

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

CURSO DE BIOMEDICINA

**EFEITOS DO EXTRATO BRUTO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS
FOLHAS DE *EUGENIA DYSENTERICA* DC. NA OXIDAÇÃO E GLICAÇÃO DA LDL
*IN VITRO***

MARIANA DE OLIVEIRA CAMPOS

UBERLÂNDIA-MG

2026

MARIANA DE OLIVEIRA CAMPOS

**EFEITOS DO EXTRATO BRUTO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS
FOLHAS DE *EUGENIA DYSENTERICA* DC. NA OXIDAÇÃO E GLICAÇÃO DA LDL
*IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao curso de Biomedicina, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Françoise Vasconcelos
Botelho

UBERLÂNDIA-MG

2026

MARIANA DE OLIVEIRA CAMPOS

**EFEITOS DO EXTRATO BRUTO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DAS
FOLHAS DE *EUGENIA DYSENTERICA* DC. NA OXIDAÇÃO E GLICAÇÃO DA
LDL *IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado
ao curso de Biomedicina, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau
de Bacharel em Biomedicina.

Uberlândia, de 2026.

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Françoise Vasconcelos Botelho – Orientadora
Unifersidade Federal de Uberlândia – UFU

(Nome)
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

(Nome)
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande.
Se não puder andar, rasteje; mas continue em frente de
qualquer maneira.”

Martin Luther King Jr.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que nunca mediram esforços para me ver feliz e realizada. Ao meu pai, por tantas noites sem dormir dedicadas ao trabalho e por todo o sacrifício diário. À minha mãe, que, por tantas vezes, destinou grande parte do que ganhava para investir na minha educação. Vocês transformaram renúncias em oportunidades e tornaram possível cada passo que me trouxe até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me sustentado nos momentos difíceis e guiado meus passos ao longo dessa trajetória.

Aos meus pais, por serem minha base, meu exemplo e meu maior incentivo. Tudo o que conquistei até aqui carrega o amor, a dedicação e a fé que sempre depositaram em mim.

Ao meu irmão, pelo companheirismo e por estar ao meu lado em todos os momentos, sendo apoio e alegria na minha caminhada.

Ao Ray, meu namorado, pelo amor, pela paciência e por acreditar em mim até mesmo quando eu duvidei. Obrigada por ser apoio, incentivo e porto seguro.

À minha família, pelo carinho, pelas orações e por sempre torcerem por mim.

Aos meus amigos, que tornaram essa jornada mais leve, compartilharam angústias e conquistas, e estiveram presentes nos momentos mais desafiadores. Agradeço especialmente ao Rodrigo, por se doar em cada etapa deste trabalho, pelas risadas que aliviaram o cansaço e, principalmente, pelo incentivo constante para que eu continuasse mesmo diante das dificuldades. Sua presença fez toda a diferença nessa trajetória.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Françoise Vasconcelos Botelho, pela confiança, ensinamentos e dedicação durante todo o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço de forma especial a toda a equipe do LABIBI-UFU, pelo suporte, aprendizado compartilhado e parceria no dia a dia de laboratório.

Agradeço também ao corpo docente da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), pelos ensinamentos e pela formação sólida que me proporcionaram.

Além disso, agradeço às agências de fomento à pesquisa, CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo apoio financeiro essencial para a realização deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que eu chegasse até aqui. Cada gesto, palavra de incentivo e apoio fizeram diferença nessa caminhada.

RESUMO

A aterosclerose e o diabetes mellitus estão associados à oxidação e glicação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), processos centrais na progressão das doenças cardiometabólicas. Compostos naturais ricos em polifenóis têm sido investigados como potenciais agentes antioxidantes e antiglicantes. *Eugenia dysenterica* DC., espécie nativa do Cerrado brasileiro, apresenta elevado teor de compostos fenólicos com reconhecida atividade biológica. O presente estudo avaliou o efeito do extrato etanólico bruto e da fração acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. sobre a oxidação e glicação da LDL humana *in vitro*. As amostras foram caracterizadas por HPLC-ESI-MS/MS e quantificadas quanto a fenóis totais, flavonoides e taninos condensados. A atividade antioxidante foi avaliada por DPPH, ORAC, FRAP e hemólise oxidativa. A oxidação da LDL foi induzida por Cu^{2+} e monitorada pela formação de dienos conjugados e TBARS, enquanto a glicação foi induzida por metilglioxal, com avaliação da formação de AGEs por fluorescência. A fração acetato de etila apresentou maior teor de compostos fenólicos ($469,5 \pm 20,0 \mu\text{g/mL}$) em comparação ao extrato bruto ($218,3 \pm 29,1 \mu\text{g/mL}$), bem como maior atividade antioxidante no ensaio DPPH ($\text{IC}_{50} = 5,94 \pm 1,63 \mu\text{g/mL}$). Nos ensaios com LDL, ambos os extratos reduziram significativamente a oxidação induzida por Cu^{2+} , com aumento do tempo de latência oxidativa (Tlag), sendo o efeito mais pronunciado para a fração acetato de etila. Além disso, observou-se inibição dependente da concentração da formação de AGEs, alcançando $92,18 \pm 0,79\%$ de inibição para a fração acetato de etila na maior concentração testada. Os resultados indicam que a fração acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. apresenta relevante atividade antioxidante e antiglicante em modelo experimental *in vitro*, sugerindo potencial para investigações futuras em sistemas biológicos mais complexos relacionados à aterosclerose.

Palavras-chave: *Eugenia dysenterica* DC.; antioxidante; antiglicante; LDL; aterosclerose.

ABSTRACT

Atherosclerosis and diabetes mellitus are associated with the oxidation and glycation of low-density lipoprotein (LDL), processes that are central to the progression of cardiometabolic diseases. Natural compounds rich in polyphenols have been investigated as potential antioxidant and antiglycation agents. *Eugenia dysenterica* DC., a species native to the Brazilian Cerrado, presents a high content of phenolic compounds with recognized biological activity. The present study evaluated the effect of the crude ethanolic extract and the ethyl acetate fraction from the leaves of *Eugenia dysenterica* DC. on the oxidation and glycation of human LDL *in vitro*. The samples were characterized by HPLC-ESI-MS/MS and quantified for total phenols, flavonoids, and condensed tannins. Antioxidant activity was evaluated by DPPH, ORAC, FRAP, and oxidative hemolysis. LDL oxidation was induced by Cu²⁺ and monitored by the formation of conjugated dienes and TBARS, while glycation was induced by methylglyoxal, with evaluation of AGE formation by fluorescence. The ethyl acetate fraction presented a higher content of phenolic compounds (469.5 ± 20.0 µg/mL) compared to the crude extract (218.3 ± 29.1 µg/mL), as well as higher antioxidant activity in the DPPH assay ($IC_{50} = 5.94 \pm 1.63$ µg/mL). In the LDL assays, both extracts significantly reduced Cu²⁺-induced oxidation, with an increase in oxidative lag time (Tlag), with the effect being more pronounced for the ethyl acetate fraction. In addition, concentration-dependent inhibition of AGE formation was observed, reaching $92.18 \pm 0.79\%$ inhibition for the ethyl acetate fraction at the highest tested concentration. The results indicate that the ethyl acetate fraction from the leaves of *Eugenia dysenterica* DC. presents relevant antioxidant and antiglycation activity in an *in vitro* experimental model, suggesting potential for future investigations in more complex biological systems related to atherosclerosis.

Keywords: *Eugenia dysenterica* DC.; antioxidant; antiglycant; LDL; atherosclerosis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Aterosclerose: Doença inflamatória e multifatorial.....	12
1.2 Lipoproteína de baixa densidade (LDL).....	13
1.2.1 Função fisiológica	13
1.2.2 Oxidação da LDL	13
1.2.3 Glicação não-enzimática da LDL.....	15
1.3 Estratégias de prevenção contra aterosclerose	16
1.3.1 Medicamentos.....	16
1.3.2 Plantas medicinais	16
1.4 <i>Eugenia dysenterica</i> DC. como fonte de compostos bioativos	17
2. JUSTIFICATIVA	19
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo geral	20
3.2 Objetivos específicos	20
4. METODOLOGIA	21
4.1 Preparo do extrato bruto da <i>Eugenia dysenterica</i> DC. e das suas frações orgânicas ...	21
4.2 Perfil fitoquímico do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de <i>E. dysenterica</i> DC.	21
4.2.1 HPLC-(–)-ESI-MS/MS	21
4.2.2 Quantificação de compostos antioxidantes	22
4.2.2.1 Teor de fenóis totais	22
4.2.2.2 Teor de flavonoides totais	22
4.2.2.3 Teor de taninos condensados	22

4.3 Citotoxicidade do extrato	23
4.3.1 Hemólise osmótica	23
4.4 Ensaio antioxidante	23
4.4.1 DPPH.....	23
4.4.2 ORAC.....	24
4.4.3 FRAP	24
4.4.4 Hemólise oxidativa.....	25
4.5 Isolamento da LDL.....	25
4.6 Potencial antioxidante na LDL <i>in vitro</i>	26
4.7 TBARS.....	26
4.8 Potencial antiglicante na LDL <i>in vitro</i>	26
4.9 Análise estatística	27
5. RESULTADOS.....	27
5.1 Análise de HPLC-ESI-MS/MS do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de <i>Eugenia dysenterica</i> DC.	27
5.2 Propriedades fitoquímicas – Fenois totais, flavonoides e taninos condensados.....	32
5.3 Ausência de citotoxicidade do extrato bruto e da fração acetato de etila por hemólise osmótica.....	33
5.4 Propriedade antioxidante do extrato bruto e da fração em acetato de etila de <i>E. dysenterica</i> DC. avaliada por diferentes ensaios <i>in vitro</i>	33
5.5 Propriedade antioxidante do extrato bruto e da fração em acetato de etila de <i>Eugenia dysenterica</i> DC. avaliada por diferentes ensaios <i>in vitro</i>	36
5.6 Propriedade antiglicante e proteção da LDL contra glicoxidação induzida por metilglioxal.....	38

5.7 Capacidade de inibição da peroxidação lipídica analisada após o ensaio de oxidação e glicação de LDL <i>in vitro</i>	39
6. DISCUSSÃO.....	41
7. CONCLUSÃO.....	47
8. REFERÊNCIAS	48

1. Introdução

1.1 Aterosclerose: Doença inflamatória e multifatorial

As doenças crônicas não transmissíveis representam as principais causas de morte no mundo, sendo as doenças cardiovasculares classificadas como o grupo de maior impacto global. As doenças cardiovasculares tiveram uma estimativa de 19,8 milhões de óbitos em 2022, o que corresponde a cerca de 32% de todas as mortes globalmente, sendo que 85% desses casos são atribuídos a ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais (AVC). A carga dessa condição é especialmente intensa em países de baixa e média renda, onde mais de três quartos de todas as mortes por doenças cardiovasculares ocorrem, refletindo desigualdades no acesso à detecção precoce e aos cuidados de saúde. Além disso, das aproximadamente 18 milhões de mortes prematuras (antes dos 70 anos) por doenças não transmissíveis em 2021, pelo menos 38% foram causadas por doenças cardiovasculares, destacando o impacto substancial dessas doenças sobre populações em idade produtiva (Organização Mundial da Saúde, 2023).

Dentre as doenças cardiovasculares, a aterosclerose é reconhecida como o principal processo patológico subjacente a eventos como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral. Essa doença se desenvolve de forma silenciosa ao longo dos anos, caracterizada pelo acúmulo de lipídios, células do sistema imune e componentes da matriz extracelular na parede arterial, culminando na formação de placas ateromatosas (Liu *et al.*, 2025).

Nesse contexto, a aterosclerose é atualmente reconhecida como uma doença multifatorial, já que processos inflamatórios, metabólicos e oxidativos interagem de forma complexa ao longo de sua evolução. Paralelamente, o aumento do estresse oxidativo e alterações metabólicas, como dislipidemia e hiperglicemia, intensificam a modificação da LDL e amplificam a resposta inflamatória local, contribuindo para a progressão da placa aterosclerótica e o aumento do risco cardiovascular (Linton *et al.*, 2019).

1.2 Lipoproteína de baixa densidade (LDL)

1.2.1 Função fisiológica

A LDL desempenha um papel fisiológico fundamental no transporte de colesterol da circulação sanguínea para os tecidos periféricos. O colesterol entregue por essa lipoproteína é um componente estrutural essencial das membranas celulares e atua como precursor na síntese de hormônios esteroides, sendo, portanto, indispensável para a manutenção da homeostase celular (Tomkin & Owens, 2012). Em condições normais, sua homeostase é regulada por receptores de LDL presentes nos hepatócitos, que captam as partículas plasmáticas e mantêm o equilíbrio do colesterol circulante (Poznyak *et al.*, 2023).

1.2.2 Oxidação da LDL

Os radicais livres, especialmente as espécies reativas de oxigênio (EROs), são moléculas ou átomos altamente reativos que possuem elétrons desemparelhados e são gerados naturalmente durante processos fisiológicos normais, como a respiração celular, a fosforilação oxidativa mitocondrial e reações enzimáticas envolvidas no metabolismo celular (Manna & Jain, 2015).

Em condições fisiológicas, essas espécies desempenham funções importantes na sinalização celular e na regulação de processos biológicos. No entanto, o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade dos sistemas antioxidantes endógenos de neutralizá-los resulta em um estado conhecido como estresse oxidativo. Esse desbalanço pode ser intensificado por alterações metabólicas, inflamação crônica, hiperglicemia, dislipidemia e redução das defesas antioxidantes, levando a danos oxidativos em lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, contribuindo para o desenvolvimento e progressão de diversas doenças crônicas, incluindo as cardiovasculares (Manna & Jain, 2015).

