

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS A. C. SIMÕES
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
CURSO QUÍMICA BACHARELADO

ROSYLENE PORTELA CALHEIROS LOPES

**INVESTIGAÇÃO DA GLICAÇÃO DA HEMOGLOBINA POR FRUTOSE E
GLICOSE SEGUIDO DE TRATAMENTO COM PICEATANOL**

Maceió -AL
2023

ROSYLENE PORTELA CALHEIROS LOPES

**INVESTIGAÇÃO DA GLICAÇÃO DA HEMOGLOBINA POR FRUTOSE E
GLICOSE SEGUIDO DE TRATAMENTO COM PICEATANOL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Jadriane de Almeida Xavier.

Coorientador(a): Me. Tauane dos Santos Rocha

Maceió - AL

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

L864i Lopes, Rosylene Portela Calheiros.
Investigação da glicação da hemoglobina por frutose e glicose seguido de tratamento com piceatanol / Rosylene Portela Calheiros Lopes. - 2023.
39 f. : il. color.

Orientadora: Jadriane de Almeida Xavier.
Coorientadora: Tauane dos Santos Rocha.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Química: Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 37-39.

1. Glicação. 2. Produtos de glicação avançada. 3. Piceatanol. I. Título

CDU: 547.455.623

♥ A meus pais, minha avó e minha irmã que estão sempre comigo, mesmo nos momentos mais difíceis. E a mim mesma que não desisti de mim!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me permitir a conclusão deste curso e por todos os obstáculos superados em seu decorrer, além de experiências e amizades únicas durante os anos que passaram.

Agradeço a minha mãe que sempre me incentivou a fazer curso superior e ficou tão feliz quanto eu quando consegui passar na universidade. Agradeço também ao meu pai por sempre zelar pelos meus estudos e me apoiar em minhas decisões. Por isso muito obrigada mãe e pai por todo apoio de vocês!!

Agradeço a minha família por sempre acreditarem em meu potencial.

Agradeço a meus amigos Gustavo, Marcela e Jeferson, que passaram toda essa caminhada a meu lado desde o primeiro momento e que fizeram minha jornada na faculdade mais leve e mais divertida, zelarei por nossa amizade até o fim da vida.

Agradeço aos meus companheiros do LEEO por todo apoio e cumplicidade durante todo o tempo que passei com eles, em especial a Tauane que foi minha parceira e coorientadora na pesquisa e elaboração deste trabalho, junto da minha orientadora Jadriane, a qual agradeço imensamente por ter me acolhido desde o primeiro momento e por todo ensinamento que me foi passado.

Agradeço aos professores do Instituto de Química e Biotecnologia, que contribuíram para a minha formação e ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

Um peão nunca é só um peão. Um peão é uma rainha em potencial. Tudo o que você precisa é encontrar um jeito de avançar. Uma casa por vez. E você pode chegar ao outro lado e desbloquear todos os tipos de poder.

(Matt Haig – *A Biblioteca da Meia-noite*)

RESUMO

A glicação é uma reação não enzimática que se dá no meio biológico ou em alimentos, e que ocorre entre açúcares redutores e grupos nucleofílicos de biomoléculas. Este trabalho visou avaliar a progressão da glicação da hemoglobina, através da formação de produtos de glicação avançada (AGEs) e alterações estruturais na banda de Soret, tendo em vista o uso de glicose e frutose como açúcares redutores no processo de glicação da hemoglobina. A partir desses estudos é possível notar que as alterações sofridas no sistema glicado por frutose ocorreram de tal forma que foi possível perceber uma maior formação de AGEs, visto que a frutose se mostrou um açúcar redutor mais reativo que a glicose. Em paralelo foi realizado um tratamento com o composto fenólico escolhido, o piceatanol, sendo possível observar o seu efeito protetor na hemoglobina frente as alterações causadas pelos açúcares redutores em sua estrutura, bem como excelente capacidade de inibição dos AGEs, nos indicando que ele possui um potencial promissor na inibição da glicação e/ou vias que possam levar ao estresse carbonílico.

Palavras-chave: AGEs; glicação; açúcar redutor; piceatanol.

ABSTRACT

Glycation is a non-enzymatic reaction, which occurs in the biological environment or in food, and which occurs between reducing sugars and nucleophilic groups of biomolecules. This work aimed to evaluate the progression of hemoglobin glycation, through the formation of AGEs (Advanced Glycation End-Products) and structural alterations in Soret's band, considering the use of glucose and fructose as reducing sugars in the process of hemoglobin glycation. From these studies, it is possible to notice that such alterations suffered in the system glycated by fructose occurred in such a way that it was possible to perceive that presented greater formation of AGEs, since fructose proved to be a more reactive reducing sugar than glucose. In parallel, a treatment was carried out with the chosen phenolic compound, piceatannol, being possible to observe its protective effect on hemoglobin against changes caused by reducing sugars in its structure, as well as its excellent capacity to inhibit AGEs, indicating that it has a promising potential for use in inhibition of glycation and/or pathway that may lead to carbonyl stress.

