagem teórica, conseguimos verificar quais conformações foram energeticamente mais favoráveis para a inibição, afim de fornecer ideias sobre relações estrutura-atividade vistas nos ensaios *in vitro*. O procedimento descrito foi baseado no modelo proposto por Araújo et al., 2019.

#### 4.2.5.1. Estrutura das proteínas

A estrutura tridimensional (3D) da  $\alpha$ -amilase pancreática porcina em complexo com a acarbose (Figura 7) está disponível no PDB com o código 1OSE (GILLES et al., 1996).

Figura 7. Imagem da estrutura cristalográfica da enzima  $\alpha$ -amilase em complexo com a acarbose (PDB: 1OSE). Imagem gerada utilizando o programa Mol\*



Fonte: Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/structure/1OSE>)

#### 4.2.5.2. Protocolo de ancoramento

A modelagem molecular teve as seguintes etapas envolvidas: (a) construção e otimização das estruturas tridimensionais por mecânica molecular dos compostos

fenólicos (ligantes) identificados nas amostras de cereja-do-rio-grande (Tabela 5) e uvaia (Tabelas 8 e 9) no software ChemDraw 17 (profissional e 3D); (b) os ligantes tiveram as suas estruturas reotimizadas com minimização de energia pela mecânica molecular utilizando a adição de cargas Mulliken nos ligantes pelo software Chimera (Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics (RBVI), Inc., San Francisco, CA, Estados Unidos); (c) otimização por método semi-empírico *ab initio* Hartree-Fock 6-31G\* em vácuo no programa Spartan'14 (Wave Function, Inc., Irvine, CA, Estados Unidos); (d) no programa Gold 5.4.1. (CCDC, Inc., Cambridge, Reino Unido), o método utilizado para os ensaios de ancoramento molecular foi selecionado por meio de simulações de *redockings*, onde o sítio de ancoramento dos ligantes complexados foi utilizado como origem, variando-se o tamanho do raio do sítio em 6, 10 e 15 Å, e as águas co-cristalografadas foram retiradas. Foram testadas as quatro funções de *score* presentes no programa GOLD 5.4.1: ASP, ChemPLP, GoldScore e ChemScore. O método escolhido foi aquele que apresentou o menor valor de raiz do desvio quadrático médio – RMSD (do inglês, *Root-mean-square deviation*), entre as estruturas empíricas, presentes no cristal, e as poses obtidas pela aplicação do método. O método escolhido foi o GoldScore, com cavidade de interação entre a proteína-ligante estabelecido com um raio de 10Å, com um valor RMSD de 0,3011. As simulações de ancoramento molecular foram feitas em sextuplicatas e as poses de maior pontuação de cada composto foram isoladas. As imagens finais de cada pose foram geradas pelo programa PyMOL Molecular Graphics System, versão 1.8 (Schrödinger, Inc., New York, NY, Estados Unidos).

#### **4.2.6. Desenho de estruturas**

Todas as estruturas reportadas no anexo foram criadas a partir do software ChemsSketch (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Canadá).

#### **4.2.7. Estatística**

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e, quando apropriado, realizada análise de variância (ANOVA) e teste de Tuckey, considerando valor de  $p < 0,05$  como indicador de significância estatística. A correlação de Pearson foi utilizada para determinar se havia relação estatisticamente significativa entre o conteúdo de fenólicos totais e a técnicas de DPPH e ORAC. O software GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, Estados Unidos) foi utilizado em todas as



análises estatísticas. Por fim, os acessos foram agrupados através da análise de componentes principais (PCA) utilizando o software MetaboAnalyst 5.0.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Cereja-do-rio-grande

#### 5.1.1. Características físicas e de açúcares solúveis

A massa média dos frutos no estágio maduro dos acessos de cereja-do-rio-grande variou de 3,13 g (CE030 - Jundiaí/SP) a 7,06 g (CE057 – Ibitinga/SP). Os acessos da região de Rio Claro/SP (CE023 e CE025) apresentaram os maiores valores médios de massa quando comparados aos coletados nas outras regiões (Tabela 3).

As proporções de polpa e casca em relação ao peso total do fruto variaram de 80% a 90%, com destaque para a amostra da região de Campestre/MG (CE058), que apresentou a melhor proporção (90%).

Tabela 3. Massa média dos frutos inteiros de cereja-do-rio-grande coletados nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis e Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.

Acessos	Massa fresca (g)	Porcentagem (%) média de polpa + casca
CE001	3,71±0,98 <sup>b</sup>	87
CE023	6,03±0,97 <sup>a</sup>	89
CE025	6,52±1,19 <sup>a</sup>	82
CE028	6,18±1,31 <sup>a</sup>	85
CE030	3,13±0,49 <sup>b</sup>	81
CE031	4,74±1,1 <sup>a</sup>	80
CE033	4,85±0,99 <sup>a</sup>	85
CE035	5,82±1,33 <sup>a</sup>	86
CE057	7,06±1,43 <sup>a</sup>	84
CE058	3,54±0,72 <sup>b</sup>	90

Resultados expressos g com média ± desvio padrão (n=10). Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05).

A Tabela 4 apresenta a composição de açúcares solúveis encontrados nos acessos de cereja-do-rio-grande, é importante ressaltar que todos os frutos apresentavam o mesmo estágio de maturação (maduro). Foram encontradas glicose e frutose em quantidades significativas nestes frutos, diferentemente do que ocorreu com a sacarose, onde não foi observado quantidades significativas.

Tabela 4. Conteúdo de açúcares solúveis de cerejas-do-rio-grande coletados nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis e Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.

Acessos	Glicose	Frutose	Sacarose	Total
CE001	2.244,20±1,5	2.267,60±1,1	0	4.511,80±0,8 <sup>b,c</sup>
CE023	2.028,00±0,3	2.070,70±0,2	9,50±0,1	4.108,20±0,2 <sup>c</sup>
CE025	2.467,30±2,8	2.816,60±0,4	37,30±0,1	5.321,20±1,1 <sup>a,b</sup>
CE028	1.343,80±0,4	1.418,00±0,6	12,30±0,1	2.774,10±0,4 <sup>d</sup>
CE030	1.844,30±1,0	2.134,70±1,2	0	3.979,00±0,7 <sup>c</sup>
CE031	2.424,40±0,9	2.564,70±1,1	0	4.989,10±0,6 <sup>b</sup>
CE033	2.410,00±0,4	2.532,10±0,8	55,30±0,1	4.997,40±0,4 <sup>b</sup>
CE035	1.628,30±1,0	1.742,00±1,0	123,50±0,5	3.493,80±0,8 <sup>c</sup>
CE057	2.643,20±1,6	2.628,00±1,4	14,50±0,3	5.285,70±1,1 <sup>a,b</sup>
CE058	2.847,30±1,9	2.760,80±1,9	331,00±0,6	5.939,10±1,4 <sup>a</sup>

Resultados expressos em mg de açúcar solúvel em 100 g de base úmida com média ± desvio padrão. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

O conteúdo de açúcares solúveis total variou entre 2.774,1 mg (CE028 - Jundiaí/SP) a 5.939,1 mg (CE058 - Campestre/MG) de açúcar solúvel em 100 g de b.u. Estatisticamente, todos os valores apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

### 5.1.2. Composição de antocianinas monoméricas e capacidade antioxidante

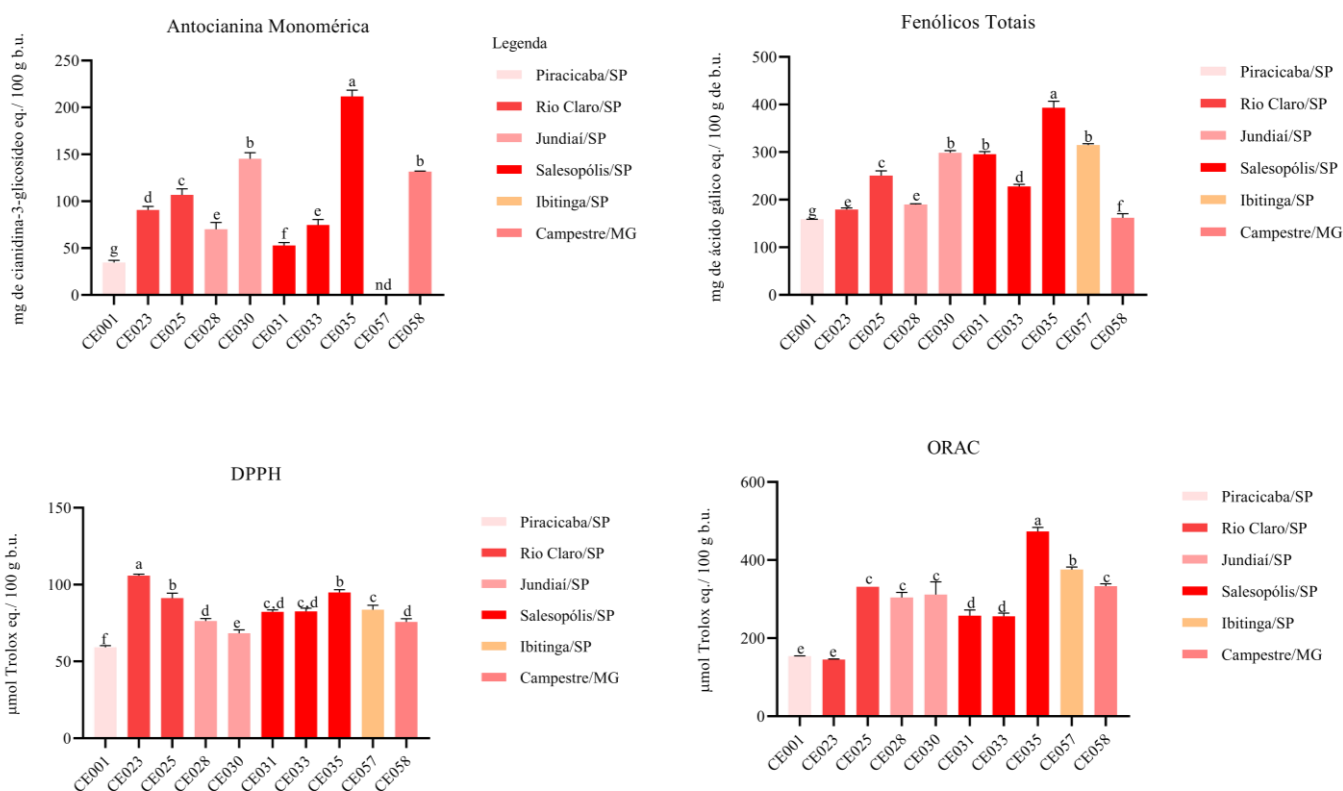
A cor vermelha característica dos frutos de cereja-do-rio-grande se deve à presença de antocianinas, como evidenciado pela quantificação de antocianinas monoméricas (Figura 8). O acesso CE035 (Salesópolis/SP) foi, dentre os acessos, o qual apresentou a maior quantidade de antocianinas monoméricas com 158,40 mg C3G/100 g de b.u. Já o acesso de CE001 (Piracicaba/SP) apresentou o menor conteúdo com 32,77 mg C3G/100 g de b.u. Na cereja-do-rio-grande amarela CE057 (Ibitinga/SP), não foram detectadas antocianinas como esperado inicialmente, porém entre os dez acessos, a CE057 (Ibitinga/SP) apresentou a maior massa média de frutos e o segundo maior conteúdo de açúcares solúveis.

A capacidade antioxidante dos frutos de cereja-do-rio-grande foi avaliada por três métodos diferentes, sendo eles: (a) capacidade redutora do Folin-Ciocalteu conhecido como fenólicos totais, (b) sequestro de radicais livres do DPPH e, (c) capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC).

Para o conteúdo de fenólicos totais (FT), a região de Salesópolis/SP se mostrou como a que possui maior conteúdo, com destaque para o acesso CE035 com um total de

393,20 mg AG eq. /100 g b.u. (Figura 8), resultado aproximadamente três vezes superior ao menor conteúdo de FT. Entre os dez acessos de cereja-do-rio-grande, o acesso CE001 (Piracicaba/SP) apresentou a menor concentração em relação aos outros frutos, com aproximadamente 158,91 mg AG eq. /100 g b.u.

**Figura 8.** Conteúdo de antocianina monomérica e fenólicos totais. Capacidade antioxidante analisada pelos métodos DPPH e ORAC de cerejas-do-rio-grande coletadas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.



O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05).

O mesmo padrão pode ser observado para capacidade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH (Figura 8) e ORAC (Figura 8), onde os frutos da região de Salesópolis/SP apresentaram maior valor em ambos os métodos. Para estes acessos, no estágio maduro, a capacidade antioxidante variou de 59,18 (CE001 - Piracicaba/SP) a 105,86 (CE023 – Rio Claro/SP) µmol Trolox eq./100 g b.u. e 145,10 (CE023 – Rio Claro/SP) a 473,50 (CE035 – Salesópolis/SP) µmol Trolox eq./100 g b.u. para os métodos DPPH e ORAC, respectivamente.

Devido à sua estrutura, os compostos fenólicos possuem elevada capacidade antioxidante, representando uma das principais classes de bioativos responsáveis pela ação antioxidante de alimentos de origem vegetal. Foi observado uma correlação forte de Pearson entre o teor de fenólicos totais e os valores DPPH ( $r = 0,93$ ) bem como uma correlação moderada de ORAC ( $r = 0,58$ ).

Destaque positivo para o acesso CE035 (Salesópolis/SP), o qual apresentou alta capacidade antioxidante por ambos os métodos, o maior conteúdo de compostos fenólicos e antocianinas monoméricas, conteúdo de polpa considerável (86%) e baixo teor de açúcares solúveis.

### 5.1.3. Identificação e conteúdo de compostos fenólicos

As Figuras 9 e 10 apresentam os cromatogramas obtidos por CLAE-DAD dos acessos CE001 (Piracicaba/SP) e CE057 (Ibitinga/SP), de coloração vermelha e amarela, respectivamente. Foram identificadas três classes de flavonoides, (a) quatro antocianinas (apenas para a cereja-do-rio-grande vermelha), (b) dois flavon-3-ol e (c) três flavanol. O espectro de massas e suas fragmentações características são apresentadas na Tabela 5.

Figura 9. Cromatograma obtido por LC-DAD ( $\lambda=270$  nm) e ( $\lambda=525$  nm) para a cereja-do-rio-grande CE001 (Piracicaba/SP)

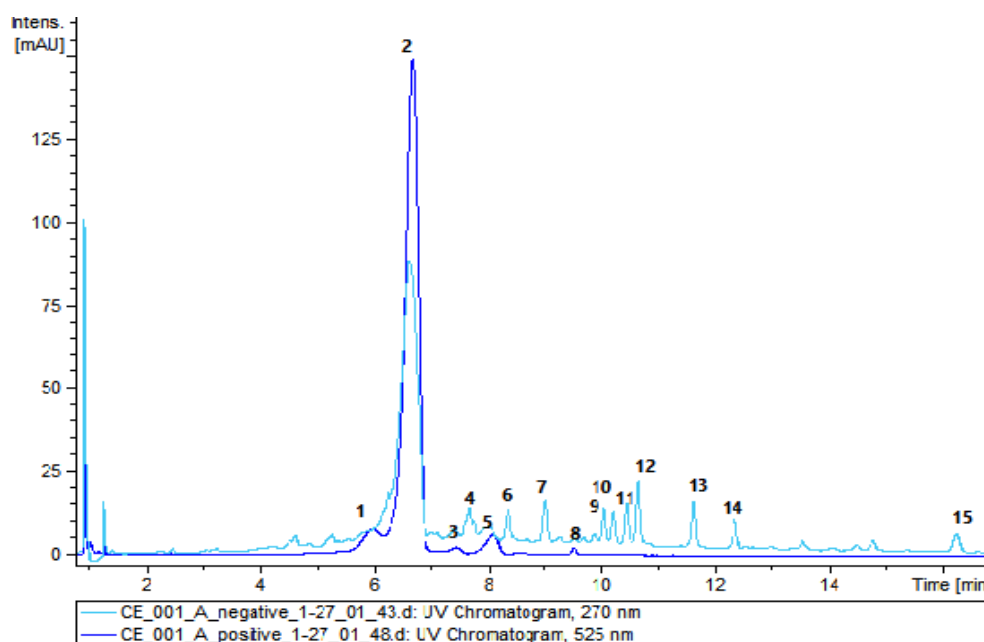
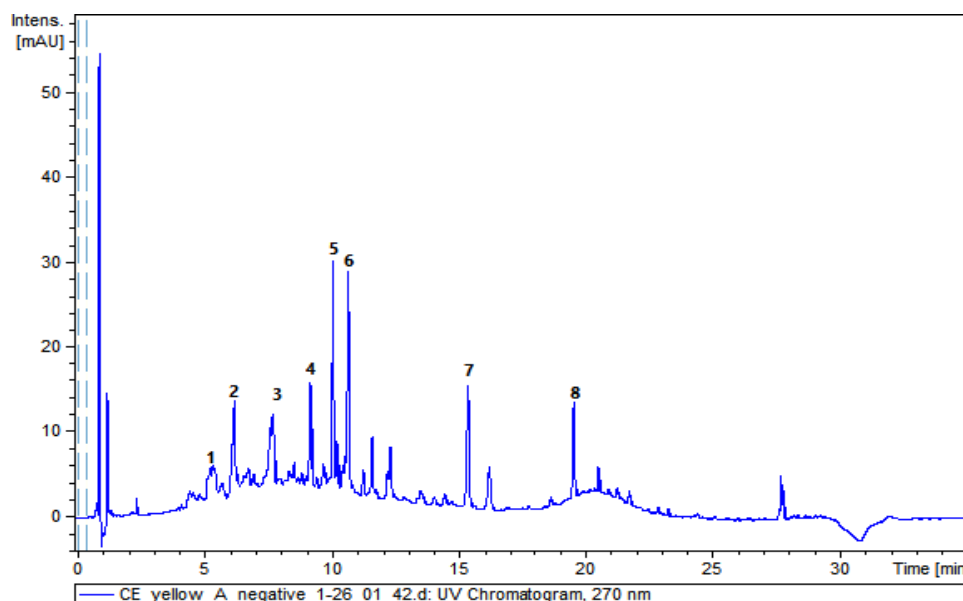


Figura 10. Cromatograma obtido por LC-DAD ( $\lambda=270$  nm) para a cereja-do-rio-grande CE057 (Ibitinga/SP)



Fonte: a autora

Quatro antocianinas foram identificadas. O pico 1 e pico 2 foram identificados como cianidina hexosídeo, apresentando íon molecular a  $m/z$  449 e fragmento MS2 a  $m/z$  287, característico de cianidina, formada pela perda neutra 162 Da (hexose) (SILVA et al., 2014). O pico 1 e 2 foram, assim, identificados como cianidina-galactosídeo (Anexo 1), confirmada por padrão interno e cianidina-glucosídeo (Anexo 2), confirmada por ordem de eluição. O pico 5 apresenta íon molecular a  $m/z$  419 e fragmento MS2 a  $m/z$  287, sugerindo que a cianidina pentosídeo ( $[M]^+-132$ ) pode ser uma unidade de xilose ou arabinose (Anexo 6) (TEIXEIRA et al., 2015). O pico 8 foi identificado como cianidina aglicona (Anexo 7), apresentando um íon molecular a  $m/z$  287 e fragmento MS2 a  $m/z$  137 característico (COELHO, 2011).

Os picos 1 e 2 da cereja-do-rio-grande amarela e os picos 3 e 4 da cereja-do-rio-grande vermelha apresentaram o mesmo íon molecular a  $m/z$  289, e fragmento MS2 a  $m/z$  125 e identificado como os isômeros catequina (Anexo 4), confirmado por padrão interno e epicatequina (Anexo 5), confirmado pela ordem de eluição (TEIXEIRA et al., 2015).

O pico 2 da cereja-do-rio-grande amarela co-eluiu e também apresentou íon molecular a  $m/z$  447 e fragmento MS2 a  $m/z$  285, característico de kaempferol, com perda neutra de 162 Da correspondente a uma hexose, assim identificado como kaempferol-hexosídeo (Anexo 3).

O pico 9 da cereja-do-rio-grande vermelha foi identificado como quercetina rutinosídeo (Anexo 8), apresentando íon molecular a  $m/z$  609 e fragmento MS2 a  $m/z$  301, correspondente à perda de 308 Da (perda do resíduo de uma hexose e de uma pentose), atribuída à aglicona quercetina (CARREIRA, 2015). Os picos 4 e 5 da cereja-do-rio-grande vermelha e o pico 12 da cereja-do-rio-grande amarela foram identificados como quercetina hexosídeos, apresentando íon molecular a  $m/z$  463 e fragmento MS2 a  $m/z$  301, correspondente à quercetina após perda de uma unidade de hexose ( $[M - H]^- - 162$  Da), e um segundo fragmento a  $m/z$  151.

De acordo com a ordem de eluição, os picos 4 e 5 foram identificados como quercetina-galactosídeo (Anexo 9) e quercetina-glucosídeo (TEIXEIRA et al., 2015). Em suma, na Tabela 5 são apresentados os compostos propostos, seus tempos de retenção e a numeração do pico.

A classe de compostos fenólicos dos acessos de cereja-do-rio-grande vermelha que teve maior quantificação foi a classe das antocianinas, a qual variou de 22,09 (CE001 – Piracicaba/SP) a 63,92 (CE030 – Jundiaí/SP) mg/100 g de b.u. Em especial, a antocianina mais expressiva foi a cianidina-3-O-glucosídeo, a qual contribuiu com 83-96% do total de antocianina em todos os acessos.

A cereja-do-rio-grande amarela (CE057 – Ibitinga/SP), também é rica em compostos fenólicos, mas da classe flavanol, a qual representa 82,27% do total de flavonoides quantificados (Tabela 5). Dentro desta classe, o flavonoide majoritariamente quantificado foi a quercetina-pentosídeo (isômero 1).

De acordo com as nossas quantificações, nesta safra a melhor região para se plantar cereja-do-rio-grande vermelha foi o corredor entre Salesópolis/SP (CE033) e Campestre/MG (CE058), os quais apresentaram os maiores valores de conteúdo de compostos fenólicos, 127,83 a 100,04 mg / 100 g de b.u., respectivamente. Todavia, é importante ressaltar que não houve diferença estatística entre os acessos ( $p < 0,05$ ).

Diante dos dez acessos de cereja-do-rio-grande, quando comparada as duas classes de compostos fenólicos, a classe majoritária é a de elagitaninos (Figura 11), cujo conteúdo variou de 34,54 mg (CE057 – Ibitinga/SP) a 175,39 mg / 100 g de b.u. (CE035 – Salesópolis/SP). A melhor região para o conteúdo de elagitaninos é a de Salesópolis/SP.

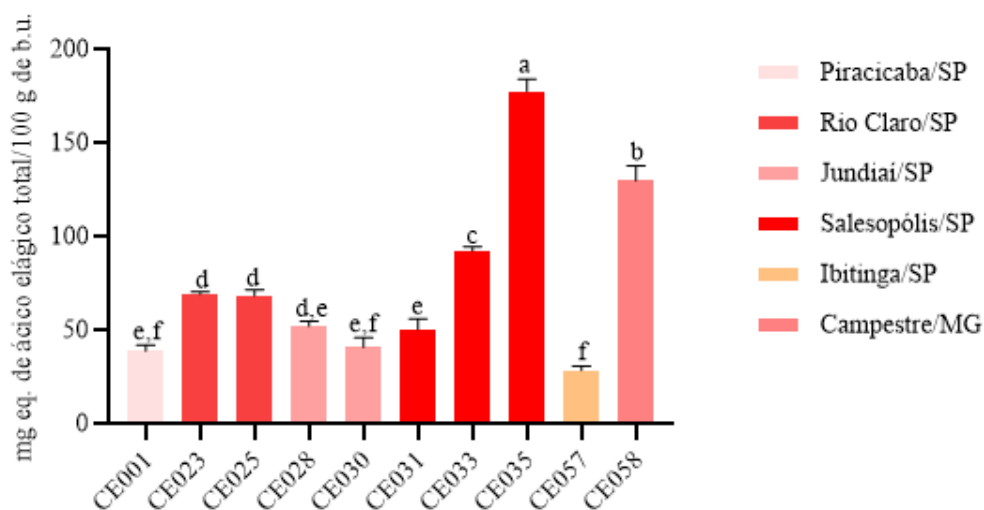
Tabela 5. Espectro de massas de compostos fenólicos obtidos por LC\_ESI-qTOF/MS/MS e conteúdo dos compostos fenólicos em cada acesso de cereja-do-rio-grande coletadas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga/SP e Campestre/MG.

CLASSE	IDENTIFICAÇÃO			ACESSOS MG DE COMPOSTO/100 G DE B.U.										
	COMPOSTO	[M]+	[M-H]-	MS/MS	CE001	CE023	CE025	CE028	CE030	CE031	CE033	CE035	CE057	CE058
<b>ÁCIDO FENÓLICO</b>	Ácido elágico		301	151	0,2 ± 0,01	2,2 ± 1,27	1,91 ± 0,41	1,74 ± 0,11	1,98 ± 0,52	0,76 ± 0,06	1,2 ± 0,12	1,39 ± 0,07	1,36 ± 0,63	12,72 ± 0,89
	<b>ÁCIDO FENÓLICO TOTAL</b>				<b>0,17</b>	<b>2,18</b>	<b>1,91</b>	<b>1,74</b>	<b>1,98</b>	<b>0,76</b>	<b>1,20</b>	<b>1,39</b>	<b>1,36</b>	<b>12,72</b>
<b>ANTOCIANINAS</b>	Cianidina galactosídeo	449,1016	-	287,0504	0,6 ± 0,03	3,12 ± 0,47	5,45 ± 3,83	4,14 ± 4,14	12,64 ± 3,01	4,12 ± 1,75	1,54 ± 0,31	0,98 ± 0,1	nd	3,66 ± 0,85
	Cianidina glucosídeo	449,1017	-	287,055	20,6 ± 1,23	26,9 ± 3,45	37,73 ± 0,17	29,68 ± 2,61	46,46 ± 14,39	28,02 ± 5,76	32,22 ± 6,78	34,38 ± 0,55	nd	53,51 ± 1,57
	Cianidina pentosídeo	419,0901	-	287,0499	nd	6,3 ± 1,37	nd	nd	4,18 ± 4,18	nd	nd	nd	nd	nd
	Cianidina aglicona	287,0504	-	137,0235	0,9 ± 0,32	0,4 ± 0,04	nd	1,55 ± 0,08	0,65 ± 0,23	nd	0,1 ± 0,1	0,13 ± 0,13	nd	1,88 ± 0,08
	<b>ANTOCIANINAS TOTAL</b>				<b>22,09</b>	<b>36,60</b>	<b>43,19</b>	<b>35,37</b>	<b>63,92</b>	<b>32,15</b>	<b>33,86</b>	<b>35,49</b>	<b>0,00</b>	<b>59,05</b>
<b>FLAVAN-3-OL</b>	Catequina	-	289,0926	151,0523	2,8 ± 0,9	14,7 ± 1,98	nd	0,93 ± 0,93	nd	nd	nd	2,68 ± 1,16	3,41 ± 1,3	nd
	Epicatequina	-	289,0663	123,043	1,2 ± 0,02	nd	nd	nd	nd	nd	3,39 ± 0,8	12,06 ± 0,95	2,08 ± 0,59	5,6 ± 5,09
	<b>FLAVAN-3-OL TOTAL</b>				<b>3,98</b>	<b>14,71</b>	<b>0,00</b>	<b>0,93</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>3,39</b>	<b>14,74</b>	<b>5,49</b>	<b>5,60</b>
<b>FLAVANOL</b>	Kaempferol hexosídeo	-	447,1228	284,0516	0,9 ± 0,24	1,9 ± 0,21	0,86 ± 0,03	1,17 ± 0,11	3,36 ± 0,81	3 ± 0,49	1,81 ± 0,31	4,95 ± 0,17	0,8 ± 0,34	0,96 ± 0,02
	Quercetina-3-rutinosídeo	-	609,1894	300,0483	0,3 ± 0,3	3,1 ± 0,3	5,18 ± 0,14	3,73 ± 0,25	9,07 ± 2,19	3,17 ± 0,51	2,58 ± 0,37	5,52 ± 0,07	1,56 ± 0,66	8,14 ± 0,01
	Quercetina-3-O-glucosídeo	-	463,1184	300,0471	0,9 ± 0,28	0,7 ± 0,07	5,33 ± 0,63	nd	3,64 ± 0,85	0,72 ± 0,11	42,5 ± 13,99	1,48 ± 0,05	1,41 ± 0,3	9,64 ± 0,11
	Quercetina pentosídeo 1	-	433,1072	300,0484	0,8 ± 0,25	40,1 ± 4,44	1,67 ± 0,08	nd	5,07 ± 1,24	nd	42,5 ± 13,99	nd	27,98 ± 4,2	1,31 ± 0,71
	Quercetina pentosídeo 2	-	433,1072	300,0484	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,61 ± 0,02
<b>FLAVANOL TOTAL</b>				<b>2,89</b>	<b>45,85</b>	<b>13,04</b>	<b>4,90</b>	<b>21,14</b>	<b>6,89</b>	<b>89,38</b>	<b>11,95</b>	<b>31,75</b>	<b>22,66</b>	
<b>COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS</b>					<b>29,13<sup>b</sup></b>	<b>99,34<sup>ab</sup></b>	<b>58,14<sup>b</sup></b>	<b>42,93<sup>b</sup></b>	<b>87,04<sup>ab</sup></b>	<b>39,8<sup>b</sup></b>	<b>127,83<sup>a</sup></b>	<b>63,57<sup>b</sup></b>	<b>38,59<sup>b</sup></b>	<b>100,04<sup>ab</sup></b>

O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05). \*Identidade comparada com o tempo de retenção. \*\* Nd – não detectado



Figura 11. Conteúdo de elagitaninos de cerejas-do-rio-grande coletas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.

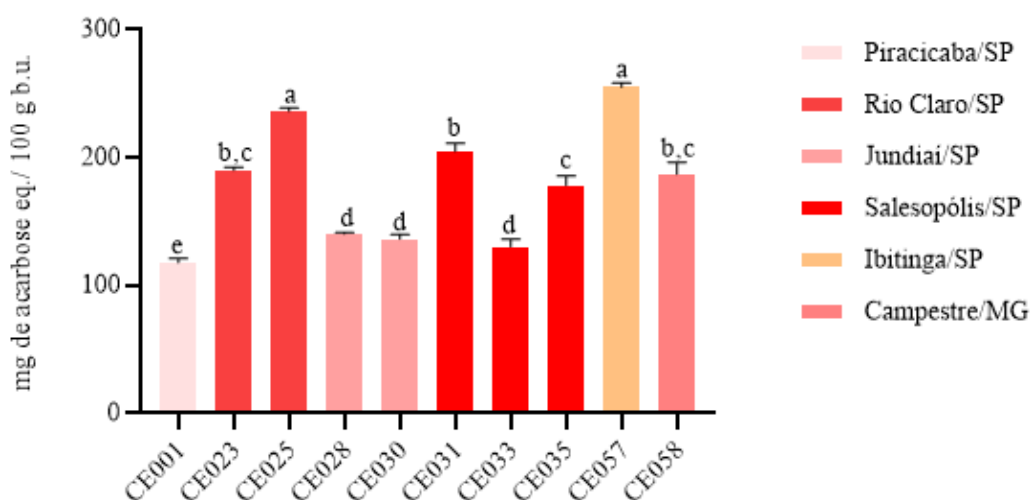


Os valores são expressos como ácido elágico total e em base úmida, O teste estatístico foi ANOVA com pós Teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

#### 5.1.4. Atividade inibitória de $\alpha$ -amilase

A atividade de inibição dos 10 extratos metanólicos de cerejas-do-rio-grande foi avaliada sobre a enzima  $\alpha$ -amilase (Figura 12). Os resultados mostraram todos possuem valores maiores que 100 mg de acarbose equivalente. O acesso que próximo desse valor foi a CE001 (Piracicaba/SP), destaque positivo para o acesso CE057 (Ibitinga/SP).