A retenção da LDL na parede arterial é considerada um evento inicial e determinante no desenvolvimento da aterosclerose. Esse processo ocorre principalmente em regiões sujeitas a fluxo sanguíneo turbulento e baixo estresse de cisalhamento, onde a disfunção endotelial favorece o aumento da permeabilidade vascular. Nessas áreas, lipoproteínas contendo apolipoproteína B, como a LDL, atravessam o endotélio e interagem com proteoglicanos da matriz extracelular da camada íntima, o que promove sua retenção

prolongada no espaço subendotelial (Linton *et al.*, 2019). Durante essa retenção, os ácidos graxos polinsaturados da lipoproteína sofrem peroxidação lipídica, o que desencadeia alterações estruturais na LDL, tornando-a mais suscetível a modificações químicas, aumentando significativamente seu potencial aterogênico (Liu *et al.*, 2025).

A LDL modificada desempenha papel central na formação e progressão da placa aterosclerótica, uma vez que adquire propriedades pró-inflamatórias e passa a ser reconhecida por receptores do tipo “scavenger” presentes em macrófagos. (Linton *et al.*, 2019). Diferentemente da LDL nativa, a LDL oxidada é internalizada de forma não regulada, levando ao acúmulo excessivo de colesterol no interior dessas células e à formação de células espumosas, “foam cells”, característica marcante das lesões ateroscleróticas iniciais (**Figura 1**). Além disso, a LDL modificada estimula a liberação de citocinas, quimiocinas e espécies reativas de oxigênio, amplificando a resposta inflamatória local, promovendo maior recrutamento de células imunes e contribuindo para a progressão da placa, instabilidade da lesão e aumento do risco de eventos cardiovasculares (Linton *et al.*, 2019).

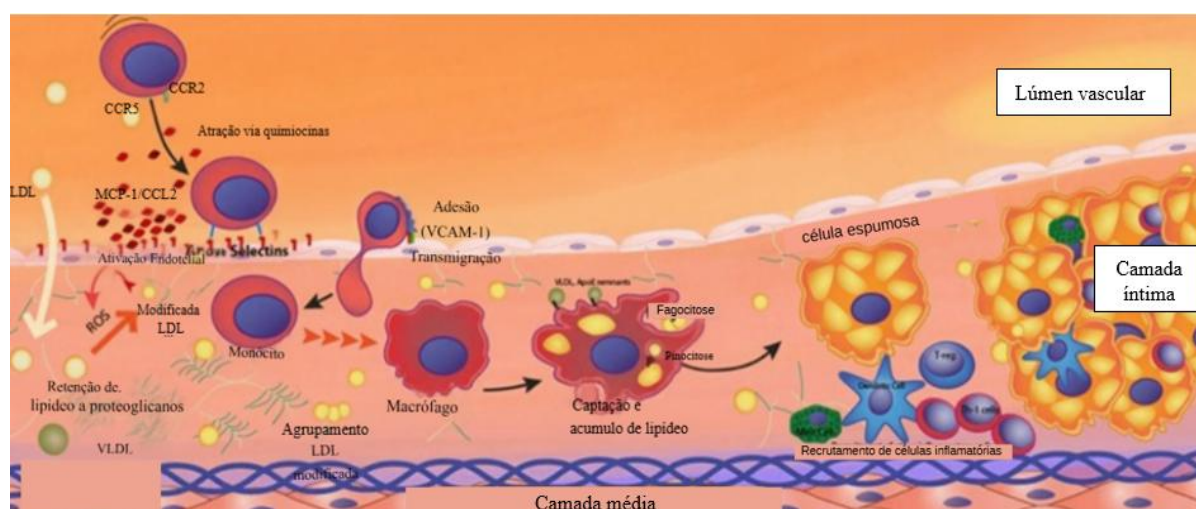


Figura 1. Formação da placa aterosclerótica. Tem início com a disfunção das células endoteliais e a retenção de lipoproteínas que contêm apoB (LDL, VLDL e remanescentes de apoE) no espaço subendotelial. Essas lipoproteínas retidas sofrem modificações, como oxidação e glicação o que contribui para a ativação do endotélio. As células endoteliais ativadas passam a expressar moléculas de adesão (selectinas e VCAM-1), favorecendo a migração de monócitos para a íntima arterial. Além disso, ocorre o recrutamento de outras células do sistema imune. Os monócitos diferenciam-se em macrófagos, que internalizam lipoproteínas modificadas e se transformam em células espumosas, amplificando a resposta inflamatória e a progressão da lesão aterosclerótica. Fonte: Linton, 2019.

1.2.3 Glicação não-enzimática da LDL

Outro processo relevante é a glicação não-enzimática da LDL, que ocorre quando há exposição prolongada da lipoproteína a concentrações elevadas de glicose, condição característica da hiperglicemia em indivíduos com diabetes mellitus (Wang *et al.*, 2024). A LDL glicada sofre algumas alterações estruturais, como maior rigidez da partícula, modificações conformacionais na ApoB-100 e maior suscetibilidade à agregação. Essas mudanças reduzem a afinidade da LDL pelos receptores clássicos de LDL nos hepatócitos, prolongando sua permanência na circulação e aumentando sua probabilidade de infiltração na parede arterial (Wang *et al.*, 2024).

A glicação envolve uma série de reações complexas, resultando nos produtos finais de glicação avançada (AGEs). Este processo tem como primeira etapa a adição nucleofílica entre um grupo amino primário presente na proteína com açúcares redutores para formar as bases de Schiff. Em seguida, por conta de sua instabilidade, as bases de Schiff sofrem rearranjos a fim de formar um produto com maior estabilidade, conhecido como produtos de Amadori. Tais compostos são convertidos por reações de oxidação e desidratação em compostos dicarbonílicos. Esses compostos (glioxal, metilglioxal, 3-deoxiglicossoma) podem reagir com diversas outras biomoléculas, especialmente proteínas, originando os AGEs (Abbas *et al.*, 2016).

A interação dos AGEs com seus receptores específicos (RAGEs) ativa cascatas inflamatórias, aumentando a expressão de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão endotelial, fatores que agravam a disfunção endotelial e promovem instabilidade de placas ateroscleróticas (Liu *et al.*, 2025). A presença concomitante de LDL oxidada e glicada acelera a progressão da aterosclerose e está fortemente associada a complicações cardiovasculares em pacientes diabéticos (Wang *et al.*, 2024).

O processo de glicoxidação representa, portanto, uma via convergente em que a oxidação da LDL é amplificada pela presença de AGEs, e a glicação, por sua vez, aumenta a vulnerabilidade à oxidação. Estudos recentes demonstram que partículas de LDL submetidas à glicação apresentam maior instabilidade estrutural, com consequente aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, perpetuando um ciclo de dano oxidativo (Goh & Cooper, 2008).

Essas modificações, oxidação e glicação, não atuam de forma isolada, mas podem potencializar-se mutuamente, promovendo retenção prolongada da LDL modificada na matriz intimal, ativação de receptores pró-inflamatórios e perpetuação da resposta inflamatória local. Esse ciclo reforça o papel central da LDL na iniciação e progressão da aterosclerose (Liu *et al.*, 2025).

1.3 Estratégias de prevenção contra aterosclerose

1.3.1 Medicamentos

Existem algumas formas de tratamento por meio de fármacos que costumam ser utilizados para casos mais graves de pacientes com hiperglicemia e dislipidemia. Agentes antidiabéticos, como as metforminas, têm papel relevante no controle glicêmico, diminuindo a formação de AGEs (Wang *et al.*, 2024). As estatinas atuam por meio da inibição da enzima HMG-CoA redutase, reduzindo a síntese hepática de colesterol e aumentando a captação de LDL pela circulação. Além de seus efeitos hipolipemiantes, evidências recentes demonstram que as estatinas, como a sinvastatina, apresentam propriedades pleiotrópicas, incluindo ações anti-inflamatórias e imunomoduladoras, mediadas, entre outros mecanismos, pela modulação da via do receptor Toll-like 4 (TLR4), com impacto no metabolismo lipídico e no controle glicêmico (Tian & Zhang, 2026). Já os inibidores da formação de AGEs, como a aminoguanidina, mostraram resultados promissores em modelos experimentais, mas sua aplicação clínica foi restringida há um tempo, devido a efeitos adversos graves, incluindo toxicidade hepática e gastrointestinal (Thornalley, 2003).

1.3.2 Plantas medicinais

Entre os fatores de risco modificáveis para o desenvolvimento da aterosclerose destacam-se dieta hipercalórica, obesidade, sedentarismo e resistência à insulina, condições que favorecem dislipidemia e hiperglicemia. Esses distúrbios metabólicos estão associados ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e ao estabelecimento de um estado de estresse oxidativo sistêmico. O desequilíbrio entre a geração de radicais livres e a capacidade antioxidante endógena favorece a oxidação de biomoléculas, incluindo a LDL, intensificando seu potencial aterogênico (Manna & Jain, 2015).

Dessa forma, o interesse por alternativas naturais ao tratamento farmacológico das complicações cardiovasculares tem crescido. As plantas, principalmente frutas e vegetais, são uma fonte abundante de compostos antioxidantes, como polifenóis e flavonoides. (Jongrungraungchok *et al.*, 2023). Esses componentes naturais são bem conhecidos pela alta capacidade de neutralizar radicais livres e prevenir doenças relacionadas ao estresse oxidativo. A incorporação de antioxidantes na dieta tem sido associada a muitas vantagens à saúde, como a prevenção da hiperlipidemia, obesidade, diabetes e distúrbios metabólicos relacionados (Moumou *et al.*, 2024).

A ingestão regular de dietas ricas em polifenóis, como a dieta mediterrânea, associa-se à redução de LDL oxidada, melhora do perfil lipídico e menor risco cardiovascular, reforçando a relevância desses compostos como adjuvantes no manejo de doenças cardiometabólicas (Zheng *et al.*, 2024). Dessa forma, os polifenóis e flavonoides emergem como alternativas naturais promissoras para atenuar simultaneamente os processos de oxidação e glicação da LDL, contribuindo para a prevenção e o tratamento complementar das doenças cardiovasculares (Liu *et al.*, 2025).

O Cerrado brasileiro é o segundo maior bioma da América do Sul, ocupando uma área de quase 2 milhões de km². Em termos de diversidade biológica, o Cerrado brasileiro é reconhecido como a savana mais rica do mundo, com 12.829 espécies de plantas nativas (Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 2022). Dentre os recursos vegetais com potencial terapêutico, os frutos do bioma Cerrado podem apresentar maior teor de compostos bioativos e maior atividade antioxidante em comparação com os frutos comestíveis convencionais, muito provavelmente devido a fatores abióticos adversos que estimulam a produção de compostos bioativos, especialmente antioxidantes (Justino *et al.*, 2020).

1.4 *Eugenia dysenterica* DC. como fonte de compostos bioativos

A *Eugenia dysenterica* DC., conhecida popularmente como cagaita, é uma árvore frutífera da família Myrtaceae, nativa do Cerrado brasileiro (**Figura 2**). Pode atingir até 10 metros de altura, apresenta folhas coriáceas e frutos arredondados de coloração amarela quando maduros, muito apreciados pela fauna e pela população local. Tradicionalmente, a cagaita é utilizada na medicina popular devido às suas propriedades laxativas, anti-inflamatórias e no tratamento de distúrbios gastrointestinais. Além disso, os frutos são

consumidos *in natura* ou na forma de sucos, doces e licores, constituindo importante recurso alimentar regional (Almeida *et al.*, 1998).

Estudos farmacológicos ampliam esse panorama etnobotânico, demonstrando que extratos das folhas e frutos de *E. dysenterica* DC. apresentam atividades biológicas relevantes, incluindo ação tripanocida, anticolinesterásica, antidiarreica, anti-helmíntica, antileucêmica, antimicrobiana e antioxidante. Também foram descritos efeitos hipoglicemiante, neuroprotetor e gastroprotetor, evidenciando o amplo espectro bioativo da espécie (Barbosa *et al.*, 2025). Esse conjunto de propriedades está relacionado à produção de metabólitos secundários sintetizados pela planta em resposta a estímulos ambientais e fisiológicos, os quais desempenham papel fundamental em sua atividade biológica.

Diversos estudos confirmam a presença de uma ampla gama de compostos fenólicos e flavonoides em *E. dysenterica* DC. Entre os principais destacam-se quercetina, catequina, rutina, miricetina, taninos condensados, ácidos fenólicos (como gálico e ferúlico) e carotenoides, que conferem elevada capacidade antioxidante e antiglicante à espécie. Nesse contexto, a fração acetato de etila dos extratos da polpa e folhas apresentou maior concentração desses compostos, mostrando forte atividade contra espécies reativas de oxigênio e glicação não enzimática. Ensaios de HPLC-ESI-MS/MS identificaram ainda a presença de derivados de kaempferol e proantocianidinas, reforçando seu potencial como fonte de nutracêuticos (Justino *et al.*, 2020).



Figura 2. Árvore de *Eugenia dysenterica* DC. (cagaita). Fonte: Cerratinga, 2020

2. Justificativa

As doenças cardiovasculares e o diabetes mellitus representam atualmente um dos maiores problemas de saúde pública mundial, com prevalência crescente associada ao envelhecimento populacional, mudanças no estilo de vida e ao aumento dos índices de obesidade e sedentarismo. Essas condições constituem um grande desafio para os sistemas públicos de saúde, não apenas pelos elevados custos financeiros envolvidos, mas também pelos profundos impactos sociais e na qualidade de vida dos pacientes e de seus familiares. Os custos diretos incluem internações, medicamentos e procedimentos médicos, enquanto os custos indiretos refletem-se na perda de produtividade, aposentadorias precoces e sobrecarga emocional e física dos familiares que convivem com pacientes crônicos.