Keywords: AGEs; glycation; reducing sugar; piceatannol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema simplificado da formação da HbA1c.....	16
Figura 2 - Esquema simplificado das principais etapas da reação de Maillard.....	19
Figura 3 - Estrutura de alguns dos principais AGEs. CML = carboximetil-lisina, CEL = carboxietil-lisina, MG-H1 = metilglioxal hidroimidazolona isômero 1, ArgP = argpirimidina, GOLD = dímero de glioxal lisina, MOLD = dímero de metilglioxal lisina.....	20
Figura 4 - AGEs e doenças relacionadas.....	21
Figura 5 - Inibidores da reação de Maillard nos diferentes estágios.....	22
Figura 6 – Fontes naturais do piceatanol.....	23
Figura 7 - Sistemas de glicação da hemoglobina.....	26
Figura 8 - Sistema tratado com piceatanol.....	27
Figura 9 - Grupo Heme da Hemoglobina.....	28
Figura 10 - Espectros de fluorescência na região de formação dos AGEs nos sistemas hemoglobina + aminoguanidina (100mg/mL) + metilglioxal 1,5 μ M (A) e metilglioxal 3,0 μ M (B).....	29
Figura 11 -Espectros de fluorescência na região de formação dos AGEs nos sistemas hemoglobina + frutose (0,1 M) (A), hemoglobina + frutose (0,5 M) (B), glicose/frutose (0,1 M) (C), hemoglobina + glicose/frutose (0,5 M) (D) e hemoglobina + glicose (0,5 M) (E).....	31
Figura 12 - Reação de equilíbrio entre as formas abertas e fechadas da glicose e da frutose ..	32
Figura 13 - Espectros de fluorescência da hemoglobina glicada com frutose - 0,5 M (A), glicada com glicose/frutose - 0,5 M (B) e glicada com glicose - 0,5 M (B) na presença piceatanol(1mM).	33
Figura 14 - Máximo de absorção da banda de Soret da hemoglobina glicada com frutose (A), com a mistura reacional de glicose/frutose (B) e somente com glicose (C).....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes e solventes utilizados neste trabalho	24
Tabela 2 - Equipamentos utilizados neste trabalho	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	aminoguanidina
AGEs	Produtos de Glicação Avançada (Advanced Glycation End-Products)
CEL	carboxil lisina
CML	carboximetil lisina
CO ₂	gás carbônico
3 DG	3-desoxiglicoxona
DM	diabetes mellitus
DCV	doenças cardiovasculares
ECRs	espécies carbonílicas reativas
em	emissão
ex	excitação
F	frutose
G	glicose
GF	glicose-frutose
Hb	hemoglobina
HbA	hemoglobina A
HbA1c/A1C	hemoglobina glicada
HbF	hemoglobina + frutose
HbG	hemoglobina + glicose
HbGF	hemoglobina + glicose-frutose
HbTP	hemoglobina + tampão fosfato
HbPICF	hemoglobina + piceatanol + frutose
HbPICG	hemoglobina + piceatanol + glicose

HbPICGF	hemoglobina + piceatanol + glicose-frutose
MEC	matriz extracelular
MG	metilglioxal
PIC	piceatanol
TP	tampão fosfato
UV/vis	ultravioleta/vísivel

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Hemoglobina glicada	16
2.2 Glicação não enzimática	17
2.3 AGES e doenças relacionadas	19
2.4 Piceatanol	22
3 EXPERIMENTAL E MÉTODOS	24
3.1 Experimental	24
3.1.1 Reagentes, solventes e equipamentos	24
3.2 Métodos	25
3.2.1 Investigação do processo de glicação da hemoglobina	25
3.2.2 Tratamento com piceatanol	27
3.2.3 Avaliação da estrutura do grupo heme da hemoglobina.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
4.1 Investigação do processo de glicação da Hemoglobina	29
4.2 Tratamento com piceatanol	32
4.3 Avaliação da estrutura do grupo Heme da Hemoglobina	34
5 CONCLUSÃO	36
6 REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

A glicação é uma reação não enzimática, que se dá no meio biológico ou em alimentos, e que ocorre entre açúcares e grupos nucleofílicos de biomoléculas, podendo também se referir à sequência de reações não enzimáticas que se inicia quando açúcares redutores como glicose e frutose reagem com grupos nucleofílicos de aminoácidos constituintes de proteínas, lipídeos ou ácidos nucleicos, gerando os chamados produtos de glicação avançada (AGEs, acrônimo em inglês para Advanced Glycation End-Products) (RAHMANIFAR; MIROLIAEI, 2020; TORRES et al., 2018).

A reação de glicação inicia-se com a adição de uma amina primária a um açúcar redutor (glicose, por exemplo), formando uma carbinolamina intermediária, que por sua vez sofre desidratação, produzindo uma base de Schiff instável que sofre o chamado rearranjo de Amadori, levando então a compostos mais estáveis - os produtos de Amadori -, cuja característica principal consiste na geração da função amino-carbonila. Estes intermediários podem sofrer enolização, que pode ser seguida por uma série de reações de desidratação e hidrólise formando espécies carbonílicas altamente reativas (RCS, acrônimo em inglês para Reactive Carbonyl Species), como os compostos - dicarbonílicos, 1-desoxiglicosona e 3-desoxiglicosona (3DG). Os compostos dicarbonílicos formados neste processo reagem com o grupo amino de aminoácidos para a formação dos AGEs (TORRES et al., 2018).

Os AGEs possuem a capacidade de modificar as propriedades químicas e funcionais de diversas estruturas biológicas devido à geração de radicais livres, formação de ligações cruzadas com proteínas ou de interações com receptores celulares. Em consequência disso, eles causam inúmeras disfunções fisiológicas no organismo (TORRES et al., 2018).

A formação dos AGEs ocorre de forma principalmente endógena, em condições fisiológicas em todos os tecidos e fluido corporais, porém, podem ser introduzidos no organismo de forma exógena, através de dieta, fumo, exposição a radiação UV, álcool, poluição e outros (LIMA, 2019). Os AGEs afetam sobretudo moléculas de meia-vida longa, como a hemoglobina - uma proteína de suma importância para o ser humano, tendo como principal função o transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos e de CO₂ dos tecidos para os pulmões -, e pode exercer uma importante função no processo natural do envelhecimento e contribui para o aparecimento ou agravamento de diversas doenças (PATELS et al. 2021). Sob condições de hiperglicemia a hemoglobina é frequentemente glicada, sendo clinicamente conhecida como hemoglobina A1c (HbA1c), possuindo papel fundamental no monitoramento do índice

glicêmico em pacientes diabéticos, pois está diretamente relacionada ao risco de complicações da doença (BEM; KUNDE, 2006). Os AGEs são os principais mediadores patogênicos das complicações diabéticas, como a retinopatia diabética (deterioração da visão), a nefropatia diabética (declínio da função renal) e a neuropatia diabética (degeneração dos neurônios) (TORRES et al., 2018).