Figura 12. Atividade de inibição de  $\alpha$ -amilase das cerejas-do-rio-grande coletas nas regiões de Piracicaba, Rio Claro, Jundiaí, Salesópolis, Ibitinga em São Paulo e Campestre/MG.



Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós Teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

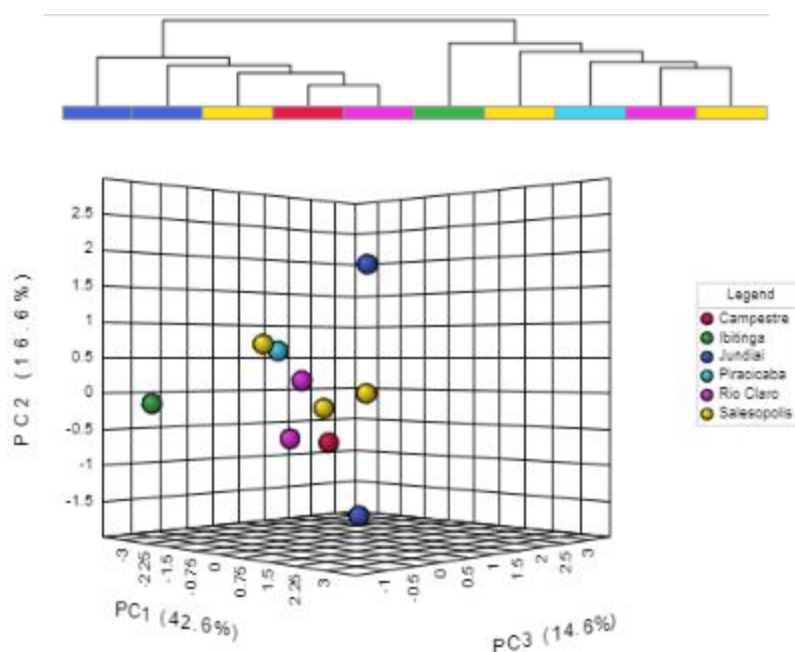
### 5.1.5. Análise multivariada

A análise estatística do componente principal foi realizada para agrupar os diferentes acessos. Observa-se que a PCA (Figura 13), revelou que três componentes respondem mais de 73,8% do modelo (42,6%, 16,6%, 14,6% - PC1, PC2, PC3 respectivamente). Neste retrato temporal (2018) da produção de cereja-do-rio-grande, foram formados dois grandes grupos com cinco acessos de cada lado.

O primeiro grupo foi formado pelos acessos CE025, CE028, CE030, CE033 e CE058 que se agrupam por possuírem valores muito similares nas análises de massa, açúcares solúveis, antocianinas monoméricas, fenólicos totais e o mais importantes valores mais altos de inibição de  $\alpha$ -amilase.

Já o segundo grupo foi formado pelos acessos CE001, CE023, CE031, CE035 e CE057 que se agruparam por possuírem valores muito similares na análise de massa, e nas quantificações de ácido elágico total e da família flavon-3-ol. Outro ponto a ser destacado é que todos os acessos na inibição de  $\alpha$ -amilase foram baixos quando comparados com os acessos que formam o grupo 1.

Figura 13. Gráfico de pontuação 3D entre os CPs selecionados.



As variações explicadas são mostradas entre colchetes.

## 5.2. Uvaia

### 5.2.1. Características físicas e açúcares solúveis

O peso médio dos frutos de uvaia no estágio maduro variou de 1,12 g (UV036 – Cabo Verde/MG) a 31,95 g (UV068 – Cabo Verde/MG), valor 29 vezes superior. Os frutos fornecidos pelo pomar comercial situado em Cabo Verde/MG apresentaram os maiores valores médios de massa quando comparados aos coletados na região de Rio Claro/SP (Tabela 6). As proporções da polpa e casca em relação ao peso total do fruto variaram de 81% a 93%, porém no quesito de proporção da polpa, os frutos de Rio Claro apresentam a melhor proporção.

Tabela 6. Massa média de uvaia coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG.

Acessos	Massa fresca (g)	Porcentagem (%) média de polpa + casca
UV Comum	3,44 ± 1,68 <sup>c</sup>	93
UV Dura	22,51 ± 6,28 <sup>a,b</sup>	93
UV Pato de minas	17,35 ± 8,75 <sup>a,b</sup>	93
UV Pera	19,31 ± 8,65 <sup>b</sup>	90
UV032	16,47 ± 0,87 <sup>b</sup>	81
UV036	1,12 ± 0,22 <sup>c</sup>	87
UV043	15,10 ± 0,76 <sup>b</sup>	82
UV044	15,28 ± 0,27 <sup>b</sup>	87
UV048	11,01 ± 0,40 <sup>b</sup>	82
UV049	21,19 ± 1,58 <sup>a,b</sup>	86
UV068	31,95 ± 0,78 <sup>a</sup>	84
UV072	10,81 ± 0,82 <sup>b</sup>	85
UV077	26,08 ± 2,92 <sup>a,b</sup>	89
UV080	22,36 ± 0,31 <sup>a,b</sup>	92
UV085	16,46 ± 0,36 <sup>b</sup>	83

Resultados expressos g com média ± desvio padrão (n=10). Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05).

Embora todos os açúcares solúveis (sacarose, frutose e glicose) foram encontrados em conteúdo significativo nos quinze acessos de uvaia (Tabela 7), a frutose foi o mais expressivo, cujo teor variou de 964,3 a 2.540,2 mg/ 100 g de b.u. Já a concentração da sacarose, importante marcador de amadurecimento, apresentou aproximadamente metade da concentração de glicose e frutose.

Tabela 7. Conteúdo de açúcares solúveis de uvaías coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG.

Acessos	Glicose	Frutose	Sacarose	Total
UV Comum	1.173,6±1,3	1.274,4±1,2	826,2±0,9	3.274,3±1,1 <sup>b</sup>
UV Dura	2.419,4±0,3	2.425,1±0,7	1.166,7±1,2	6.011,2±0,7 <sup>a</sup>
UV Pato de minas	695,2±0,7	1.111,7±0,6	2.453,6 ±1,4	4.260,5±0,9 <sup>a,b</sup>
UV Pera	2.419,4±0,3	2.425,1±0,4	1.166,7±0,4	6.011,2±0,4 <sup>a,b</sup>
UV032	835,4±0,4	1.219,6±0,8	862,2±0,7	2.917,3±0,6 <sup>b</sup>
UV036	751,4±0,3	964,3±0,3	129,3±0,1	1.845,0±0,2 <sup>b</sup>
UV043	959,7±0,6	1.190,2±1,0	612,3±0,4	2.762,2±0,6 <sup>b</sup>
UV044	2.162,9±0,1	2.540,2±0,1	1.421,5±0,1	6.124,6±0,1 <sup>a</sup>
UV048	1.726,6±1,2	2.207,9±0,1	896,2±0,7	4.830,6±0,6 <sup>a,b</sup>
UV049	1.369,3±0,1	1.766,2±0,1	1.403,5±0,4	4.538,9±0,2 <sup>a,b</sup>
UV068	1.951,8±0,7	2.226,3±1,1	1.535,4±0,2	5.713,5±0,6 <sup>a</sup>
UV072	775,4±0,4	902,7±0,4	1.292,2±0,7	2.970,3±0,7 <sup>b</sup>
UV077	1.512,3±0,8	1.789,3±1,2	1.827,8±0,3	5.129,5±0,7 <sup>a,b</sup>
UV080	1.071,7±0,2	1.461,6±0,3	1.176,7±1,2	3.709,9±0,5 <sup>a,b</sup>
UV085	1.537,3±0,8	1.857,0±1,1	814,7±0,5	4.209,0±0,8 <sup>a,b</sup>

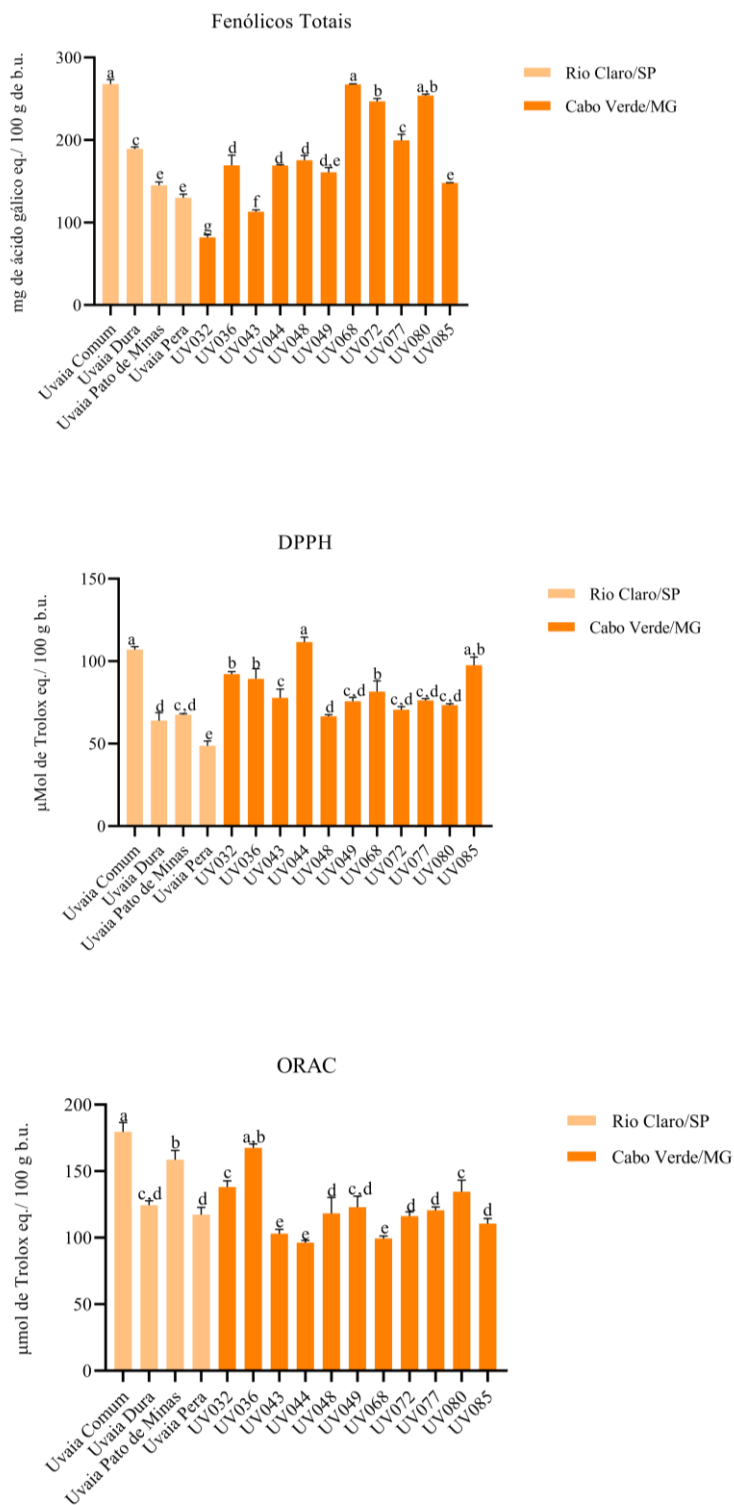
\*Resultados expressos em mg de açúcar solúvel em 100 g de b.u. com média ± desvio padrão. Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.2. Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante dos frutos de uvaia também foi avaliada por três métodos diferentes sendo eles: (a) capacidade redutora do Folin-Ciocalteu comumente conhecido como fenólicos totais, (b) sequestro de radicais livres do DPPH e, (c) capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC).

Quanto ao conteúdo de fenólicos totais (FT), observou-se diferentes valores entre todos os acessos, cuja variação constatada foi de 77,32 (UV032 – Cabo Verde/MG) a 267,86 (Uvaia Comum – Rio Claro /SP) mg AG eq./ 100 g b.u, com todos os frutos no estágio maduro (Figura 14). Entre as duas cidades, os frutos de uvaia que apresentaram as maiores concentrações de FT foram os de Rio Claro/SP, com média aritmética de 178,59 mg AG eq./ 100 g b.u frente a 176,37 mg AG eq./ 100 g b.u de Cabo Verde/MG.

Figura 14. Conteúdo de fenólicos totais (FT), capacidade antioxidante (B) analisada pelos métodos DPPH e ORAC de uvaías coletadas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG.



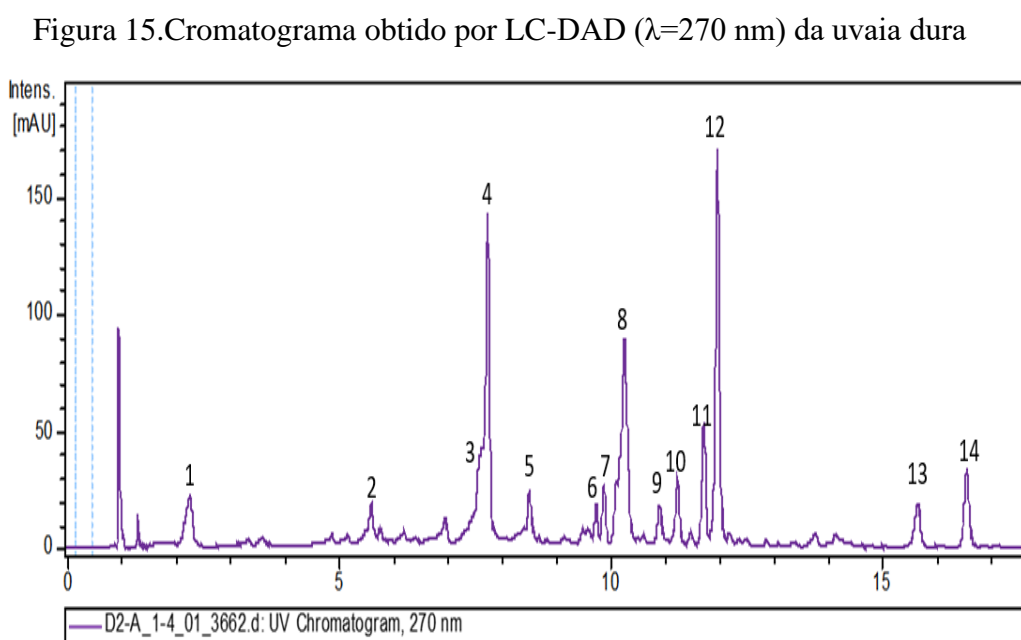
O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

A capacidade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH e ORAC não seguiu a mesma linha observada para o conteúdo de FT, onde as uvaías de Cabo Verde/MG apresentaram maior valor em ambos os métodos. Os quinze acessos apresentaram variação de capacidade antioxidante de 48,72 (Uvaia Pera – Rio Claro/SP) a 105,98 (UV085 – Cabo Verde/MG)  $\mu\text{mol Trolox eq./100 g b.u.}$  e 96,32 (UV044 – Cabo Verde/MG) a 179,55 (UV Comum – Rio Claro/SP)  $\mu\text{mol Trolox eq./100 g b.u.}$  para os métodos DPPH (Figura 14) e ORAC (Figura 14), respectivamente.

Foi observado um coeficiente de correlação de Pearson moderado entre o teor de fenólicos totais e os valores de DPPH ( $r = 0,66$ ), bem como uma correlação moderada com os valores de ORAC ( $r = 0,63$ ).

### 5.2.3. Identificação e conteúdo de compostos fenólicos

O cromatograma dos compostos fenólicos do acesso de uvaia dura é apresentado na Figura 15. O número do pico é correspondente ao composto descrito na Tabela 8 e 9. Treze compostos foram identificados, pertencentes a três classes de compostos fenólicos (a) um ácido fenólico; (b) cinco flavon-3-ol e (c) sete flavanol.



Fonte: a autora

O pico 1 apresenta íon molecular de  $m/z$  169 e fragmento MS2 com  $m/z$  125, cuja perda de  $m/z$  44 representa a fragmentação do grupo funcional carboxila ( $-\text{COO}^-$ ), desta forma, sendo identificado como ácido gálico (Anexo 15) (SILVA et al., 2014).

Os picos 2 e 5 possuem íon molecular a  $m/z$  305, correspondendo às unidades galocatequina ou (epi)galocatequina (Anexo 11), e fragmento MS2 a  $m/z$  219. Sua fragmentação característica continua nos íons em  $m/z$  261, 221, 219, 179, 167 e 165, de acordo com as perdas de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2$ ,  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$ ,

$C_7H_6O_3$  e  $C_7H_8O_3$ , respectivamente. A perda de  $C_4H_4O_2$  e  $C_4H_6O_2$  foram devidas à clivagem do anel A do flavan-3-ol e a perda de  $C_6H_6O_3$ , devido à fissão do anel heterocíclico (SUN et al., 2007).

O pico 4 apresenta íon molecular a  $m/z$  289 e foi identificado como epicatequina (Anexo 12), uma vez que apresenta o mesmo tempo de retenção do pico 2 da cereja-do-rio-grande amarela. Por sua vez, o pico 6 foi identificado como dímero de procianidinab (Anexo 13), apresentando íon molecular a  $m/z$  729 e gerando fragmento MS2 a  $m/z$  577 ( $[M-H-152]^-$ ), correspondente a perda de um grupo galoil (ROCKENBACH et al., 2012).

O pico 9 foi identificado como (Epi)catequina-galato (Anexo 16), e apresenta íon molecular a  $m/z$  441 e fragmento MS2 a  $m/z$  289 e 169, que correspondem ao íon desprotonado da catequina (ou epicatequina) e ácido gálico, respectivamente (SUN et al., 2007).

O pico 7 foi identificado como quercetina rutnosídeo (Anexo 14), apresentando íon molecular a  $m/z$  609. O pico base a  $m/z$  301 corresponde à perda de 308 Da (perda do resíduo de uma hexose e de uma pentose), sendo atribuído à aglicona quercetina (CARREIRA, 2015).

Já o pico 8 foi identificado como miricetina hexosídeo (Anexo 15) e apresenta íon molecular a  $m/z$  463 e fragmento MS2 a  $m/z$  316, característico de miricetina. A perda neutra de 146 Da corresponde a um hexosídeo (glicose ou galactose). (SILVA et al., 2014).

O pico 10 foi identificado como quercetina hexosídeo (Anexo 17), apresentando íon molecular a  $m/z$  463 e MS2 a  $m/z$  301, característico de quercetina. A perda neutra correspondente à 162 Da e o resíduo de um hexosídeo (SILVA et al., 2014a).

Os picos 11, 12 e 13 foram identificados como quercetinas pentosídeo (Anexo 18), cujos fragmentos de massa a  $m/z$  301 são característicos do flavanol quercetina. A perda neutra de 132 Da, correspondente a um pentosídeo (xilose ou arabinose) (SILVA et al., 2014a).

O pico 14 foi identificado como quercetina glicurônideo (Anexo 19), e apresenta íon molecular a  $m/z$  477 e fragmento MS2 a  $m/z$  301, característico de quercetina. A perda neutra de 176 Da corresponde a molécula do ácido glicurônideo (SILVA et al., 2014a). Os íons moleculares e seus fragmentos estão anexados neste trabalho na Tabelas 8 e 9.

Entre as uvaías dos municípios de Rio Claro/SP (Tabela 8) e Cabo Verde/MG (Tabela 9), as uvaías de MG apresentaram os maiores conteúdos de flavonoides, variando de 0,83 (UV080 – Cabo Verde/MG) a 52,34 mg / 100 g de b.u. (UV044 – Cabo Verde/MG). Dentre as duas classes de flavonoides identificadas na uvaía, a majoritária em ambas cidades foi a classe do flavanol, representando 67,0% do total. O composto fenólico quercetina (somatório de todas as identificações), em especial, representa mais de 95% do total quantificado.

Dentre os compostos fenólicos quantificados, o que apresentou maior conteúdo foi o de elagitaninos (Figura 16), quando comparado com flavonoides, variando de 41,20 mg (Uvaia Pera – Rio Claro/SP) a 501,65 mg / 100 g de b.u. (UV080 – Cabo Verde/MG).



**Tabela 8.** Espectro de massas de compostos fenólicos obtidos por LC\_ESI-qTOF/MS/MS e conteúdo dos compostos fenólicos dos acessos de uvaia de Rio Claro/SP.

CLASSE	IDENTIFICAÇÃO			ACESSOS MG DE COMPOSTO/100G DE B.U.			
	COMPOSTO	[M-H]-	MS/MS	Uvaia Comum	Uvaia Dura	Uvaia Pato de Minas	Uvaia Pera
<b>ÁCIDO FENÓLICOS</b>	Ácido elágico*			nd	nd	nd	nd
	<b>ÁCIDO FENÓLICOS TOTAL</b>			<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
<b>ELAGITANINOS</b>	Dímero de proantocianidina	729,1888	577,1689	nd	0,1±0,0	0,3±0,0	0,1±0,0
	<b>ELAGITANINOS TOTAIS</b>			<b>0,0</b>	<b>0,1</b>	<b>0,3</b>	<b>0,1</b>
<b>FLAVAN-3-OL</b>	(Epi)Galocatequina*	305,0867	218,0801	2,7±0,2	nd	nd	nd
	Catequina	289,0903	151,0509	0,7±0,4	nd	nd	nd
	(Epi)Galocatequina Galato*	457,1086	305,0874	0,7±0,4	1,1±0,1	0,8±0,0	0,6±0,0
	Galato de (epi)catequina*	441,1135	169,0262	nd	nd	nd	nd
	<b>FLAVAN-3-OL TOTAL</b>			<b>4,1</b>	<b>1,1</b>	<b>0,8</b>	<b>0,6</b>
<b>FLAVONOL</b>	Quercetina-3-rutinosídeo	609,1876	300,0487	nd	nd	0,2±0,0	nd
	Miricetina hexosídeo	463,1203	316,0442	nd	nd	0,3±0,1	nd
	Quercetina-3-glicosídeo	463,1192	300,0484	0,4±0,0	0,2±0,0	0,2±0,0	0,2±0,1
	Quercetina pentosídeo	433,1072	300,0484	1,1±0,1	0,2±0,0	3,8±0,6	0,1±0,0
	Quercetina pentosídeo	433,1072	300,0484	nd	0,1±0,0	1,6±0,3	0,2±0,0
	Quercetina pentosídeo	433,1072	300,0484	nd	0,3±0,0	2,8±0,4	nd
	Quercetina-3-O-ramnosídeo	447,122	300,0475	nd	0,5±0,1	0,2±0,0	nd
	<b>FLAVONOL TOTAL</b>			<b>1,5</b>	<b>1,3</b>	<b>9,1</b>	<b>0,5</b>
<b>COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS</b>				<b>5,6<sup>d</sup></b>	<b>2,5<sup>d</sup></b>	<b>10,2<sup>cd</sup></b>	<b>1,2<sup>d</sup></b>

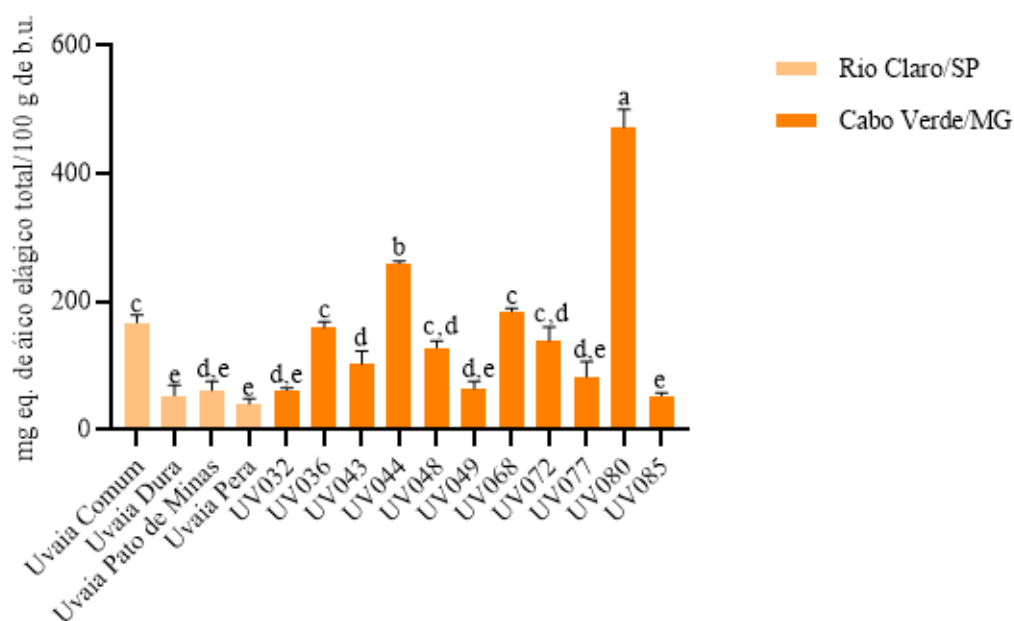
Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05). \*Identidade comparada com o tempo de retenção. \*\* Nd – não detectado

**Tabela 9.** Espectro de massas de compostos fenólicos obtidos por LC\_ESI-qTOF/MS/MS e conteúdo dos compostos fenólicos dos acessos de uvaia de Cabo Verde/MG.

CLASSE	IDENTIFICAÇÃO			ACESSOS MG DE COMPOSTO/100G DE B.U.										
	COMPOSTO	[M-H] <sup>-</sup>	MS/MS	UV032	UV036	UV043	UV044	UV048	UV049	UV068	UV072	UV077	UV080	UV085
<b>ÁCIDO FENÓLICOS</b>	Ácido elágico*			nd	nd	nd	nd	nd	nd	10,1±0,2	9,3±1,5	nd	nd	nd
	<b>ÁCIDO FENÓLICOS TOTAL</b>			<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>10,1</b>	<b>9,3</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
<b>ELAGITANINOS</b>	Dímero de proantocianidina	729,1888	577,1689	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,2±0,0	nd	nd	nd
	<b>ELAGITANINOS TOTAIS</b>			<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,2</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>
<b>FLAVAN-3-OL</b>	(Epi)Galocatequina*	305,0867	218,0801	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Catequina	289,0903	151,0509	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	(Epi)Galocatequina Galato*	457,1086	305,0874	0,4±0,0	1±0,2	0,5±0,1	17,1±1,7	0,5±0,1	0,4±0,0	0,4±0,0	0,6±0,2	0,7±0,1	0,4±0,1	0,4±0,0
	Galato de (epi)catequina*	441,1135	169,0262	nd	nd	nd	nd	nd	0,4±0,0	10,1±0,2	9,3±1,5	nd	nd	nd
	<b>FLAVAN-3-OL TOTAL</b>			<b>0,4</b>	<b>1,0</b>	<b>0,5</b>	<b>17,1</b>	<b>0,5</b>	<b>0,8</b>	<b>10,5</b>	<b>9,9</b>	<b>0,7</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>
<b>FLAVONOL</b>	Quercetina-3-rutinosídeo	609,1876	300,0487	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Miricetina hexosídeo	463,1203	316,0442	nd	nd	nd	11,3±0,2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Quercetina-3-glicosídeo	463,1192	300,0484	0,2±0,0	1,6±0,1	nd	0,3±0,0	nd	0,3±0,1	0,2±0,0	0,1±0,0	0,4±0,1	nd	0,2±0,0
	Quercetina pentosídeo	433,1072	300,0484	0,4±0,1	0,4±0,0	0,5±0,1	1,5±0,0	nd	0,3±0,1	0,4±0,0	0,6±0,2	0,3±0,1	nd	0,3±0,1
	Quercetina pentosídeo	433,1072	300,0484	1,3±0,0	0,9±0,0	0,3±0,0	0,6±0,0	0,5±0,0	0,6±0,1	0,5±0,0	0,3±0,1	0,5±0,1	0,1±0,0	0,6±0,1
	Quercetina pentosídeo	433,1072	300,0484	nd	1,3±0,1	0,5±0,0	1±0,0	0,9±0,1	9,2±0,2	1,6±0,1	0,7±0,2	0,7±0,1	0,3±0,0	1,4±0,0
	Quercetina-3-O-ramnosídeo	447,122	300,0475	nd	nd	1,8±0,1	0,3±0,0	3,5±0,2	nd	nd	9,3±1,5	7,8±0,3	nd	nd
	<b>FLAVONOL TOTAL</b>			<b>1,9</b>	<b>4,2</b>	<b>3,2</b>	<b>14,9</b>	<b>5,0</b>	<b>10,3</b>	<b>2,7</b>	<b>11,1</b>	<b>9,7</b>	<b>0,4</b>	<b>2,5</b>
<b>COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS</b>			<b>2,3<sup>d</sup></b>	<b>5,6<sup>d</sup></b>	<b>3,7<sup>d</sup></b>	<b>32,1<sup>a</sup></b>	<b>5,4<sup>d</sup></b>	<b>11,1<sup>c</sup></b>	<b>23,2<sup>b</sup></b>	<b>30,5<sup>a</sup></b>	<b>10,4<sup>c</sup></b>	<b>0,8<sup>e</sup></b>	<b>2,9<sup>d</sup></b>	

Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si (p<0,05). \*Identidade comparada com o tempo de retenção. \*\* Nd – não detectado

Figura 16. Conteúdo de elagitaninos de uvaia coletas nas regiões de Rio Claro/SP e Cabo Verde/MG.

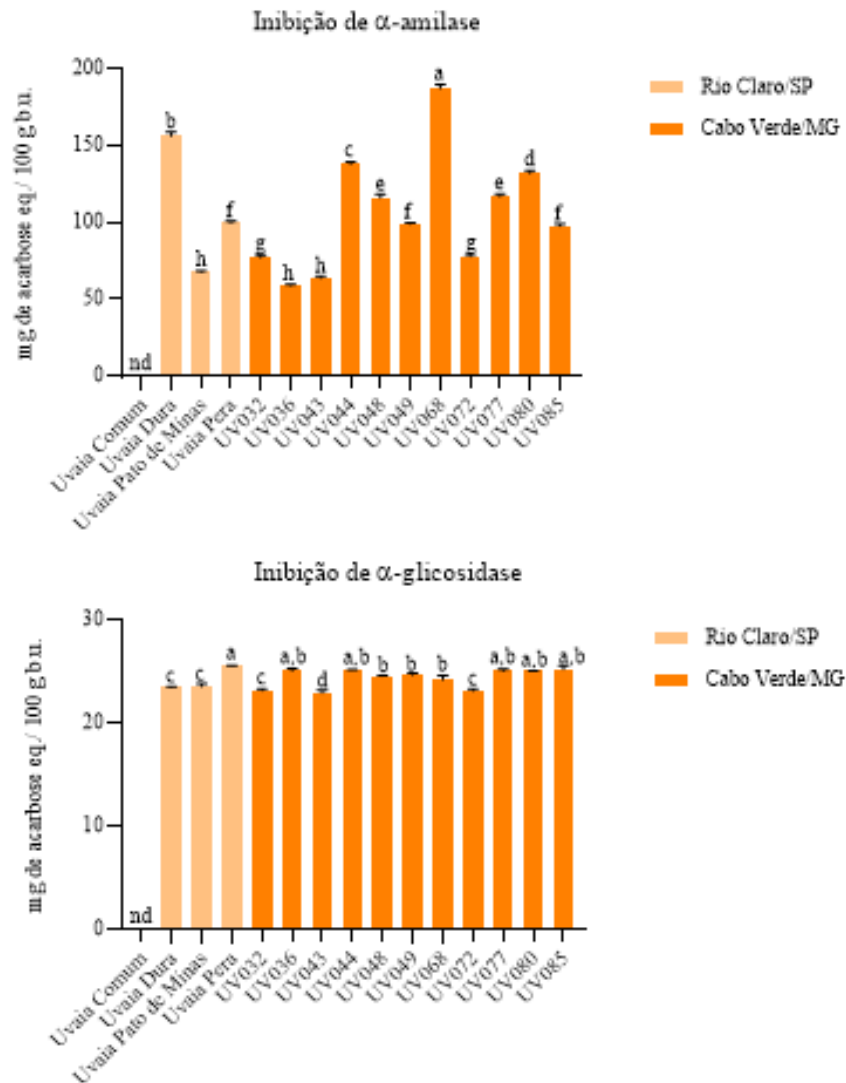


Os valores são expressos em ácido elágico total e como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

#### 5.1.4. Atividade inibitória de $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase

A atividade de inibição dos 14 extratos metanólicos da uvaia sobre a enzima  $\alpha$ -amilase pode ser observado na Figura 17, é importante ressaltar que não tivemos resultados com a uvaia comum, pois, não existia mais amostra da fruta da safra de 2018. Para os ensaios de inibitórios de  $\alpha$ -amilase os resultados mostraram que apenas 14% dos acessos possuem mais de 150 mg de acarbose equivalente. A variação da inibição de  $\alpha$ -amilase variou de 59,07 (UV036 – Cabo Verde/MG) a 187,64 (UV068 – Cabo Verde/MG) mg de acarbose em 100 g de b.u.