Estima-se que o impacto econômico global das doenças cardiovasculares ultrapasse trilhões de dólares anualmente, com tendência de crescimento contínuo nas próximas décadas, especialmente em países em desenvolvimento, onde o acesso a terapias preventivas e de alta complexidade ainda é limitado (Bigoni *et al.*, 2025). Nesse cenário, os processos de oxidação e glicação da LDL assumem papel central, por serem mecanismos patogênicos fundamentais na progressão da aterosclerose e de complicações metabólicas relacionadas ao diabetes. Reconhecendo a gravidade do problema, organizações internacionais de saúde têm enfatizado a necessidade de ampliar investimentos em pesquisas sobre terapias preventivas e inovadoras.

Diante desse panorama, cresce a busca por alternativas naturais, especialmente compostos de origem vegetal ricos em polifenóis e flavonoides, que apresentam comprovadas propriedades antioxidantes, antiglicantes e anti-inflamatórias. O Cerrado brasileiro, “hotspot” de biodiversidade, destaca-se como importante reservatório de espécies vegetais com potencial farmacológico. Entre elas, a *Eugenia dysenterica* DC. é tradicionalmente utilizada na medicina popular e já possui evidências pré-clínicas de atividade antioxidante, hipoglicemiante e hipolipemiante.

Apesar das evidências gerais sobre suas propriedades bioativas, Até o momento, não há relatos na literatura que avaliam especificamente o efeito da *Eugenia dysenterica* DC. sobre a oxidação e a glicação da LDL humana *in vitro*, configurando uma lacuna científica relevante. Assim, a presente pesquisa busca contribuir para o avanço do conhecimento sobre

terapias complementares aplicáveis ao manejo da aterosclerose e das complicações metabólicas do diabetes, valorizando ao mesmo tempo a biodiversidade nacional.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

O objetivo geral do projeto é investigar o efeito do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. sobre os processos de oxidação e glicação da LDL humana *in vitro*, avaliando seu potencial antioxidante e antiglicante na prevenção de modificações aterogênicas da lipoproteína.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil fitoquímico do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. por meio de HPLC acoplado à espectrometria de massas em tandem (HPLC/ESI-MS/MS);
- Quantificar o teor de fenóis totais, flavonoides e taninos condensados no extrato bruto e na fração acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. por método espectrofotométrico;
- Avaliar a citotoxicidade do extrato bruto e da fração acetato de etila por meio do ensaio de hemólise osmótica em eritrócitos humanos;
- Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* do extrato bruto e da fração acetato de etila utilizando os métodos DPPH, ORAC e FRAP;
- Avaliar o potencial protetor do extrato bruto e da fração acetato de etila contra danos oxidativos em eritrócitos, utilizando o ensaio de hemólise oxidativa;
- Avaliar o potencial antioxidante do extrato bruto e da fração acetato de etila na LDL *in vitro*, por meio da quantificação da formação de dienos conjugados durante a oxidação induzida por íons Cu^{+2} ;
- Determinar o efeito do extrato bruto e da fração acetato de etila na inibição da peroxidação lipídica da LDL, utilizando o ensaio de TBARS;

- Avaliar o potencial antiglicante *in vitro* do extrato bruto e da fração acetato de etila, por meio da inibição da formação de AGEs na LDL.

4. Metodologia

4.1 Preparo do extrato bruto da *Eugenia dysenterica* DC. e das suas frações orgânicas

O extrato etanólico das folhas de *Eugenia dysenterica* DC., previamente obtido conforme descrito por Justino *et al.* (2022), foi utilizado neste estudo. Uma alíquota de 15 g do extrato etanólico bruto foi dissolvida em uma solução metanol/água (9:1, 150 mL) e, posteriormente, submetida à partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (4 × 200 mL cada): hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol, seguindo o procedimento descrito por Justino *et al.* (2020). As frações obtidas foram mantidas em capela de exaustão por três dias para evaporação dos solventes e, em seguida, liofilizadas, obtendo-se os extratos secos finais utilizados nas análises subsequentes. Para o preparo das amostras, pesamos 10 mg do extrato bruto e da fração acetato de etila, depois diluímos em 1000 µL de etanol. Posteriormente, foram armazenadas a -20° C e identificadas como estoque na concentração 10mg/mL.

4.2 Perfil fitoquímico do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *E. dysenterica* DC.

4.2.1 HPLC-(–)-ESI-MS/MS

O extrato bruto (EB) e a fração acetato de etila (FAE) de *Eugenia dysenterica* DC. foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com ionização por eletrospray (HPLC-ESI-MS). As análises foram realizadas em um sistema Agilent Infinity 1260 acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução (Agilent 6520 B), utilizando água com 0,1% de ácido fórmico e metanol como fase móvel em gradiente de eluição. Os parâmetros de ionização incluíram pressão do nebulizador de 20 psi, gás de secagem a 8 L.min⁻¹, temperatura de 220 °C e voltagem de 4,5 kV. Os espectros MS/MS foram obtidos com energias de colisão entre 5 e 30 eV e analisados no software Agilent MassHunter®, com identificação dos compostos por comparação com bibliotecas online e dados da literatura.

4.2.2 Quantificação de compostos antioxidantes

A análise fitoquímica do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) de *E. dysenterica* DC. foi realizada para quantificar os teores de fenóis totais, flavonoides e taninos condensados, seguindo o procedimento descrito por Zou *et al.* (2011). As leituras espectrofotométricas foram obtidas utilizando soluções das amostras preparadas na concentração de 1 mg/mL, sendo o etanol utilizado como branco em todas as determinações.

4.2.2.1 Teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais do extrato bruto (EB) de *E. dysenterica* DC. e de sua fração acetato de etila (FAE) foi determinado pelo método de Folin–Ciocalteu. Brevemente, as soluções das amostras (1 mg/mL) foram misturadas com o reagente de Folin–Ciocalteu a 10% e incubadas a 25 °C por 6 minutos. Em seguida, foi adicionada solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 7%, e a mistura foi mantida no escuro por 2 horas à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 760 nm em leitor de microplacas (Versamax, Molecular Devices, EUA). Os resultados foram expressos em microgramas de fenóis totais por mililitro de amostra.

4.2.2.2 Teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais no extrato bruto e na fração acetato de etila foi quantificado por método colorimétrico. As amostras foram incubadas no escuro com solução de nitrito de sódio a 5% em água ultrapura por 6 minutos a 25 °C. Posteriormente, foi adicionada solução de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 10%, e a incubação prosseguiu por mais 6 minutos sob as mesmas condições. A absorbância foi registrada a 425 nm em leitor de microplacas (Versamax, Molecular Devices, EUA). O conteúdo de flavonoides foi expresso em microgramas de flavonoides totais por mililitro de amostra.

4.2.2.3 Teor de taninos condensados

Para a determinação do teor de taninos condensados no extrato bruto (EB) e na fração acetato de etila (FAE), as amostras foram incubadas com vanilina a 4% (diluída em metanol) e HCl por 15 minutos a 25 °C, seguidos de mais 15 minutos de incubação à mesma

temperatura. Após a incubação, a absorbância foi medida a 500 nm em leitor de microplacas (Versamax, Molecular Devices, EUA). A concentração de taninos foi determinada a partir de uma curva padrão de catequina e expressa como microgramas de taninos condensados por mililitro de amostra.

4.3 Citotoxicidade do extrato

4.3.1 Hemólise osmótica

O ensaio de hemólise osmótica foi realizado, adaptando o protocolo de Kazmierczak *et al.* (2024) para avaliar a estabilidade da membrana eritrocitária sob estresse hipotônico, sendo utilizado como medida de citotoxicidade na presença dos extratos das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. Eritrócitos frescos (2% v/v em NaCl 0,9%) foram expostos ao extrato etanólico bruto (EB) e à fração acetato de etila (FAE) nas concentrações de 10 a 400 µg/mL, em condições isotônicas. Após incubação a 37 °C por 30 minutos, as amostras foram centrifugadas (500 g, 10 minutos, 4 °C), e a absorbância do sobrenadante foi medida a 540 nm. A porcentagem de hemólise foi calculada em relação aos controles positivo (água destilada) e negativo (NaCl 0,9%).

4.4 Ensaios antioxidantes

Para avaliar a capacidade antioxidante das amostras, foram realizados três ensaios complementares: atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) e poder antioxidante redutor férrico (FRAP). Para cada ensaio, as amostras foram diluídas em etanol em concentrações apropriadas. O ensaio ORAC determina a capacidade da amostra em neutralizar radicais peroxil, enquanto o método DPPH avalia sua eficiência em reduzir o radical DPPH à sua forma não radical, hidrazina. O método FRAP avalia a capacidade doadora de elétrons da amostra por meio da redução de íons férricos (Fe^{3+}) a íons ferrosos (Fe^{2+}).

4.4.1 DPPH

A atividade antioxidante das amostras foi determinada pelo método de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), adaptado de Pires *et al.* (2017). O extrato etanólico (EB) e sua fração acetato de etila (FAE) foram preparados em concentração inicial

de 100 µg/mL, seguida de diluições seriadas decimais até 0,78 µg/mL, a fim de estimar o valor de EC₅₀. Cada amostra foi misturada com uma solução de DPPH a 80 µM (dissolvida em metanol) e incubada por 30 minutos, protegida da luz. Após a incubação, a absorbância foi medida a 517 nm em leitor de microplacas (VersaMax, Molecular Devices, EUA). A porcentagem de atividade sequestradora do radical foi calculada pela seguinte equação:

$$DPPH\ Scavenging\ (\%) = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{(A_{control} - A_{blank})} \times 100$$

onde $A_{controle}$ corresponde à absorbância da solução de DPPH em metanol, $A_{amostra}$ representa a absorbância da mistura DPPH-amostra, e A_{branco} refere-se à absorbância da amostra diluída em metanol sem DPPH. O ácido gálico (AG) foi utilizado como controle positivo.

4.4.2 ORAC

O extrato bruto (EB) e a fração acetato de etila (FAE) foram combinadas com fluoresceína a 0,085 mM e 2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloreto (AAPH) a 153 mM, ambos preparados em tampão fosfato 75 mM (pH 7,4). O ensaio foi realizado com um estoque de amostras a 1 mg/mL. A fluorescência foi monitorada com excitação em 485 nm e emissão em 528 nm por 90 minutos a 37 °C, utilizando leitor de microplacas (EnSpire, PerkinElmer, EUA). A capacidade antioxidante foi calculada a partir de curva padrão de Trolox e expressa em µmol equivalentes de Trolox por grama de amostra (µmol TE/g). O ácido gálico (AG) foi utilizado como controle positivo (Prior *et al.*, 2003).

4.4.3 FRAP

O extrato bruto (EB) e a fração acetato de etila (FAE) de *E. dysenterica* DC. foram misturados ao reagente FRAP, composto por tampão acetato de sódio 300 mM (pH 3,6), TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina) a 10 mM e cloreto férrico a 20 mM, combinados na proporção 10:1:1 (v/v/v) (Benzie *et al.*, 1996). O ensaio foi realizado a partir de um estoque de amostras a 1 mg/mL. As misturas foram incubadas por 6 minutos a 37 °C, e a absorbância foi registrada a 593 nm em leitor de microplacas (VersaMax, Molecular Devices, EUA). Uma curva padrão de Trolox foi utilizada para expressar os resultados como µmol equivalentes de Trolox por grama de amostra (µmol TE/g). A quercetina (QE) foi utilizada como controle positivo.

4.4.4 Hemólise oxidativa

O ensaio de hemólise oxidativa foi realizado para avaliar o potencial protetor do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) de *Eugenia dysenterica* DC. contra danos oxidativos à membrana eritrocitária, conforme metodologia descrita por Zhao *et al.* (2013), com modificações. Eritrócitos humanos foram isolados, lavados e ressuspendidos em PBS 1× (pH 7,4) para obtenção de uma suspensão a 20% (v/v). As amostras, em diferentes concentrações (10, 50, 100, 200 e 400 µg/mL), foram pré-incubadas com a suspensão de eritrócitos por 20 minutos a 37 °C, seguidas da adição do agente oxidante 2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloreto (AAPH) para indução do estresse oxidativo. Após incubação por 2 horas a 37 °C, as amostras foram diluídas em PBS, centrifugadas (1.500 × g, 10 minutos), e a absorbância do sobrenadante foi medida a 540 nm. Utilizou-se acetilcisteína (2 mM) e ácido ascórbico (1,5 mM) como controles positivos. A porcentagem de hemólise foi calculada em relação aos controles positivo (AAPH) e negativo (PBS).

4.5 Isolamento da LDL

Para o isolamento da LDL, foram coletados aproximadamente 10 mL de sangue periférico de um voluntário saudável, não fumante, em tubos vacutainer contendo heparina. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (CEP/UFU), sob CAAE nº 16600619.9.0000.5152, Parecer Consubstanciado nº 3.626.918, e conduzido em conformidade com as normas éticas vigentes para pesquisas envolvendo seres humanos.

As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm, a 4 °C, por 10 minutos, para obtenção do plasma. Em seguida, o plasma foi cuidadosamente coletado e acrescido de inibidores de proteólise e oxidação, incluindo aprotinina, benzamidina (2 mM), PMSF (0,5 mM) diluído em DMSO, além de uma solução conservante composta por azida sódica a 5%, EDTA a 5% e cloranfenicol a 0,1%. Para ajuste da densidade, foi adicionada solução de brometo de potássio (KBr).