Além disso, os AGEs também têm sido relacionados a fibrilação progressiva de proteínas levando a formação de depósitos amilóides, como β -amilóide, príons, tau e transtirretina (FEROZ et al. 2020). Vários distúrbios neurológicos humanos, tais como Alzheimer, Parkinson e Huntington têm sido associados ao acúmulo destes agregados tóxicos, nos quais foram identificados a presença de proteínas glicadas (ZAMAN et al. 2019). Como esses distúrbios afetam milhões de pessoas todos os anos a busca por compostos que possam evitar a agregação de proteínas é uma prioridade de saúde pública.

A capacidade de inibir a formação de AGEs é conhecida como atividade antiglicante. O primeiro agente antiglicante explorado em testes clínicos descritos na literatura foi a aminoguanidina (Pimagedine) para a prevenção da retinopatia diabética, porém não se obteve sucesso uma vez que apresentou efeitos colaterais relacionado a seu uso crônico. No presente, vem sendo muito explorada por grupos de pesquisas a busca por agentes antiglicantes que não apresentem efeitos colaterais. Existem diversos mecanismos para a inibição da formação de AGEs, dentre eles impedir a formação dos AGEs, através do uso de substâncias que inibem a progressão da reação de Maillard, bloqueando uma de suas etapas, como por exemplo o ácido ascórbico, a Aspirina®, a metformina e a aminoguanidina; promover a transglicação das bases de Schiff e produtos de Amadori, utilizando fármacos como a hidralazina; promover a quebra da ligação cruzada entre AGE e proteínas, dentre outros mecanismos (TORRES et al., 2018).

As atividades antioxidante, anti-inflamatória e antiglicante de polifenóis têm sido amplamente estudadas em vários modelos experimentais *in vitro*. Os resultados mostram que os polifenóis podem inibir a biossíntese de AGEs e seus efeitos prejudiciais à saúde por meio das suas propriedades antioxidante, capacidade quelante de metais, interação proteica, captura de MG, e/ou bloqueando o receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) (XAVIER, 2018).

Um dos polifenóis estudados é o piceatanol, que é um análogo estrutural relacionado ao resveratrol, pertencente ao grupo dos estilbenos. É encontrado em fontes naturais como amêndoas, amendoim, chás, frutas vermelhas e maracujá, mas principalmente nas uvas e nas

sementes dos maracujás (ZOMER et al., 2022). Estudos têm mostrado uma série de propriedades biológicas promotoras de saúde para o piceatanol, com ênfase no potencial antioxidante, anti-inflamatório e anticancerígeno (BANIK et al., 2020).

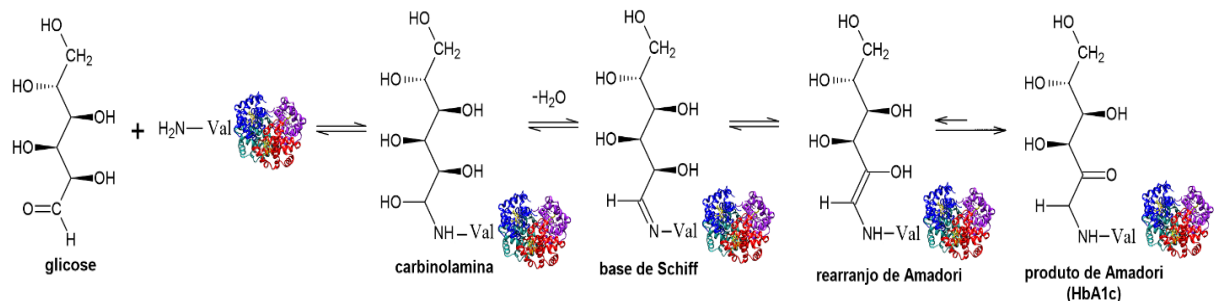
Neste trabalho buscou-se estudar o processo de glicação da hemoglobina, junto com as mudanças causadas pelos açúcares redutores em sua estrutura. Além de analisar o efeito protetor do polifenol escolhido frente a inibição da formação dos AGEs.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hemoglobina glicada

O termo hemoglobina glicada (HbA1c) refere-se a um conjunto de substâncias formado com base em reações entre a hemoglobina A (HbA) e alguns açúcares. A HbA é a forma principal e nativa da hemoglobina (Hb), sendo que a HbA₀ é o principal componente da HbA. Na prática, esta corresponde à chamada fração não-glicada da HbA. Por outro lado, a HbA1 total corresponde a formas de HbA carregadas mais negativamente devido à adição de glicose e outros carboidratos. Existem vários subtipos de HbA1 distintos, que são separados por meio de cromatografia e/ou eletroforese, tais como HbA1a1, HbA1a2, HbA1b e HbA1c. Desses todos, a fração HbA1c, ou apenas A1c, é a que se refere à hemoglobina glicada propriamente dita, cujo terminal valina da cadeia beta está ligado à glicose por meio de uma ligação estável e irreversível, como é mostrado na Figura 1 (NETTO et al., 2009).

Figura 1 – Esquema simplificado da formação da HbA1c.



Fonte: Adaptado de Rocha, 2023.