Figura 17. Atividade de inibição de  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase das uvaías coletas nas regiões de Rio Claro /SP e Cabo Verde/MG.



Os valores são expressos como base úmida. O teste estatístico foi ANOVA com pós teste de Tuckey, letras iguais não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

Para os ensaios de inibitórios de  $\alpha$ -glicosidase os resultados mostraram pouca diferença estatística, os valores variaram de 22,95 (UV043 – Cabo Verde/MG) a 25,53 (Uvaia Pera – Rio Claro/SP) mg de acarbose em 100 g de b.u. É importante notar que

acessos que obtiveram um baixo valor de inibição de  $\alpha$ -amilase como foi o caso do acesso da Uvaia Pera obteve um alto valor de inibição de  $\alpha$ -glicosidase.

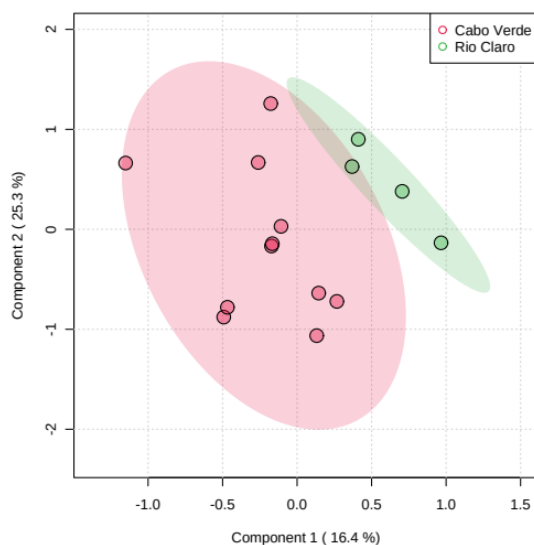
### 5.2.5. Análise multivariada

A análise estatística do componente principal foi realizada para agrupar os diferentes acessos. Observa-se que a PCA (Figura 18), corrobora com resultados da literatura mostrando que as condições edafoclimáticas podem estar associadas ao agrupamento e conseqüentemente a produção de compostos fenólicos. A PCA revelou que dois eixos respondem 41,7% (16,4% e 25,3%, PC1 e PC2 respectivamente).

A análise estatística do componente principal foi realizada para agrupar os diferentes acessos. Observa-se que a PCA (Figura 18), revelou que dois componentes respondem mais de 41,7% do modelo (16,4% e 25,3% - PC1 e PC2, respectivamente). Neste retrato temporal (2018) da produção de uvaia, foram formados dois grandes grupos com 4 acessos do lado de Rio Claro/SP e 11 acessos do lado da Cabo Verde/MG.

O primeiro grupo foi formado pelos acessos de Rio Claro/SP que se agrupam por possuírem valores muito similares nas análises de massa, açúcares solúveis, e capacidade antioxidante. Já o segundo grupo foi formado pelos acessos de Cabo Verde/MG que se agruparam por possuírem valores muito similares nas análises citadas acima.

Figura 18. Gráfico de pontuação 2D ente os CPs selecionados



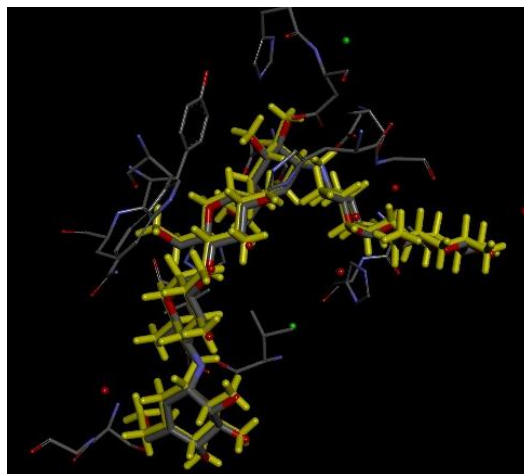
### 5.3. Ancoramento molecular

#### 5.3.1. Validação do método

A estrutura cristalografada da  $\alpha$ -amilase pancreática suína (PPA) complexada com a acarbose (estrutura PDB 1OSE e resolução 2,40 Å), disponibilizada pelo grupo de estudo de Gilles *et al.* (1996), possui 496 aminoácidos, e requer um íon de cálcio para manter a sua integridade estrutural. A presença de íon cloreto garante atividade biológica, e os aminoácidos Asp<sup>197</sup>, Glu<sup>233</sup> e Asp<sup>300</sup>, são considerados essenciais no sítio ativo para a estudo de ancoramento molecular.

Para validação do método (*redocking*), o ligante complexado hexassacarídeo acarbose foi retirado do sítio ativo e, seguindo procedimentos e parâmetros descritos no item '4.2.6. Protocolo de ancoramento', foi executado o reencaixe do ligante no sítio ativo. O reencaixe da acarbose (em amarelo) exibiu uma conformação muito semelhante à da acarbose na estrutura cristalográfica (Figura 19). Visto o baixo valor de RMSD (0,3011) observado e análise visual do modelo, confirmou-se que o protocolo realizado tem poder preditivo significativo.

Figura 19. Análise visual da acarbose cristalografada e reencaixada (estrutura em amarelo) para validação do método. Imagem gerada no software Chimera\*.



Fonte: a autora.

\*A estrutura da proteína, e seus carbonos, estão representados em cinza. Oxigênio representado em vermelho. Nitrogênio representado em azul. Cloro representado em verde.

### 5.3.2. Ensaio de ancoramento molecular

O ensaio de ancoramento molecular foi realizado para analisar a capacidade de ligação de todos os compostos fenólicos previamente identificados nos acessos de cereja-do-rio-grande (Tabela 5) e uvaia (Tabelas 8 e 9), visto que, os extratos se mostraram como potenciais inibidores nos testes *in vitro*.

A Tabela 10 descreve os aminoácidos que formaram algum tipo de ligação química entre a enzima  $\alpha$ -amilase (IOSE) e os 18 compostos fenólicos previamente identificados nas amostras de cereja-do-rio-grande e uvaia, bem como, a média da sextuplicata dos valores de *score*<sup>1</sup> resultantes das simulações de ancoramento.

Como pode ser observado, não são todos os compostos fenólicos que fazem ligação simultânea com a tríade catalítica (Asp<sup>197</sup>, Glu<sup>233</sup> e Asp<sup>300</sup>) da enzima. Dos 18 compostos fenólicos estudados, apenas sete fazem essa interação no sítio ativo, sendo eles: cianidina galactosídeo, glucosídeo e pentosídeo, catequina, miricetina galactosídeo, quercetina rutinosídeo e pentosídeo.

Diante dos resultados de *score*, todos os compostos fenólicos obtiveram uma média de ranqueamento mais significativa do que a acarbose (inibidor de  $\alpha$ -amilase), exceto o dímero de proantocianidina.

Quando são comparados os valores de *score* da acarbose (22,68) com os compostos fenólicos ancorados, destacam-se positivamente os compostos quercetina glucosídeo (56,43), cianidina galactosídeo (51,71) e cianidina aglicona (51,33), os quais apresentam valor 2,5x maior que o padrão.

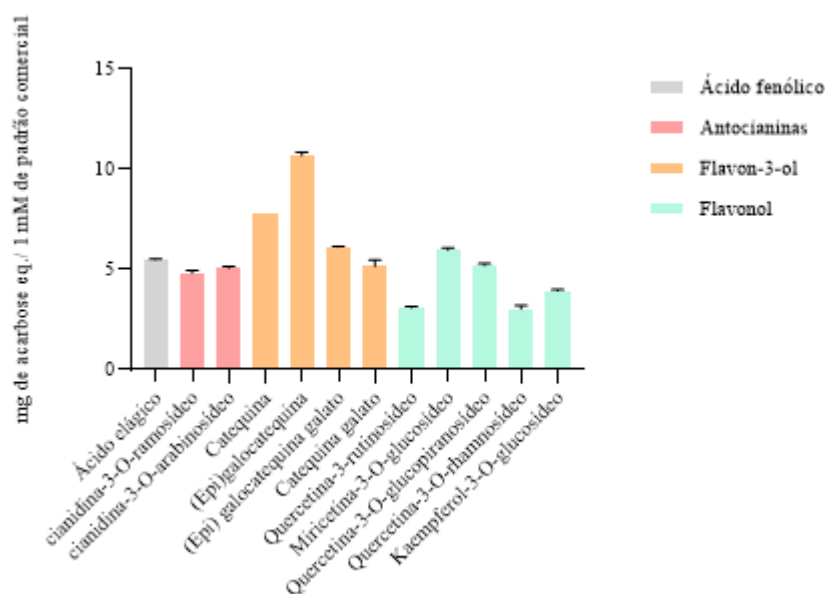
---

<sup>1</sup> Segundo o manual de usuário do GOLD 5.4.1., *score* na função Goldscore deve ser entendido como a soma da energia de ligações químicas sendo elas, (a) hidrogênio, (b) Van der waals (vdW) interna e externa e (c) torção do ligante, onde maiores scores apresentam mais afinidade entre a enzima e o ligante acoplado.

### 5.3.3. Atividade inibitória de $\alpha$ -amilase por padrões comerciais

O ensaio de inibição enzimática de  $\alpha$ -amilase com os padrões comerciais (Figura 20), dos compostos fenólicos previamente identificados nos acessos de cereja-do-rio-grande (Tabela 5) e uvaia (Tabelas 8 e 9), foi realizado como uma forma de validar os resultados vistos nas análises de ancoramento molecular.

Figura 20. Atividade de inibição de  $\alpha$ -amilase por padrões comerciais, expresso como IC50.



Para os ensaios de inibitórios de  $\alpha$ -amilase os resultados mostraram nenhum padrão comercial precisou mais de 15 mg de acarbose equivalente para inibir a enzima. A variação da inibição de  $\alpha$ -amilase foi de 3,10 (Quercetina-3-O-rhamnosídeo) a 10,87 ((Epi)galocatequina) mg de acarbose equivalente.



Tabela 10. Média dos *scores* de ancoramento e descrição dos aminoácidos que realizam ligação entre o composto fenólico e a enzima 1OSE.

CLASSE	IDENTIFICAÇÃO		ENZIMA	
	COMPOSTO	Cereja-do-rio-grande Uvaia	1OSE	Ligações
<b>ÁCIDO FENÓLICO</b>	Ácido elágico		39,75	TYR151 - LEU162 - HIS201 - <b>GLU233</b> - ILE235
<b>ANTOCIANINAS (NA FORMA QUINOIDAL BASE)</b>	Cianidina galactosídeo		51,71	TYR62 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - <b>GLU233</b> - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b> - HIS305
	Cianidina glucosídeo		48,70	TYR62 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - <b>GLU233</b> - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b> - HIS305
	Cianidina pentosídeo		49,36	VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - <b>GLU233</b> - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b> - HIS305 - GLY306
	Cianidina aglicona		51,33	TRP58 - TRP59 - TYR62 - <b>ASP197</b> - <b>GLU233</b>
<b>FLAVAN-3-OL</b>	Catequina		40,64	TYR62 - TYR151 - LEU162 - <b>ASP197</b> - <b>GLU233</b> - ILE235 - <b>ASP300</b> - HIS305
	Epicatequina		40,18	TYR62 - LEU162 - <b>ASP197</b> - ALA198 - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b> - HIS305
	(Epi)Galocatequina		27,08	TRP59 - GLN63 - HIS101 - VAL163 - LEU165 - <b>GLU233</b> - ILE235 - <b>ASP300</b> - GLY304 - HIS305 - GLY306
	(epi)Gaiarocatequina		29,62	TRP59 - TYR62 - GLN63 - TYR151 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b>
	Galano		20,98	TRP59 - VAL163 - HIS305 - GLY306
	Dímero de procianidina		31,17	TRP59 - TYR62 - TYR63 - TYR151 - LEU162 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b>
<b>FLAVANOL</b>	Kaempferol glucosídeo		44,22	HIS101 - TYR151 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b>
	Miricetina galactosídeo		35,45	TYR151 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - <b>GLU233</b> - ILE235 - <b>ASP300</b> - HIS305
	Quercetina glucosídeo		56,43	TYR151 - LEU162 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - ILE235 - <b>ASP300</b>
	Quercetina Raminosídeo		33,23	TYR62 - TYR151 - LEU162 - VAL163 - <b>ASP197</b> - LYS200 - HIS201 - ILE235 - <b>ASP300</b>
	Quercetina Rutnosídeo		46,81	TRP59 - TYR62 - VAL163 - ARG195 - <b>ASP197</b> - HIS201 - <b>GLU233</b> - HIS299 - <b>ASP300</b> - HIS305 - GLY306
	Quercetina Pentosídeo		41,58	TYR62 - TYR151 - VAL163 - <b>ASP197</b> - <b>GLU233</b> - ILE235 - HIS299 - <b>ASP300</b>
<b>LIGANTE COMPLEXADO</b>	Acarbose		22,68	TRP59 - GLN63 - VAL163 - LEU165 - LYS200 - HIS201 - <b>ASP300</b>

## 6. DISCUSSÃO

Desde 1587, quando os portugueses escreveram o primeiro tratado descritivo da fauna e flora brasileira, as frutas nativas do país chamam a atenção, devido, principalmente, à sua diversidade.

Entretanto, apenas em 1946, com Hoehne, tivemos caracterizações detalhadas das espécies da flora e fauna local, o qual avaliava potencial alimentício e medicinal de frutos e sementes de aproximadamente 36 famílias botânicas, incluindo a Myrtaceae.

Todavia, até meados de 2021, não há conhecimento de levantamento sistematizado do potencial alimentício e biológico das plantas e frutas nativas de todo território nacional (BRACK et al. 2020).

Dado este cenário, comum não apenas ao Brasil, mas a outros países da América Latina e África, o Ano Internacional das Frutas, Legumes e Verduras foi criado pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO/ONU), no ano de 2021, de modo a permitir que os vegetais que foram negligenciados e subutilizados durante os últimos anos fossem redescobertos.

A negligência destes frutos pode ter ocorrido devido: (a) a mudança de gostos e tendências alimentares; (b) ao processamento demorado e trabalhoso; (c) as safras alcançaram preços muito altos no passado e/ou; (d) aos produtores não possuírem os recursos necessários para pesquisa, desenvolvimento e promoção das culturas. Independente do motivo, o resultado desta negligência fez com que os pequenos agricultores parassem de plantar essas espécies, o que, com o tempo, acabou reduzindo a disponibilidade das sementes e desgastando o conhecimento tradicional dessas plantas (FAO, 2021).

Entretanto, os agentes transformadores dessa história são os pequenos agricultores, pois esses vegetais negligenciados têm grande potencial comercial, como é o caso da cereja-do-rio-grande e da uvaia. Destinadas a certos mercados, estas frutas podem ser uma nova, e excelente, fonte alimentar, sem contar que, estas possuem múltiplos benefícios à saúde (BRACK et al. 2020; FAO, 2021).

Embora o Brasil seja detentor de uma vasta biodiversidade, o consumo de frutas e hortaliças per capita é de apenas 57 kg/ano, o que equivale a 40% do indicado pela

Organização Mundial da Saúde (OMS), que estabelece que uma dieta saudável requiere o consumo mínimo de 400 gramas de frutas ou hortaliças por dia, ou, 142,4kg/ano (CUNHA et al., 2008).

Nutricionalmente, as frutas são fontes de carboidratos, fibras, vitaminas e minerais e contêm valores baixos de proteínas e gorduras. Já para a botânica, o conceito de fruto é definido como característica única das angiospermas, onde o ovário se desenvolve afim de proteger a(s) semente(s) (PUCINELLI, 2010).

### **6.1. Características físicas e açúcares solúveis**

Para que as angiospermas floresçam e, conseqüentemente, deem frutos, é necessário que ocorra a interação entre o ambiente e o genótipo. Os fatores ambientais (a) luz, (b) temperatura, (c) água, (d) gás carbônico, (e) oxigênio, e (f) nutrientes do solo, são fundamentais para que todos os processos fisiológicos ocorram (PES; ARENHARDT, 2015).

Em termos genéticos, a literatura demonstra que mudanças ambientais alteram o conjunto de genes na planta. O fenótipo, definido por características observáveis em uma planta como por exemplo: (a) a cor da flor, (b) a altura da planta, e (c) o ciclo de desenvolvimento) observado, conseqüentemente, será outro. Desta forma, algumas plantas de uma mesma espécie se adaptam melhor a determinadas regiões quando comparadas a outras (PES; ARENHARDT, 2015).

Uma forma simples de constatar a interação entre o ambiente e o genótipo das plantas se dá através da análise de massa média dos frutos. Com a alteração de fatores ambientais, é possível controlar os processos fisiológicos, ou até mesmo, detectar a variabilidade genética dentro uma mesma espécie. As relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais, podem ser apontados como: (a) condições edafoclimáticas; e (b) tratos culturais, dado que plantios condensados tendem a proporcionar maior produção por área. Todavia, as massas médias dos frutos são menores; (c) irrigação, onde o estresse hídrico na árvore pode ter efeito nocivo nos frutos, podendo reduzir o peso fresco e conseqüentemente o valor do fruto; (d) fertilização, o que proporciona incrementos no peso, comprimento e, conseqüentemente, melhora na classificação de

frutos; e (e) fatores genéticos (GONCALVES et al., 2013; FAGUNDES; YAMANISHI, 2001; SENHOR et al., 2009).

Além de ser um bom marcador da interação de genética e ambiente, a massa média dos frutos é de interesse para o mercado de frutos in natura, pois pode ser correlacionada com as exigências e expectativas do mercado consumidor, as quais devem atender às preferências do uso e aos hábitos de consumo, dado que frutos mais pesados são mais atrativos aos consumidores (DE et al., 2010; FAGUNDES; YAMANISHI, 2001).

Também é possível, com análise de massa média dos frutos, realizar a estimativa produtiva e dos rendimentos potenciais da espécie, sendo uma característica muito valorizada para os processamentos industriais (NEGREIROS et al., 2007).

Na Tabela 03, podemos analisar os valores de massa média e porcentagem de polpa e casca dos acessos de cereja-do-rio-grande, que, quando comparados os resultados com os frutos colhidos em Ponta Grossa/PR, apresentaram uma maior massa, a qual variou entre 4,46 g e 9,56 g e uma porcentagem de polpa de 85% (SCHMIDT, 2018).

A massa média dos frutos inteiros de uvaia apresentou uma grande variação (Tabela 06). Frutos colhidos em Ouro Preto/MG tiveram a massa média de 26,1g de uvaia e 85% de polpa e casca. Já frutos colhidos em Inconfidentes/MG apresentaram grande variação das massas médias entre 10,92g a 35,40g (FREITAS, 2017).

Características como a massa e tamanho são relevantes para a diferenciação de sementes na formação de safras mais homogêneas, desta forma, possibilitando a uniformização dos frutos que a árvore venha produzir. Este tipo de informação considerada básica auxilia as tomadas de decisão para qualquer atividade que possua como objetivo a preservação e uso sustentável das espécies frutíferas nativas (MOURA et al., 2010).

Em suma, com esta análise foi possível verificar que existe grande variação entre as massas dos acessos de cereja-do-rio-grande e uvaia, detectando uma grande variabilidade genética dentro da espécie. A porcentagem de polpa dos acessos de ambas

as frutas sendo maior que 80% demonstra que há potencial para os mesmos serem utilizados na indústria.

Outro fator determinante para a aquisição e consumo das frutas é o sabor. A incerteza com relação ao sabor é a principal causa de rejeição da aquisição e consumo do mercado de frutas in natura. A doçura ideal das frutas nativas para o paladar brasileiro ainda exige estudo, em específico, a caracterização físico-química e a análise sensorial, criando tabelas de padrões mínimos de sabor (correlação entre sólidos solúveis e acidez) por produto, variedade e origem os quais devem ser obedecidos para a garantia de prazer no consumo (CEAGESP, 2016).

Os açúcares solúveis frutose, glicose e sacarose são alguns dos fatores mais importantes que afetam o sabor e qualidade da fruta e, portanto, são consistentemente considerados como parâmetros para a qualidade da fruta pós-colheita. Deste modo, a concentração de açúcar de frutas em um nível atraente e desejável para os consumidores tem interesse científico e relevância agrônômica (DAI et al., 2016).

A Tabela 04 apresenta a composição de açúcares solúveis encontrados nos acessos de cereja-do-rio-grande, os quais apresentavam o mesmo estágio de maturação (maduro). Foram encontradas glicose e frutose, apesar da sacarose não ter sido observada em quantidades significativas. Este resultado é esperado em razão da ocorrência de hidrólise da sacarose durante o amadurecimento (WANG, 2003; TALCOTT, 2007).

A Tabela 07 apresenta a composição de açúcares solúveis encontrados nos acessos de uvaia, os quais também apresentavam o mesmo estágio de maturação (maduro). Foram encontradas glicose, frutose e sacarose em quantidades significativas.

No entanto, a comparação multiespécies entre os frutos é dificultada em grande parte pela (a) natureza complexa da acumulação de açúcar afetada pelas interações genótipo e ambiente (DAI et al., 2016).

Todavia, os valores encontrados apresentam valores similares a frutos comercialmente vendidos, como a banana, fruto mais consumido no Brasil e que, segundo Rocha & Uribe (2019), possui de 770,0 a 21.890,0 mg/100 g de açúcares totais,

mostrando que esses frutos nativos poderiam ser comercializados sem aversão da população.

## **6.2. Composição de antocianinas monoméricas e capacidade antioxidante**

As frutas vermelhas, como cerejas, amoras e morangos apresentam, em sua composição, antocianinas monoméricas, ou pigmentos responsáveis pela coloração de tons de vermelhos a púrpuros. Solúveis em água, estes pigmentos são localizados nos vacúolos celulares e frequentemente nas camadas epidérmicas de frutas (PALONEN; WEBER, 2019).

A cor da casca das frutas é uma das mais importantes características de valor comercial e estético destas, mas não são somente os humanos que se importam com a coloração dos frutos. Como as plantas dependem de animais para a dispersão de suas sementes, Schaefer et al. (2008) explica que a coloração das antocianinas pode ser vista como uma adaptação para aumentar a detecção de frutos, e conclui que as aves selecionam ativamente antocianinas em seus alimentos.

Os valores de antocianinas monoméricas (Figura 08) possuem diferença significativa mesmo entre a mesma família. A grumixama roxa (*Eugenia brasiliensis*), no estudo de Teixeira et al., (2015), obteve valores que variaram mais de 5 vezes, entre 30 a 200 mg de C3G eq. / 100 g de fruta.

Quando comparamos estes valores com culturas comerciais, como o morango da cv. Camarosa o teor de antocianinas monoméricas é de 23,72mg/100 u, onde as cerejas-do-rio-grande de todos os acessos de coloração vermelha apresentam um valor maior (CHAVES, 2014).

Com esta análise foi possível verificar que existe um conteúdo maior de antocianinas monoméricas nos acessos de cereja-do-rio-grande quando comparadas com frutas comercialmente aceitas como o morango. E lembrando que segundo Carvalho (2009), as aves são os grandes dispersores de cereja-do-rio-grande podem atuar no a combater o desmatamento, visto que, os pássaros se sentem atraídos aos pigmentos antociânico.

A capacidade antioxidante de todos os acessos foi avaliada por três métodos diferentes, (a) fenólicos totais (capacidade redutora do Folin-Ciocalteu), (b) DPPH (sequestro de radicais livres do DPPH) e; (c) ORAC (capacidade de absorção do radical oxigênio). O uso de diferentes metodologias para determinar a capacidade antioxidante tende a refletir com maior precisão as peculiaridades relacionadas às características da matriz, pois diversos fatores influenciam a conclusão e o desempenho do método (KARADAG et al., 2009; PISOSCHI et al., 2016).

O ensaio dos fenólicos totais (FT) conta com a transferência de elétrons dos compostos fenólicos e outras espécies redutoras (sofre interferências de outras substâncias redutoras presentes na amostra, como ácido ascórbico, proteínas e açúcares redutores), em meio alcalino, para o reagente Folin-Ciocalteu (que são complexos de ácido fosfomolibdico / fosfotúngstico), formando complexos azuis que são monitorados espectrofotometricamente em 750-765 nm. O método apresenta como vantagens reprodutível simplicidade e facilidade de reprodução, porém é inespecífico para os compostos fenólicos (KARADAG et al., 2009).

O conteúdo de fenólicos totais (FT) entre os acessos de cereja-do-rio-grande pode ser encontrado na Figura 08. O intervalo da quantificação dos acessos analisados neste projeto foi maior que o valores de frutos colhidos em outras regiões: Paraibuna/SP e Ponta Grossa/PR com 183,60 mg AG eq/ 100 g e 136,56 mg AG eq/100 g, respectivamente (INFANTE, 2013; CAMLOFSKI, 2008).

Os acessos de uvaia mostram o seu conteúdo de FT na Figura 14. Castro (2012) encontrou valor médio de 40 mg de AG/100 g em uvaia plantadas em Paraibuna/SP, valor inferior ao encontrado no presente estudo. Entretanto, os frutos de Inconfidentes/MG estudados por Freitas (2017), apresentaram conteúdos maiores, que variavam entre 125,51 mg a 462,40 mg AG/100 g.

A variação no teor de fenólicos totais entre os frutos pode ser devido a fatores intrínsecos e extrínsecos (ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2011). O conteúdo de FT dos frutos de cerejas-do-rio-grande e uvaia analisados são similares ao de quatorze frutas da família *Myrtaceae* analisados. O teor de fenólicos totais para a maioria das espécies

variou entre 35,7 mg AG eq./100 g jambo-rosa (*S. javanicum*) a 1010,0 mg AG eq/100 g camu-camu (*M. duabia*) (REYNERTSON et al., 2008).

Em conclusão, nem sempre é uma tarefa simples escolher o método mais apropriado para determinar a capacidade antioxidante, entretanto o teste de fenólicos totais pode ser usado como um teste preliminar, visto que, nesta análise analisamos junto a outros componentes como açúcares e vitamina C.

O segundo método da capacidade antioxidante utilizado foi o método de DPPH, que é baseado na inibição do radical livre sintético 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), onde os antioxidantes presentes na amostra reduzem esses radicais por mecanismos conhecidos como SET e HAT (os mecanismos podem ser lidos no item 1.2. Ação antioxidante). O radical orgânico de cor roxa, reduzido pelo extrato, leva a consequente descoloração até o amarelo, a qual é proporcional à capacidade antioxidante. O ensaio de DPPH tem como características ser altamente reprodutível e preciso, de resultados rápidos e metodologia fácil de ser aplicada (BECKER et al., 2019).

A avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH não mostrou grande variação entre os diferentes acessos de cereja-do-rio-grande (Figura 08) e uvaia (Figura 14), resultado este que pode estar associado aos acessos não possuírem diferenças no perfil de compostos fenólicos, dado que a única coisa que os difere são as concentrações relativas na matriz vegetal (DENARDIN et al., 2015).

O terceiro e último método, ORAC, consiste na medida do decréscimo da fluorescência da fluoresceína. O antioxidante presente na matriz reage rapidamente com os radicais, doando átomos de hidrogênio e inibindo a perda da intensidade da fluorescência. Uma vantagem do ensaio ORAC é a capacidade de empregar diferentes geradores de radicais livres ou oxidantes. Isso é importante porque a capacidade antioxidante medida de um composto depende de qual radical livre ou oxidante é usado no ensaio. Por exemplo, o ensaio ORAC usando AAPH é utilizado para avaliar os antioxidantes tradicionais, incluindo ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno, glutatona, bilirrubina, ácido úrico e melatonina, porém, o ensaio ORAC mede apenas a capacidade antioxidante contra radicais peroxil e hidroxil e não contra todas as espécies



reativas de oxigênio (por exemplo, superóxidos e oxigênio singlete (KARADAG et al., 2009).

Um estudo de um grupo brasileiro quantificou a capacidade antioxidante de quatro frutas, encontrando valores que variaram de 1.338  $\mu\text{mol Trolox eq./100 g}$  para o *Myrcia obtecta* a 3.785  $\mu\text{mol Trolox eq./100 g}$  para *Myrcia laruotteana* (SALVADOR et al., 2018). Em comparação com os resultados da cereja-do-rio-grande (Figura 08) e uvaia (Figura 14), estes valores ficam dentro dos valores propostos pelo referido estudo.

A maior quantidade de fenólicos totais e capacidade antioxidante das cerejas-do-rio-grande quando comparadas com a uvaia pode ter derivado da presença de antocianinas. Os resultados indicam perspectivas promissoras para a exploração das espécies de frutas estudadas, que mostraram níveis consideráveis de capacidade antioxidante. Este estudo também será útil para compor bases de dados para os consumidores, planejando dietas ricas em antioxidantes e para nutricionistas na estimativa da ingestão diária de antioxidantes fenólicos e seu impacto na saúde.

### **6.3. Identificação e conteúdo de compostos fenólicos**

Provavelmente os compostos responsáveis pelos resultados da capacidade antioxidante são os compostos fenólicos. Como as frutas são uma fonte importante de compostos fenólicos na dieta humana, a quantificação adequada dessas substâncias é de extrema importância. A técnica analítica que utilizamos para separar, identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes na amostra foi o HPLC-DAD (HAMINIUK et al., 2012).

Como os metabólitos secundários de plantas mais abundantes, os flavonoides têm sua distribuição quantitativa diversificada de órgão para órgão ou mesmo de planta para planta, dependendo do ambiente. No entanto, plantas do mesmo táxon tendem a produzir um conjunto semelhante de flavonoides, sugerindo que as predisposições genéticas das plantas são dominantes (GÓRNIK et al., 2018).

A classe de compostos fenólicos dos acessos de cereja-do-rio-grande vermelhos (Tabela 5). mais expressiva foi a cianidina-3-glicosídeo, a qual contribuiu com 83-96% do total de antocianinas. Embora haja uma grande variação no conteúdo de antocianinas

dos frutos comparados, sabe-se que essa diferenciação pode ser explicada por (a) fatores genéticos (os quais dependem do cultivar e da variedade), (b) grau de maturação da fruta; e (c) fatores edafoclimáticos (BRAGA, 2015).

A cereja-do-rio-grande amarela (CE057 – Tabela 5) também se mostrou rica em compostos fenólicos, mas da classe flavanol, que classe representa 82% do total de flavonoides quantificados. A quercetina, flavanol encontrado em uma ampla variedade de espécies vegetais, possui maior capacidade antioxidante em relação aos outros flavonoides da família flavanol (BEHLING, 2004).

Dentre as duas classes identificadas na uvaia (Tabela 8 e 9), a mais representativa foi a flavanol. Segundo Behling (2004), a ingestão da classe de flavanol está associada a uma ampla gama de benefícios à saúde, que incluem potencial antioxidante.

Quanto à forma glicosilada, ou aglicona, os flavonoides (exceto as catequinas) são encontrados em plantas principalmente na forma glicosilada, ou seja, ligados a moléculas de açúcares, sendo normalmente o-glicosídeos, com a molécula de açúcar ligada ao grupo hidroxila na posição C3 ou C7 (ERLUND, 2004).

O teor de elagitaninos para todos os 25 acessos foi superior ao conteúdo de flavonoides (Figuras 11 e 16). O conteúdo de ácido elágico total deve ser entendido como a classe de compostos fenólicos conhecida como elagitaninos, que são caracterizados por uma ou mais unidades de hexahidroxidifenol (HHDP) esterificado a um açúcar, geralmente a glicose. A hidrólise dos elagitaninos em meio ácido libera o HHDP, que sofre lactonização espontânea formando o ácido elágico (SILVA, 2019).