Posteriormente, alíquotas de 3 mL do plasma foram transferidas para tubos de polipropileno com volume final de 10 mL, sobre os quais foi cuidadosamente adicionada solução de KBr com densidade 1,006 até completar o volume total, formando um gradiente descontínuo de densidade com duas camadas. Os tubos foram equilibrados e submetidos à

ultracentrifugação a 40.000 rpm, por 2 horas, a 4 °C, para a separação das lipoproteínas. Após esse processo, a fração correspondente à LDL foi coletada e submetida à diálise contra tampão fosfato (PBS) 20 mM, pH 7,4, por 72 horas, a 20 °C, com trocas do tampão a cada 24 horas. Ao final, a amostra foi filtrada e armazenada sob refrigeração, em recipiente protegido da luz, conforme descrito por Chung *et al.* (1986).

4.6 Potencial antioxidante na LDL *in vitro*

A oxidação da LDL foi induzida pela incubação com sulfato de cobre (II) a 5 µM por 2 horas a 37 °C, sendo monitorada espectrofotometricamente a 234 nm a cada 2 minutos (Giese & Esterbauer, 1994). A formação de dienos conjugados foi utilizada para avaliar a cinética da oxidação, com ênfase na determinação do tempo de resistência à oxidação (T-lag). O efeito antioxidante do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) foi avaliado nas concentrações de 0,5, 1 e 2 µg/mL, por comparação com os controles de LDL nativa e oxidada, utilizando quercetina como antioxidante de referência. Ao final do ensaio, os produtos da peroxidação lipídica foram quantificados pelo método de TBARS.

4.7 TBARS

A peroxidação lipídica nas amostras de LDL foi avaliada pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Brevemente, 200 µL da amostra de LDL foram misturados a 300 µL de água destilada e 500 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 20%, seguido de centrifugação ($10.000 \times g$, por 6 min, a 4 °C). O sobrenadante obtido foi então reagido com o reagente de TBA (0,67% de TBA, 0,5 M de HCl e 50 mM de BHT). A mistura foi aquecida a 100 °C por 15 min, resfriada, centrifugada, e 200 µL do sobrenadante foram utilizados para leitura das absorbâncias em 532 e 600 nm em espectrofotômetro EnSpire (PerkinElmer, EUA). Os resultados foram expressos em nmol de malondialdeído (MDA) por mg de proteína (Buege & Aust, 1978).

4.8 Potencial antiglicante na LDL *in vitro*

A formação de AGEs foi monitorada por fluorescência utilizando comprimentos de onda de excitação e emissão adequados ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$), com leituras realizadas ao longo do período experimental em leitor de microplacas (EnSpire, PerkinElmer, EUA). A porcentagem de inibição da glicação foi calculada a partir da variação da fluorescência das amostras em relação

aos controles, considerando os valores iniciais e finais de incubação. Após o período de incubação, a peroxidação lipídica associada à LDL foi adicionalmente avaliada pelo método de TBARS.

4.9 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média $\pm$ desvio-padrão (DP). Para a comparação entre três ou mais grupos experimentais, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste post hoc de Tukey para a realização de comparações múltiplas. Nas análises envolvendo apenas dois grupos, aplicou-se o teste t de Student. Foram consideradas estatisticamente significativas as diferenças que apresentaram valores de $p < 0,05$. Todas as análises estatísticas, bem como a construção dos gráficos, foram realizadas com o auxílio do software GraphPad Prism, versão 8.0.

5. Resultados

5.1 Análise de HPLC-ESI-MS/MS do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC.

A mistura botânica complexa, composta pelo extrato etanólico das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. e pela fração acetato de etila, foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (HPLC-ESI-MS/MS). A identificação dos compostos foi realizada por meio da comparação dos tempos de retenção, massas exatas, fórmulas moleculares propostas e padrões de fragmentação obtidos com dados descritos na literatura e, quando aplicável, com padrões de referência.

Os cromatogramas representativo do extrato bruto e da fração acetato de etila são apresentados nas **Figuras 3A e 3B**, respectivamente, enquanto a identificação dos compostos detectados encontra-se detalhada na **Tabela 1**. A análise revelou um perfil químico caracterizado predominantemente pela presença de ácidos fenólicos, flavonoides e taninos condensados, classes reconhecidas por suas atividades antioxidante e antiglicante.

Entre os compostos identificados, destacam-se o ácido quínico (1) e o ácido gálico (2), detectados tanto no extrato etanólico quanto na fração acetato de etila, indicando ampla distribuição desses ácidos fenólicos nas amostras analisadas. Flavonóides como catequina (4) e derivados, incluindo (epi)-catequina-(epi)-catequina (3), (epi)-catequina galato (6) e o

dímero de procianidina monogalato (5), foram identificados principalmente na fração acetato de etila, sugerindo maior afinidade desses compostos por solventes de polaridade intermediária.

Além disso, foram identificados diversos derivados glicosilados da quercetina, como quercetina-galoil-glicosídeo (7), quercetina-pentosídeo I e II (8a e 8b), quercetina-ramnosídeo (9) e quercetina-galoil-pentosídeo (10), presentes tanto no EB quanto na FAE. A presença desses flavonoides glicosilados reforça o potencial bioativo das folhas de *E. dysenterica* DC., uma vez que tais compostos estão frequentemente associados à capacidade antioxidante, à inibição de processos oxidativos e à modulação da glicação de biomoléculas.

De modo geral, o perfil fitoquímico obtido por HPLC–ESI–MS/MS evidencia a riqueza fenólica do extrato etanólico e da fração acetato de etila de *Eugenia dysenterica* DC., corroborando estudos prévios e fornecendo suporte químico para os efeitos antioxidantes e antiglicantes observados nos ensaios biológicos realizados neste trabalho (Justino *et al.*, 2020; Justino *et al.*, 2022).

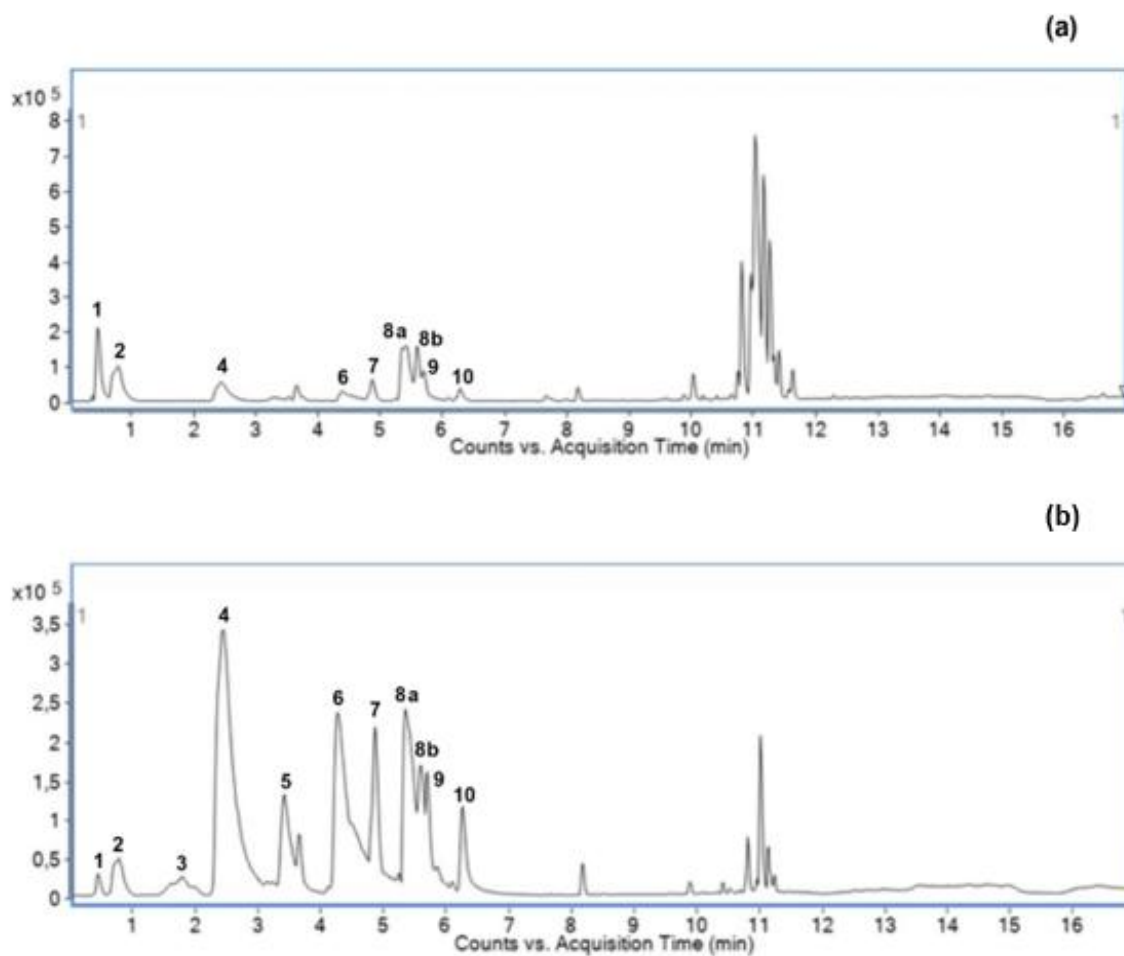


Figura 3. Cromatograma do extrato bruto (a) e da fração acetato de etila (b) das folhas de *E. dysenterica* DC. (1) ácido quínico, TR (tempo de retenção) 0,47 min; (2) ácido gálico, TR 0,77 min; (3) (epi)-catequina-(epi)-catequina, TR 1,78 min; (4) catequina, TR 2,42 min; (5) dímero de procianidina monogalato, TR 3,42 min; (6) (epi)-catequina galato, TR 4,38 min; (7) quercetina-galoil-glicosídeo, TR 4,88 min; (8a) quercetina-pentosídeo I, TR 5,44 min; (8b) quercetina-pentosídeo I, TR 5,60 min; (9) quercetina-ramnosídeo, TR 5,70 e (10) quercetina-galoil-pentosídeo, TR 6,30 min.

Tabela 1. Composição química do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *E. dysenterica* DC. HPLC-(–)-ESI-MS/MS

tr (min)	[M – H] [–]	Fórmula molecular	Massa molecular	MS ² Fragmentos	Compostos	Amostra	Referências
0.47	191.0554	C ₇ H ₁₂ O ₆	191.0561	172, 203, 125	Ácido quínico (1)	EB, FAE	Silva <i>et al.</i> , 2025
0.77	169.0132	C ₇ H ₆ O ₅	169.0137	125, 79	Ácido gálico (2)	EB, FAE	Justino <i>et al.</i> , 2020
1.78	577.1355	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.1351	407, 339, 289, 245, 125	(<i>epi</i>)-catequina- (<i>epi</i>)-catequina (3)	FAE	Justino <i>et al.</i> , 2022
2.42	289.0720	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0718	245, 203, 125	Catequina (4)	EB, FAE	Silva <i>et al.</i> , 2025
3.42	729.1454	C ₃₇ H ₃₀ O ₁₆	729.1461	577, 407, 289, 125	Dímero monogalato procianidina(5)	FAE	Justino <i>et al.</i> , 2022
3.65	167.0371	–	–	108, 91	n.a	EB, FAE	–
4.38	441.0837	C ₂₂ H ₁₇ O ₁₀	441.0827	289, 245, 169, 125	(<i>epi</i>)-galato catequina (6)	EB, FAE	Jin <i>et al.</i> , 2020
4.88	615.0978	C ₂₈ H ₂₃ O ₁₆	615.0986	463, 300, 271	Quercetina- galoil-glicosídeo (7)	EB, FAE	Justino <i>et al.</i> , 2020
5.44	433.0783	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	433.0776	300, 271	Quercetina- pentosídeo I (8a)	EB, FAE	Justino <i>et al.</i> , 2020
5.60	433.0789	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	433.0776	300, 271	Quercetina- pentosídeo II (8b)	EB, FAE	Justino <i>et al.</i> , 2020
5.70	447.0931	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.0932	300, 151	Quercetina- ramnosídeo (9)	EB, FAE	Justino <i>et al.</i> , 2020
6.30	585.0887	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₅	585.0886	433, 301, 283	Quercetina- galoil-pentosídeo (10)	EB, FAE	Saldanha; Vilegas; Dokkedal, 2013

Tabela 1. Composição química do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *E. dysenterica* DC. HPLC-(–)-ESI-MS/MS

t_R (min)	[M – H][–]	Fórmula molecular	Massa molecular	MS² Fragmentos	Compostos	Amostra	Referências
8.19	293.1784	–	–	221, 192, 148	n.a	EB, FAE	–
9.88	283.1743			212, 148, 114	n.a	FAE	
10.06	419.2470	–	–	401, 333, 289, 235, 166, 125	n.a	EB	–
10.43	325.2214			279, 163, 107	n.a	FAE	
10.79	385.2412	–	–	341, 301, 235, 125	n.a	EB	–
10.81	367.2684			288, 205, 177, 121	n.a	FAE	
11.06	387.2566	–	–	343, 303, 261, 125	n.a	EB, FAE	–
11.16	401.2725	–	–	357, 303, 263, 193, 139	n.a	EB, FAE	–
11.27	389.2729	–	–	345, 305, 249, 208	n.a	EB, FAE	–
11.41	403.2888	–	–	325, 252, 214, 177, 110	n.a	EB	–
11.62	391.2887	–	–	347, 287, 221, 85	n.a	EB	–

t_R: Tempo de retenção; n.a: Não anotado; EB: extrato bruto; FAE: fração acetato de etila.

5.2 Propriedades fitoquímicas - Fenóis totais, flavonoides e taninos condensados

A análise fitoquímica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. demonstrou que tanto o EB quanto a FAE apresentam elevado conteúdo de compostos fenólicos, incluindo flavonoides e taninos condensados, evidenciando o potencial antioxidante dessas amostras.