A HbA1c, embora seja utilizada desde 1958 como uma ferramenta de diagnóstico na avaliação do controle glicêmico em pacientes diabéticos, a dosagem da A1c passou a ser cada vez mais empregada e aceita pela comunidade científica após 1993, depois de ter sido validada através dos dois estudos clínicos mais importantes sobre a avaliação do impacto do controle glicêmico sobre as complicações crônicas do diabetes mellitus (DM): o Diabetes control and complications trial (DCCT) (1993) e o United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) (1998) (NETO et al., 2009).

O DM pode ser acompanhada de complicações crônicas que estão associadas a elevada morbidade e mortalidade. A nefropatia diabética acomete mais de um terço dos pacientes e é a causa mais comum de doença renal terminal e ingresso em programas de hemodiálise, e a retinopatia diabética é a principal causa de cegueira entre os 20–74 anos. As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por mais de 50% das mortes em pacientes com DM tipo 2 (DM2) e por 30% das internações em centros de tratamento intensivo (CAMARGO; GROSS, 2004).

Para o diagnóstico do DM foi proposta, no ano de 2009, a utilização de HbA1c, que é produzida na presença de hiperglicemia, por conseguinte, quanto mais elevadas as taxas de glicose livre no sangue, maior a proporção de HbA1c. O exame de HbA1c tem a vantagem de estimar a média da concentração de glicose no sangue nos últimos 60 a 90 dias, diferentemente da glicemia de jejum ou do teste de tolerância à glicose, que medem em momentos específicos (MALTA et al., 2019).

Ademais, a manutenção do nível de A1c abaixo de 7% é considerada como uma das principais metas no controle do DM. Os dois estudos supramencionados indicaram que as complicações crônicas começam a se desenvolver quando os níveis de A1c estão situados permanentemente acima de 7%. Algumas sociedades médicas adotam, inclusive, metas terapêuticas mais rígidas de 6,5% para os valores de A1c (NETO et al., 2009).

2.2 Glicação não enzimática

A glicação não enzimática foi descrita pela primeira vez pelo bioquímico francês Louis Camille Maillard (1878-1936), em 1912 e por isso também é conhecida como reação de Maillard. Em seus experimentos, Maillard descobriu que ao misturar glicina com glicose e submeter ao aquecimento a mistura adquiria a coloração marrom intensa. Observou também que a reação não é limitada a glicina e glicose, mas também a outros aminoácidos, peptídeos e açúcares que reagem da mesma maneira, embora em diferentes graus (ARAGNO; MASTROCOLA, 2017; YEH et al., 2016; HELLWING; HENLE, 2014).

Essa reação é complexa e envolve várias etapas que geralmente levam vários dias ou até mesmo semanas para se completar. Essas etapas reacionais envolvem a formação de inúmeros compostos que conferem aroma, sabor e coloração característicos aos alimentos como também

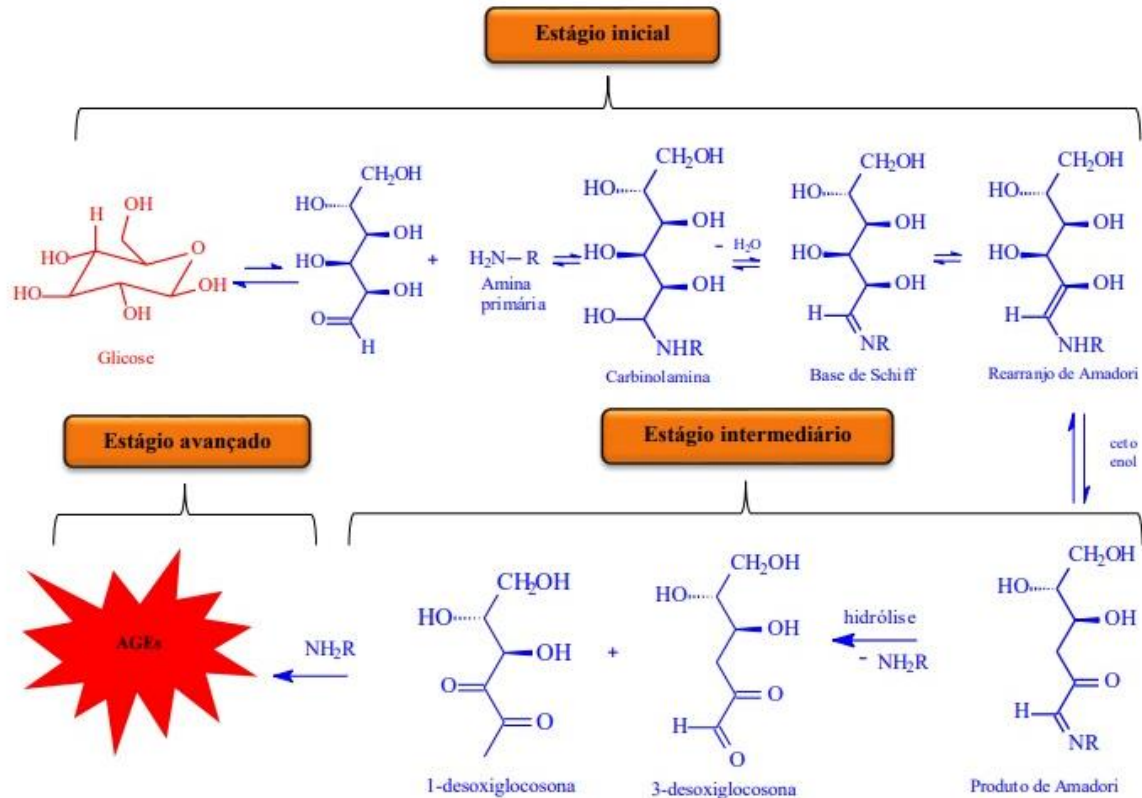
levam à formação de produtos de glicação avançada (AGEs). Essa reação pode também trazer consequências negativas para a saúde como a perda de aminoácidos essenciais e a geração de doenças relacionadas ao envelhecimento. Durante as primeiras décadas após sua descoberta, os estudos sobre a reação de Maillard tiveram como principal foco, alimentos e sistemas alimentares, tendo sido também realizados estudos que acompanharam efeitos da reação de Maillard em produtos de papel, material têxtil, no solo e compostos biofarmacêuticos (XAVIER, 2018; YEH et al., 2016; DIAS, 2009).