Como os frutos são membros da família Myrtaceae, esperava-se que, além de flavonoides, fossem quantificados os derivados do ácido elágico. Esse grupo de moléculas é relativamente incomum, em frutos comerciais, e estudos mostram que esse grupo molecular também pode prevenir doenças crônicas (TEIXEIRA et al, 2015).

#### 6.4. Atividade inibitória

Como citado na introdução, item “1.3. Ação inibidora de amilases e -glicosidases”, Diabetes mellitus (DM), definido pela OMS como uma doença metabólica, é um problema de saúde pública que afeta quase 2% da população mundial. Esta patologia possui vários subtipos, sendo o mais comum, com 90% dos casos, o tipo 2, caracterizado por portadores não-insulino dependente (GIUBERTI; ROCCHETTI; LUCINI, 2020).

Uma das possíveis formas terapêuticas utilizadas para o tratamento do DM compreende a inibição de enzimas, que podem hidrolisar moléculas de polissacarídeo e convertê-las em monossacarídeos. Esse tipo de enzima, como a  $\alpha$ -glicosidase, atua hidrolisando as moléculas de dissacarídeo em glicose. Por outro lado,  $\alpha$ -amilase catalisa a hidrólise  $\alpha$ -1-4-D-glicosídico a partir de polímeros glucoses, como o amido. Os agentes hipoglicêmicos diminuem a velocidade de digestão e assimilação de carboidratos simples no intestino através da inibição da  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase (GIUBERTI; ROCCHETTI; LUCINI, 2020).

Embora haja diversos métodos para testar a inibição enzimática de  $\alpha$ -amilase, a metodologia mais usual é a que faz o uso do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), devido a sua simplicidade e confiabilidade nos resultados (NYAMBE-SILAVWE et al 2015).

Esse protocolo usual do DNS avalia a atividade de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase através da formação do dissacarídeo maltose produto resultante da hidrólise da enzima sobre o amido. Esta maltose terá seus grupos aldeídos oxidados para grupos carboxílicos o que acabará reduzindo o DNS de coloração amarela para o ácido 3-amino-5-nitrosálico de coloração alaranjada (NYAMBE-SILAVWE et al 2015).

Já a metodologia utilizada para avaliar a atividade de inibição enzimática de  $\alpha$ -glicosidase tem como premissa quantitativa estabelecer a hidrólise estimatida do p-nitrofenol (pNP) liberado por clivagem do p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo (pNPG), que é um substrato cromogênico. A formação do produto da clivagem produz uma coloração amarela dependente de carbonato de sódio (NYAMBE-SILAVWE et al 2015).

Segundo Cho et al (2011), o cenário mais preferível é onde um extrato inibidor enzimático possua uma atividade inibidora leve para a  $\alpha$ -amilase e densa para a  $\alpha$ -glicosidase, ou seja, a inibição total  $\alpha$ -amilase não é desejada, pois se o amido não for digerido, ele será utilizado pela microbiota, a qual produzirá gases, causando distúrbios intestinais como diarreia, dores abdominais e flatulência.

Kim et al (2014), documenta que os flavonoides se revelam como potentes inibidores das enzimas  $\alpha$ -glucosidase e  $\alpha$ -amilase. Os extratos de uvaia tiveram uma melhor inibição de  $\alpha$ -amilase do que inibição de  $\alpha$ -glicosidase quando comparamos quantitativamente. Porém, quando olhamos caso a caso, os acessos que inibiram menos a  $\alpha$ -amilase se tornaram mais potentes para inibir a  $\alpha$ -glicosidase.

Quando comparamos os resultados obtidos neste trabalho com a literatura apresentada por Gharreb, et al (2014) e Td Bothon, et al (2013), concluímos que os compostos fenólicos, em especial os flavonoides, possuem capacidade de inibir a atividade da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, enzimas-chave na digestão de carboidratos.

### **6.5. Ancoramento molecular**

Nos últimos anos, os compostos fenólicos ganharam notoriedade por serem relatados como bons agentes antioxidantes. Entretanto, atualmente, estão sendo estudados por possuírem outras propriedades biológicas importantes, entre elas, a hipótese de que os compostos fenólicos poderiam inibir a ação das enzimas digestivas, como a  $\alpha$ -amilase (SUN; J.WARREN; J.GIDLEY, 2019).

A enzima  $\alpha$ -amilase, endo-enzima secretada pelas glândulas salivares e pelo pâncreas possui estrutura tridimensional (3D) composta por  $\alpha$ -hélice, folha  $\beta$  e bobina aleatória, que, em seu sítio ativo, possui um íon de cálcio e vários íons de cloreto, os quais são essenciais para a manutenção da estrutura terciária e atividade catalítica da enzima. Esta enzima é encontrada em microorganismos, plantas e mamíferos e tem a função de hidrolisar os carboidratos da dieta em dissacarídeos e polissacarídeos. Esses carboidratos hidrolisados pela  $\alpha$ -amilase são re-hidrolisados pela  $\alpha$ -glicosidase, formando os monossacarídeos (ZHANG; LI, 2017; SUN; J.WARREN; J.GIDLEY, 2019).

Já a  $\alpha$ -amilase pancreática suína (PPA) é frequentemente utilizada para estudar a digestão catalítica do amido *in vitro* (6.4. atividade inibitória) por possuir uma alta similaridade estrutural. Neste estudo *in silico*, utiliza-se a mesma molécula identificada no PDB com código 1OSE. A estrutura da PPA é formada por 496 aminoácidos, e os resíduos Asp<sup>197</sup>, Glu<sup>233</sup> e Asp<sup>300</sup>, são considerados como resíduos catalíticos essenciais no sítio ativo da enzima. Além disso, alguns resíduos aromáticos, como Trp<sup>58</sup>, Trp<sup>59</sup> e Tyr<sup>62</sup> estão se demonstrando como essenciais no sítio ativo para fazerem ligações químicas com os compostos fenólicos (SUN; J.WARREN; J.GIDLEY, 2019).

É importante ressaltar que os 18 compostos fenólicos realizaram ao menos uma ligação com um aminoácido de triptofano, confirmando os dados reportados por Sun et al. 2019 que esse aminoácido aromático se faz essencial no ancoramento de compostos fenólicos no sítio ativo da enzima.

Para investigar as interações de ligações entre os compostos fenólicos e a  $\alpha$ -amilase, foi realizado o ensaio de ancoramento molecular. O ancoramento molecular é uma ferramenta útil na biologia molecular estrutural e no *design* de fármacos assistido por computador. O objetivo da ancoragem ligante-proteína é prever os principais modos de ligação de um ligante com uma proteína de estrutura tridimensional (3D) conhecida (SLIWOSKI et al., 2014).

Isto posto, é importante destacar que os resultados *in silico* não devem ser considerados isoladamente como fator determinante na atividade de inibição, porque (a) todos esses ligantes estarão em conjunto na matriz alimentar, (b) a natureza estática do receptor é uma falha primária onde a natureza dinâmica das estruturas biológicas não é considerada, (c) existem limitações nos algoritmos de amostragem e imperfeições nas funções de *score*, que levam à geração de falsos positivos e/ou falsos negativos e (d) o requisito de conjuntos de treinamento em vários algoritmos muitas vezes leva à imprecisão, sendo altamente dependente do alvo (BERRY; FIELDING; GAMIELDIEN, 2015).

Depois da validação inicial do método, os ensaios de ancoramento molecular foram realizados com os 18 compostos fenólicos de cinco famílias distintas, sendo elas: (a) ácidos fenólicos, (b) elagitaninos, (c) antocianinas (as quais foram desenhadas em sua

forma quinoidal), (d) flavon-3-ol; e (e) flavanol. O valor de *score* apresentado na Tabela 10 é o resultado da média aritmética das sextuplicatas da corrida de cada composto.

Segundo Sun et al. (2019), a inibição da  $\alpha$ -amilase por um composto fenólico está correlacionada com sua estrutura molecular, todavia, algumas ligações químicas são comuns a todas as cinco famílias de compostos fenólicos, como: (a) ligações de hidrogênio (entre grupos hidroxila e o sítio ativo catalítico da enzima); (b) força hidrofóbica (entre anéis aromáticos dos compostos fenólicos e resíduos de triptofano da  $\alpha$ -amilase); e (c) deslocalização de elétrons entre C = C (ou C = O) (os anéis aromáticos em compostos fenólicos foram relatados especificamente por aumentar as interações hidrofóbicas ( $\pi$ - $\pi$ ) (anexo 27) com  $\alpha$ -amilase.

Dado que os ácidos fenólicos e os elagitaninos apresentaram apenas uma molécula de cada família, os resultados não serão discutidos aprofundamente. No caso dos flavonoides, o primeiro grupo a ser discutido serão as antocianinas.

As estruturas das antocianinas requerem atenção especial por apresentarem as estruturas conjugadas mais complexas entre os flavonoides. A estrutura básica é o cátion flavílio (íon oxônio), mas, dependendo do pH, as antocianinas podem existir em várias formas estruturais. As antocianinas presentes na cereja-do-rio-grande, ao entrarem em contato com a saliva, que possui pH médio de 6,7 assumem a forma quinoidal (STRACK, 1997; BALIGA; MUGLIKAR; KALE, 2012), por isso, todos os ligantes de antocianinas foram desenhados em sua forma quinoidal.

Estudos *in silico* anteriores mostraram que por serem cercadas de hidroxilas, as antocianinas exibem alta atividade inibitória contra a PPA, onde o aminoácido Glu<sup>233</sup> supostamente desempenha um papel importante na atividade de inibição (GIUBERTI; ROCCHETTI; LUCINI, 2020). É importante ressaltar que todas as antocianinas desenhadas neste trabalho se ligaram ao aminoácido Glu<sup>233</sup>, confirmando este resultado.

Em relação ao subgrupo flavanol, as hidroxilas são essenciais para a atividade inibitória da  $\alpha$ -amilase, uma vez que a inibição, provavelmente, é dependente da formação de ligações de hidrogênio entre grupos hidroxila e cadeias laterais de aminoácidos (como Asp<sup>197</sup> e Glu<sup>233</sup>) no sítio ativo da enzima (SUN; J.WARREN;

J.GIDLEY, 2019). Dos seis compostos fenólicos desta classe, todos fazem ligação entre os aminoácidos citados acima.

A quercetina glucosídeo, membro da família flavanol, tem grupos hidroxila em cada uma das posições 5, 6, 7 no anel A, bem como 4 no anel B, e apresenta um dos melhores valores de *score* (SUN; J.WARREN; J.GIDLEY, 2019). Por ser um flavonoide comum em vários tipos de alimentos, este é um dado importante para a literatura.

A família flavon-3-ol apresenta fraca inibição da  $\alpha$ -amilase, pois sua estrutura conta com uma ligação 2,3-dupla no anel C, conjugada com o grupo 4-carbonila, o que aumenta o deslocamento de elétrons entre o anel C e o anel A, formando assim um sistema  $\pi$ - $\pi$  conjugado altamente estável com o Trp<sup>59</sup> no sítio ativo da  $\alpha$ -amilase, sistema que reduz o fator catalítico da enzima (ZHANG; LI, 2017). Um composto dessa família que chama atenção é a epigallocatequina, a qual apresentou baixo valor de acoplamento molecular (Tabela 10) e baixa atividade inibitória (Figura 20). Quando comparamos a família flavon-3-ol com as antocianinas e os flavanol, a estrutura molecular explica os valores baixos de *score*.

Outros dois fatores devem ser levados em conta na discussão dos resultados de ancoramento molecular: (a) alto peso molecular e (b) glicosilação dos flavonoides. Segundo Sun et al. (2019), compostos fenólicos que possuem alto peso molecular e baixa quantidade de hidroxilas apresentam baixo valor de *score*, como é o caso do dímero de proantocianidinas, o que acaba confirmando o papel dos grupos hidroxila na inibição da atividade enzimática.

Segundo ZHANG (2017), a glicosilação em flavonoides é comumente observada por diminuir a atividade inibitória. Potenciais razões para a baixa inibição são: (a) transformação da estrutura espacial de flavonoides-glicosídeos, em formas quase planas criando efeitos de impedimento estérico; e (b) substituição do grupo hidroxila por um glicosídeo, e com isso, a afinidade do grupo com a enzima é afetada. Resultado esse que não foi visto em nossos dados, mostrando que não houve uma grande diferença entre compostos fenólicos glicosilados e agliconas.

## 7. CONCLUSÃO

A caracterização dos compostos bioativos da cereja-do-rio-grande e da uvaia é uma forma de prospectar novos alimentos benéficos à saúde. Atualmente, ambos os frutos são espécies nativas e endêmicas da mata atlântica com pouco apelo comercial e consumidos somente pela população local. Entretanto, possuem alto teor de polpa em todos os seus acessos, além de alto conteúdo de açúcares solúveis, características determinantes para a industrialização e para o consumo nacional, conferindo-lhes grande potencial para a formação de cadeia consumidora.

Dado expressivo potencial antioxidante e elevado conteúdo de fenólicos totais, os frutos estudados são colocados em lugar de destaque quando comparados com outros frutos comerciais.

Os acessos de cereja-do-rio-grande vermelha, se mostraram como uma boa fonte de antocianinas, especialmente a cianidina-3-O-glicosídeo. Já a cereja-do-rio-grande amarela e todos os acessos de uvaia se mostraram como uma boa fonte de flavanóis, especialmente os derivados de quercetina.

Todavia, o conteúdo de ácido elágico total de todos os acessos foi superior ao conteúdo de flavonoides.

Os resultados do ensaio *in vitro* e a confirmação do mesmo pela análise de acoplamento molecular sugerem que os frutos supracitados têm potencial farmacológico significativo como inibidores da  $\alpha$ -amilase.

O desfecho do acoplamento molecular mostrou que os compostos fenólicos previamente identificados nos acessos de cereja-do-rio-grande e uvaia se mostram mais eficientes em inibir a enzima alvo do que a acarbose, exceto o dímero de proantocianidinas. Os compostos quercetina glucosídeo, cianidina galactosídeo e cianidina aglicona se mostram como eficientes inibidores.

Considerando as atividades biológicas atribuídas a essas subclasses de flavonoides, os acessos apresentam considerável potencial funcional, em especial os acessos CE035 e CE058 de cereja-do-rio-grande e UV080 de uvaia.

Com nossos resultados, esperamos contribuir com o uso e a valorização adequadas do seu patrimônio genético de nossos frutos regionais.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, Lucile T; LAJOLO, Franco M; GENOVESE, Maria Inés. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*myrciaria jaboticaba* (vell.) berg). **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 92, n. 8, p. 1679-1687, 16 dez. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5531>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.5531>. Acesso em: 15 abr. 2021.

ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 17 jun. 2007. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v66n1/v66n1a01.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2019.

ARAÚJO, Natalia Cerrone de; BURY, Priscila dos Santos; TAVARES, Maurício Temotheo; HUANG, Fanglu; PARISE-FILHO, Roberto; LEADLAY, Peter; DIAS, Marcio Vinicius Bertacine. Crystal Structure of GenD2, an NAD-Dependent Oxidoreductase Involved in the Biosynthesis of Gentamicin. **ACS Chemical Biology**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 925-933, 17 abr. 2019. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acscchembio.9b00115>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscchembio.9b00115>. Acesso em: 07 abr. 2021.

ARAUJO, Nayara Macêdo Peixoto; ARRUDA, Henrique Silvano; FARIAS, David de Paulo; MOLINA, Gustavo; PEREIRA, Gustavo Araujo; PASTORE, Glaucia Maria. Plants from the genus *Eugenia* as promising therapeutic agents for the management of diabetes mellitus: a review. **Food Research International**, [S.L.], v. 142, p. 110-182, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110182>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996921000818>. Acesso em: 16 mar. 2021.

ARAUJO, V.F.; BIALVES, T.S.; VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.C.; FERRI, N.; SILVEIRA, C.A. Posser da. Propriedades funcionais e qualidade físico-química da

cereja-do-rio-grande (*Eugenia Involucrata DC.*). In natura e processada na forma de geleia. In: **Embrapa Clima Temperado-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 4., 2012, Gramado. Retorno às origens: anais. Gramado: SBCTA-RS Regional, 2012, 2012.

BALIGA, Sharmila; MUGLIKAR, Sangeeta; KALE, Rahul. Salivary pH: A diagnostic biomarker. **Journal Indian Society Of Periodontology**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 461-465, ago. 2012. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3800408/#:~:text=%5B16%5D%20The%20saliva%20that%20basically,6.7%2D7.3\)%20by%20saliva..](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3800408/#:~:text=%5B16%5D%20The%20saliva%20that%20basically,6.7%2D7.3)%20by%20saliva..) Acesso em: 20 abr. 2021.

BATOOL, Maria; AHMAD, Bilal; CHOI, Sangdun. A Structure-Based Drug Discovery Paradigm. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 11, p. 2783, 6 jun. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20112783>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31174387/#:~:text=Structure%2Dbased%20drug%20design%20is,relative%20to%20the%20traditional%20method.&text=Advanced%20AI%2Dbased%20sophisticated%20machine,discovery%20process%20including%20medicinal%20chemistry..> Acesso em: 20 abr. 2021.

BECKER, Magda; NUNES, Gilvanda; RIBEIRO, Danilo; SILVA, Francisco; CATANANTE, Gaëlle; MARTY, Jean-Louis. Determination of the Antioxidant Capacity of Red Fruits by Miniaturized Spectrophotometry Assays. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], p. 1108-1113, 2019. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190003>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532019000501108](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532019000501108). Acesso em: 15 abr. 2021.

BEHLING, Estela Beatriz; SENDÃO, Milena Cristina; FRANCESCATO, Heloisa della Coletta; ANTUNES, Lusânia Maria Greggi; BIANCHI, Maria de Lourdes Pires. FLAVONÓIDE QUERCETINA: ASPECTOS GERAIS E AÇÕES BIOLÓGICAS. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/89/102#:~:text=V%C3%A1rias%20propriedades%20terap%C3%AAuticas%20dos%20flavon%C3%B3ides,sistemas%20renal%2C%20cardiovascular%20e%20hep%C3%A1tico..> Acesso em: 16 abr. 2021.

BELĹĀK-CVITANOVIĆ, Ana; DURGO, Ksenija; HUĹĀEK, Ana; BAĀUN-DRUŹINA, Višnja; KOMES, DraŹenka. Overview of polyphenols and their properties. **Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications**, [S.L.], p. 3-44, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-813572-3.00001-4>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128135723000014?via%3Dihub>. Acesso em: 10 mar. 2021.

BERRY, Michael; FIELDING, Burtram; GAMIELDIEN, Junaid. Practical Considerations in Virtual Screening and Molecular Docking. **Emerging Trends In Computational Biology, Bioinformatics, And Systems Biology.**, [s. l], p. 487-502, 14 ago. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7173576/>. Acesso em: 27 abr. 2021.

BERRY, Michael; FIELDING, Burtram; GAMIELDIEN, Junaid. Practical Considerations in Virtual Screening and Molecular Docking. **Emerging Trends In Computational Biology, Bioinformatics, And Systems Biology.**, [s. l], p. 487-502, 14 ago. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7173576/>. Acesso em: 27 abr. 2021.

BRACK, Paulo; KÖHLER, Matias; CORRĒA, Claudine Abreu; ARDISSONE, Rodrigo Endres; SOBRAL, Marcos Eduardo Guerra; KINUPP, Valdely Ferreira. Frutas nativas do Rio Grande do Sul, Brasil riqueza e potencial alimentício. **Rodriguésia**, [S.L.], v. 71, n. 1, p. 327-345, set. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202071091>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2175-78602020000100260&script=sci\\_arttext#fn6](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2175-78602020000100260&script=sci_arttext#fn6). Acesso em: 23 mar. 2021.

BRAGA, RAQUEL DE FÁTIMA. **AMINAS BIOATIVAS, POLIFENÓIS E ANTOCIANINAS EM VINHOS TINTOS DE MESA NACIONAIS**. Orientador: Dra. Maria Beatriz de Abreu Glória. 2015. 71 f. Dissertação de mestrado (Mestre em Ciência de Alimentos.) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2015. Disponível em: [https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-A8YQZG/1/braga\\_\\_raquel\\_de\\_f\\_tima\\_disserta\\_\\_o\\_corrigida.pdf](https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-A8YQZG/1/braga__raquel_de_f_tima_disserta__o_corrigida.pdf). Acesso em: 4 abr. 2020

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.e.; BERSET, C.. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 25-30, jan. 1995. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 01 out. 2019.

BRASIL. Alexandre Pires da Silva. Ministério do Meio Ambiente (org.). **Catálogo de Produtos da Sociobiodiversidade do Brasil**. Brasília-Df: Icmbio, 2016. 104 p. Disponível em: [https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/catalogo\\_de\\_produtos\\_da\\_sociobiodiversidade\\_do\\_brasil.pdf](https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/catalogo_de_produtos_da_sociobiodiversidade_do_brasil.pdf). Acesso em: 10 abr. 2020.

BRASIL. Tereza Cristina Correa da Costa Dias & Joaquim Álvaro Pereira Leite. PORTARIA INTERMINISTERIAL MAPA/MMA Nº 10, DE 21 DE JULHO DE 2021. Brasília-DF Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2021. 7 p. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-interministerial-mapa/mma-n-10-de-21-de-julho-de-2021-333502918>. Acesso em: 03 ago. 2021.

BULE, Mohammed; KHAN, Fazlullah; NISAR, Muhammad Farrukh; NIAZ, Kamal. Tannins (hydrolysable tannins, condensed tannins, phlorotannins, flavono-ellagitannins). In: NIAZ, Kamal. **Phytonutrients**. S.I.: Elsevier, 2020. Cap. 36. p. 132-146.

CAMPANILI, Maura; SCHÄFFER, Wigold Bertolo. **Mata Atlântica: manual de adequação ambiental**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2010. 96 p. Disponível em: <https://livroaberto.ibict.br/handle/1/745>. Acesso em: 03 mar. 2020.

CARREIRA, Catarina Gil Leitão Ferraz. **Determinação do perfil de compostos com capacidade antioxidante na bebida espresso RedEspressoÒdo sistema Delta Q**. 2015. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Técnico Lisboa, Lisboa, 2015. Disponível em: <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/cursos/meq/dissertacao/846778572211057>. Acesso em: 5 jul. 2019.

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Cerejeira - Eugenia involucrata**. Colombo: Embrapa Florestas, 2009. 8 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPF-2010/46373/1/CT224.pdf>. Acesso em: 11 mar. 2020.

CEAGESP (São Paulo). Centro de Qualidade, Pesquisa e Desenvolvimento. **A medida da doçura das frutas**. Cartilha Técnica 08. São Paulo. 2016. 17p. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2021/01/MedidadoSaborBrix02022017.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2021.

CETAP (Rio Grande do Sul). Centro de Tecnologias Alternativas Populares (org.). **FRUTAS NATIVAS: alimentos locais, sabores e ingredientes especiais**. Passo Fundo: Cetap, 2016. 22 p. Disponível em: [http://www.centroecologico.org.br/cartilhas/Frutas\\_Nativas-2015.pdf](http://www.centroecologico.org.br/cartilhas/Frutas_Nativas-2015.pdf). Acesso em: 03 mar. 2020.

CHAVES, Vitor Clasen. **TEOR DE ANTOCIANINAS, COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE DE CAPTAÇÃO DE RADICAIS LIVRES DE FRUTOS DE CULTIVARES DE MORANGUEIRO (Fragaria x ananassa Duch.)**. Orientador: Dr. Flávio Henrique Reginatto. 2014. 104 f. Dissertação (Mestre em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível

em:

<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/123411/327156.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 4 abr. 2020.

COELHO, Aline Guadalupe. **Estudo da degradação térmica de antocianinas de extratos de uva (*Vitis Vinífera* L. 'Brasil') e Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)**. 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Analítica, Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011. Disponível em: [http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/250071/1/Coelho\\_AlineGuadalupe\\_M.pdf](http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/250071/1/Coelho_AlineGuadalupe_M.pdf). Acesso em: 21 jun. 2019.

CORADIN, Lídio; SIMINSKI, Alexandre; REIS, Ademir. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - Região Sul**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. 557 p. Disponível em: <https://azoc.tips/documents/especies-nativas-da-flora-brasileiras-de-valor-economico-atual-ou-potencial-regiao-sul-5c17786350856>. Acesso em: 02 dez. 2018.

CORDENUNSI, Beatriz Rosana; SHIGA, Tania Misuzu; LAJOLO, Franco. Non-starch polysaccharide composition of two cultivars of banana (*Musa acuminata* L. cvs Mysore and Nanicão). **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 71, n. 1, p. 26-31, jan. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.009>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861707002561>. Acesso em: 06 ago. 2019.

CUNHA, Adriana Marques da; ARAÚJO, Rogério Dias de; MELLO, Carlos Henrique; BOEIRA, Jorge Luís Ferreira. **RELATÓRIO DE ACOMPANHAMENTO SETORIAL FRUTAS PROCESSADAS: volume i**. Campinas: Unicamp, 2008. 32 p. Disponível em: [https://www3.eco.unicamp.br/neit/images/stories/arquivos/RelatorioABDI/frutas-processadas\\_vol-I\\_julho2008.pdf](https://www3.eco.unicamp.br/neit/images/stories/arquivos/RelatorioABDI/frutas-processadas_vol-I_julho2008.pdf). Acesso em: 24 mar. 2021.

DA SILVA, Aline Priscilla Gomes da; SPRICIGO, Poliana Cristina; PURGATTO, Eduardo; ALENCAR, Severino Matias de; SARTORI, Sérgio Fernando; JACOMINO, Angelo Pedro. Chemical composition, nutritional value and bioactive compounds in six uvaia accessions. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 294, n. 1, p. 547-556, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.121>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619307939>. Acesso em: 13 abr. 2020.

DAMETTO, Alessandra Cristina. **Estudo químico e avaliação da atividade biológica de *Eugenia brasiliensis* e *Eugenia involucrata* (Myrtaceae)**. 2014. 169 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/110857> . Acesso em 19 jun. 2019.

DE ARAÚJO, Fábio Fernandes de; NERI-NUMA, Iramaia Angélica; FARIAS, David de Paulo; CUNHA, Gabryelle Rahyara Miranda Castro da; PASTORE, Glaucia Maria. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, [S.L.], v. 121, n. 1, p. 57-72, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.018>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919301620>. Acesso em: 04 mar. 2020.

DE FREITAS, Thais Paduá. **Pós colheita de uvaia: caracterização de acessos e estádios de maturação**. 2017. 60 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Piracicaba/SP. Disponível em: [https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-16102017-180336/publico/Thais\\_Padua\\_de\\_Freitas\\_versao\\_revisada.pdf](https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-16102017-180336/publico/Thais_Padua_de_Freitas_versao_revisada.pdf). Acesso em: 30 mar. 2020.

DE LA ROSA, Laura A.; MORENO-ESCAMILLA, Jesús Omar; RODRIGO-GARCÍA, Joaquín; ALVAREZ-PARRILLA, Emilio. Phenolic Compounds. **Postharvest Physiology And Biochemistry Of Fruits And Vegetables**, [S.L.], p. 253-271, jan. 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-813278-4.00012-9>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128132784000129>. Acesso em: 01 jun. 2019.

DEGENHARDT, Juliana; FRANZON, Rodrigo Cezar; COSTA, Raquel Rosa da. **Cerejeira-do-mato (Eugenia involucrata)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 24 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/746075/1/documento211.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2020.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal. Ed. Novos Talentos. 2002. 288 p.

ERLUND, Iris. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutrition Research**, [S.L.], v. 24, n. 10, p. 851-874, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2004.07.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531704001344>. Acesso em: 16 abr. 2021.

FAGUNDES, Geni Rodrigues; YAMANISHI, Osvaldo Kiyoshi. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DE FRUTOS DE MAMOEIRO DO GRUPO 'SOLO' COMERCIALIZADOS EM 4 ESTABELECIMENTOS DE BRASÍLIA-DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 541-545, dez. 2001. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-29452001000300018>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452001000300018&lng=pt&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452001000300018&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 21 out. 2020.



FAO. BÉLANGER, J. & PILLING, D. (Itália) (ed.). **THE STATE OF THE WORLD'S BIODIVERSITY FOR FOOD AND AGRICULTURE**. Rome: Fao Commission On Genetic Resources For Food And Agriculture, 2019. 576 p. Disponível em: <http://www.fao.org/3/CA3129EN/ca3129en.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2019.

FAO. ROMA. (ed.). **International Year of Fruits and Vegetables (IYFV)**. 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/fruits-vegetables-2021/en/>. Acesso em: 24 mar. 2021.

FRAGA-CORRAL, Maria; GARCÍA-OLIVEIRA, Paula; PEREIRA, Antia G.; LOURENÇO-LOPES, Catarina; JIMENEZ-LOPEZ, Cecilia; PRIETO, Miguel Angel; SIMAL-GANDARA, Jesus. Technological Application of Tannin-Based Extracts. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 614, 30 jan. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25030614>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/3/614/htm>. Acesso em: 06 maio 2021.

FREITAS, Thaís Pádua de. **Pós-colheita de uvaia: caracterização de acessos e estádios de maturação**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitotecnia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-16102017-180336/pt-br.php>. Acesso em: 15 maio 2019.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA (Minas Gerais). Fundação Sos Mata Atlântica (org.). **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas**. Belo Horizonte, 2005. 27 p. Disponível em: <http://ecologia.ib.usp.br/ecovegetal/leituras/CapituloVEstadodabiodiversidadedaMataAtlanticabrasileira.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2020.

GILLES, Coralie; ASTIER, Jean-Pierre; MARCHIS-MOUREN, Guy; CABBILLAU, Christian; PAYAN, Françoise. Crystal Structure of Pig Pancreatic alpha-amylase Isoenzyme II, in Complex with the Carbohydrate Inhibitor Acarbose. **European Journal Of Biochemistry**, [S.L.], v. 238, n. 2, p. 561-569, jun. 1996. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.0561z.x>. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8681972/>. Acesso em: 05 maio 2020.

GIUBERTI, Gianluca; ROCCHETTI, Gabriele; LUCINI, Luigi. Interactions between phenolic compounds, amylolytic enzymes and starch: an updated overview. **Current Opinion In Food Science**, [S.L.], v. 31, p. 102-113, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.003>. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799320300321>. Acesso em: 10 mar. 2021.

GONÇALVES, Laissa Gabrielle Vieira; ANDRADE, Fabrício Ribeiro; MARIMON JUNIOR, Ben Hur; SCHOSSLER, Thiago Rodrigo; LENZA, Eddie; MARIMON, Beatriz Schwantes. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 36, n. 1, p. 31-40, jan. 2013. Disponível em:  
[http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0871-018X2013000100006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2013000100006&lng=pt&nrm=iso). Acesso em: 8 set. 2019.

GONÇALVES, Sandra; MOREIRA, Elsa; GROSSO, Clara; ANDRADE, Paula B.; VALENTÃO, Patrícia; ROMANO, Anabela. Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 54, n. 1, p. 219-227, 26 dez. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-016-2453-z>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28242919/>. Acesso em: 14 fev. 2020.

GOVAERTS, Rafaël. **World Checklist of Myrtaceae**. [S.I.]: Royal Botanic Gardens, 2008. 470 p.

HAMINIUK, Charles W. I.; MACIEL, Giselle M.; PLATA-OVIEDO, Manuel S. V.; PERALTA, Rosane M.. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 4 jul.

2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>. Acesso em: 16 abr. 2021.

HAMINIUK, Charles Windson Isidoro; PLATA-OVIEDO, Manuel Salvador Vicente; GUEDES, Amanda Roman; STAFUSSA, Ana Paula; BONA, Evandro; CARPES, Solange Teresinha. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 46, n. 7, p. 1529-1537, 18 maio 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02653.x>. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2011.02653.x>. Acesso em: 17 jun. 2018.

HAMZALIOĞLU, Aytül; GÖKMEN, Vural. Interaction between Bioactive Carbonyl Compounds and Asparagine and Impact on Acrylamide. **Acrylamide In Food**, [S.L.], p. 355-376, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-802832-2.00018-8>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128028322000188?via%3Dihub>. Acesso em: 05 mai. 2020.