O teor de fenóis totais, expresso em micrograma de fenóis totais por mililitro de amostra ($\mu\text{g/mL}$), foi significativamente maior na FAE quando comparado ao EB. O EB apresentou um conteúdo de $218,3 \pm 29,1 \mu\text{g/mL}$, enquanto a FAE alcançou $469,5 \pm 20,0 \mu\text{g/mL}$, conforme ilustrado na **Figura 4A**.

Em relação aos flavonoides totais, quantificados em micrograma de flavonoides totais por mililitro de amostra ($\mu\text{g/mL}$), observou-se novamente uma maior concentração na FAE. Os valores obtidos foram $398,4 \pm 57,1 \mu\text{g/mL}$ para o EB e $526,2 \pm 13,9 \mu\text{g/mL}$ para a FAE, como apresentado na **Figura 4B**.

Quanto aos taninos condensados, expressos em micrograma de taninos condensados por mililitro de amostra ($\mu\text{g/mL}$), a FAE também apresentou valores superiores aos do extrato bruto. O EB exibiu um teor de $184,3 \pm 14,8 \mu\text{g/mL}$, enquanto a FAE apresentou $301,2 \pm 15,2 \mu\text{g/mL}$, conforme demonstrado na **Figura 4C**.

De maneira geral, os resultados indicam que o fracionamento em acetato de etila favoreceu o enriquecimento dos compostos antioxidantes, especialmente flavonoides e taninos condensados.

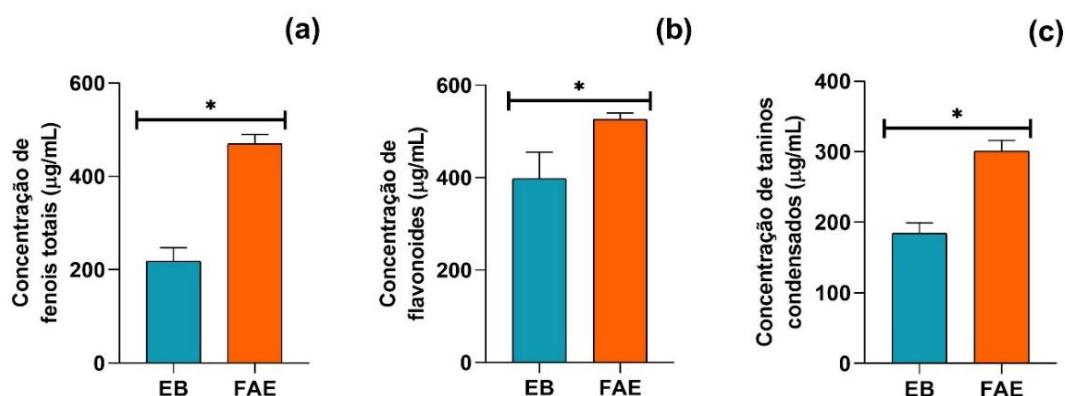


Figura 4. Teor de compostos antioxidantes do extrato bruto etanólico (EB) e da fração em acetato de etila (FAE) das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. Fenóis totais (A), flavonoides (B) e taninos condensados (C). Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio-padrão. As comparações entre os grupos foram realizadas por meio do teste t de Student. O símbolo (*) indica diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados ($p < 0,05$).

5.3 Ausência de citotoxicidade do extrato bruto e da fração acetato de etila por hemólise osmótica

O ensaio de hemólise osmótica demonstrou que tanto o extrato etanólico bruto quanto a fração em acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. não induziram hemólise eritrocitária nas concentrações avaliadas (10 a 400 µg/mL). Em todas as condições testadas, a porcentagem de hemólise permaneceu em 0%, indicando ausência de efeito citotóxico sobre a membrana eritrocitária, quando comparados ao controle negativo (NaCl 0,9%). O controle positivo (água destilada) apresentou hemólise completa, validando o ensaio.

5.4 Propriedade antioxidante do extrato bruto e da fração em acetato de etila de *E. dysenterica* DC. avaliada por diferentes ensaios *in vitro*

A atividade antioxidante do extrato bruto etanólico (EB) e da fração em acetato de etila (FAE) das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. foi avaliada por diferentes métodos *in vitro*, incluindo os ensaios de DPPH, ORAC, FRAP e hemólise oxidativa, cujos resultados estão apresentados na **Figura 5**.

A atividade sequestradora de radicais livres foi ainda avaliada pelo ensaio de DPPH (**Figura 5A**). A FAE apresentou menor valor de IC₅₀ ($5,94 \pm 1,63$ µg/mL) em comparação ao EB ($13,59 \pm 4,92$ µg/mL), indicando maior eficiência antioxidante da fração em acetato

de etila. Conforme esperado, o ácido gálico apresentou o menor IC_{50} ($1,99 \pm 0,82 \mu\text{g/mL}$), confirmando sua elevada atividade antioxidante.

No ensaio ORAC (**Figura 5B**), ambos os extratos apresentaram capacidades antioxidantes semelhantes ao padrão ácido gálico, sem diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$). Os valores médios obtidos foram $54,53 \pm 1,98 \mu\text{M Trolox eq/g}$ para o EB, $54,58 \pm 1,27 \mu\text{M Trolox eq/g}$ para a FAE e $53,29 \pm 2,53 \mu\text{M Trolox eq/g}$ para o ácido gálico, demonstrando elevada capacidade de sequestro de radicais peroxil por ambas as amostras.

No ensaio de capacidade antioxidante total determinado pelo método FRAP (**Figura 5C**), o extrato bruto (EB) apresentou menor poder redutor, com valor de $708,7 \pm 48,9 \mu\text{M}$ equivalentes de Trolox por grama, indicando capacidade inferior de doação de elétrons quando comparado à fração acetato de etila. Em contraste, a fração acetato de etila (FAE) exibiu a maior atividade redutora entre as amostras analisadas, com valor médio de $884,6 \pm 74,6 \mu\text{M Trolox eq/g}$, evidenciando maior eficiência na redução do íon férrico. Ambas as amostras demonstraram desempenho superior ao do controle positivo, a quercetina, que apresentou valor de $444,9 \pm 7,3 \mu\text{M Trolox eq/g}$.

De forma complementar, o efeito antioxidante dos extratos foi avaliado por meio do ensaio de hemólise oxidativa, que investiga a capacidade das amostras em proteger a membrana eritrocitária contra danos induzidos por estresse oxidativo. Como mostrado na **Tabela 2**, os resultados demonstraram que tanto o EB quanto a FAE apresentaram boa proteção contra hemólise oxidativa, especialmente nas concentrações mais elevadas. O EB apresentou percentuais de hemólise de 15%, 1% e 0% nas concentrações de 50, 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. De maneira semelhante, a FAE apresentou 13%, 0% e 0% de hemólise nas mesmas concentrações. Os controles antioxidantes, N-acetilcisteína e ácido ascórbico, apresentaram hemólise de 3% e 0%, respectivamente, corroborando a capacidade protetora observada para os extratos.

De forma geral, os resultados obtidos pelos diferentes métodos indicam que a fração em acetato de etila apresenta o maior potencial antioxidante, evidenciado de maneira consistente pelos ensaios químicos e biológico, reforçando seu papel como uma fonte promissora de compostos antioxidantes derivados das folhas de *Eugenia dysenterica* DC.

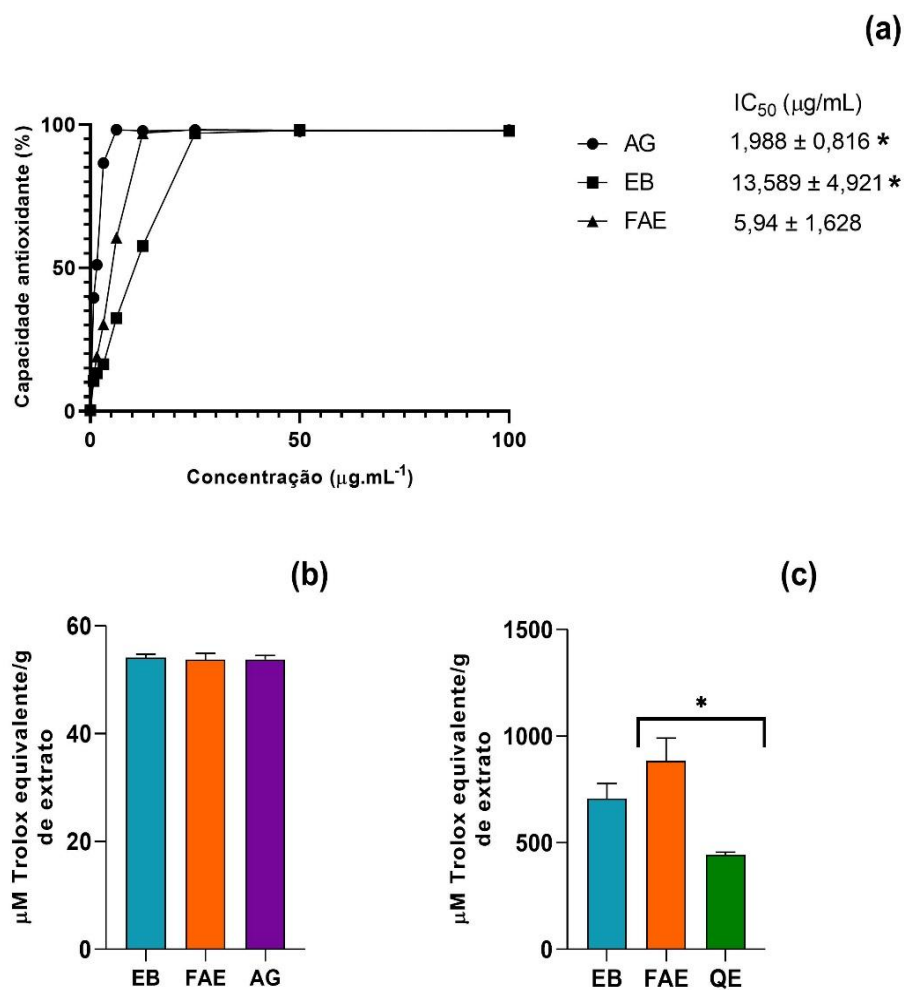


Figura 5. Atividade antioxidante do extrato bruto etanólico (EB) e da fração em acetato de etila (FAE) das folhas de *Eugenia dysenterica* DC., avaliada pelos ensaios DPPH (A), ORAC (B) e FRAP (C). Diferenças estatisticamente significativas foram observadas no ensaio DPPH entre o extrato bruto e o ácido gálico, e no ensaio FRAP entre a FAE e a quercetina. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, sendo consideradas significativas as diferenças com $p < 0,05$, indicado por asterisco (*).

Tabela 2. Efeito do extrato bruto etanólico e da fração em acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. sobre a hemólise oxidativa de eritrócitos humanos.

Amostra / Grupo	Concentração (µg/mL)	Hemólise (%)
PBS + Hemoglobina (Branco)	—	0
H ₂ O + Hemoglobina (+)	—	100
N-Acetilcisteína	326	3
Ácido ascórbico	264	0
Extrato bruto	50	15
	100	1
	200	0
Acetato de etila	50	13
	100	0
	200	0

Fonte: Autor.

5.5 Avaliação do efeito antioxidante do extrato bruto e da fração em acetato de etila de *Eugenia dysenterica* DC. na cinética de oxidação da LDL *in vitro* e no tempo de latência oxidativa

A oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) foi monitorada por meio da formação de dienos conjugados, acompanhada pela variação da absorbância a 234 nm ao longo do tempo, conforme apresentado na **Figura 6A**. O grupo controle oxidado (LDLox) apresentou um aumento acentuado e contínuo da absorbância, característico da fase de propagação da oxidação lipídica, indicando rápida formação de produtos primários da oxidação.

Na presença dos tratamentos antioxidantes, observou-se uma redução na taxa de formação de dienos conjugados, evidenciada pelo atraso no início da fase de propagação da oxidação. O padrão quercetina (QE) apresentou o maior efeito protetor, seguido pela fração em acetato de etila (FAE) e pelo extrato bruto etanólico (EB), os quais retardaram de maneira significativa a oxidação da LDL quando comparados ao grupo LDLox.

A análise quantitativa desse efeito protetor foi expressa pelo tempo de latência (Tlag), que corresponde ao intervalo no qual a LDL permanece protegida da oxidação antes do início da fase de propagação. Conforme demonstrado na **Figura 6B**, o grupo LDLox

apresentou o menor valor de Tlag ($58 \pm 4,0$ minutos), refletindo baixa resistência à oxidação. Em contraste, a presença da quercetina resultou no maior tempo de latência ($91 \pm 7,0$ minutos), confirmando seu elevado potencial antioxidante.

O extrato bruto (EB) e a fração em acetato de etila (FAE) apresentaram valores intermediários de Tlag, com médias aproximadas de $75,5 \pm 1,5$ minutos para o EB e $82,5 \pm 2,5$ minutos para a FAE, indicando que ambos os tratamentos foram capazes de prolongar significativamente o tempo de proteção da LDL contra a oxidação, quando comparados ao controle oxidado. A FAE apresentou desempenho superior ao extrato bruto, sugerindo maior concentração de compostos bioativos responsáveis pela atividade antioxidante.

De forma geral, os resultados do monitoramento da formação de dienos conjugados corroboram os dados de Tlag, demonstrando que o aumento do tempo de latência está diretamente associado à capacidade antioxidante dos extratos em retardar a oxidação lipídica da LDL, reforçando o potencial protetor da fração em acetato de etila frente aos processos oxidativos envolvidos na aterogênese.