Porém, foi apenas nas últimas quatro décadas que estudos dirigidos a identificar esse tipo de reação no corpo humano têm sido realizados e estes visam identificar distúrbios que tal reação provoca em organismos *in vivo*, bem como suas implicações e peculiaridades (VISTOLI et al 2013). Como mencionado anteriormente, a HbA1c é utilizada como biomarcador para avaliar a concentração média de glicose no sangue no exame clínico de pacientes diabéticos.

Como mostrado a seguir, os produtos oriundos dessas reações básicas de adição nucleofílica em grupos carbonílicos de açúcares, que levam à modificação de biomoléculas com grupos amina livres, são aceitos como importantes eventos patogênicos, pois estão associados com o estresse oxidativo e a inflamação, processos que estão relacionados a um grande número de distúrbios crônicos, como diabetes, aterosclerose, doença de Alzheimer, entre outros (HENNING & GLOMB, 2016, URIBARRI et al., 2015). Tais fatos tornam a reação de glicação atual e relevante, mesmo após mais de 100 anos de sua descoberta.

A base química da reação de glicação é muito complexa e apresenta vários estágios, como é possível ver na Figura 2. De uma maneira sucinta, relaciona-se ao ataque nucleofílico de um grupo amino de um aminoácido ao grupo carbonílico de um açúcar redutor ou lipídio oxidado, dando origem a uma base de Schiff instável, que se rearranja formando um produto de Amadori mais estável (URIBARRI et al., 2015). Essa interação amino-carbônica que caracteriza o estágio inicial da reação de Maillard é também conhecida como glicação não-enzimática, sendo os resíduos de aminoácidos das proteínas, os principais sítios dessa reação. A partir da formação dos denominados produtos de Amadori, podem ocorrer várias reações como oxidação e desidratação, levando à formação de compostos dicarbonílicos reativos, tais como o metilglioxal e o glioxal. Estes compostos são muito mais reativos que os açúcares redutores, podendo atacar novos grupamentos amino em proteínas, levando à formação dos AGEs.

Figura 2 - Esquema simplificado das principais etapas da reação de Maillard.



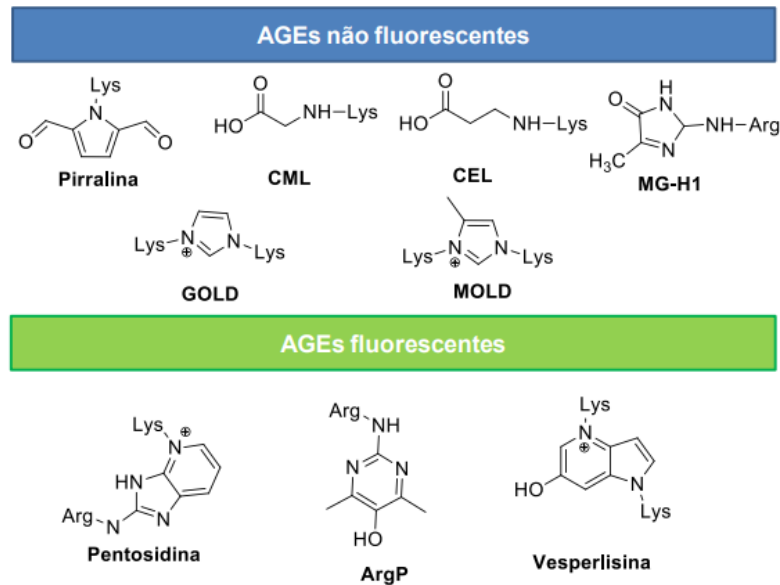
Fonte: Silva, 2023.

2.3 AGES e doenças relacionadas

Na fase final da glicação, os compostos dicarbonílicos formam adutos com os resíduos de proteínas de arginina e lisina, denominados de AGEs (Figura 2) (XAVIER, 2018). Eles são caracterizados em quatro grupos, considerando a diversidade de estruturas químicas e a capacidade de emitir fluorescência: (1) AGEs de reticulação fluorescente, como pentosidina e crossline; (2) AGEs de reticulação não-fluorescente, incluindo, por exemplo, dímero de glicoxal lisina (GOLD), dímero de metilglicoxal lisina (MOLD) e reticulantes de MG e hidroimidazolona (MGO-H1); (3) AGEs não-fluorescentes não reticulantes, como carboxietil lisina (CEL), carboximetil-lisina (CML) e pirralhina; e (4) AGEs fluorescentes e não reticulantes, incluindo argpirimidina (ArgP) (Figura 3) (TWARDA-CLAPA et al., 2022; XAVIER, 2018). Com exceção da pirralina e da pentosidina, a produção de AGEs é irreversível. Os AGEs também podem ser gerados por uma variedade de outras reações, incluindo a oxidação de açúcares,

lipídios e aminoácidos, que origina as espécies carbonílicas reativas (ECRs), que por sua vez se ligam covalentemente às proteínas (XAVIER, 2018).