HEVENER, Kirk E.; ZHAO, Wei; BALL, David M.; BABAOGLU, Kerim; QI, Jianjun; WHITE, Stephen W.; LEE, Richard E.. Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropteroate Synthase. **Journal Of Chemical Information And Modeling**, [S.L.], v. 49, n. 2, p. 444-460, 27 jan. 2009. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ci800293n>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2788795/>. Acesso em: 20 abr. 2021.

INFANTE, Juliana; ROSALEN, Pedro Luiz; LAZARINI, Josy Goldoni; FRANCHIN, Marcelo; ALENCAR, Severino Matias de. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Unexplored Brazilian Native Fruits. **Plos One**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1-13, 6 abr. 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152974>. Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0152974>. Acesso em: 10 ago. 2020.

JACOMINO, Angelo P.; SILVA, Aline P.G. da; FREITAS, Thais P. de; MORAIS, Verônica S. de Paula. Uvaia— *Eugenia pyriformis* Cambess. **Exotic Fruits**, [S.L.], p. 435-438, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00058-7>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128031384000587>. Acesso em: 22 abr. 2020.

JOHNSON, Michelle H.; LUCIUS, Anita; MEYER, Tessa; MEJIA, Elvira Gonzalez de. Cultivar Evaluation and Effect of Fermentation on Antioxidant Capacity and In Vitro Inhibition of  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase by Highbush Blueberry (*Vaccinium corombosum*). **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 59, n. 16, p. 8923-8930, 24 ago. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf201720z>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21761898/>. Acesso em: 17 dez. 2019.

KARADAG, Ayse; OZCELIK, Beraat; SANER, Samim. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. **Food Analytical Methods**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 41-60, 13 jan. 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-008-9067-7>. Acesso em: 14 abr. 2021.

KARAKAYA, Sibel. Bioavailability of Phenolic Compounds. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 44, n. 6, p. 453-464, nov. 2004. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690490886683>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408690490886683>. Acesso em: 06 jun. 2019.

KLEIN, Elissandro Jair; SANTOS, Kátia Andressa; PALÖ, Fernando; VIEIRA, Melissa Gurgel Adeodato; SILVA, Edson Antônio da. Use of supercritical CO<sub>2</sub> and ultrasound-

assisted extractions to obtain  $\alpha/\beta$ -amyrin-rich extracts from uvaia leaves (*Eugenia pyriformis* Cambess.). **The Journal Of Supercritical Fluids**, [S.L.], v. 137, p. 1-8, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2018.02.019>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896844617307726>. Acesso em: 23 maio 2020.

KUMAR, Shashank; PANDEY, Abhay K.. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, [S.L.], v. 2013, p. 1-16, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/162750/>. Acesso em: 25 jan. 2020.

LANDETE, J.M.. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. **Food Research International**. Canada, p. 1150-1160. jun. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911002572>. Acesso em: 10 mar. 2021.

LEE, Jungmin; DURST, Robert W; WROLSTAD, Ronald e; EISELE, T; GIUSTI, M M; HACH, J; HOF SOMMER, H; KOSWIG, S; A KRUEGER, D; KUPINA, S. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: collaborative study. **Journal Of Aoac International**, [S.L.], v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 1 set. 2005. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jaoac/article/88/5/1269/5657437>. Acesso em: 31 mar. 2019.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M. T. C.; SARTORI, S. F. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: de consumo in natura**. Nova Odessa: Plantarum. 2006. 640 p.

MARTINEZ, Kristina B.; MACKERT, Jessica D.; MCINTOSH, Michael K.. Polyphenols and Intestinal Health. **Nutrition And Functional Foods For Healthy**

**Aging**, [S.L.], p. 191-210, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-805376-8.00018-6>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128053768000186>. Acesso em: 11 abr. 2020.

Mol\* (D. Sehnal, S. Bittrich, M. Deshpande, R. Svobodová, K. Berka, V. Bazgier, S. Velankar, S.K. Burley, J. Koča, A.S. Rose (2021) Mol\* Viewer: modern web app for 3D visualization and analysis of large biomolecular structures. *Nucleic Acids Research*. doi: 10.1093/nar/gkab314).

MORAIS, Larissa Maria Fernandes; CONCEIÇÃO, Gonçalo Mendes da; NASCIMENTO, Janilde de Melo. FAMÍLIA MYRTACEAE: ANÁLISE MORFOLÓGICA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE UMA COLEÇÃO BOTÂNICA. **Agrarian Academy**, Goiânia, v. 1, n. 1, p. 317-347, 12 abr. 2014. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2014a/familia.pdf>. Acesso em: 09 fev. 2020.

MOURA, Roberto Cardoso de; LOPES, Paulo Sergio Nascimento; BRANDÃO JUNIOR, Delacyr da Silva; GOMES, Janaína Gonçalves; PEREIRA, Maurício Ballesteiro. Fruit and seed biometry of *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), in the natural vegetation of the North of Minas Gerais, Brazil. **Biota Neotrop**, [s. l], v. 10, n. 2, p. 1-2, 30 maio 2010. Disponível em: <https://www.biotaneotropica.org.br/v10n2/en/abstract?shortcommunication+bn0271002> 2010. Acesso em: 19 jun. 2019.

NEGREIROS, Jacson Rondinelli da Silva; ÁLVARES, Virgínia de Souza; BRUCKNER, Claudio Horst; MORGADO, Marcos Antônio Dell'Orto; CRUZ, Cosme Damião. Relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 546-549, 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-29452007000300026>.

Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452007000300026&lng=pt&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452007000300026&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 26 mar. 2021.

NYAMBE-SILAVWE, Hilda; VILLA-RODRIGUEZ, Jose A.; IFIE, Idolo; HOLMES, Melvin; AYDIN, Ebru; JENSEN, Jane Møller; WILLIAMSON, Gary. Inhibition of human  $\alpha$ -amylase by dietary polyphenols. **Journal Of Functional Foods**, [S.L.], v. 19, p. 723-732, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615005009>. Acesso em: 13 set. 2021.

OTA, Masafumi; OKAMOTO, Takeshi; HOSHINO, Wataru; WAKABAYASHI, Hidehiko. Action of  $\alpha$ -D-glucosidase from *Aspergillus niger* towards dextrin and starch. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 78, n. 2, p. 287-291, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.047>. Disponível em: <https://europepmc.org/article/AGR/IND44358287>. Acesso em: 12 jan. 2020.

PALONEN, Pauliina; WEBER, Courtney. Fruit color stability, anthocyanin content, and shelf life were not correlated with ethylene production rate in five primocane raspberry genotypes. **Scientia Horticulturae**, [S.L.], v. 247, p. 9-16, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.088>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423818308689>. Acesso em: 14 abr. 2021.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R.. Flavonoids - an overview. **Journal Of Nutritional Science**, [S.L.], v. 5, n. 47, p. 506-511, 2016. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/jns.2016.41>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5465813/>. Acesso em: 06 maio 2021.

PEREIRA, Marina Couto; BOSCHETTI, Wiliam; RAMPAZZO, Roger; CELSO, Paulo Gustavo; HERTZ, Plinho Francisco; RIOS, Alessandro de Oliveira; VIZZOTTO, Márcia; FLORES, Simone Hickmann. Mineral characterization of native fruits from the

southern region of Brazil. **Food Science And Technology (Campinas)**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 258-266, jun. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/fst.2014.0049>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612014000200006](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612014000200006). Acesso em: 29 mar. 2019.

PES, Luciano Zucuni; ARENHARDT, Marlon Hilgert. **Fisiologia Vegetal**. Santa Maria: Rede E-Tec Brasil., 2015. 82 p. Disponível em: <https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/342/2020/04/FISIOLOGIA-VEGETAL.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2021.

PINTO, Marcia da Silva; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria Inés. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 107, n. 4, p. 1629-1635, abr. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.038>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814607010618>. Acesso em: 15 abr. 2019.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta; CIMPEANU, Carmen; PREDOI, Gabriel. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. **Oxid Med Cell Longev.**, [s. l], p. 1-36, 4 dez. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5164913/>. Acesso em: 14 abr. 2021.

PRIOR, Ronald L.; HOANG, Ha; GU, Liwei; WU, Xianli; BACCHIOCCA, Mara; HOWARD, Luke; HAMPSCH-WOODILL, Maureen; HUANG, Dejian; OU, Boxin; JACOB, Robert. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 51, n. 11, p. 3273-3279, maio 2003. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf0262256>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0262256>. Acesso em: 03 set. 2019.



PUCINELLI, Ricardo Henrique. **Aprendizado dos conceitos de flor e fruto e sua utilização pelos alunos de Ciências Biológicas do I.B. - USP.** 2010. 192 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ensino de Ciências, Faculdade de Educação, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/81/81133/tde-04082010-102930/publico/Ricardo\\_Henrique\\_Pucinelli.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/81/81133/tde-04082010-102930/publico/Ricardo_Henrique_Pucinelli.pdf). Acesso em: 24 mar. 2021.

RASOULI, Hassan; HOSSEINI-GHAZVINI, Seyed Mohammad-Bagher; ADIBI, Hadi; KHODARAHMI, Reza. Differential  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. **Food & Function**, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 1942-1954, 2017. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7fo00220c>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28470323/>. Acesso em: 07 fev. 2021.

RÊGO, Gizelda Maia; LAVORANTI, Osmir José; ASSUMPÇÃO NETO, Antonio. **Floração e frutificação da cerejeira-do-mato, em áreas fragmentadas da floresta ombrófila mista, no município de Colombo, PR.** Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 8 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPF-2009-09/43225/1/circ-tec129.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2020.

RÊGO, Gizelda Maia; LAVORANTI, Osmir José; ASSUMPÇÃO NETO, Antonio. **Monitoramento dos estádios fenológicos reprodutivos da cerejeira-do-mato.** Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 5 p. Disponível em: [https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/16818/1/com\\_tec171.pdf](https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/16818/1/com_tec171.pdf). Acesso em: 14 mar. 2020.

REYNERTSON, Kurt A.; YANG, Hui; JIANG, Bei; BASILE, Margaret J.; KENNELLY, Edward J.. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 109, n. 4, p. 883-890, ago.

2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.021>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3040238/>. Acesso em: 15 abr. 2021.

ROCHA, Keslei Rosendo da; URIBE, Sandro Javier. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE BANANAS (MUSA SPP AAB CULTIVAR PRATA) DA REGIÃO METROPOLITANA DO VALE DO AÇO – MG. **Caracterização Físico-Química de Bananas (Musa Spp Aab Cultivar Prata) da Região Metropolitana do Vale do Aço – Mg**, Patos-Pb, v. 15, n. 4, p. 269-275, out. 2019. Disponível em: <http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/article/view/1076>. Acesso em: 14 abr. 2021.

ROCKENBACH, Ismael Ivan; JUNGFER, Elvira; RITTER, Christina; SANTIAGO-SCHÜBEL, Beatrix; THIELE, Björn; FETT, Roseane; GALENSA, Rudolf. Characterization of flavan-3-ols in seeds of grape pomace by CE, HPLC-DAD-MSn and LC-ESI-FTICR-MS. **Food Research International**, [S.L.], v. 48, n. 2, p. 848-855, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912002414>. Acesso em: 14 ago. 2019.

RUFINO, Maria do Socorro Moura. **Propriedades Funcionais de Frutas Tropicais Brasileiras Não Tradicionais**. 2008. 263 f. Tese (Doutor em Agronomia) - Universidade federal Rural do Semi-Árido. Mossoró/RN. 2008. Disponível em: <http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/82/TeseMariadoSocorroRufino.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2020.

SALVADOR, Marcos José; LOURENÇO, Caroline C. de; ANDREAZZA, Nathalia Luiza; PASCOAL, Aislan C.R.F.; STEFANELLO, Maria Élide Alves. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of four Myrtaceae Plants of the South of Brazil. **Natural Product Communications**. S.I., p. 977-982. 26 mar. 2011. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1100600713>. Acesso em: 09 set. 2021.

SCHAEFER, H. M.; MCGRAW, K.; CATONI, C.. Birds use fruit colour as honest signal of dietary antioxidant rewards. **Functional Ecology**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 303-310, abr. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01363.x>. Disponível em: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2435.2007.01363.x>. Acesso em: 14 abr. 2021.

SCHMIDT, Helena. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, NUTRICIONAL E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE SETE ESPÉCIES DA FAMÍLIA MYRTACEAE NATIVAS DA REGIÃO SUL DO BRASIL**. 2018. 163 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pósgraduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/178868>. Acesso em: 03 jun. 2018.

SENHOR, Rosemberg Ferreira; SOUZA, Pahlevi Augusto de; CARVALHO, Jorge N. de; SILVAL, Francisca Luzia da; SILVA, Maryellen Campos. FATORES DE PRÉ E PÓS-COLHEITA QUE AFETAM OS FRUTOS E HORTALIÇAS EM PÓS-COLHEITA. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 4, n. 3, p. 13-21, set. 2009.

SHAHAT, Abdelaaty A.; MARZOUK, Mohamed S.. Tannins and Related Compounds from Medicinal Plants of Africa. **Medicinal Plant Research In Africa**, [S.L.], p. 479-555, 2013. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-405927-6.00013-8>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124059276000138>. Acesso em: 14 mar. 2021.

SILVA, BIANCA SOUZA GÓES DA. **Hidrólise ácida como estratégia para a despolimerização dos elagitaninos da casca e semente de jaboticaba (Myrciaria jaboticaba)**. Orientador: Dra. Mariana Costa Monteiro e Nathália Moura Nunes. 2019. 82f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro / Instituto de Nutrição Josué Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição (PPGN). Disponível

em: <http://www.ppgn.ufrj.br/wp-content/uploads/2020/06/Bianca-Souza-G%C3%B3es-da-Silva-disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2020.

SILVA, Nathalia Azevedo da; RODRIGUES, Eliseu; MERCADANTE, Adriana Zerlotti; ROSSO, Veridiana Vera de. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 62, n. 22, p. 5072-5084, 21 maio 2014. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf501211p>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf501211p>. Acesso em: 12 abr. 2019.

SINGH, P.; SINGH, D.; GOEL, R. K. Phytoflavonoids: antiepileptics for the future. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 6, n. 8, p. 51-66, 2014. Disponível em: <https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/1885>. Acesso em: 17 mar. 2021.

SLIWOSKI, Gregory; KOTHIWALE, Sandeepkumar; MEILER, Jens; LOWE, Edward W.. Computational Methods in Drug Discovery. **Pharmacological Reviews**, [S.L.], v. 66, n. 1, p. 334-395, 31 dez. 2013. American Society for Pharmacology & Experimental Therapeutics (ASPET). <http://dx.doi.org/10.1124/pr.112.007336>. Disponível em: <https://pharmrev.aspetjournals.org/content/66/1/334>. Acesso em: 05 mar. 2021.

SOUZA, Bianca Bittencourt de; CEMBRANEL, Francieli; HALLAL, Ana Luiza Curi; D'ORSI, Eleonora. Consumo de frutas, legumes e verduras e associação com hábitos de vida e estado nutricional: um estudo prospectivo em uma coorte de idosos. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 1463-1472, abr. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232018244.03782017>. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-81232019000401463&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232019000401463&tlng=pt). Acesso em: 23 mar. 2020.

STRACK, D.. Phenolic Metabolism. **Plant Biochemistry**, [S.L.], p. 387-416, 1997. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012214674-9/50011-4>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780122146749500114>. Acesso em: 20 abr. 2021.

STRACK, D.. Phenolic Metabolism. **Plant Biochemistry**, [S.L.], p. 387-416, 1997. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012214674-9/50011-4>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780122146749500114>. Acesso em: 20 abr. 2021.

SUN, Jianping; LIANG, Feng; BIN, Yan; LI, Ping; DUAN, Changqing. Screening Non-colored Phenolics in Red Wines using Liquid Chromatography/Ultraviolet and Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Libraries. **Molecules**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 679-693, 30 mar. 2007. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/12030679>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17851421/>. Acesso em: 17 abr. 2019.

SUN, Lijun; J.WARREN, Fredrick; J.GIDLEY, Michael. Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. **Trends In Food Science & Technology**, [s. l], v. 91, p. 262-273, set. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418309087>. Acesso em: 20 abr. 2021.

SUN, Lijun; J.WARREN, Fredrick; J.GIDLEY, Michael. Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. **Trends In Food Science & Technology**, [s. l], v. 91, p. 262-273, set. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418309087>. Acesso em: 20 abr. 2021.

SUN, Lijun; WANG, Yueyi; MIAO, Ming. Inhibition of  $\alpha$ -amylase by polyphenolic compounds: substrate digestion, binding interactions and nutritional intervention. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 104, p. 190-207, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224420305616#fig4>. Acesso em: 05 maio 2021.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E.. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 63-68, jan. 1959. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740100110>. Acesso em: 19 set. 2018.

TALCOTT, S. T. Chemical components of berry fruits. In: ZHAO, Y. (Ed.). **Berry Fruit: value-added products for health promotion**. New York: CRC press – Taylor & Francis Group, 2007. p. 51-72. [http:// dx.doi.org/10.1201/9781420006148.ch2](http://dx.doi.org/10.1201/9781420006148.ch2).

TEIXEIRA, Luciane de Lira; BERTOLDI, Fabiano Cleber; LAJOLO, Franco Maria; HASSIMOTTO, Neuza Mariko Aymoto. Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 63, n. 22, p. 5417-5427, 2 jun. 2015. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01195>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25990484/>. Acesso em: 21 out. 2019.

TROTT, Oleg; OLSON, Arthur J.. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal Of Computational Chemistry**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 455-461, jan. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.21334>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3041641/>. Acesso em: 03 mar. 2021.

TSIMOGIANNIS, Dimitrios; OREOPOULOU, Vassiliki. Chapter 16 - Classification of Phenolic Compounds in Plants. In: WATSON, Ronald Ross. **Polyphenols in Plants: isolation, purification and extract preparation**. 2. ed. Cambridge, Massachusetts: Academia Press, 2019. p. 263-284. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128137680000268?via%3Dihub>. Acesso em: 19 abr. 2020.

WAGNER, Julia Goetten. **PESQUISA PARTICIPATIVA SOBRE Eugenia involucrata DC PARA FINS DE CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO**. 2017. 90 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/181782/TCC%20Final%20Julia%20Wagner.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 30 mar. 2020.

WANG, Chien Y.. Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. **International Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 38, n. 8, p. 869-875, dez. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0950-5423.2003.00758.x>. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.0950-5423.2003.00758.x>. Acesso em: 14 abr. 2021.

WHITCOMB, David C.; LOWE, Mark E.. Human Pancreatic Digestive Enzymes. **Digestive Diseases And Sciences**, [S.L.], v. 52, n. 1, p. 1-17, 5 jan. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-006-9589-z>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17205399/>. Acesso em: 9 dez. 2020.

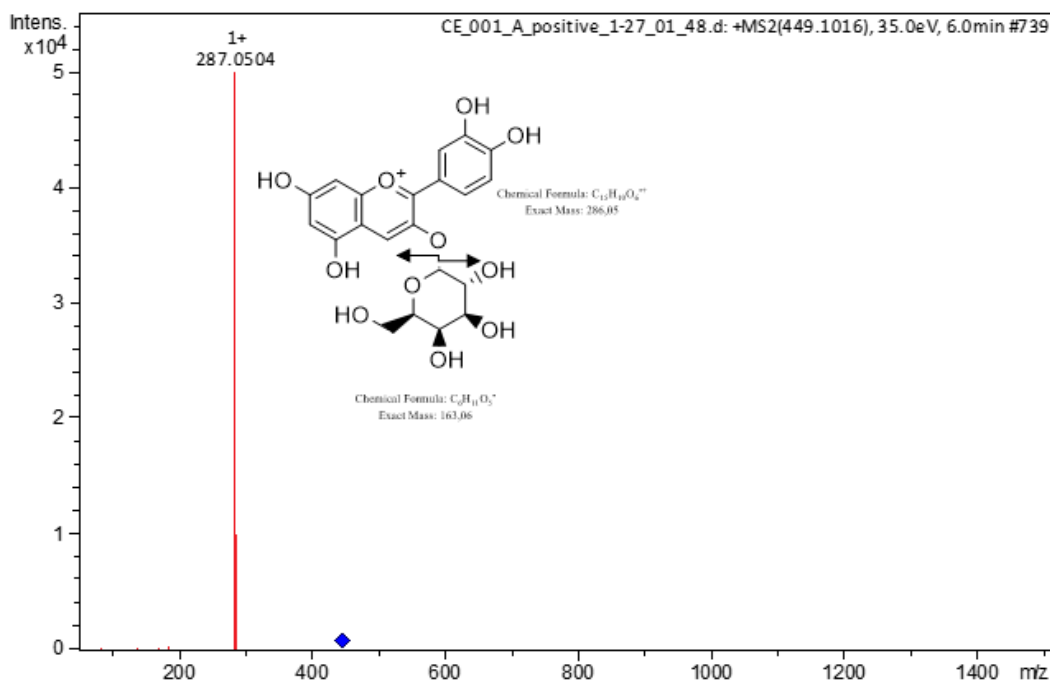
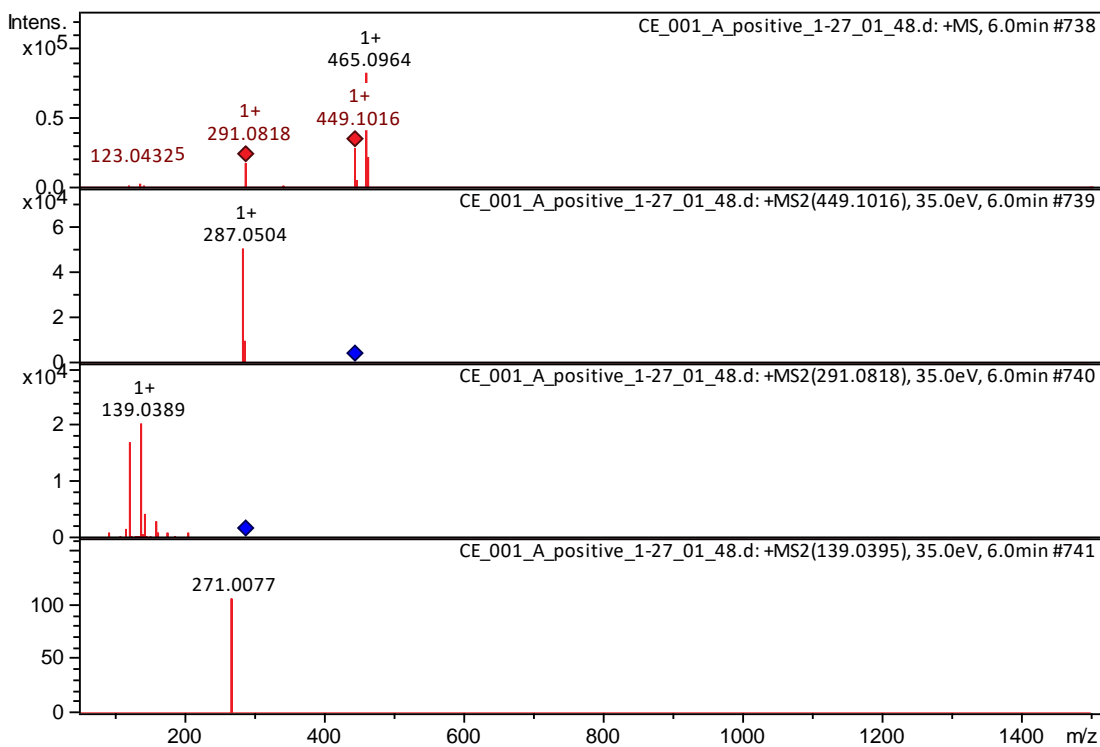
YU, Wenbo; MACKERELL JUNIOR, Alexander D. Computer-Aided Drug Design Methods. **Methods Mol Biol** ., [s. l], p. 85-106, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27873247/>. Acesso em: 20 abr. 2021.

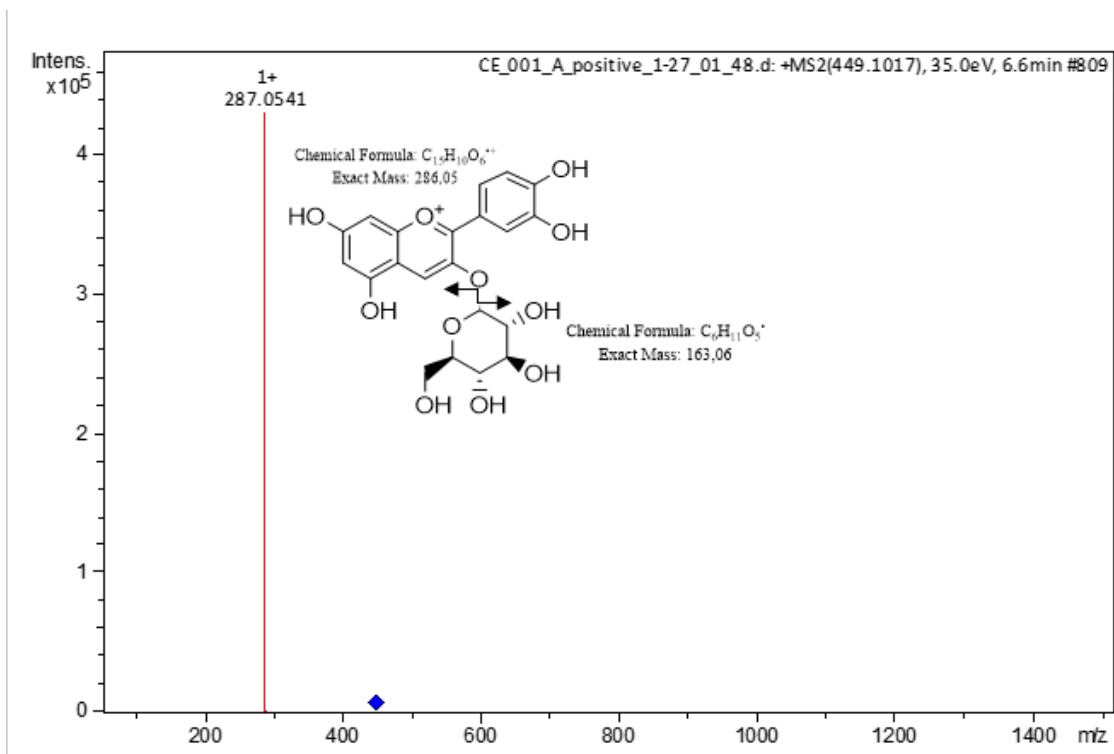
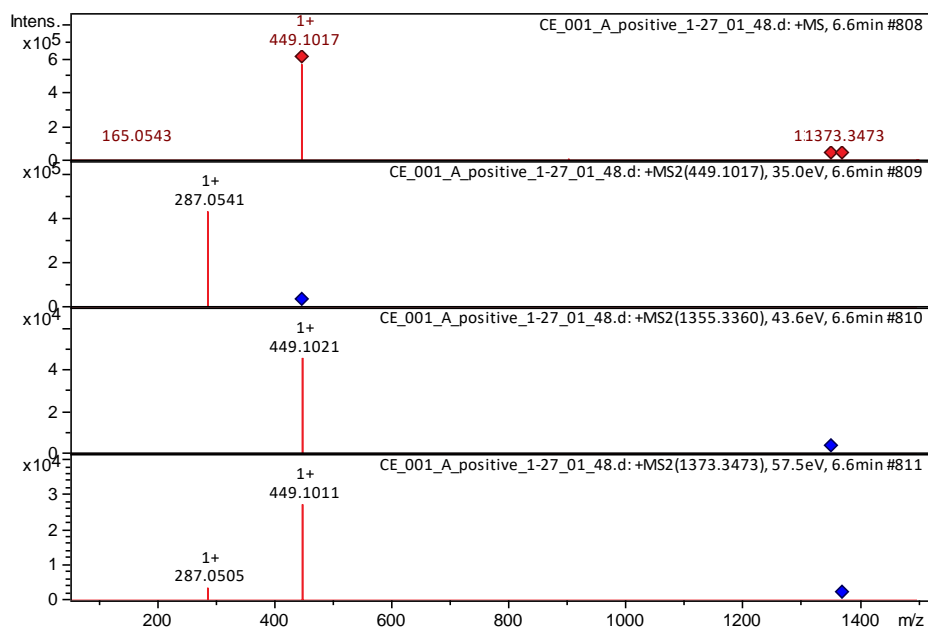
ZHANG, Bo-Wei; LI, Xia; SUN, Wen-Long; XING, Yan; XIU, Zhi-Long; ZHUANG, Chun-Lin; DONG, Yue-Sheng. Dietary Flavonoids and Acarbose Synergistically Inhibit  $\alpha$ -Glucosidase and Lower Postprandial Blood Glucose. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 65, n. 38, p. 8319-8330, 15 set. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02531>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28875706/>. Acesso em: 20 abr. 2021.