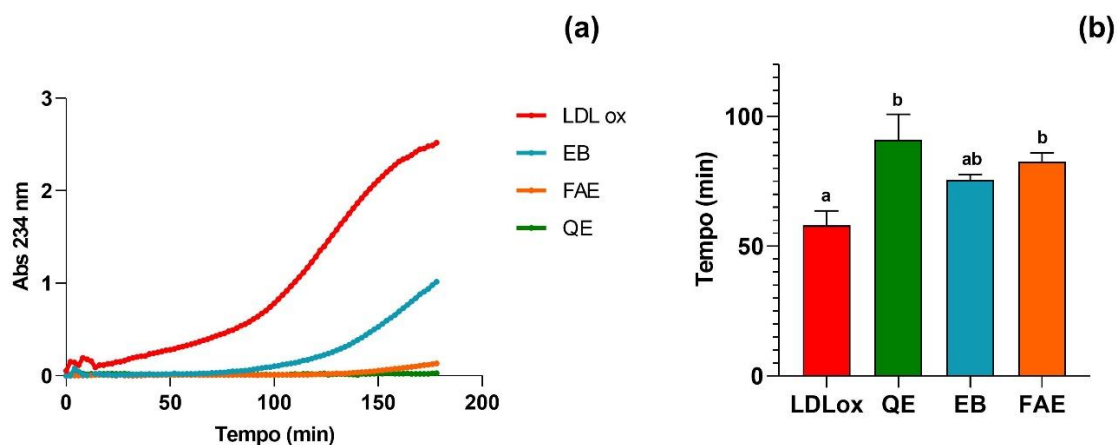


Figura 6. Monitoramento da oxidação da LDL por meio da formação de dienos conjugados e tempo de latência (Tlag). (A) Curvas representativas da formação de dienos conjugados, acompanhadas por absorbância a 234 nm, para LDLox na ausência e na presença do EB, FAE e QE. (B) Tempo de latência (Tlag), expresso em minutos, indicando o período de proteção da LDL contra a oxidação. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão e as diferenças estatísticas estão representadas por letras diferentes.

5.6 Propriedade antiglicante e proteção da LDL contra glicoxidação induzida por metilglioxal

Os resultados demonstraram que o extrato bruto etanólico e a fração em acetato de etila foram capazes de inibir a formação de AGEs de maneira dependente da concentração (50, 100 e 150 µg/mL), como mostrado na **Figura 7**.

A FAE apresentou o maior potencial antiglicante, atingindo $92,18 \pm 0,795\%$ de inibição na concentração de 150 µg/mL, seguida pelo extrato bruto, que apresentou $76,96 \pm 5,3\%$ de inibição na mesma concentração. A quercetina, utilizada como controle positivo, apresentou menores percentuais de inibição em todas as concentrações testadas.

Diferenças estatisticamente significativas foram observadas entre a FAE e a QE na concentração de 100 µg/mL ($p < 0,05$), bem como entre ambos os extratos (FAE e EB) e a quercetina na concentração de 150 µg/mL ($p < 0,05$), evidenciando maior efeito da fração em acetato de etila e, em menor extensão, do extrato bruto, na prevenção da glicação da LDL.

De maneira geral, esses resultados demonstram que os extratos de *Eugenia dysenterica* DC., especialmente a fração em acetato de etila, apresentam elevada capacidade antiglicante associada à atividade antioxidante.

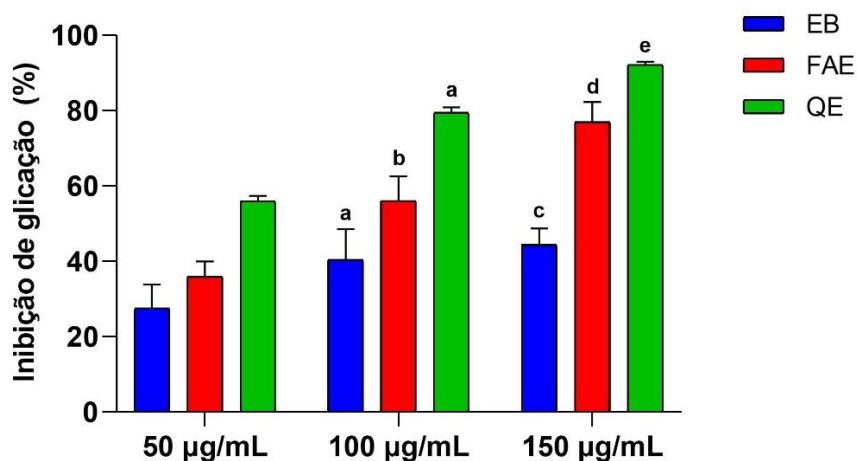


Figura 7. Avaliação da atividade antiglicante do EB e da FAE de *Eugenia dysenterica* DC. no modelo LDL/MGO após 72 h de incubação. Os resultados são expressos como porcentagem de inibição da formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) nas concentrações de 50, 100 e 150 µg/mL. A quercetina foi utilizada como controle positivo. As diferenças estatisticamente significativas estão indicadas por letras diferentes, considerando $p < 0,05$.

5.7 Capacidade de inibição da peroxidação lipídica analisada após o ensaio de oxidação e glicação de LDL *in vitro*

A peroxidação lipídica da LDL foi avaliada pelo método de TBARS após processos de oxidação (**Figura 8A**) e glicação induzida por metilglioxal (MGO) (**Figura 8B**).

No ensaio de oxidação da LDL (Fig. 7A), a LDL oxidada apresentou os maiores níveis de malondialdeído (MDA) ($5,793 \pm 0,316$ nmol MDA/mL), confirmando a intensa peroxidação lipídica. Em contraste, todos os tratamentos avaliados – LDL nativa ($0,907 \pm 0,141$ nmol MDA/mL), extrato bruto ($3,224 \pm 0,543$ nmol MDA/mL), fração em acetato de etila ($2,483 \pm 0,410$ nmol MDA/mL) e quercetina ($2,360 \pm 0,200$ nmol MDA/mL) – apresentaram redução significativa nos níveis de MDA quando comparados à LDL oxidada ($p < 0,05$). Entre os tratamentos, a FAE demonstrou melhor capacidade de inibição da peroxidação lipídica, sem diferença significativa com a quercetina ($p > 0,05$), evidenciando efeito antioxidante relevante na proteção da LDL frente ao processo oxidativo.

Na avaliação da peroxidação lipídica associada à glicação da LDL por MGO (Fig. 7B), a LDL glicada apresentou níveis elevados de MDA ($0,685 \pm 0,051$ nmol MDA/mL), indicando intenso dano oxidativo decorrente do estresse glicoxidativo. A LDL nativa exibiu valores significativamente menores ($0,210 \pm 0,042$ nmol MDA/mL) ($p < 0,05$), confirmando sua estabilidade basal. O tratamento com o extrato bruto (EB) e a fração acetato de etila (FAE), nas concentrações de 50, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$, promoveu redução significativa dos níveis de MDA em comparação à LDL glicada ($p < 0,05$), evidenciando efeito protetor dependente da concentração. Para o EB, os valores observados foram $0,5208 \pm 0,0567$ nmol MDA/mL; $0,490 \pm 0,057$ nmol MDA/mL e $0,406 \pm 0,007$ nmol MDA/mL nas concentrações de 50, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Já a FAE apresentou valores de $0,441 \pm 0,057$ nmol MDA/mL; $0,408 \pm 0,010$ nmol MDA/mL e $0,326 \pm 0,007$ nmol MDA/mL nas mesmas concentrações, demonstrando maior eficácia na redução da peroxidação lipídica, especialmente na concentração de 150 $\mu\text{g/mL}$. De modo geral, a FAE apresentou maior eficácia na redução da peroxidação lipídica sob condições glicoxidativas, especialmente nas maiores concentrações, reforçando sua superior atividade antioxidante nesse modelo.

Esses resultados corroboram os achados dos ensaios antioxidantes e antiglicantes, indicando que os extratos de *Eugenia dysenterica* DC., particularmente a fração em acetato de etila, exercem efeito protetor significativo contra a oxidação e glicação da LDL.

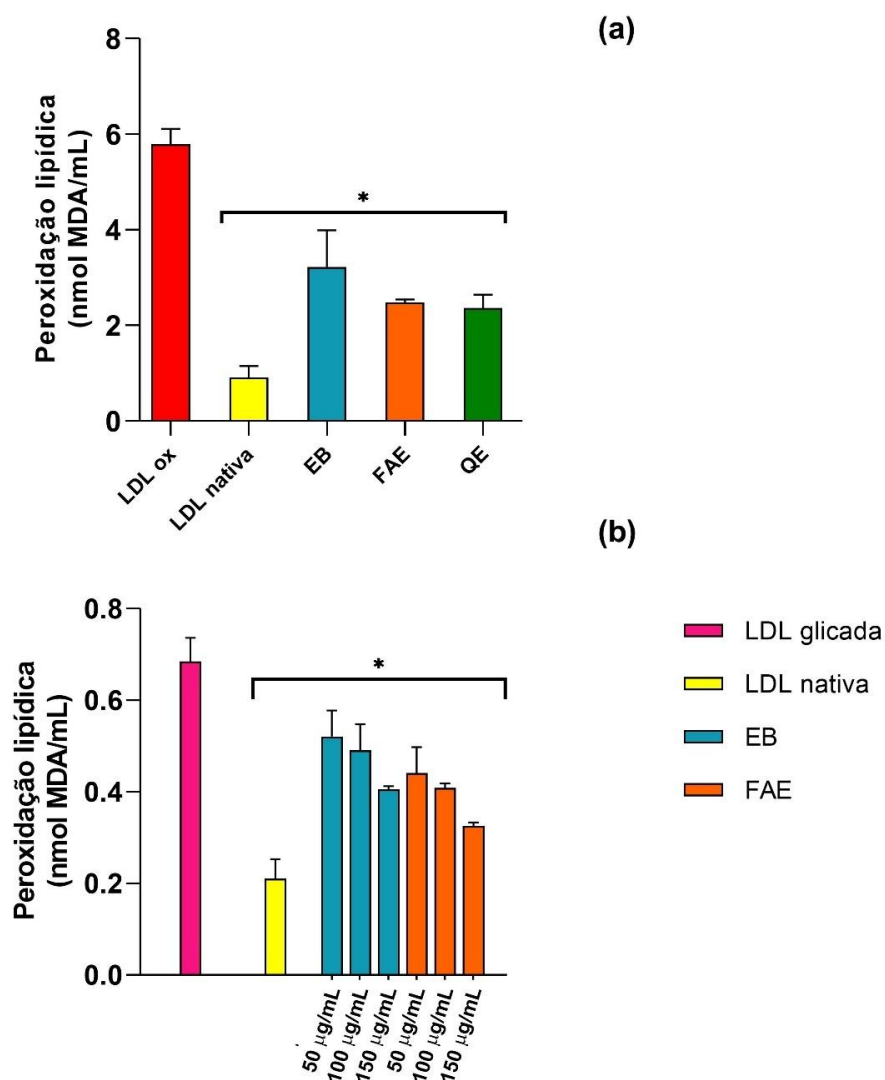


Figura 8. Inibição da peroxidação lipídica da LDL após oxidação e glicação *in vitro*. (A) Níveis de MDA determinados por TBARS após oxidação da LDL. EB, FAE e quercetina reduziram significativamente a peroxidação lipídica em comparação à LDL oxidada ($p < 0,05$), com destaque para a FAE, que apresentou efeito semelhante ao da quercetina. (B) Níveis de MDA após glicação da LDL induzida por MGO. EB e FAE (50, 100 e 150 µg/mL) reduziram significativamente o MDA em relação à LDL glicada ($p < 0,05$), demonstrando efeito dependente da concentração. A FAE apresentou maior eficácia, especialmente na maior concentração.

6. Discussão

O presente estudo avaliou de forma abrangente o potencial antioxidante e antiglicante do extrato etanólico bruto e da fração em acetato de etila obtidos das folhas de *Eugenia dysenterica* DC., com ênfase na capacidade desses extratos em proteger a lipoproteína de

baixa densidade (LDL) contra processos oxidativos e glicativos associados ao desenvolvimento da aterogênese. A escolha desses extratos foi fundamentada em evidências fitoquímicas e farmacológicas prévias, que demonstraram que o extrato etanólico bruto e a fração em acetato de etila de *Eugenia dysenterica* DC. apresentam as maiores concentrações de compostos fenólicos e flavonoides, além de exibirem atividades antioxidantes e anti-inflamatórias superiores quando comparadas a outras frações (Justino *et al.*, 2022). Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo aprofundar a compreensão dos mecanismos envolvidos nessas bioatividades e validar seus efeitos por meio de diferentes ensaios antioxidantes, antiglicantes e de proteção da LDL *in vitro*.

A análise quantitativa demonstrou que o extrato bruto e, sobretudo, a fração em acetato de etila apresentaram elevados teores de fenóis totais, flavonoides e taninos, corroborados pela caracterização química por HPLC-ESI-MS/MS. A maior concentração desses compostos bioativos na fração orgânica coincide com os melhores resultados obtidos nos ensaios antioxidantes. Essa relação entre teor fenólico e atividade antioxidante também foi descrita para outras espécies do gênero *Eugenia*, como *E. jambolana*, cujos extratos com maior concentração de fenóis apresentaram maior capacidade de sequestro de radicais livres e atividade redutora (Yadav *et al.*, 2014), e *E. uniflora*, na qual amostras ricas em polifenóis, incluindo ácido gálico, exibiram atividade antioxidante nos ensaios DPPH e ABTS (Gonçalves *et al.*, 2025). Nesse contexto, os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a atividade antioxidante observada para *E. dysenterica* DC. pode estar relacionada à presença de ácidos fenólicos, flavonoides e taninos, especialmente concentrados na fração acetato de etila.