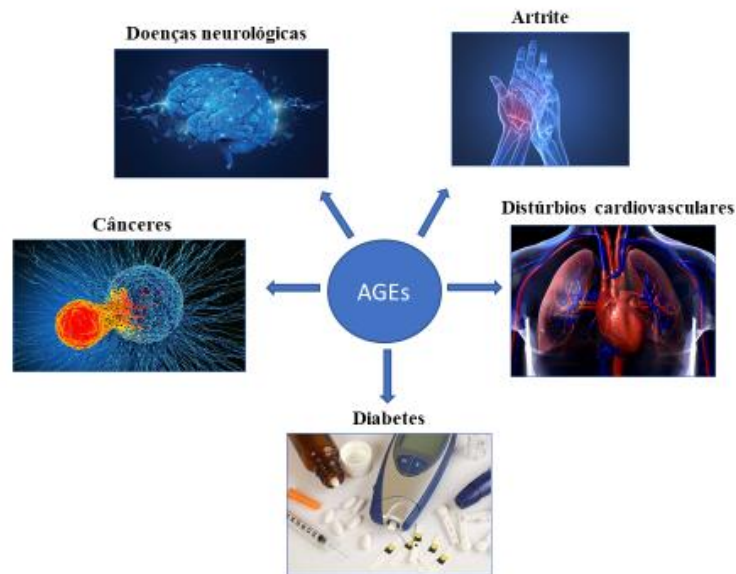
Figura 3 - Estrutura de alguns dos principais AGEs. CML = carboximetil-lisina, CEL = carboxietil-lisina, MG-H1 = metilglioxal hidroimidazolona isômero 1, ArgP = argpirimidina, GOLD = dímero de glioxal lisina, MOLD = dímero de metilglioxal lisina.



Fonte: Xavier, 2018.

Os AGEs, por meio da capacidade de modificar as propriedades químicas e funcionais de diversas biomoléculas (ABATE et al., 2015), representam um grupo heterogêneo de compostos potencialmente tóxicos, associados à inflamação e ao estresse oxidativo. Os AGEs acumulam-se na matriz extracelular (MEC) de vários tecidos, contribuindo para o desenvolvimento de diversas doenças crônicas, como artrite, distúrbios neurológicos, cânceres, diabetes e distúrbios cardiovasculares, Figura 4 (BYUN et al. 2017). Além disso, eles são antigênicos, ou seja, induzem respostas imunes. Os AGEs causam prejuízos fisiológicos por meio de mecanismos diversos, dentre eles estão a formação de ligações cruzadas estáveis entre proteínas intra e extracelulares, alterando suas conformações nativas e comprometendo suas funções biológicas, além de promover a geração de radicais livres (ANGUIZOLA et al., 2013).

Figura 4 - AGEs e doenças relacionadas

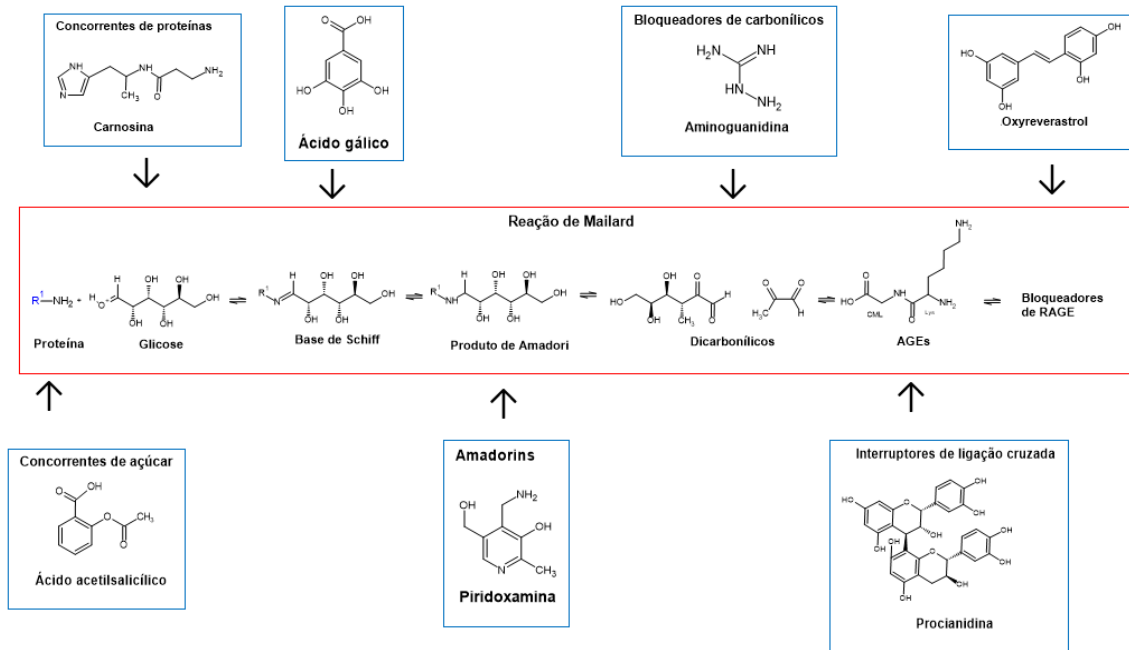


Fonte: Autora, 2023.