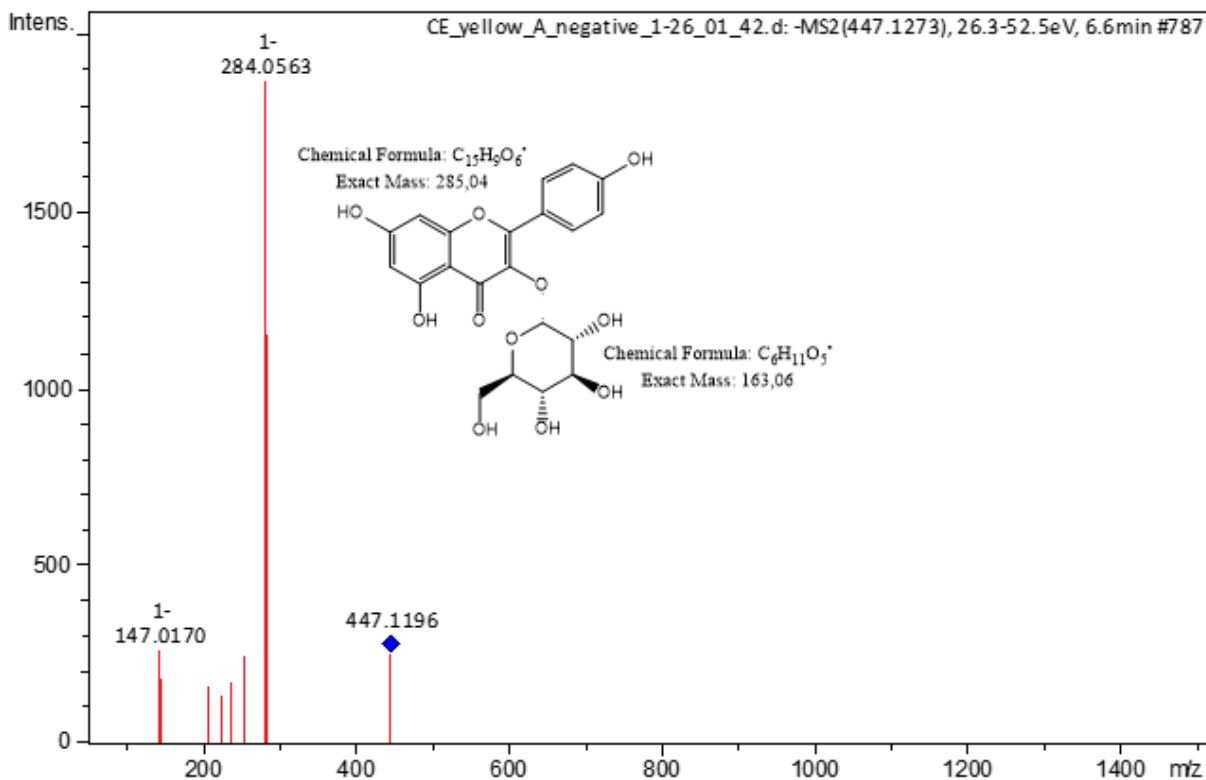
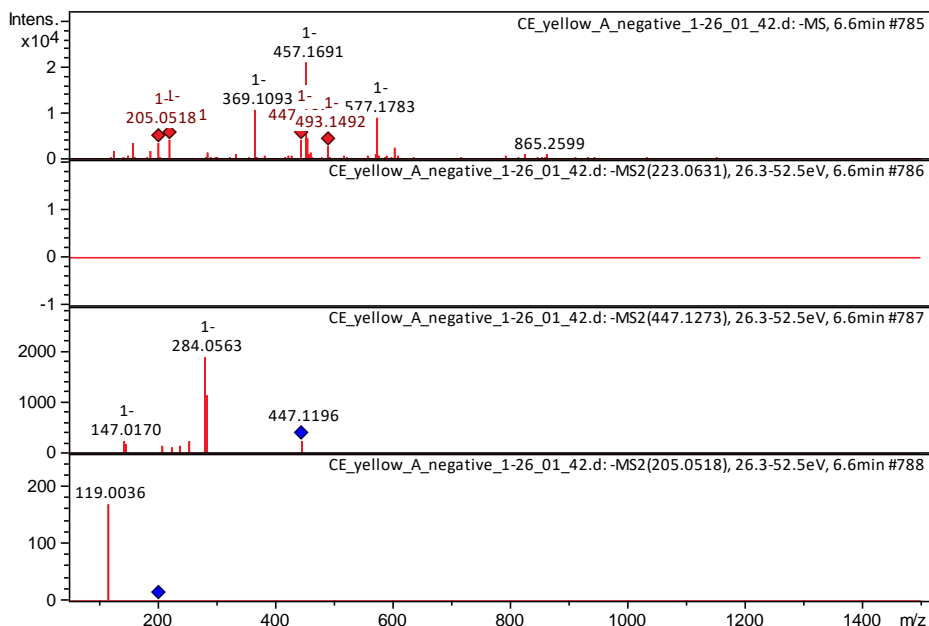
ZHANG, Bo-Wei; LI, Xia; SUN, Wen-Long; XING, Yan; XIU, Zhi-Long; ZHUANG, Chun-Lin; DONG, Yue-Sheng. Dietary Flavonoids and Acarbose Synergistically Inhibit  $\alpha$ -Glucosidase and Lower Postprandial Blood Glucose. **Journal Of Agricultural And**

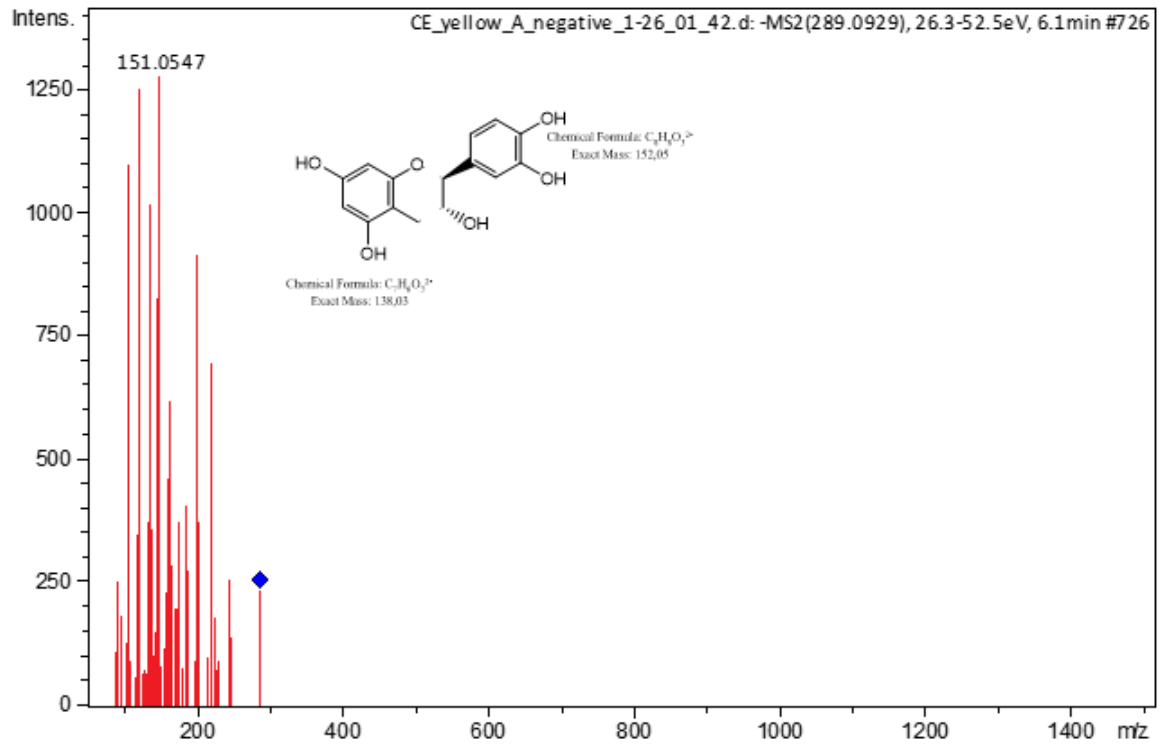
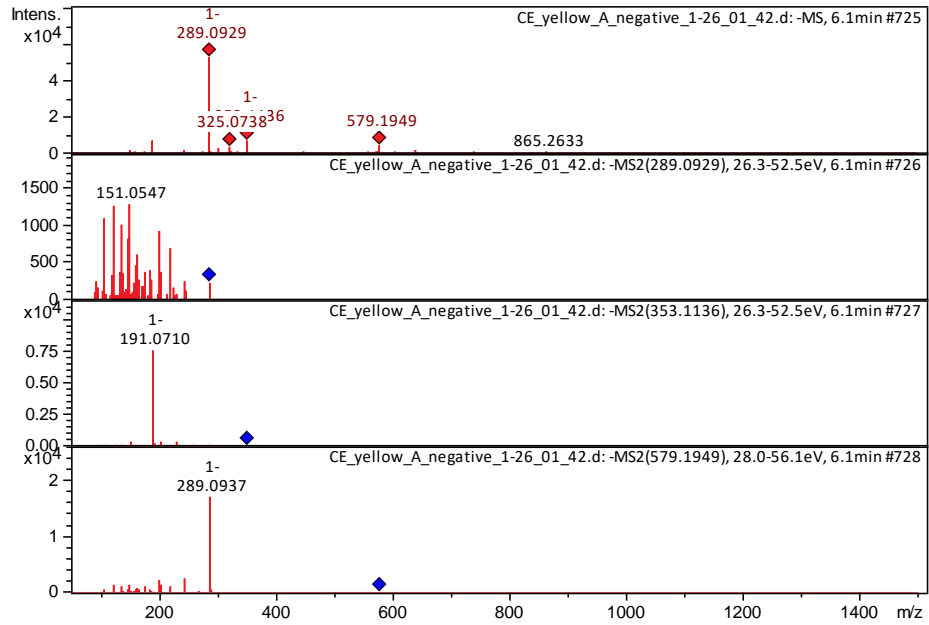
**Food Chemistry**, [S.L.], v. 65, n. 38, p. 8319-8330, 15 set. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02531>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28875706/>. Acesso em: 20 abr. 2021.

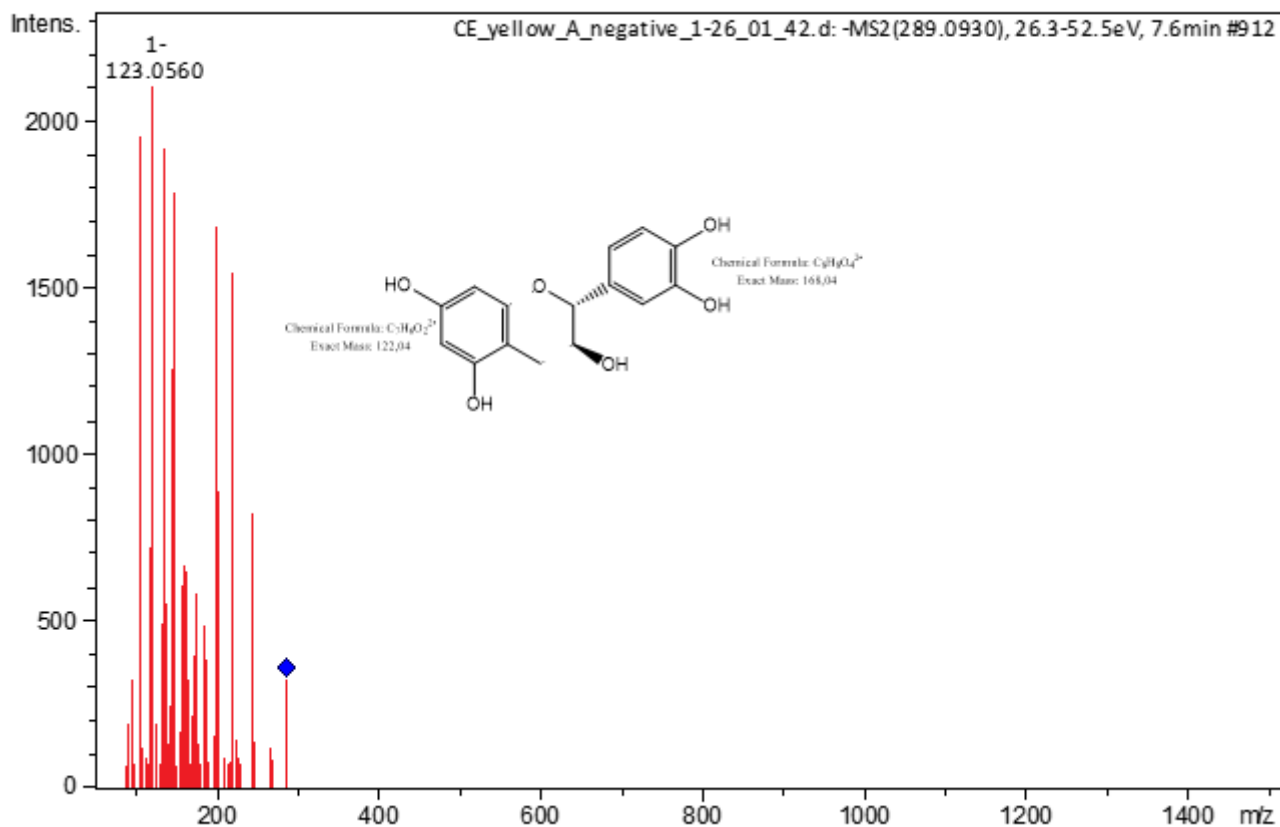
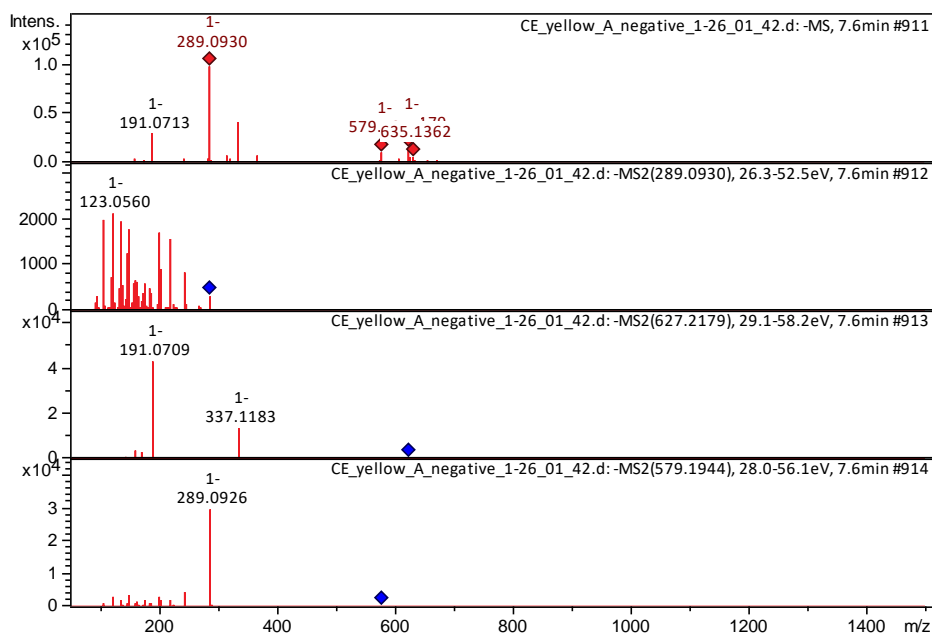


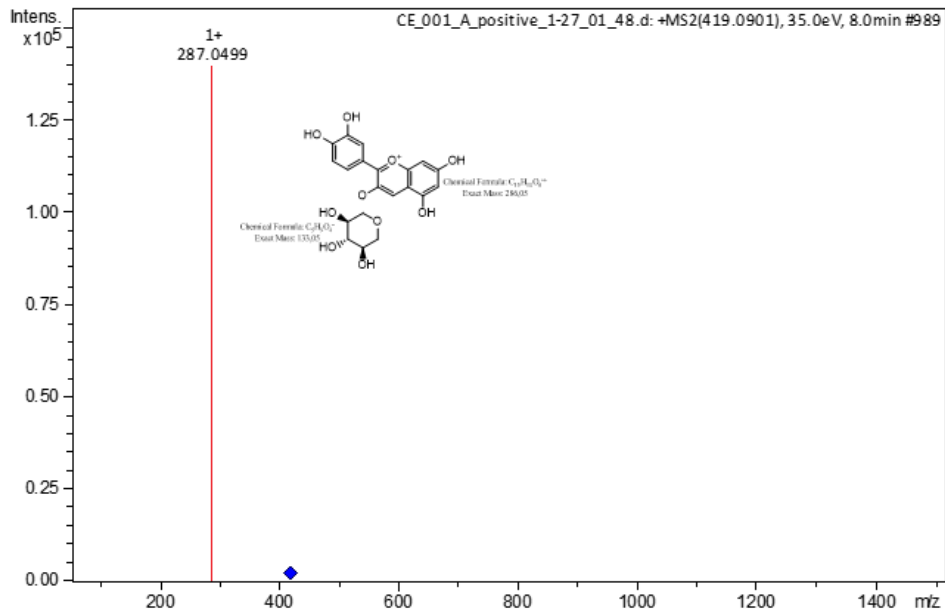
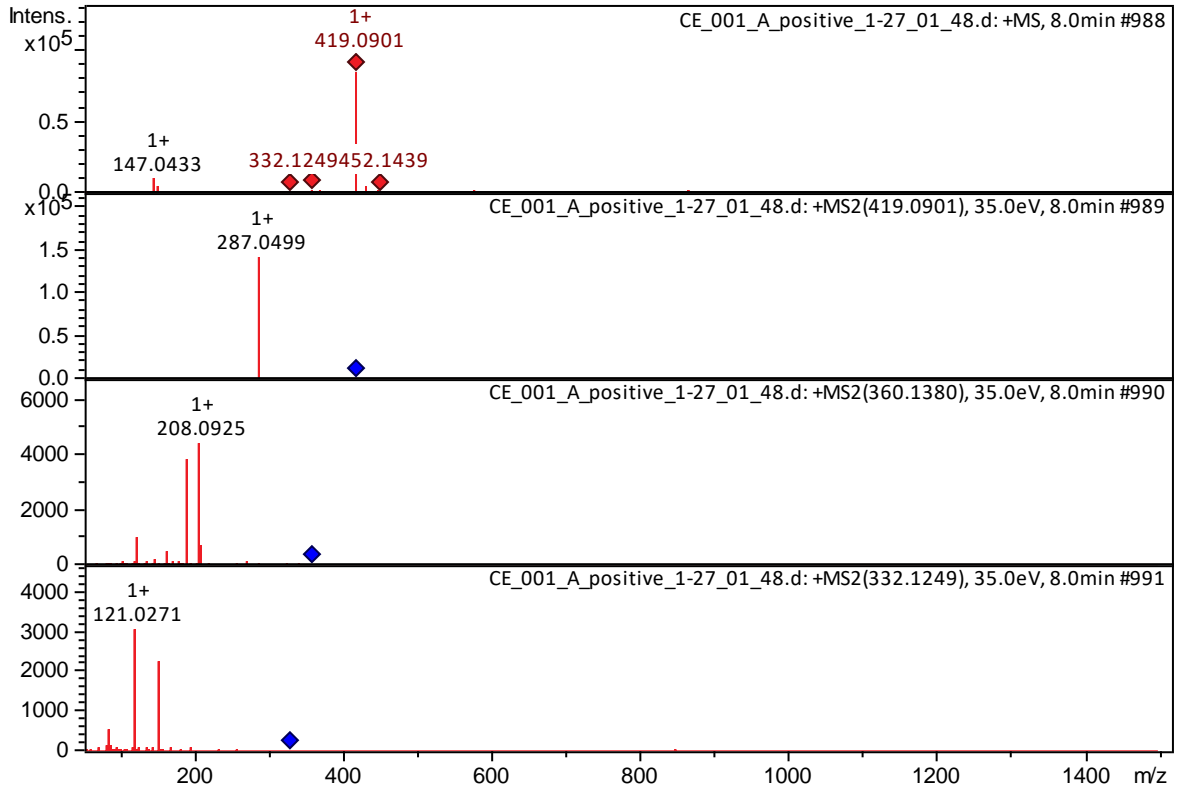


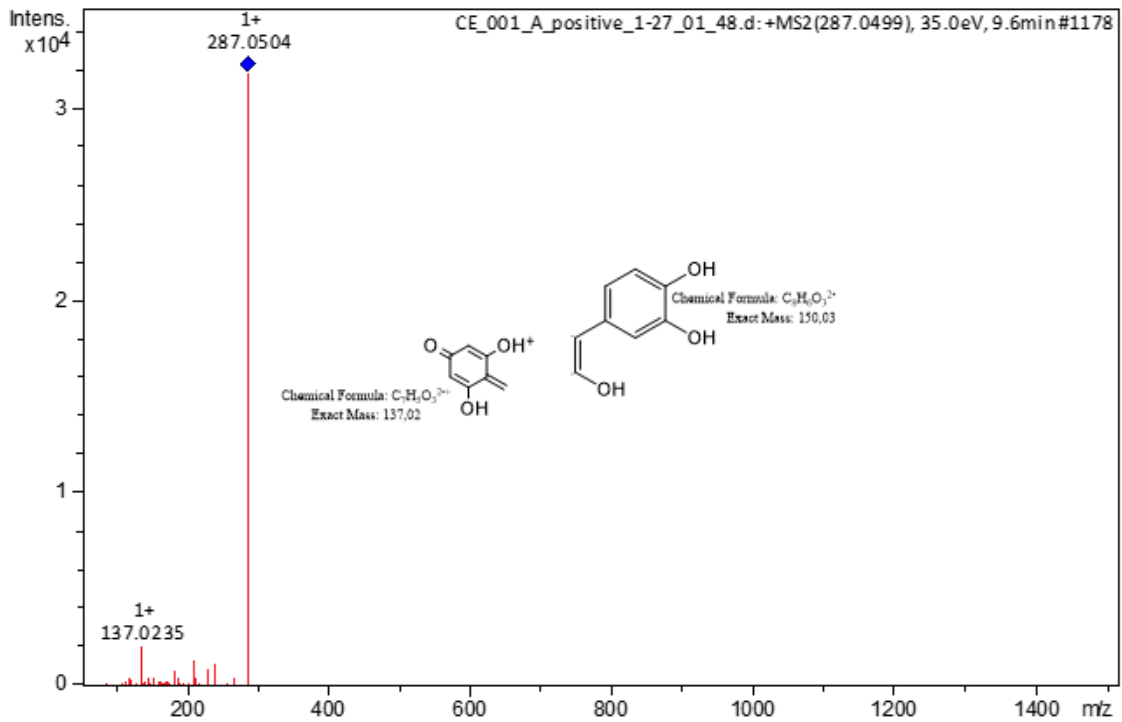
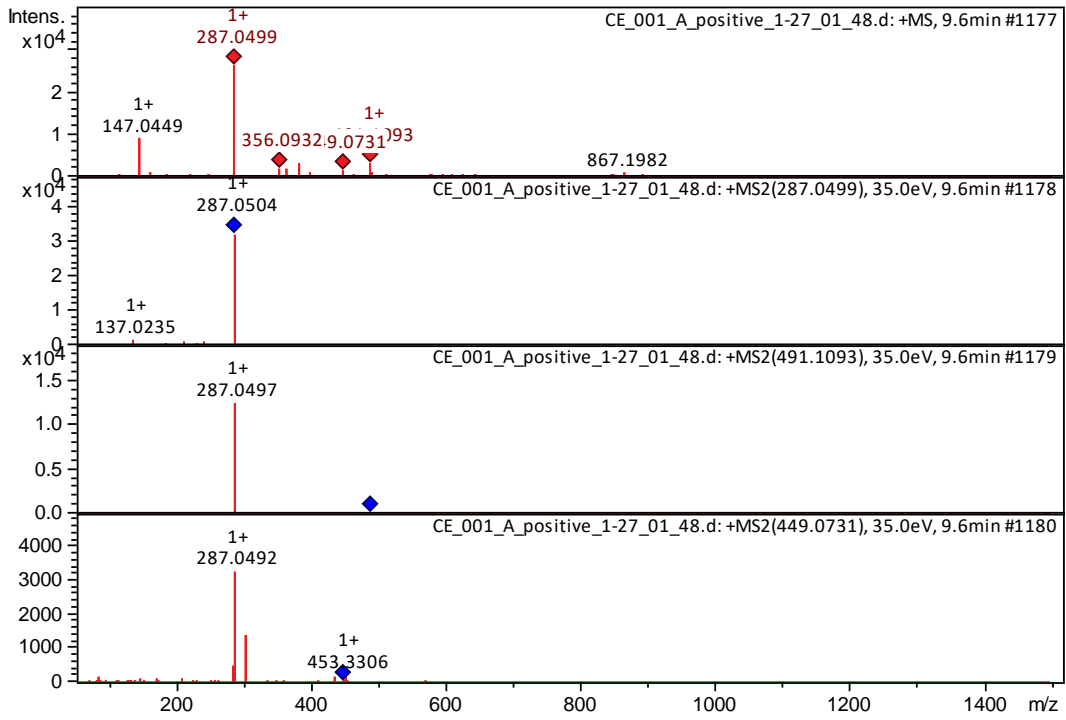


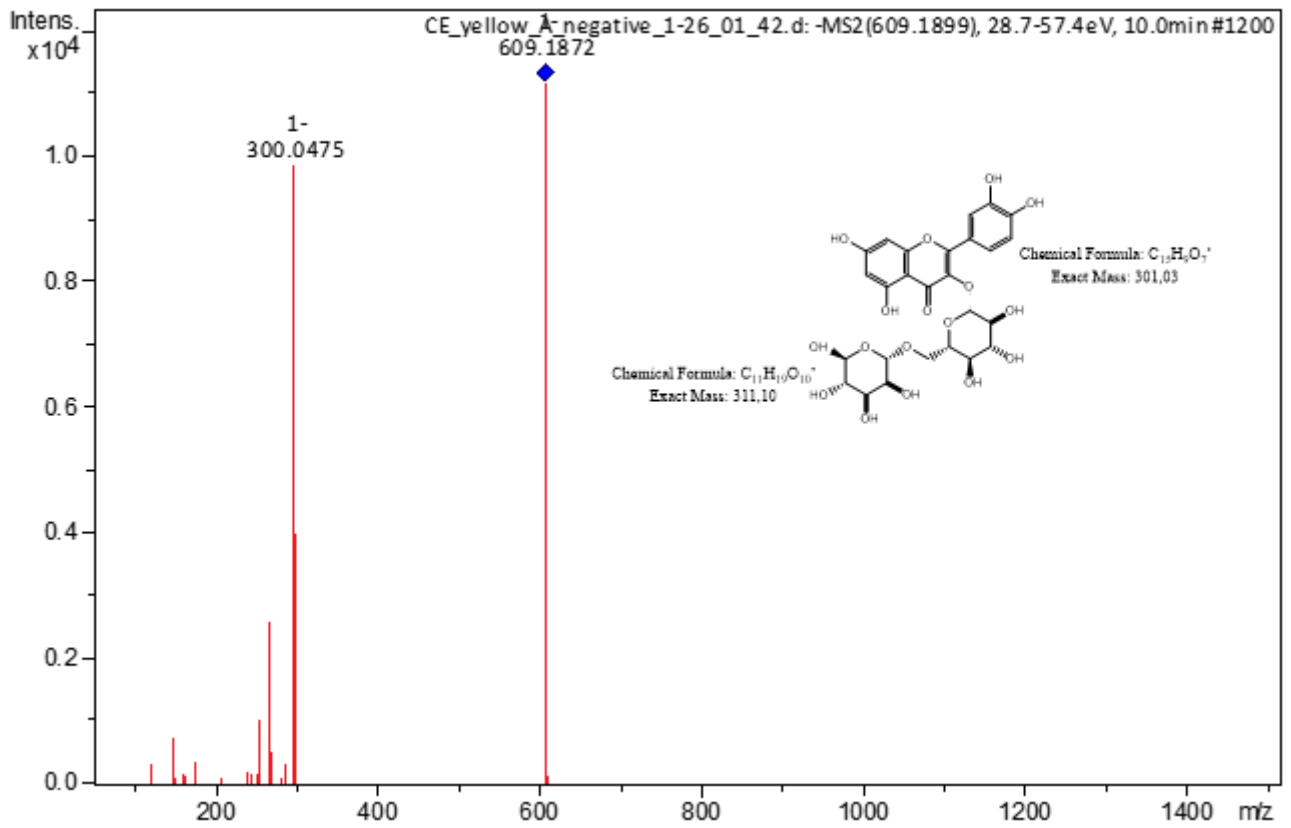
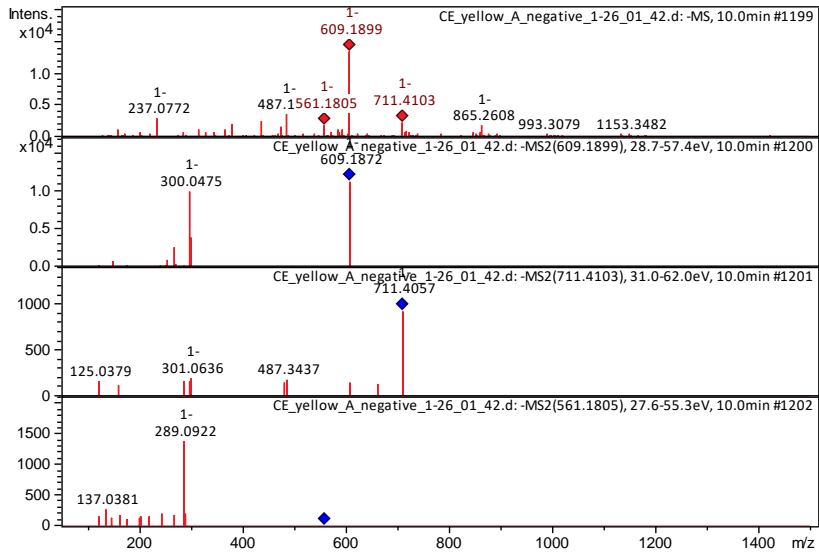




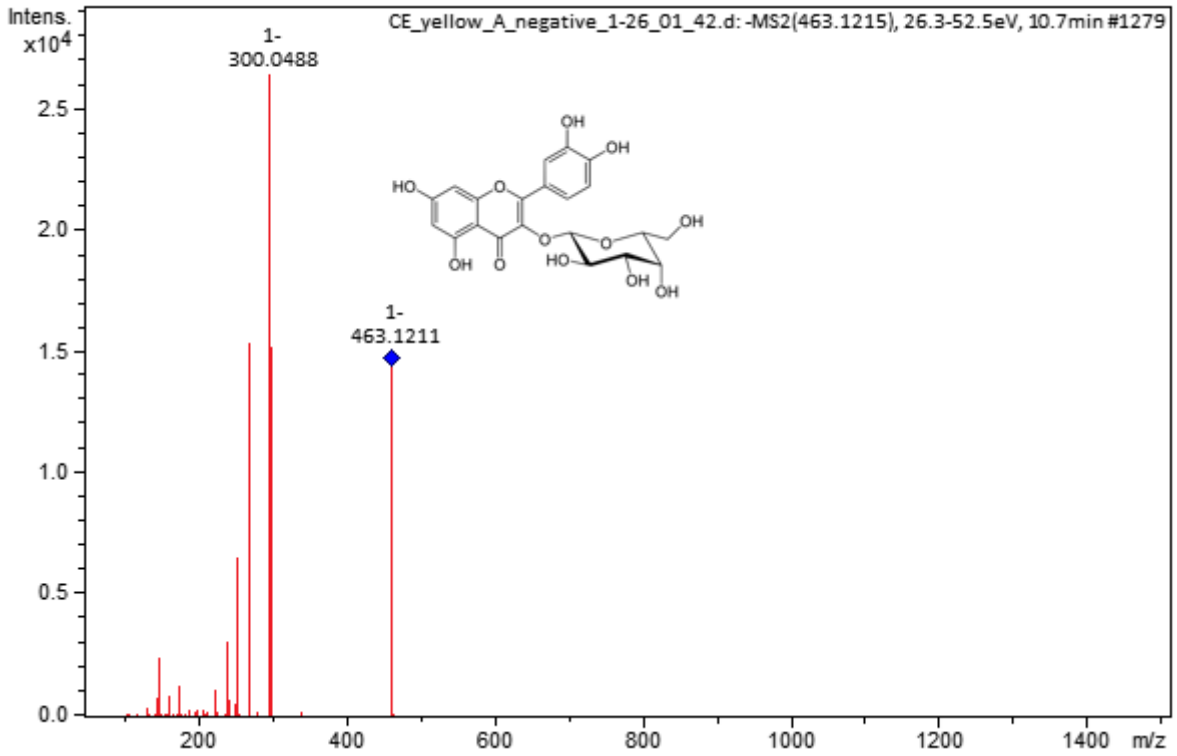
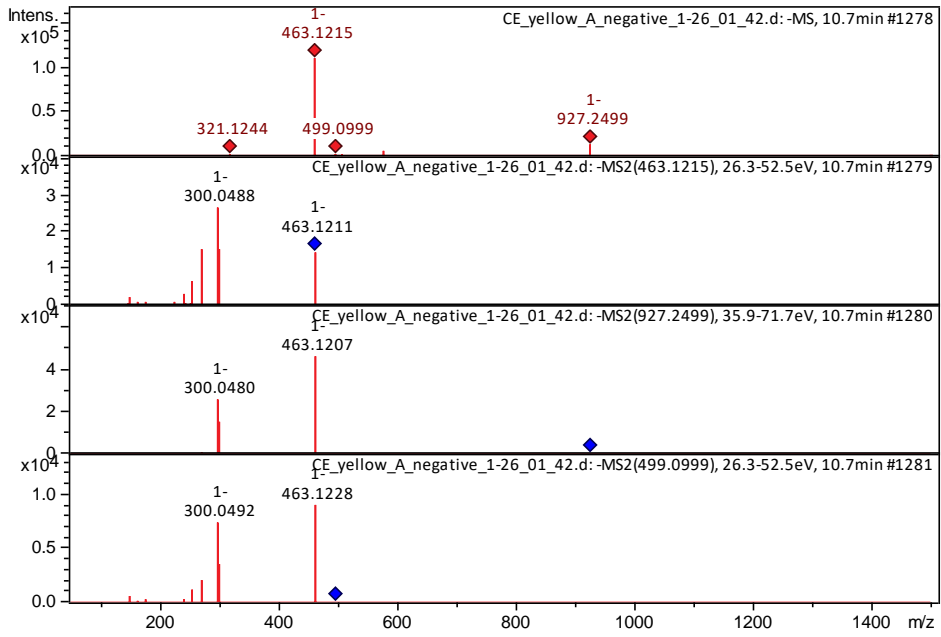