A capacidade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH, FRAP e ORAC confirmou o elevado potencial redutor e sequestrador de radicais livres dos extratos, com destaque para a fração em acetato de etila, que apresentou o melhor desempenho global. A concordância entre as três metodologias indica que os efeitos antioxidantes observados não se restringem a um único mecanismo de ação, envolvendo processos de transferência de elétrons, doação de hidrogênio e capacidade redutora total (Borges *et al.*, 2024). Esse padrão é consistente com os achados de Justino *et al.* (2022), que relataram valores significativamente menores de IC₅₀ no ensaio de DPPH e maiores equivalentes de Trolox no ensaio de FRAP para a fração em acetato de etila de *Eugenia dysenterica* DC. em comparação com outras frações. De forma complementar aos ensaios químicos, o modelo de hemólise oxidativa, baseado na

geração de radicais peroxil, demonstrou que tanto o extrato bruto quanto a fração acetato de etila foram capazes de reduzir significativamente a hemólise induzida por estresse oxidativo. Esses resultados indicam que os extratos também exercem efeito protetor em sistemas biológicos, preservando a integridade da membrana eritrocitária e reforçando sua capacidade de neutralizar espécies reativas e prevenir danos oxidativos a estruturas lipídicas. Dessa forma, os resultados obtidos no presente estudo reforçam o robusto potencial antioxidante dessa espécie e validam sua eficácia previamente descrita.

No modelo experimental de oxidação da LDL induzida por Cu^{2+} , a redução significativa da formação de malondialdeído (MDA) e o prolongamento do lag time (Tlag) observados no presente estudo sugerem que o extrato de *Eugenia dysenterica* DC. é capaz de modular tanto as etapas iniciais quanto as propagativas da peroxidação lipídica. A redução significativa da formação de MDA e o prolongamento do “lag time” (Tlag) observados no presente estudo reforçam a capacidade de *Eugenia dysenterica* DC. em modular etapas iniciais e propagativas da peroxidação lipídica da LDL. A oxidação dessa lipoproteína é reconhecida como evento central na fisiopatologia da aterosclerose, uma vez que a LDL oxidada apresenta maior afinidade por receptores “scavenger” em macrófagos, favorecendo a formação de células espumosas e a progressão da lesão aterosclerótica (Niki, 2018; Peters *et al.*, 2020). O prolongamento da fase de latência observado indica que as amostras provavelmente atuam nas etapas iniciais da oxidação da LDL, interferindo na formação dos primeiros radicais livres. Esse efeito é especialmente relevante em sistemas nos quais a oxidação é desencadeada por metais de transição, como o Cu^{2+} , que catalisam a geração de espécies reativas capazes de iniciar a peroxidação lipídica (Dos Santos *et al.*, 2018).

O melhor desempenho observado para a fração acetato de etila pode estar relacionado ao enriquecimento em compostos fenólicos de polaridade intermediária, frequentemente concentrados nesse tipo de fração orgânica. Polifenóis como quercetina e catequina são descritos como capazes de interagir com a superfície da LDL, tanto com os fosfolípidios quanto com a apolipoproteína B-100, promovendo estabilização estrutural e dificultando o ataque de espécies reativas (Grzesik *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019). Além disso, esses metabólitos apresentam reconhecida capacidade de quelar íons metálicos, reduzindo a disponibilidade catalítica do Cu^{2+} e, consequentemente, a geração de radicais iniciadores da peroxidação (Kaurinovic & Vastag, 2019). O cobre promove a formação de radicais livres por meio de reações redox, alternando entre Cu^{2+} e Cu^{+} e catalisando a produção de espécies

reativas capazes de abstrair hidrogênios dos ácidos graxos poli-insaturados da LDL, iniciando a peroxidação lipídica (Esterbauer *et al.*, 1992). Tal mecanismo é particularmente relevante em modelos experimentais baseados na oxidação induzida por cobre, como o empregado neste trabalho.

No contexto da oxidação da LDL, diversos estudos têm demonstrado que extratos vegetais ricos em compostos fenólicos são capazes de reduzir a formação de produtos de peroxidação lipídica *in vitro*. Trabalhos conduzidos com *Syzygium cumini* evidenciaram inibição significativa da oxidação da LDL induzida por agentes pró-oxidantes (Dos Santos *et al.*, 2018), enquanto compostos isolados de *Cynanchum wilfordii* também demonstraram capacidade de atenuar a modificação oxidativa da lipoproteína (Kim *et al.*, 2019). De maneira comparável, frações orgânicas de *Annona muricata* também reduziram a peroxidação lipídica da LDL em modelos *in vitro*, efeito associado à presença de flavonoides como quercetina, catequina e kaempferol (Justino *et al.*, 2018), perfil químico compatível com frações acetato de etila de diversas espécies vegetais, incluindo a *Eugenia dysenterica* DC.

Além da ação antioxidante direta, a inibição da oxidação da LDL pode impactar positivamente a glicação dessa lipoproteína. A literatura demonstra que processos oxidativos e glicativos são interdependentes e se potencializam mutuamente, favorecendo modificações estruturais da LDL que amplificam a disfunção endotelial (Younis *et al.*, 2008). Assim, a atividade combinada antioxidante e antiglicante observada para *E. dysenterica* DC., especialmente em sua fração acetato de etila, sugere efeito protetor em modelos *in vitro*.

Os ensaios de glicação demonstraram que tanto o extrato bruto quanto a fração acetato de etila foram eficazes na inibição da formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) induzidos por metilglioxal. O efeito inibitório observado foi comparável ao da quercetina, indicando que os extratos de *Eugenia dysenterica* DC. apresentam bioatividade relevante frente ao estresse glicoxidativo. Esse efeito pode ser atribuído à capacidade dos compostos fenólicos de sequestrar intermediários reativos derivados da degradação da glicose, como o MGO, e quelar íons metálicos de transição, como o Cu^{+2} , reduzindo a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que favorecem modificações oxidativas na LDL e intensificam etapas associadas à glicoxidação, contribuindo para a formação de AGEs (Grzesik *et al.*, 2018).

A fração acetato de etila, que apresentou melhor desempenho, possivelmente concentra metabólitos fenólicos com maior capacidade de capturar dicarbonílicos reativos, como o metilglioxal (MGO), etapa considerada crucial na progressão da glicação para AGEs estáveis e fluorescentes. Revisões recentes destacam que polifenóis atuam não apenas como antioxidantes indiretos, mas também como “carbonyl-trapping agents”, formando adutos estáveis com MGO e outros intermediários reativos, impedindo sua interação com resíduos de lisina e arginina em proteínas como a albumina (Anwar *et al.*, 2021; Yadav *et al.*, 2023). Esse mecanismo é particularmente relevante em modelos experimentais baseados em MGO, como o utilizado neste estudo.

Adicionalmente, estudos têm demonstrado que extratos vegetais submetidos à partição com solventes orgânicos, particularmente o acetato de etila, tendem a apresentar maior atividade antiglicante em modelos experimentais baseados em BSA/MGO. Esse comportamento é geralmente associado ao enriquecimento em flavonoides e ácidos fenólicos de polaridade intermediária, compostos reconhecidos por sua elevada reatividade frente a espécies carbonílicas (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2015; Odjakova *et al.*, 2012). Tais metabólitos podem atuar nas etapas iniciais da reação de Maillard, dificultando a formação de bases de Schiff e produtos de Amadori, além de atenuar a auto-oxidação de açúcares e a subsequente geração de espécies reativas derivadas (Vlassopoulos *et al.*, 2014). Esse conjunto de mecanismos descritos na literatura para modelos de BSA/MGO pode auxiliar na compreensão do desempenho observado pela fração acetato de etila neste estudo, sugerindo que o enriquecimento em compostos fenólicos contribua para atenuar a glicação da LDL em condições *in vitro*.

Do ponto de vista fisiopatológico, a inibição da formação de AGEs possui relevância adicional por reduzir a ativação do eixo AGE-RAGE, associado ao aumento do estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial (Singh *et al.*, 2001). Assim, os resultados obtidos para *E. dysenterica* DC., particularmente para a fração acetato de etila, indica um possível efeito modulador do estresse glicoxidativo, sugerindo potencial relevância em contextos de hiperglicemia, o que requer validação em modelos biológicos mais complexos.

A caracterização da toxicidade celular é uma etapa mandatória para validar o potencial terapêutico de produtos naturais, assegurando que suas propriedades biológicas não resultem em danos colaterais às estruturas celulares (Kaźmierczak *et al.*, 2024). No

presente estudo, o ensaio de hemólise osmótica demonstrou que tanto o extrato bruto quanto a fração acetato de etila de *Eugenia dysenterica* DC. não possui citotoxicidade significativa. Notavelmente, a integridade eritrocitária foi preservada mesmo na concentração máxima de 400 µg/mL, demonstrando ausência de citotoxicidade nas concentrações testadas, inclusive em dose superior às avaliadas em alguns estudos com outros extratos polifenólicos descritos na literatura. Tanwar *et al.* (2017) observaram que o extrato das folhas de *Hippophae rhamnoides* não induziu atividade hemolítica, embora o limite superior testado pelos autores tenha sido de 100 µg/mL, concentração inferior à avaliada no presente estudo. De forma análoga, investigações com *Reynoutria japonica* reforçam que a ausência de dano às hemácias *in vitro* é um indicador de segurança metodológica que permite a progressão para ensaios biológicos em doses mais robustas (Każmierczak *et al.*, 2024).

Até o momento, não foram encontrados registros na literatura utilizando o modelo de eritrócitos para o rastreio de toxicidade desta espécie nativa do Cerrado. A seletividade demonstrada pela *Eugenia dysenterica* DC., que atua na proteção da LDL e no sequestro de radicais livres sem comprometer a estabilidade da bicamada lipídica celular, sugere potencial para futuras investigações farmacológicas.

De forma integrada, os resultados obtidos sugerem que *E. dysenterica* DC. pode atuar por meio de múltiplos mecanismos complementares. Esses efeitos podem ser relevantes em condições de estresse oxidativo, como diabetes e dislipidemias, nas quais os processos de oxidação e glicação coexistem e contribuem de forma sinérgica para a disfunção endotelial e a aterogênese.

Os achados deste estudo contribuem para o conhecimento sobre o potencial bioativo de *Eugenia dysenterica* DC. A confirmação de suas propriedades antioxidantes, antiglicantes e protetoras da LDL reforça a importância da exploração de ecossistemas ricos em biodiversidade como fontes de novos agentes naturais para a prevenção de doenças crônicas. Estudos futuros, especialmente em modelos *in vivo*, são necessários para validar e aprofundar a compreensão da eficácia terapêutica do extrato bruto e da fração acetato de etila das folhas de *E. dysenterica* DC. Além disso, investigações adicionais utilizando modelos celulares, como macrófagos, poderão contribuir para elucidar os efeitos dos extratos na formação de células espumosas, na captação de LDL oxidada e na modulação da resposta inflamatória, contribuindo para uma compreensão mais ampla de seu potencial na prevenção e progressão da aterosclerose.

7. Conclusão

O presente estudo demonstrou que o extrato etanólico bruto e, de forma mais pronunciada, a fração em acetato de etila das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. apresenta atividade antioxidante e antiglicante relevante, além de efeito protetor sobre a lipoproteína de baixa densidade (LDL) *in vitro*. Esses efeitos podem estar relacionados ao elevado teor de compostos fenólicos e flavonoides identificados na caracterização fitoquímica.

Os extratos foram capazes de inibir a oxidação e a glicação da LDL *in vitro*, conforme demonstrado pelos ensaios de dienos conjugados, TBARS e formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs), sugerindo possível relevância em processos associados ao estresse oxidativo e glicoxidativo. A preservação da integridade eritrocitária nas concentrações testadas indica ausência de citotoxicidade significativa.

De forma geral, os resultados obtidos contribuem para o conhecimento sobre o potencial bioativo de *Eugenia dysenterica* DC., indicando a necessidade de estudos adicionais em modelos celulares e *in vivo* para aprofundar a compreensão de sua relevância biológica.

8. Referências

ABBAS, G.; AL-HARRASI, A. S.; HUSSAIN, H.; HUSSAIN, J.; RASHID, R.; CHOUDHARY, M. I. Antiglycation therapy: Discovery of promising antiglycation agents for the management of diabetic complications. **Pharmacology & Biology**, v. 54, n. 2, p. 198-206, 2016. DOI: 10.3109/13880209.2015.1028080

ALMEIDA, S. P. de; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p. ISBN 8586764027. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/558817>

ALQAHTANI A.S., LI K.M., RAZMOVSKI-NAUMOVSKI V., KAM A., ALAM P., LI G.Q. Attenuation of methylglyoxal-induced glycation and cellular dysfunction in wound healing by *Centella cordifolia*. Saudi J Biol Sci. 2021 Jan;28(1):813-824. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.11.016. Epub 2020 Nov 11. PMID: 33424371; PMCID: PMC7783792.

ANWAR, S.; KHAN, S.; ALMATROUDI, A.; KHAN, A. A. A review on mechanism of inhibition of advanced glycation end products formation by plant derived polyphenolic compounds. **Molecular Biology Reports**, v. 48, p. 787–798, 2021. DOI: 10.1007/s11033-020-06084-0.

BARBOSA, F. G.; SILVA, G. F.; OLIVEIRA, V. L. P.; KUBIJAN, L. A. C.; COSTA, L. G.; MELO, A. M.; TEÓFILO, M. N. G.; MORGADO, C. M. A.; CAMPOS, A. J.; PEIXOTO, J. C. Bioinputs from *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae): Optimization of ultrasound-assisted extraction and assessment of antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. **Molecules**, v. 30, p. 1115, 2025. DOI: 10.3390/molecules30051115

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.

BIGONI, A., OLIVEIRA I., TÔRRES L., PADULA A.C., FAHHAM L. ID 337 - Impacto Econômico das Doenças Cardiovasculares no Brasil: projeções de custos diretos e indiretos para os próximos 5 anos. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília , v. 34, n. s1, ID337, 2025. Epub 25-Nov 2025. DOI: 10.5327/2237-9622.2025.v34s1.337.