O excesso de glicose presente no sangue do paciente diabético aumenta a formação dos AGEs e de compostos dicarbonílicos. Porém, apesar da glicose ser frequentemente vista como o principal precursor de AGEs, ela é consideravelmente menos reativa que os α -oxalaldeídos, como glioxal (GO), metilglioxal (MGO) e 3-desoxiglicose (3-DG), que surgem do metabolismo glicolítico e podem formar AGEs muito rapidamente. Por exemplo, GO reage com resíduos de arginina para formar carboximetil-arginina (CMA), enquanto MGO pode dar origem aos AGEs *N*-(carboxietil) lisina (CEL) e arginina-hidroimidazolona. As concentrações desses carbonílos reativos aumentam em células expostas a alta glicose e ocorrem em níveis elevados no soro diabético, e constituem a principal fonte de AGEs *in vivo*. De fato, em doenças de estresse carbonílico, como a nefropatia diabética, os AGEs podem atingir níveis excepcionalmente altos (STITT, 2010). Assim, pacientes diabéticos apresentam de duas a três vezes mais modificações nos resíduos de lisina e arginina que uma pessoa normal, uma vez que aminoácidos que apresentam grupo amino nas cadeias laterais reagem preferencialmente (HELLWING; HENIE; BAKING, 2014). O organismo apresenta outros mecanismos de defesa contra os AGEs, além dos receptores, como as enzimas oxalaldeído redutase e aldose redutase, as quais reagem com os derivados dicarbonílicos reativos, e as glioxilases I e II que interrompem as reações de glicação em diferentes estágios. Porém esses mecanismos são inibidos na presença

de excesso dos AGEs, principalmente em pacientes diabéticos, por isso, a busca por substâncias que inibem a formação dos AGEs é muito importante (TORRES et al., 2018).

Figura 5 - Inibidores da reação de Maillard nos diferentes estágios



Fonte: Adaptado de Xavier, 2018

2.4 Piceatanol

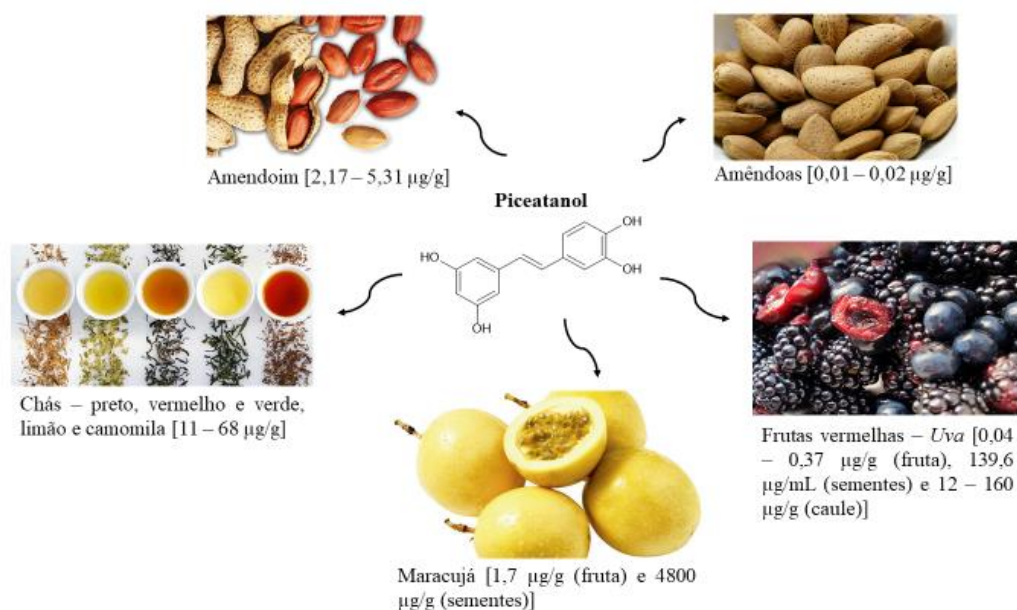
Os estilbenos são metabólitos secundários, pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos e agem como fitoalexinas, protegendo as plantas contra estresse, lesão e radiação ultravioleta (UV). Além disso, são compostos bioativos, com amplas propriedades promotoras da saúde e são encontrados em fontes vegetais naturais como as berries, nozes, chás, uvas, vinho tinto e sementes de maracujá. (ZOMER et al., 2022)

Piceatanol (*trans*-3,3,4,5-tetrahidroxiestilbeno) é um análogo estrutural relacionado ao resveratrol, pertencente ao grupo dos estilbenos. É encontrado em fontes naturais como amêndoas, amendoim, chás, frutas vermelhas e maracujá, mas principalmente nas uvas e nas sementes dos maracujás (Figura 6). Estudos têm mostrado uma série de propriedades biológicas promotoras de saúde para o piceatanol, com ênfase no potencial antioxidante, anti-inflamatório e anticancerígeno (BANIK et al., 2020). Embora o resveratrol tenha sido o estilbeno mais

conhecido e estudado, estudos demonstraram que o piceatanol é encontrado em quantidades superiores ao resveratrol em diversas fontes naturais de plantas e, além disso, devido à presença do grupo hidroxila adicional na posição 3' em sua estrutura, tem mostrado algumas atividades biológicas superiores às do resveratrol, entre elas, ser mais facilmente absorvido por ingestão via oral; ter maior estabilidade metabólica *in vivo*; possuir maior atividade anticâncer; possuir maior efeito antitumoral; ter maior atividade anti-tirosinase durante a melanogênese, inibindo a produção de melanina; possuir maior atividade anticárie, entre outras atividades. (ZOMER et al., 2022)

E, além de ser biossintetizado pelas plantas, o piceatanol também já foi identificado no metabolismo humano como metabólito do resveratrol por hidroxilação da enzima citocromo P450 CYP1B1, que é altamente expressa em tumores humanos, convertendo resveratrol em piceatanol (POTTER et al., 2002).

Figura 6 – Fontes naturais do piceatanol.



Fonte: Autora, 2023; Rocha, 2023.

3 EXPERIMENTAL E MÉTODOS

3.1 Experimental

3.1.1 Reagentes, solventes e equipamentos

Na Tabela 1 estão listados os reagentes e solventes que foram utilizados neste trabalho, enquanto na Tabela 2 encontram-se os equipamentos utilizados nas análises.