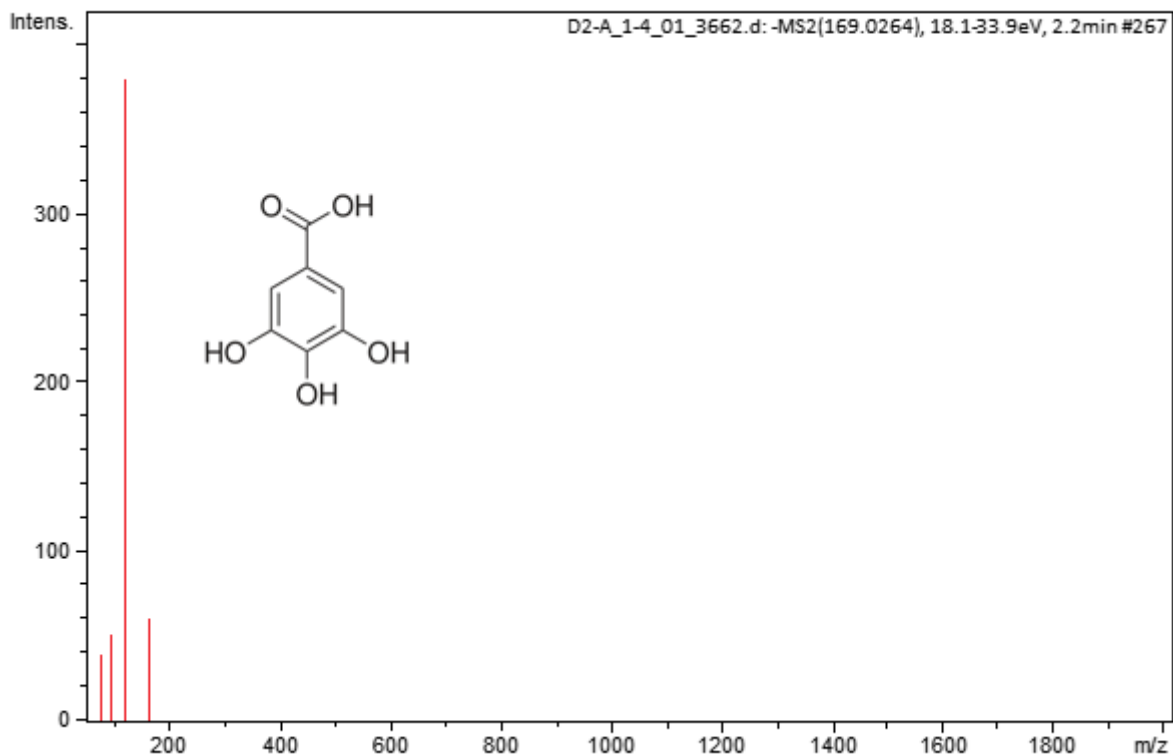
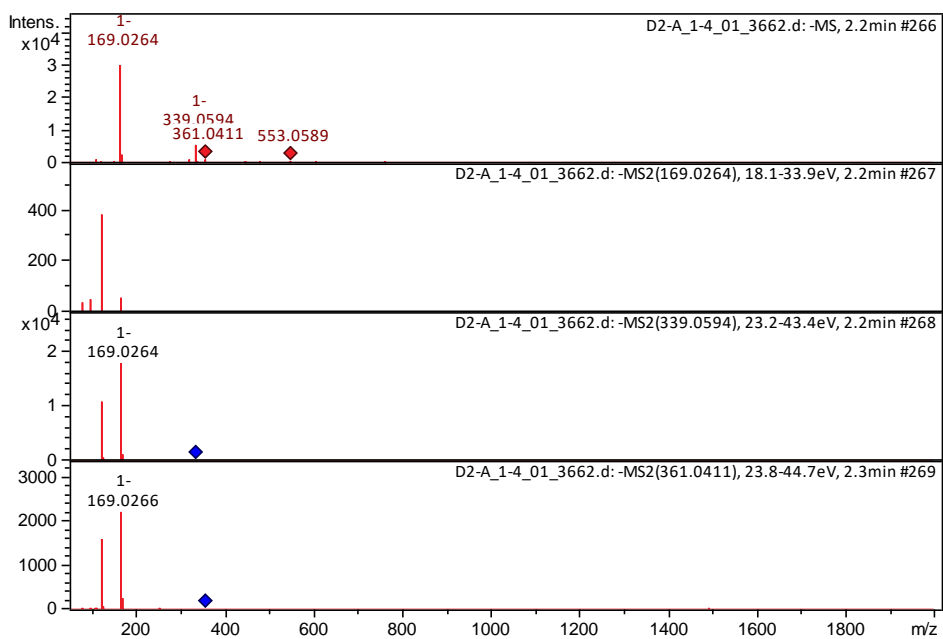


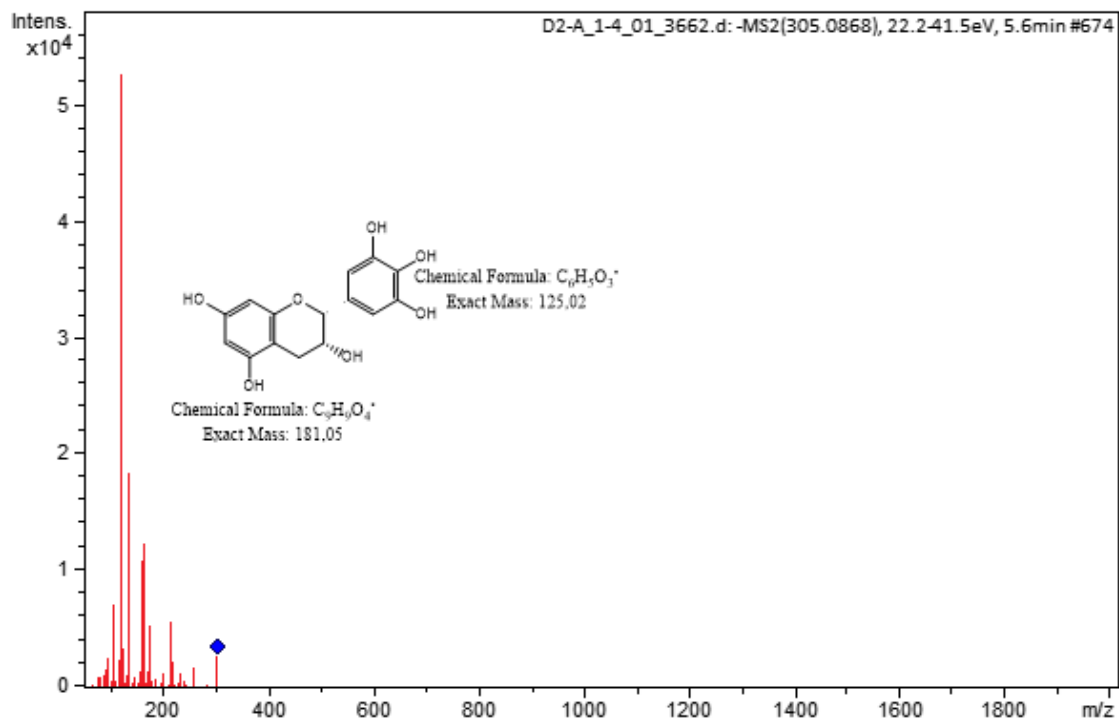
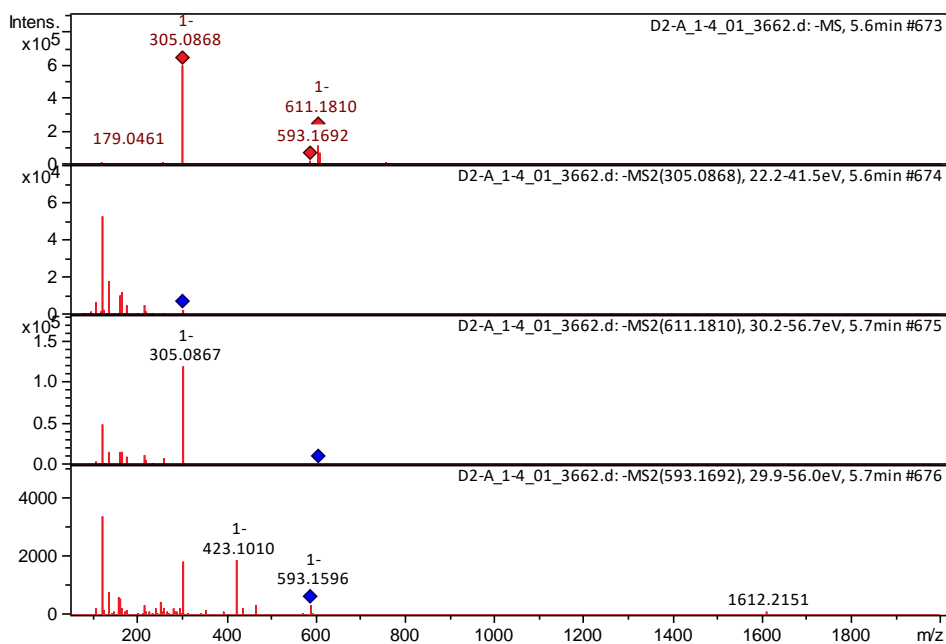


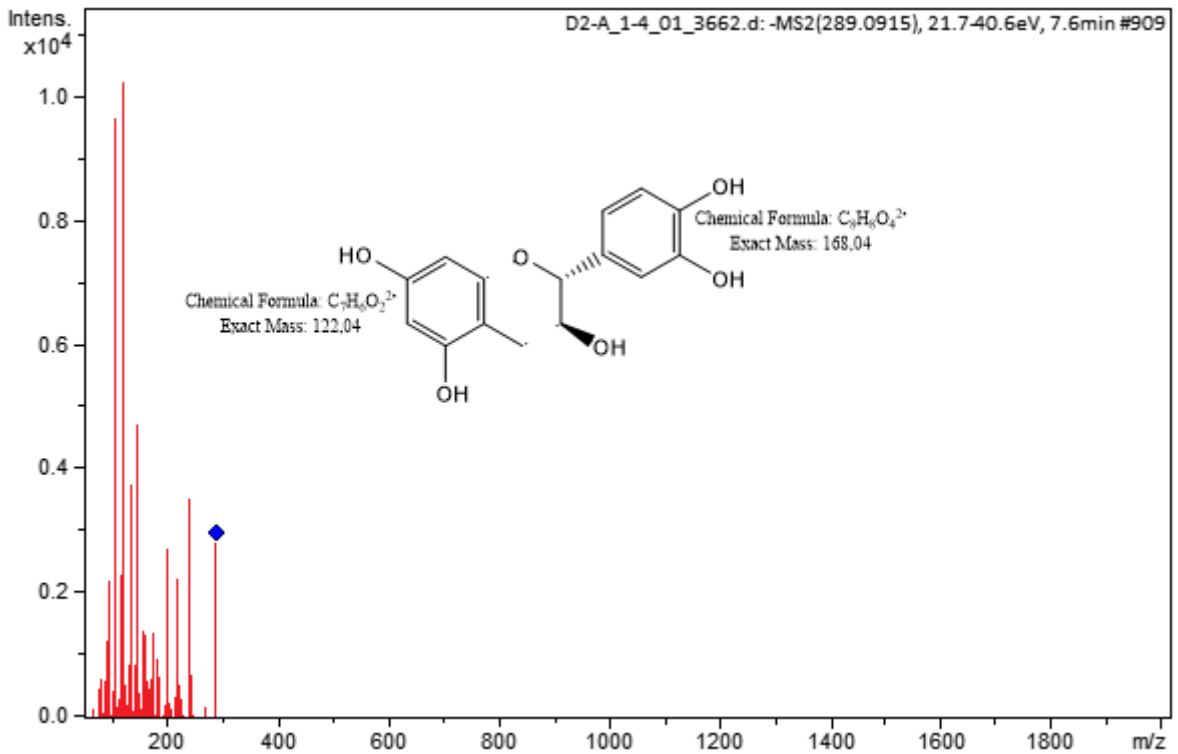
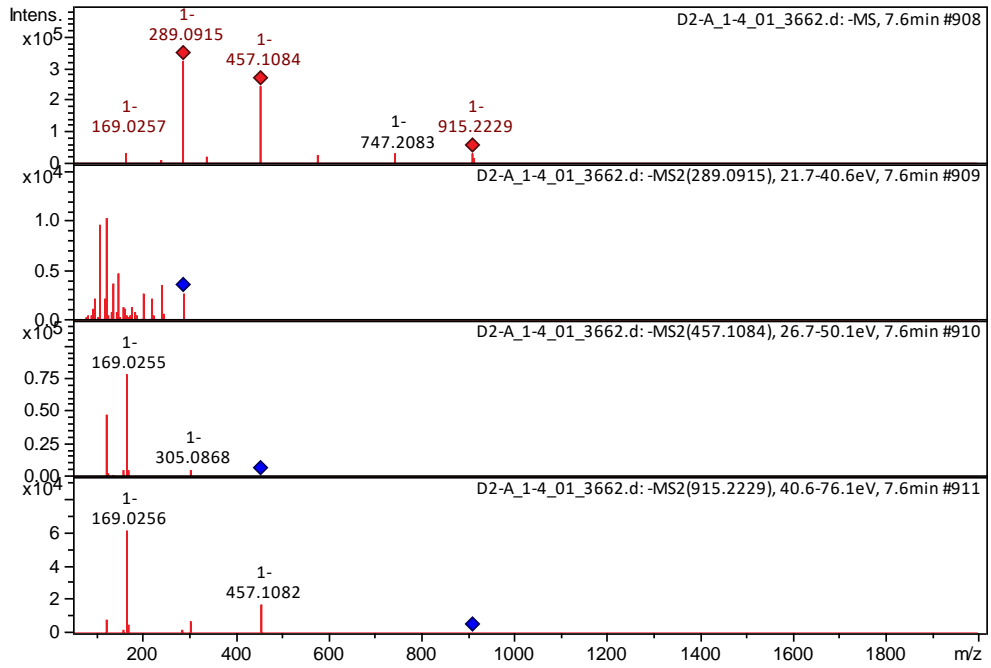


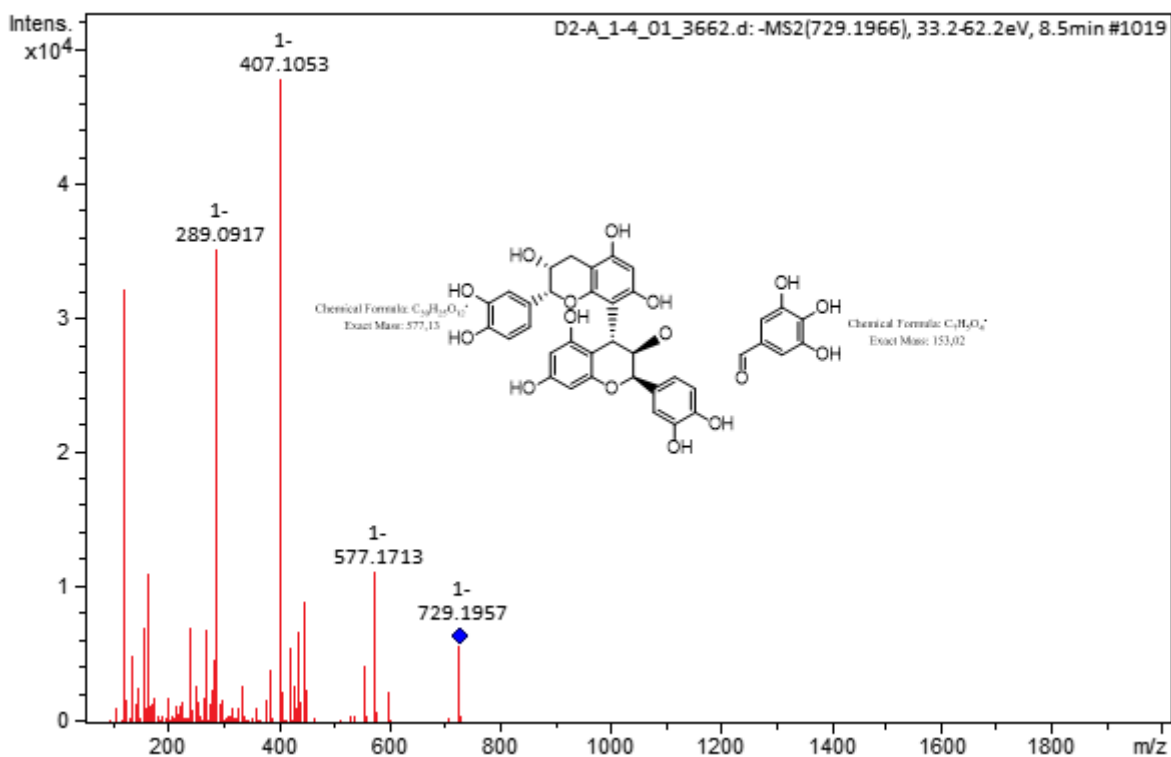
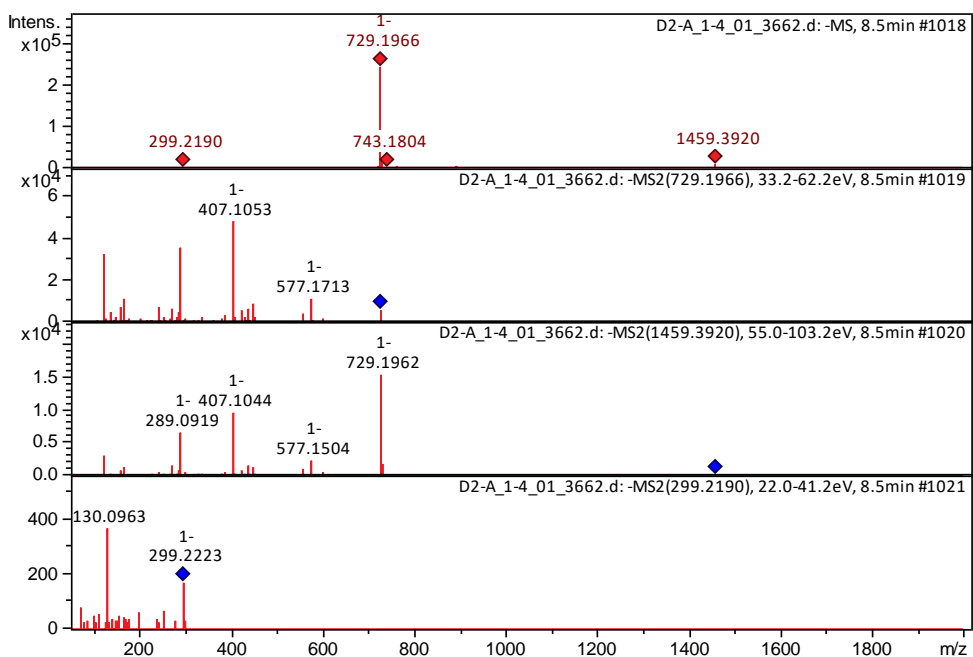


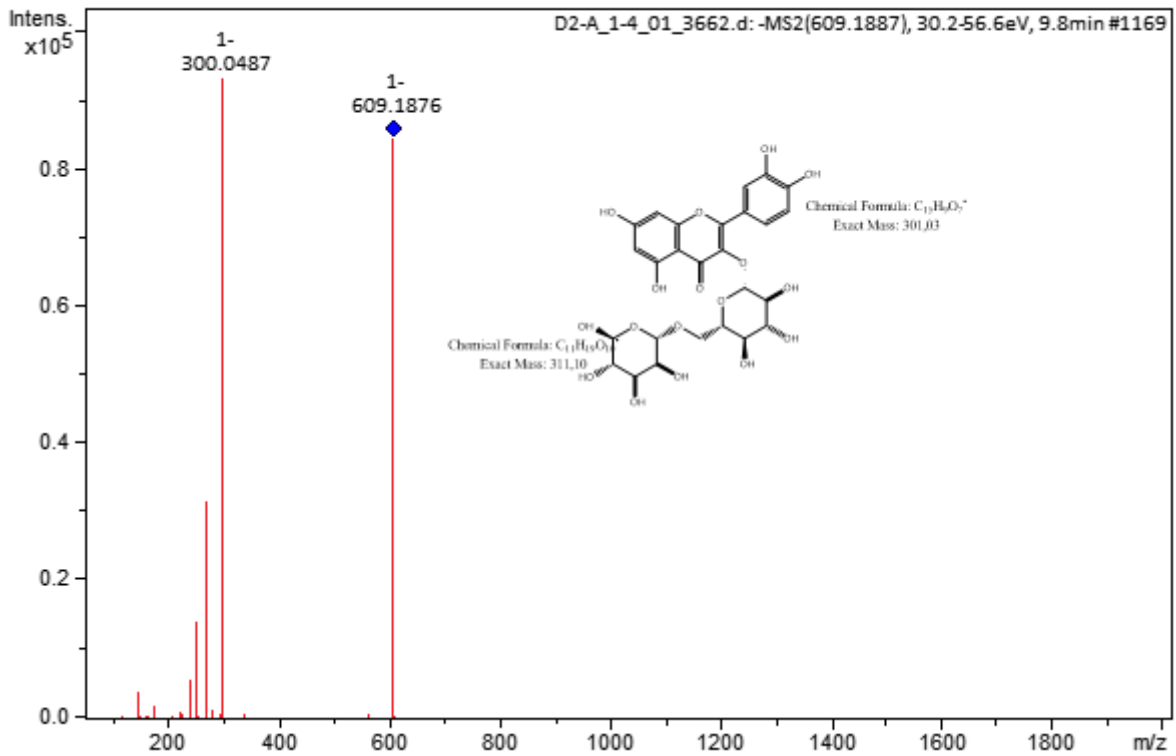
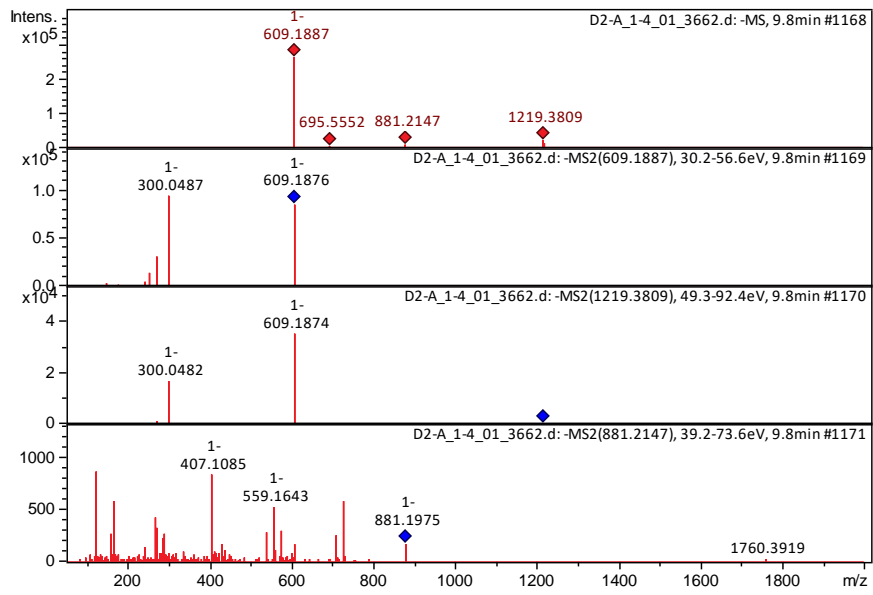


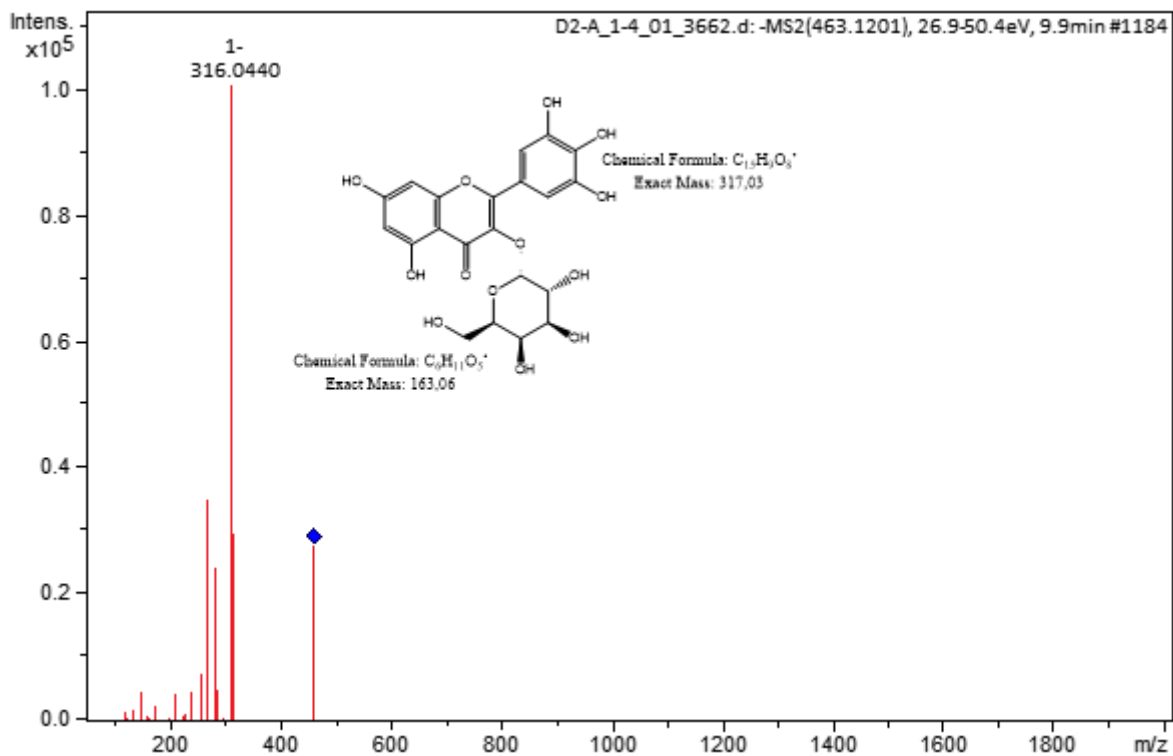
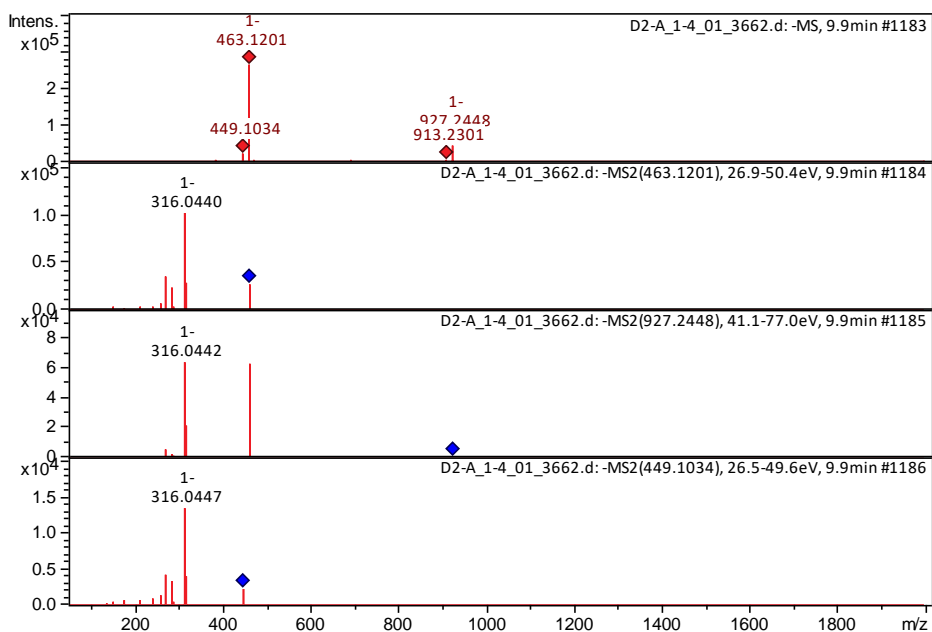


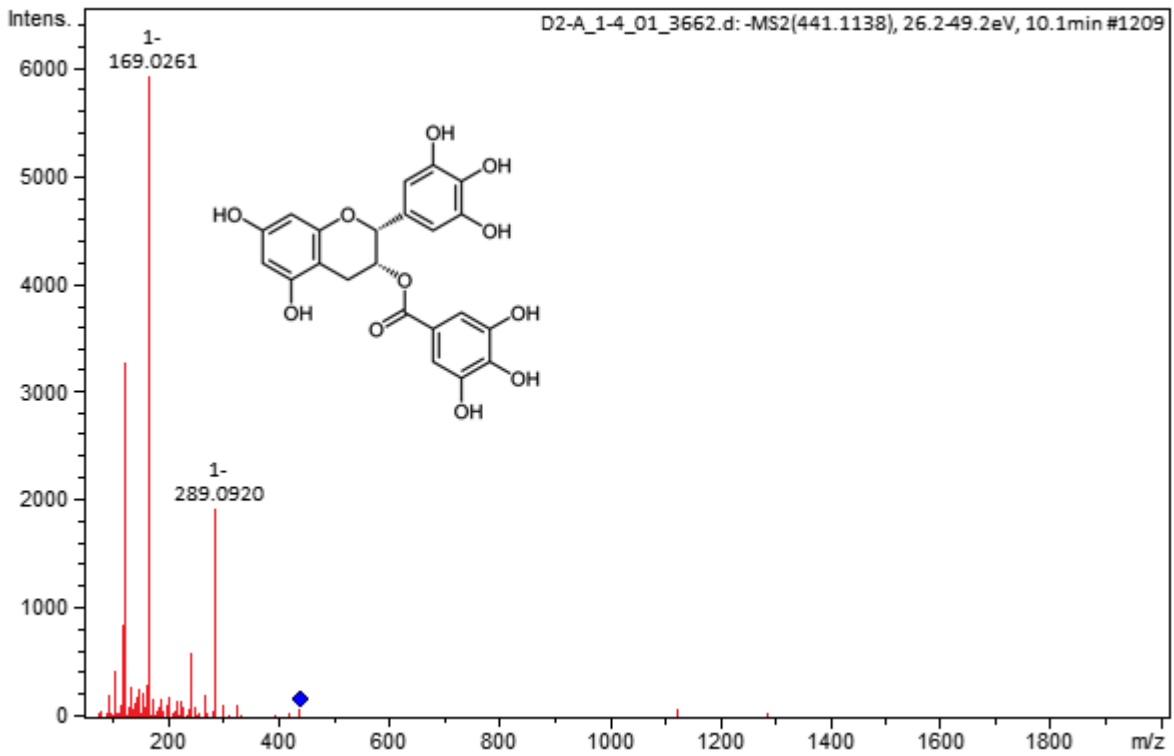
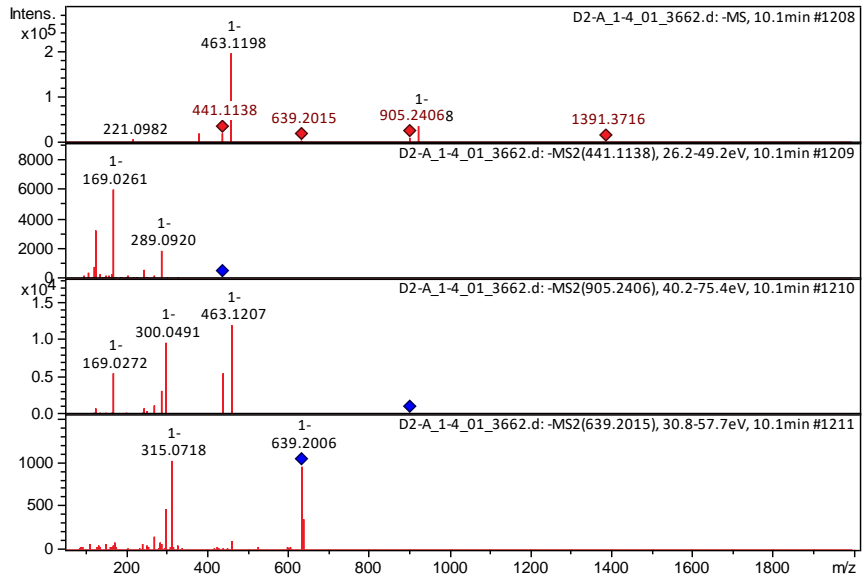