BORGES, A. L. S.; BITTAR, V. P.; JUSTINO, A. B.; CARRILLO, M. S. P.; DUARTE, R. F. M.; SILVA, N. B. S.; GONÇALVES, D. S.; PRADO, D. G.; ARAÚJO, I. A. C.; MARTINS, M. M.; MOTTA, L. C.; MARTINS, C. H. G.; BOTELHO, F. V.; SILVA, N. M.; OLIVEIRA, A. de; ROMÃO, W.; ESPÍNDOLA, F. S. Exploring the composition and properties of *Centella asiatica* metabolites and investigating their impact on BSA glycation, LDL oxidation and α -amylase inhibition. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 245, e116143, 2024. DOI: 10.1016/j.jpba.2024.116143.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **O bioma Cerrado**. Brasília: MMA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade-e-biomas/biomas-e-ecossistemas/biomas/cerrado>.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978. DOI: 10.1016/S0076-6879(78)52032-6.

CHUNG, B. H., SEGREST J. P., RAY M.J., BRUNZELL J. D., HOKANSON J. E., KRAUSS, R. M., BEAUDRIE K., CONE J. T. Single vertical spin density gradient ultracentrifugation. **Methods in Enzymology**, v. 128, p. 181–209, 1986. DOI: 10.1016/0076-6879(86)28068-4.

CICCONE, V.; GENAH, S.; MORBIDELLI, L. Endothelium as a source and target of H₂S to improve its trophism and function. **Antioxidants**, v. 10, n. 3, p. 486, 2021. DOI: 10.3390/antiox10030486.

DOS SANTOS, M. M.; PRESTES, A. S.; DE MACEDO, G. T.; ECKER, A.; BARCELOS, R. P.; BOLIGON, A. A.; SOUZA, D.; DE BEM, A. F.; DA ROCHA, J. B. T.; BARBOSA, N. V. *Syzygium cumini* leaf extract inhibits LDL oxidation, but does not protect the lipoprotein from glycation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p. 69–79, 2018. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.033.

GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 3, p. 419–425, 2017. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.

GIESEG, S. P.; ESTERBAUER, H. Low density lipoprotein is saturable by pro-oxidant copper. **FEBS Letters**, v. 343, p. 188–194, 1994. DOI: 10.1016/0014-5793(94)80553-9.

GOH, S. Y.; COOPER, M. E. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 4, p. 1143-1152, 2008. DOI: 10.1210/jc.2007-1817.

GONÇALVES, J., HONTMAN N., PERESTELO R., CÂMARA J. S. A comparative study of the biological properties of *Eugenia uniflora* L. fruits and leaves related to the prevention of cardiovascular diseases. **Life (Basel)**, v. 15, n. 2, p. 147, 2025. DOI: 10.3390/life15020147.

GRZESIK, M.; NAPARŁO, K.; BARTOSZ, G.; SADOWSKA-BARTOSZ, I. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food Chemistry**, v. 241, p. 480–492, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.08.117.

JONGRUNGRAUNGCHOK S.; MADAKA F.; WUNNAKUP T.; SUDSAI T., PONGPHA EW C.; SONGSAK T., PRADUBYAT N. *In vitro* antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of mixture Thai medicinal plants. **BMC Complement Med Ther.** 2023 Feb 10;23(1):43. DOI: 10.1186/s12906-023-03862-8. PMID: 36765341; PMCID: PMC9912591.

JIN, H.; TANG, G.; LI, J.; MA, L.; LI, Y.; CHANG, Y. X. Simultaneous determination of phenolic acids, anthraquinones, flavonoids, and triterpenes of *Cynomorii herba* in different harvest times by LC-MS/MS. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, [S.l.], v. 2020, Article ID 8861765, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8861765>

JUSTINO, A. B., MIRANDA N. C., FRANCO R. R., MARTINS M. M., DA SILVA N. M., ESPINDOLA F. S. *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with *in vitro* antidiabetic and inhibitory potential against α -amylase, α -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 100, p. 83–92, 2018. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.01.172

JUSTINO, A. B.; MOURA, F. R. B.; FRANCO, R. R.; ESPINDOLA, F. S. α -Glucosidase and non-enzymatic glycation inhibitory potential of *Eugenia dysenterica* fruit pulp extracts. **Food Bioscience**, v. 35, p. 100573, 2020. DOI: 10.1016/j.fbio.2020.100573.

JUSTINO, A. B., SILVA H. C. G., FRANCO R. R., PIMENTEL I. O. C., SILVA N. F., SARAIVA A. L., ESPINDOLA F. S. Flavonoids and proanthocyanidins-rich fractions from *Eugenia dysenterica* fruits and leaves inhibit the formation of advanced glycation end-products and the activities of α -amylase and α -glucosidase. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 285, p. 114902, 2022. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114902.

KAŹMIERCZAK, T., MECZARSKA K., LACHOWICZ-WISNIEWSKA, S., CYBORAN-MICOLAJCZYK S., OSZMIANSKI J., BONARSKA-KUJAWA D.. Protective Effect of Polyphenolic Extracts from *Hippophae rhamnoides* L. and *Reynoutria japonica* Houtt. on Erythrocyte Membrane. **Molecules**, v. 29, n. 13, p. 3090, 2024. DOI: 10.3390/molecules29133090.

KAURINOVIC, B.; VASTAG, D. Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 612, 2019. DOI: 10.3390/antiox8120612.

KIM, J. H.; LEE J. W.; LEE J. S.; JANG D. S.; SHIM S. H. Inhibitory effects of *Cynanchum wilfordii* root constituents on LDL oxidation. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 1–9, 2019. DOI: 10.12691/jfnr-8-11-6.

LIU, M.; CHEN R.; ZHENG Z.; XU S.; HOU C.; DING Y.; ZHANG M.; BAO M.; HE B.; LI S. Mechanisms of inflammatory micro-environment formation in cardiometabolic diseases: molecular and cellular perspectives. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 11, p. 1529903, 2025. DOI: 10.3389/fcvm.2024.1529903.

LINTON, M. F.; YANCEY, P. G.; DAVIES, S. S.; JEROME, W. G.; LINTON, E. F.; SONG, W. L.; DORAN, A. C.; VICKERS, K. C. O papel dos lipídios e lipoproteínas na aterosclerose. **Nashville: Vanderbilt University School of Medicine.** Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26844337/>.

MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. **Metabolic Syndrome and Related Disorders**, v. 13, n. 10, p. 423-444, 2015. DOI: 10.1089/met.2015.0095.

MOUMOU M.; MOKTARI I.; TAYEBI A.; MILENKOVIC D.; AMRANI S.; HARNAFI H. Immature carob pods extract and its fractions prevent lipid metabolism disorders and lipoprotein-rich plasma oxidation in mice: A phytochemical and pharmacological study. *J Ethnopharmacol.* 2024 Mar 25;322:117557. DOI: 10.1016/j.jep.2023.117557. Epub 2023 Dec 10. PMID: 38072291.

NIKI, E. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 595, p. 19–24, 2018. DOI: 10.1016/j.abb.2015.11.017

ODJAKOVA, M.; POPOVA, E.; AL SHARIF, M.; MIRONOVA, R. Plant-derived agents with anti-glycation activity. **Glycosylation**. Rijeka: InTech, 2012. DOI: 10.5772/48186

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Doenças Cardiovasculares**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases/#tab=tab_1>.

PELLENSE, M. C. S.; AMORIM M. S.; DANTAS E. S. O.; COSTA K. T. S.; ANDRADE F. B. Avaliação da mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil: uma série temporal de 2015 a 2019. **Revista Ciência Plural**, v. 7, n. 3, p. 202–219, set. 2021. DOI: 10.21680/2446-7286.2021v7n3ID25186.

PETERS, L. J. F.; BIESSEN, E. A. L.; HOHL, M.; WEBER, C. Small things matter: relevance of microRNAs in cardiovascular disease. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 793, 2020. DOI: 10.3389/fphys.2020.00793.

PIRES, J.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2017. DOI: 10.13140/RG.2.2.27450.08640.

POZNYAK A. V.; SUKHORUKOV V. N.; SURKOVA R.; OREKHOV N. A.; OREKHOV A. N. Glycation of LDL: AGEs, impact on lipoprotein function, and involvement in atherosclerosis. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 10, p. 1094188, 2023. DOI: 10.3389/fcvm.2023.1094188.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005. DOI: 10.1021/jf0502698.

SADOWSKA-BARTOSZ, I.; BARTOSZ, G. Prevention of protein glycation by natural compounds. **Molecules**, v. 20, n. 2, p. 3309–3334, 2015. DOI: 10.3390/molecules20023309.

SALDANHA, L. L.; VILEGAS, W.; DOKKEDAL, A. L. Characterization of Flavonoids and Phenolic Acids in *Myrcia bella* Cambess. Using FIA-ESI-IT-MSn and HPLC-PAD-ESI-IT-MS Combined with NMR. **Molecules**, v. 18, p. 8402-8416, 2013. DOI: 10.3390/molecules18078402.

SILVA, I. F. Antimicrobial and cytotoxic evaluation of Cassia and Senna species (Fabaceae) and annotation of chemical constituents by UPLC-(–)-ESI-MS/MS. **South African Journal of Botany**, v. 186, p. 675-688, 2025. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.112081.

SINGH, R.; BARDEN, A.; MORI, T.; BEILIN, L. Advanced glycation end-products: A review. **Diabetologia**, v. 44, p. 129–146, 2001. DOI: 10.1007/s001250051591.

SIRICHAIWETCHAKOON, K.; EUMKEB, G. Free radical scavenging and anti-isolated human LDL oxidation activities of *Butea superba* Roxb. extract. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 24, p. 75, 2024. DOI: 10.1186/s12906-024-04373-w.

TANWAR H.; SHWETA; SINGH D.; SINGH S. B.; GANJU L. Anti-Inflammatory Activity of the Functional Groups Present in *Hippophae rhamnoides* (Seabuckthorn) Leaf Extract. **Inflammopharmacology**, v. 26, p. 291–301, 2017. DOI: 10.1007/s10787-017-0345-0

THEODORIDIS, X.; CHOURDAKIS, M.; PAPAEMMANOUIL, A. The association between food groups and vascular health outcomes: A literature review. **Life**, v. 14, p. 1143, 2024. DOI: 10.3390/life14091210

THORNALLEY P. J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem Biophys*. 2003 Nov 1;419(1):31-40. DOI: 10.1016/j.abb.2003.08.013. PMID: 14568006.

TIAN X., ZHANG P. TLR4 modulates simvastatin's impact on HDL cholesterol and glycemic control. **Front Pharmacol**. 2026 Jan 16;16:1655873. DOI: 10.3389/fphar.2025.1655873. PMID: 41625333; PMCID: PMC12855043.

TOMKIN, G. H.; OWENS, D. LDL as a cause of atherosclerosis. **The Open Atherosclerosis & Thrombosis Journal**, v. 5, p. 13–21, 2012. DOI: 10.2174/1876506801205010013.

VLASSOPOULOS, A.; LEAN, M. E. J.; COMBET, E. Protein–phenolic interactions and inhibition of glycation. **Food & Function**, v. 5, p. 1916–1923, 2014. DOI: 10.1039/C4FO00568F.

WANG B.; JIANG T.; QI Y.; LUO S.; XIA Y.; LANG B.; ZHANG B.; ZHENG S. AGE-RAGE axis and cardiovascular diseases: pathophysiologic mechanisms and prospects for clinical applications. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, 2024. DOI: 10.1007/s10557-024-07639-0.

XIE, Y.; CHEN, X. Structures required of polyphenols for inhibition of advanced glycation end products formation. **Current Drug Metabolism**, v. 14, p. 414–431, 2013. DOI: 10.2174/1389200211314040005

XU D.; HU M. J.; WANG Y. Q.; CUI Y. L. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. **Molecules**, v. 24, n. 6, p. 1123, 2019. DOI: 10.3390/molecules24061123.

YADAV, M.; YADAV, A.; YADAV, J. P. *In vitro* antioxidant activity and total phenolic content of endophytic fungi isolated from *Eugenia jambolana* Lam. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, p. S256–S261, 2014. DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60242-X.

YADAV, N.; PALKHEDE, J. D.; KIM, S. Y. Anti-glucotoxicity effect of phytoconstituents via inhibiting MGO-AGEs formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 7672, 2023. DOI: 10.3390/ijms24087672.

YAGI, K. Simple procedure for specific assay of lipid hydroperoxides in serum or plasma. **Free Radical Antioxidant Protocols**. New Jersey: Humana Press, 1998. p. 107–110. DOI: 10.1385/0-89603-472-0:107

YOUNIS, N.; SHARMA R.; SORAN H.; CHARLTON-MENYS V.; ELSEWEIDY M.; DURRINGTON P. N. Glycation as an atherogenic modification of LDL. **Current Opinion in Lipidology**, v. 19, n. 5, p. 486–492, 2008. DOI: 10.1097/MOL.0b013e328306a057.

ZHAO, L., CHEN J., LIN L., HU S., LI B., ZHANG X., XU Z., CHEN T. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 44, p. 10604–10611, 2013. DOI: 10.1021/jf403098y.

ZHENG, X., ZHANG W., WAN X., LIN P., XUE F., WANG A., CAO Y. Effects of Mediterranean diet on cardiovascular risk factors, glycemic control and weight loss in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. **Nutrition & Metabolism**, v. 21, 2024. DOI: 10.1186/s40795-024-00836-y.

ZOU, Y.; CHANG, S. K. C.; GU, Y.; QIAN, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (*Lens culinaris* var. Morton) extract and its fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2268–2276, 2011. DOI: 10.1021/jf104640k.