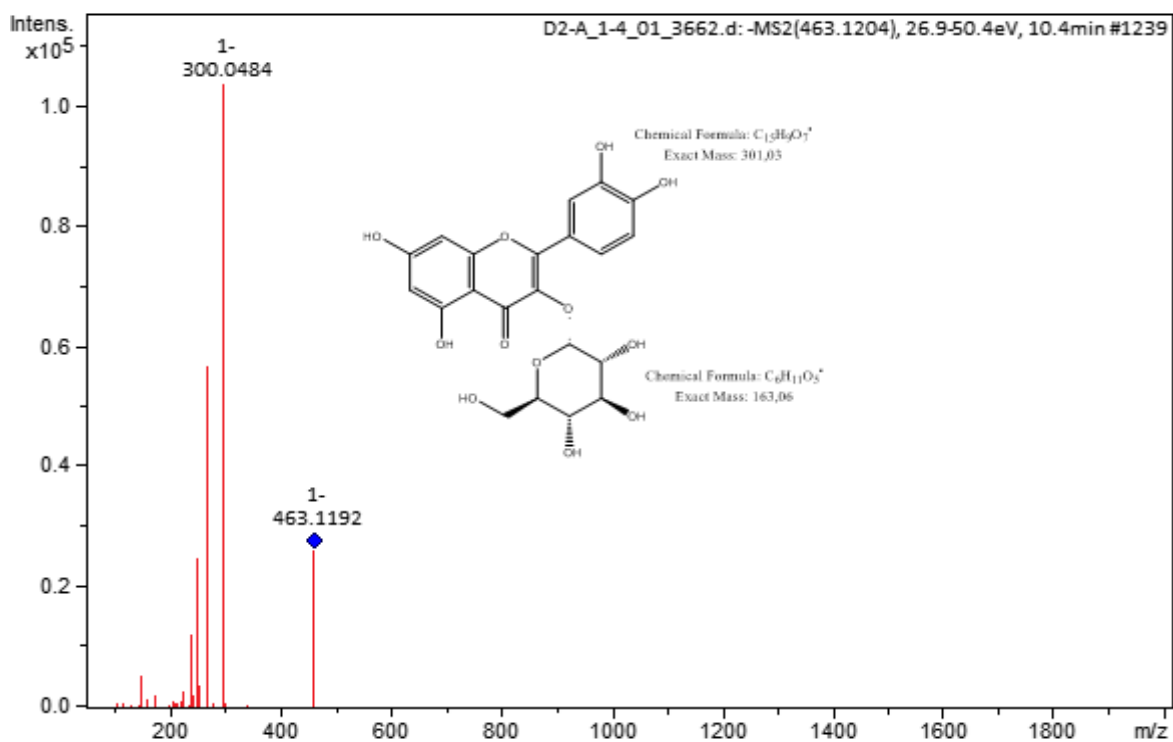
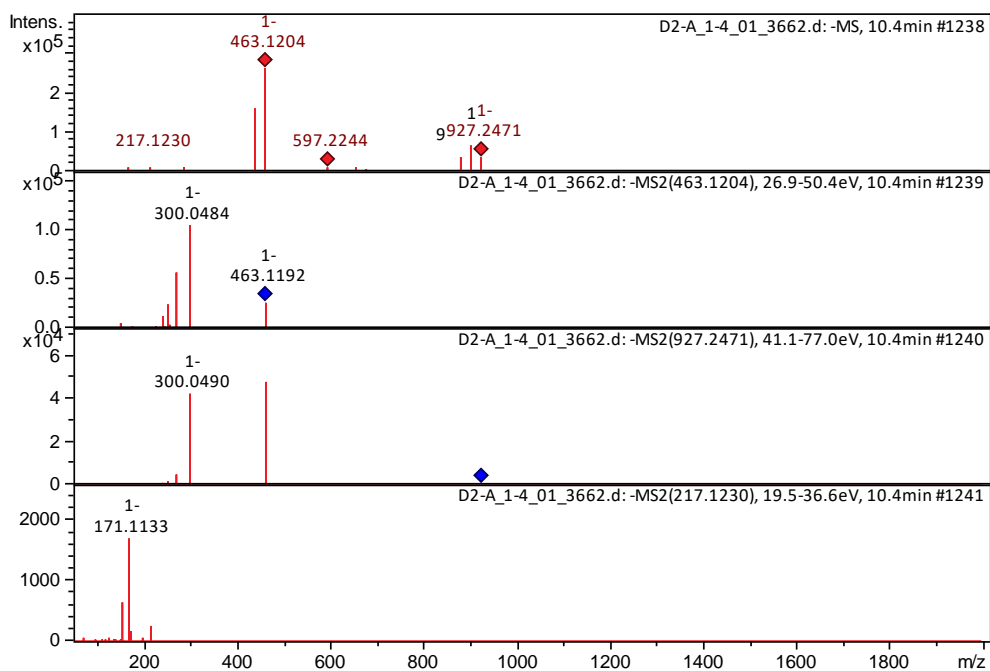


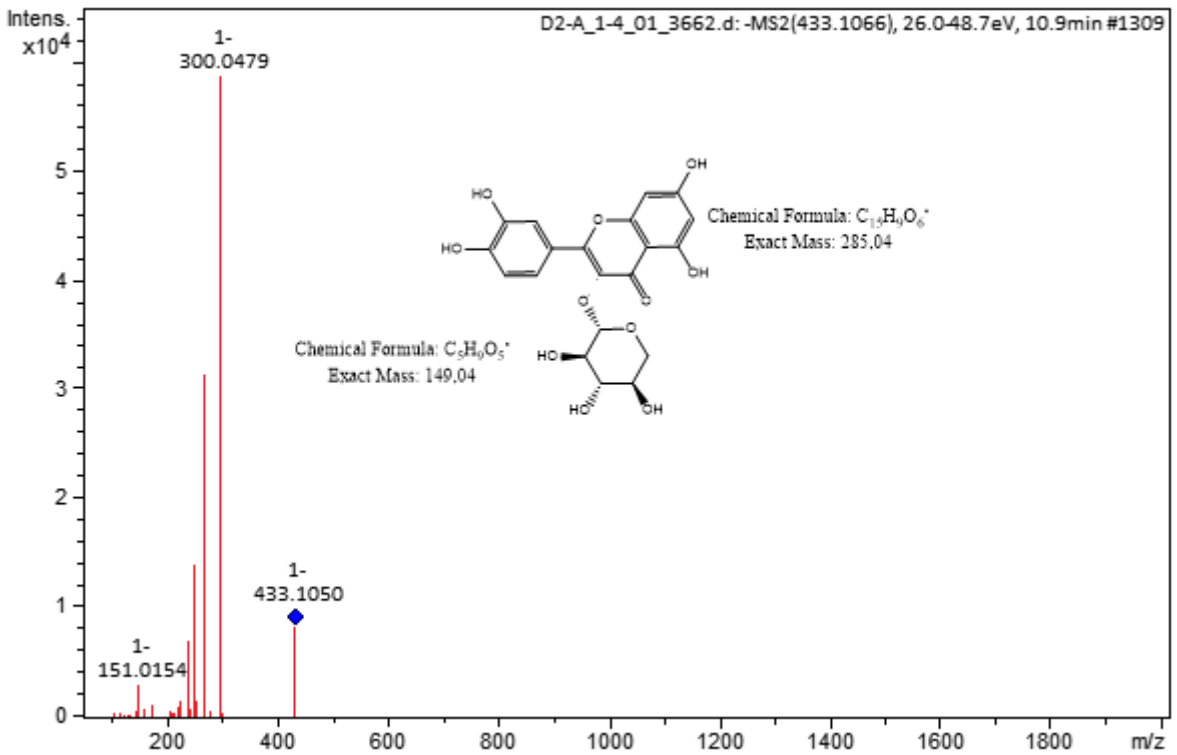
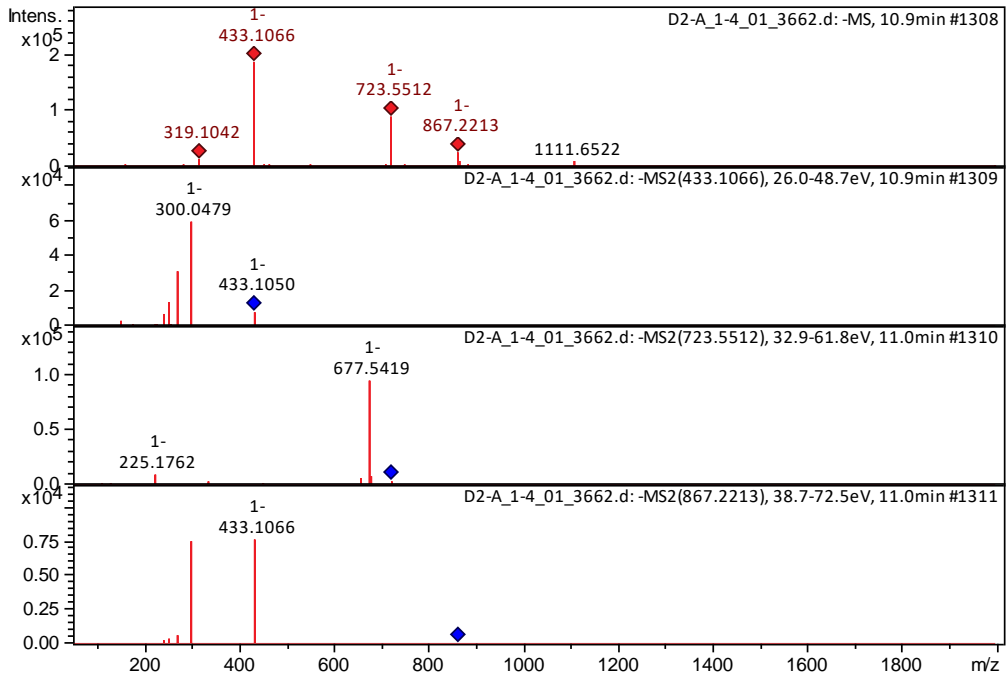


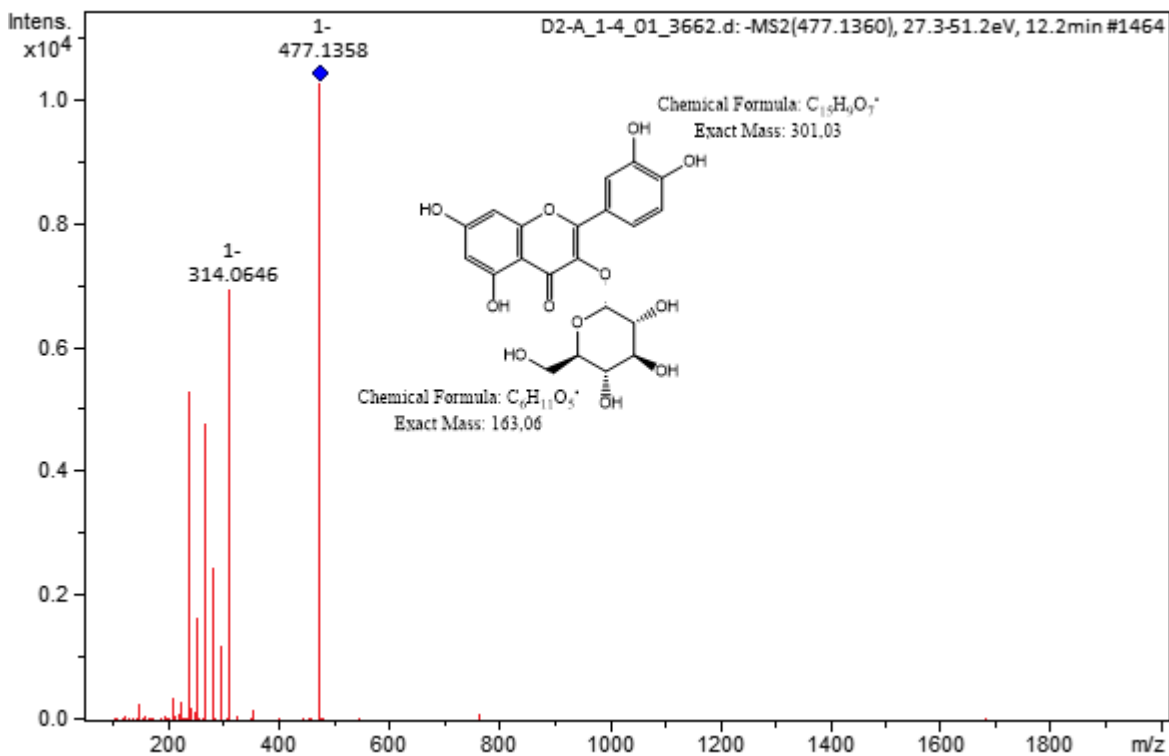
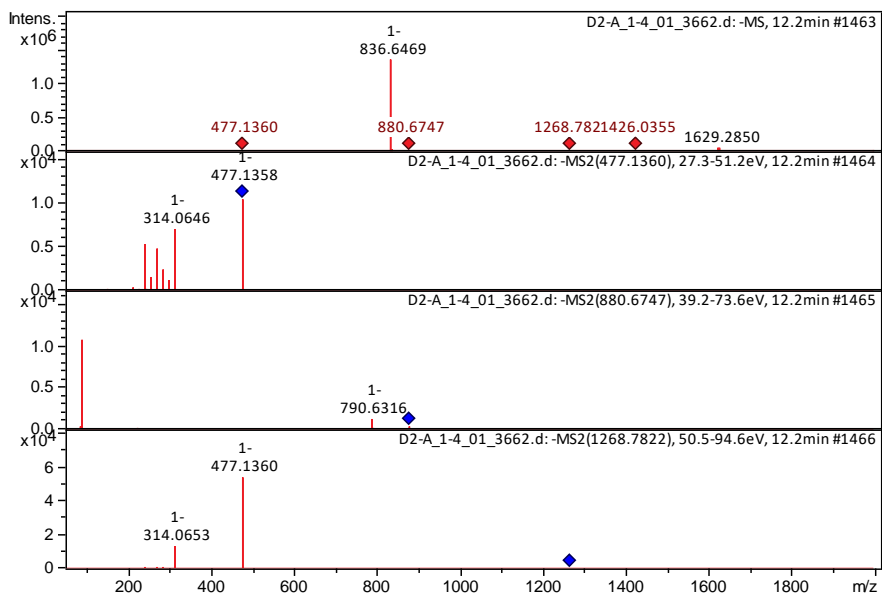














## Anexo 22 – Dados da função ASP

Função ASP										
6Å										
RUN	Docking Solution:	ASP.Fitness	Asp.APS	ASP.DECla	P.DEInterr	DEInternal.	ASP.Map	P.Reference.RM	ASP.RMSD	Version
RUN_1	B:10SE soln:1	55,1025	69,026	6,8212	7,1023	15,8965	-345,13	3,1847	3,1847	2020.2
RUN_2	B:10SE soln:2	68,4339	83,198	6,3198	8,4442	15,8965	-415,99	2,9043	2,9043	2020.3
RUN_3	B:10SE soln:3	79,3883	81,378	1,2154	0,7743	15,8965	-406,89	0,5892	0,5892	2020.4
RUN_4	B:10SE soln:4	51,947	69,07	7,3431	9,7799	13,9793	-345,35	2,9181	2,9181	2020.5
RUN_5	B:10SE soln:5	45,1159	69,5	14,5131	12,871	13,9793	-347,5	3,4223	3,4223	2020.6
RUN_6	B:10SE soln:6	43,6228	74,84	9,1247	22,0925	13,9793	-374,2	3,4017	3,4017	2020.7
RUN_7	B:10SE soln:7	68,5271	78,472	5,7677	4,1772	13,9793	-392,36	0,7093	0,7093	2020.8
RUN_8	B:10SE soln:8	77,6114	81,508	0,8586	3,038	13,9793	-407,54	0,4506	0,4506	2020.9
RUN_9	B:10SE soln:9	79,4892	83,596	1,1976	2,9092	13,9793	-417,98	0,5812	0,5812	2020.10
RUN_10	B:10SE soln:10	75,8073	84,798	2,9975	5,9931	13,9793	-423,99	1,0292	1,0292	2020.11
10Å										
RUN	Docking Solution:	ASP.Fitness	Asp.APS	ASP.DECla	P.DEInterr	DEInternal.	ASP.Map	P.Reference.RM	ASP.RMSD	Version
RUN_1	B:10SE soln:1	35,1671	40,03	0,4839	4,379	17,0052	-200,15	12,1509	12,1509	2020.2
RUN_2	B:10SE soln:2	40,8722	61,04	10,595	9,5728	17,0052	-305,2	11,4216	11,4216	2020.3
RUN_3	B:10SE soln:3	26,6309	48,334	13,9041	7,799	17,0052	-241,67	4,5073	4,5073	2020.4
RUN_4	B:10SE soln:4	30,564	45,254	2,5545	12,1355	17,0052	-226,27	17,7682	17,7682	2020.5
RUN_5	B:10SE soln:5	44,5041	55,02	3,2153	7,3006	15,156	-275,1	3,9672	3,9672	2020.6
RUN_6	B:10SE soln:6	23,947	59,122	5,2443	29,9307	13,2409	-295,61	6,1617	6,1617	2020.7
RUN_7	B:10SE soln:7	47,2844	68,172	5,0734	15,8142	13,2409	-340,86	3,2277	3,2277	2020.8
RUN_8	B:10SE soln:8	38,9216	51,186	5,176	7,0884	13,2409	-255,93	11,077	11,077	2020.9
RUN_9	B:10SE soln:9	46,254	64,24	7,456	10,51	13,2409	-321,2	11,9002	11,9002	2020.10
RUN_10	B:10SE soln:10	40,2752	66,922	4,3477	22,2991	13,2409	-334,61	3,4076	3,4076	2020.11
15Å										
RUN	Docking Solution:	ASP.Fitness	Asp.APS	ASP.DECla	P.DEInterr	DEInternal.	ASP.Map	P.Reference.RM	ASP.RMSD	Version
RUN_1	B:10SE soln:1	8,8651	58,004	30,7113	18,4276	10,6539	-290,02	12,0877	12,0877	2020.2
RUN_2	B:10SE soln:2	-489,2075	-171,77	310,5457	6,8918	9,8717	858,85	18,5596	18,5596	2020.3
RUN_3	B:10SE soln:3	-718,0934	-235,736	463,3889	18,9586	7,892	1178,68	17,4995	17,4995	2020.4
RUN_4	B:10SE soln:4	26,206	36,322	2,3054	7,8105	7,892	-181,61	14,4857	14,4857	2020.5
RUN_5	B:10SE soln:5	-7,0683	30,434	6,443	31,0593	7,892	-152,17	9,6187	9,6187	2020.6
RUN_6	B:10SE soln:6	-86,8795	19,73	85,1843	21,4251	7,892	-98,65	10,2991	10,2991	2020.7
RUN_7	B:10SE soln:7	-179,3693	-38,168	130,5429	10,6585	7,892	190,84	22,1851	22,1851	2020.8
RUN_8	B:10SE soln:8	-79,9613	8,27	77,7488	10,4825	7,892	-41,35	12,1262	12,1262	2020.9
RUN_9	B:10SE soln:9	12,2254	27,09	1,2843	13,5803	7,892	-135,45	30,4958	30,4958	2020.10
RUN_10	B:10SE soln:10	-84,2897	17,108	91,9039	9,4983	7,892	-85,54	12,2568	12,2568	2020.11

Função GoldScore																	
6Å																	
RUN		Goldscore	Fitness	score	Extelscore	Extelscore	Extelscore	Extelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Refer	SD
RUN_1	B:10SE soln:1	62,2762	11,6204	11,6204	63,8811	46,459	-121,586	-121,5858	-28,9055	-28,9055	-39,2468	-39,2468	-95,5643	-95,5643	3,0222	3,0222	
RUN_2	B:10SE soln:2	40,9199	8,0897	8,0897	63,7301	46,3491	-94,5399	-94,5399	-23,5221	-23,5221	-27,4707	-27,4707	-98,2512	-98,2512	3,4842	3,4842	
RUN_3	B:10SE soln:3	70	13,8728	13,8728	74,349	54,072	-88,7687	-88,7687	0	0	-38,0988	-38,0988	-69,2639	-69,2639	1,1263	1,1263	
RUN_4	B:10SE soln:4	52,2049	11,3893	11,3893	71,8547	52,258	-88,7687	-88,7687	0,0487	0,0487	-45,5619	-45,5619	-74,2946	-74,2946	1,444	1,444	
RUN_5	B:10SE soln:5	74,2879	14,7737	14,7737	99,44447	72,3234	-88,7833	-88,7833	0	0	-23,2362	-23,2362	-103,478	-103,478	1,2058	1,2058	
RUN_6	B:10SE soln:6	29,2556	9,4279	9,4279	65,9842	47,9885	-88,7833	-88,7833	0,0473	0,0473	-31,6153	-31,6153	-101,372	-101,372	1,2999	1,2999	
RUN_7	B:10SE soln:7	9,8683	12,7501	12,7501	65,3055	47,4949	-88,7833	-88,7833	0,0466	0,0466	-42,3153	-42,3153	-112,702	-112,702	1,3051	1,3051	
RUN_8	B:10SE soln:8	59,7173	16,9976	16,9976	93,2351	67,8073	-88,7833	-88,7833	0,1308	0,1308	-31,1631	-31,1631	-106,266	-106,266	0,9213	0,9213	
RUN_9	B:10SE soln:9	69,7067	9,8168	9,8168	76,6483	55,7442	-88,7833	-88,7833	0	0	-33,8039	-33,8039	-69,7378	-69,7378	1,9959	1,9959	
RUN_10	B:10SE soln:10	55,9975	12,6607	12,6607	69,4652	50,5201	-88,7833	-88,7833	0,28777	0,28777	-48,6145	-48,6145	-64,5848	-64,5848	1,2438	1,2438	
10Å																	
RUN		Goldscore	Fitness	score	Extelscore	Extelscore	Extelscore	Extelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Intelscore	Refer	SD
RUN_1	B:10SE soln:1	92,8457	18,0244	18,0244	108,3232	78,7805	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3586	0,3586	
RUN_2	B:10SE soln:2	92,5609	17,8856	17,8856	108,1773	78,6744	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3726	0,3726	
RUN_3	B:10SE soln:3	92	17,8933	17,8933	108,0743	78,5995	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3273	0,3273	
RUN_4	B:10SE soln:4	92,5423	17,9708	17,9708	108,0734	78,5989	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3775	0,3775	
RUN_5	B:10SE soln:5	92,6461	17,9771	17,9771	108,171	78,6698	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3339	0,3339	
RUN_6	B:10SE soln:6	92,1147	18,0363	18,0363	107,5804	78,2403	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3602	0,3602	
RUN_7	B:10SE soln:7	92,8157	18,045	18,045	108,2727	78,7438	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3592	0,3592	
RUN_8	B:10SE soln:8	92,4941	17,7853	17,7853	108,2107	78,6987	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3563	0,3563	
RUN_9	B:10SE soln:9	92,5796	17,8881	17,8881	108,1935	78,6861	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,3011	0,3011	
RUN_10	B:10SE soln:10	92,1816	17,9366	17,9366	107,747	78,3614	33,502	33,502	-33,502	-33,502	0	0	0	0	0,4058	0,4058	







Dímero de Proantocianidina															
RUN	Docking Solutions	Goldscore.Fitness	Goldscore.External.Hbond.Weighted	Goldscore.External.Hbond	Goldscore.External.Vdw.Weighted	Goldscore.External.Vdw	Goldscore.Internal.Corrected	Goldscore.Internal.Corrected	Goldscore.Internal.Hbond.Weighted	Goldscore.Internal.Hbond	Goldscore.Internal.Torsion.Weighted	Goldscore.Internal.Torsion	Goldscore.Internal.Vdw.Weighted	Goldscore.Internal.Vdw	
RUN_1	B:1OSE sol	28,9535	1,5322	1,5322	35,8837	26,0973	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_2	B:1OSE sol	28,8183	5,3573	5,3573	31,9235	23,2171	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_3	B:1OSE sol	25,3698	4,7526	4,7526	29,0797	21,1489	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_4	B:1OSE sol	27,1615	0,9587	0,9587	34,6653	25,2111	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_5	B:1OSE sol	34,625	2,0702	2,0702	41,0172	29,8307	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_6	B:1OSE sol	27,5965	3,3666	3,3666	32,6923	23,7762	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_7	B:1OSE sol	31,2003	3,1288	3,1288	36,5339	26,5701	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_8	B:1OSE sol	-59,4986	0,8453	0,8453	-51,8815	-37,732	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_9	B:1OSE sol	31,6354	0,0972	0,0972	40,0006	29,0914	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
RUN_10	B:1OSE sol	33,9764	2,2756	2,2756	40,1632	29,2096	-4,3101	-4,3101	-8,45	-8,45	-6,5017	-6,5017	-7,2092	-7,2092	
Galato de (epi)catequina															
RUN	Docking Solutions	Goldscore.Fitness	Goldscore.External.Hbond.Weighted	Goldscore.External.Hbond	Goldscore.External.Vdw.Weighted	Goldscore.External.Vdw	Goldscore.Internal.Corrected	Goldscore.Internal.Corrected	Goldscore.Internal.Hbond.Weighted	Goldscore.Internal.Hbond	Goldscore.Internal.Torsion.Weighted	Goldscore.Internal.Torsion	Goldscore.Internal.Vdw.Weighted	Goldscore.Internal.Vdw	
RUN_1	B:1OSE sol	39,2244	7,769	7,769	36,1044	26,2578	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_2	B:1OSE sol	28,4037	7,3843	7,3843	25,6684	18,6679	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_3	B:1OSE sol	28,5306	6,4233	6,4233	26,7563	19,4592	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_4	B:1OSE sol	44,5669	6,913	6,913	42,3029	30,7657	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_5	B:1OSE sol	29,1758	4,9232	4,9232	28,9017	21,0194	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_6	B:1OSE sol	28,6947	5,3413	5,3413	28,0025	20,3655	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_7	B:1OSE sol	29,0966	4,809	4,809	28,9367	21,0448	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_8	B:1OSE sol	29,1976	4,9811	4,9811	28,8655	20,9931	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_9	B:1OSE sol	28,6664	4,7079	4,7079	28,6076	20,8055	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	
RUN_10	B:1OSE sol	26,121	2,5145	2,5145	28,2555	20,5495	3,1726	3,1726	-4,649	-4,649	-1,162	-1,162	0,3144	0,3144	

## Anexo 26 – Ácido elágico

Ácido elágico															
RUN	Docking Solutions	Goldscore.Fitness	Goldscore.External.Hbond.Weighted	Goldscore.External.Hbond	Goldscore.External.Vdw.Weighted	Goldscore.External.Vdw	Goldscore.Internal.Corrected	Goldscore.Internal.Corrected	Goldscore.Internal.Hbond.Weighted	Goldscore.Internal.Hbond	Goldscore.Internal.Torsion.Weighted	Goldscore.Internal.Torsion	Goldscore.Internal.Vdw.Weighted	Goldscore.Internal.Vdw	
RUN_1	B:1OSE soln:1	41,1748	4,3318	4,3318	39,4129	28,6639	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_2	B:1OSE soln:2	41,3865	10,3007	10,3007	33,6558	24,4769	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_3	B:1OSE soln:3	40,8875	4,4981	4,4981	38,9593	28,3341	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_4	B:1OSE soln:4	35,6501	6,0273	6,0273	32,1928	23,4129	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_5	B:1OSE soln:5	43,1498	11,8858	11,8858	33,8339	24,6065	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_6	B:1OSE soln:6	41,7801	4,2613	4,2613	40,0888	29,1555	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_7	B:1OSE soln:7	31,7	6,3312	6,3312	27,9387	20,3191	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_8	B:1OSE soln:8	38,2738	4,9138	4,9138	35,9299	26,1308	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_9	B:1OSE soln:9	42,903	11,842	11,842	33,6309	24,4588	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	
RUN_10	B:1OSE soln:10	40,5616	12,3378	12,3378	30,7937	22,3954	2,5699	2,5699	-2,5699	-2,5699	0	0	0	0	



## Anexo 26 – Família Flavanol (cont.)

Quercitina Raminosídeo														
RUN	Docking Solutions	Goldscore.Fitness	Goldscore.External.Hbond.Weighted	Goldscore.External.Hbond	Goldscore.External.Vdw.Weighted	Goldscore.External.Vdw	Goldscore.Internal.Correcton.Weighted	Goldscore.Internal.Correcton	Goldscore.Internal.Hbond.Weighted	Goldscore.Internal.Hbond	Goldscore.Internal.Torsion.Weighted	Goldscore.Internal.Torsion	Goldscore.Internal.Vdw.Weighted	Goldscore.Internal.Vdw
RUN_1	B:1OSE sol	27,2101	6,2467	6,2467	44,8748	32,6362	5,6649	5,6649	-7,7292	-7,7292	-12,649	-12,649	-6,4151	-6,4151
RUN_2	B:1OSE sol	28,1173	8,6741	8,6741	44,6973	32,5071	5,6649	5,6649	-6,5469	-6,5469	-13,644	-13,644	-7,9452	-7,9452
RUN_3	B:1OSE sol	39,8426	10,1282	10,1282	39,6594	28,8432	5,6649	5,6649	-8,5469	-8,5469	-2,8182	-2,8182	-1,462	-1,462
RUN_4	B:1OSE sol	29,357	7,2007	7,2007	47,5058	34,5496	5,6649	5,6649	-7,6578	-7,6578	-12,9518	-12,9518	-7,6218	-7,6218
RUN_5	B:1OSE sol	29,1667	8,1902	8,1902	46,3259	33,6915	5,6649	5,6649	-7,6578	-7,6578	-12,9518	-12,9518	-7,6218	-7,6218
RUN_6	B:1OSE sol	29,4272	7,9884	7,9884	46,7882	34,0278	5,6649	5,6649	-7,6578	-7,6578	-12,9518	-12,9518	-7,6218	-7,6218
RUN_7	B:1OSE sol	29,4982	7,501	7,501	47,3466	34,4339	5,6649	5,6649	-7,6578	-7,6578	-12,9518	-12,9518	-7,6218	-7,6218
RUN_8	B:1OSE sol	39,9577	10,3647	10,3647	39,538	28,7549	5,6649	5,6649	-8,5469	-8,5469	-2,8182	-2,8182	-1,462	-1,462
RUN_9	B:1OSE sol	40,4407	9,6704	9,6704	40,7153	29,6111	5,6649	5,6649	-8,5469	-8,5469	-2,8182	-2,8182	-1,462	-1,462
RUN_10	B:1OSE sol	39,3106	10,6594	10,6594	38,5962	28,07	5,6649	5,6649	-8,5469	-8,5469	-2,8182	-2,8182	-1,462	-1,462
Quercitina Xilosídeo														
RUN	Docking Solutions	Goldscore.Fitness	Goldscore.External.Hbond.Weighted	Goldscore.External.Hbond	Goldscore.External.Vdw.Weighted	Goldscore.External.Vdw	Goldscore.Internal.Correcton.Weighted	Goldscore.Internal.Correcton	Goldscore.Internal.Hbond.Weighted	Goldscore.Internal.Hbond	Goldscore.Internal.Torsion.Weighted	Goldscore.Internal.Torsion	Goldscore.Internal.Vdw.Weighted	Goldscore.Internal.Vdw
RUN_1	B:1OSE sol	43,2469	12,1992	12,1992	44,858	32,624	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287
RUN_2	B:1OSE sol	41,659	12,6351	12,6351	42,8342	31,1521	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287
RUN_3	B:1OSE sol	43,4563	11,9966	11,9966	45,2701	32,9237	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287
RUN_4	B:1OSE sol	38,213	6,7421	6,7421	41,0818	28,8777	9,3338	9,3338	-8,3126	-8,3126	-0,9027	-0,9027	-1,5249	-1,5249
RUN_5	B:1OSE sol	41,8991	12,969	12,969	42,7405	31,084	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287
RUN_6	B:1OSE sol	38,8268	9,4842	9,4842	43,107	31,3506	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-1,5186	-1,5186	-2,9121	-2,9121
RUN_7	B:1OSE sol	43,2703	12,184	12,184	44,8967	32,6521	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287
RUN_8	B:1OSE sol	41,723	13,0063	13,0063	42,5271	30,9288	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287
RUN_9	B:1OSE sol	43,0121	11,2767	11,2767	45,4998	33,0908	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-1,5186	-1,5186	-2,9121	-2,9121
RUN_10	B:1OSE sol	40,5308	12,6247	12,6247	41,7165	30,3393	9,3338	9,3338	-10,4631	-10,4631	-0,9479	-0,9479	-3,5287	-3,5287