Tabela 1 - Reagentes e solventes utilizados neste trabalho

Reagentes	Marca
Hemoglobina humana	Sigma Aldrich Brasil Ltda.
Piceatanol	AK scientific (USA)
Frutose	Sigma Life Science
Glicose	Sigma Life Science
Cloreto de sódio	Dinâmica
Azida de sódio	Merck Brasil Ltda.
Fosfato de sódio bibásico	Synth
Fosfato de sódio monobásico hidratado	Dinâmica
Aminoguanidina	Sigma
Metilglioxal	Sigma
Thioflavina	Sigma Life Science
Água purificada	Milli-Q da Millipore Inc

Fonte: Autora, 2023

Tabela 2 - Equipamentos utilizados neste trabalho

Equipamento	Marca/Modelo
Balança analítica (0,01mg / 0,1mg)	Mettler Toledo AG 245
Estufa	TECNAL – TE – 394/1
pHmetro	Putek
Espectrofotômetro UV-vis	Multispec - 1501 Shimadzu (Japão)
Espectrofluorímetro	Shimadzu, RF-5301PC (Japão)
Agitador de soluções	Phoenex AP-56
Incubadora	Marconi Equipamentos – incubadora refrigerada M830

Fonte: Autora, 2023

3.2 Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo (LEEO), no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) exceto as análises envolvendo espectroscopia de fluorescência que foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. A metodologia deste trabalho consistiu em um estudo do processo de glicação da hemoglobina, através do monitoramento da formação de AGEs e na alteração da estrutura no grupo Heme da hemoglobina através da Banda de Soret, paralelo ao tratamento com o piceatanol.

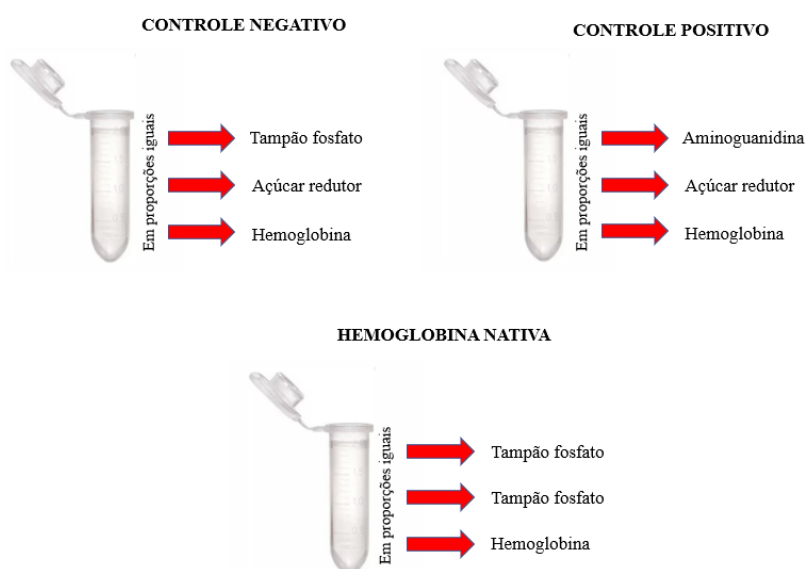
3.2.1 Investigação do processo de glicação da hemoglobina

O estudo de otimização investigou as possíveis mudanças estruturais induzidas pela glicação da hemoglobina humana (Hb) em diferentes sistemas. Para o ensaio inicial foram preparadas soluções de Hb (75 μ M), metilglioxal, MG, (1,5 μ M e 3,0 μ M), frutose (0,1 M e 0,5 M) e aminoguanidina AG (100 mg/mL) separadamente em tampão fosfato (50 mM, pH = 7,4, NaCl 100 mM, com azida de sódio 0,02% (m/v)) e feitos os devidos sistemas a serem analisados em período de 48 horas.

Posterior a análise do ensaio inicial, foram preparadas soluções adicionais de glicose (0,1 M e 0,5 M) e glicose-frutose (0,1 M e 0,5 M) em tampão fosfato. Os sistemas de glicação,

preparados em ependorfs de 2 mL, consistiram na mistura reacional de hemoglobina e glicose (HbG), hemoglobina e frutose (HbF) e hemoglobina e glicose-frutose (HbGF). O sistema hemoglobina e tampão (HbTP) foi utilizado para fins comparativos. A reação foi incubada a 37 °C, tendo os sistemas sido avaliados a partir de agora por um período de 5 semanas, onde alíquotas foram retiradas a cada semana a partir do 1º dia de glicação ($t=0$, $t=1^{\text{a}}$ semana, $t=2^{\text{a}}$ semana, $t=3^{\text{a}}$ semana, $t=4^{\text{a}}$ semana e $t=5^{\text{a}}$ semana), sendo a extensão da glicação acompanhada pela formação de AGE's. A avaliação dos agentes de glicação avançada foi realizada em espectrofluorímetro, com parâmetros de $\lambda_{\text{ex}} = 370 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}} = 400 \text{ a } 600 \text{ nm}$.

Figura 7 - Sistemas de glicação da hemoglobina



Fonte: Autora, 2023.

A fim de se calcular a massa necessária do composto para os sistemas da Figura 7 utilizou-se da equação de diluição abaixo:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2,$$

Equação 1

sendo C_1 a concentração escolhida para o composto, V_2 o volume do ependorf e V_1 o volume da proporção do composto no sistema. Em seguida aplicou-se, baseado na equação de número de mols, $n = m/MM$,

$$m = C_1 \times MM \times V_1,$$

Equação 2

sendo m a massa a ser utilizada do composto, C_1 a concentração escolhida para o composto, MM a massa molar do composto e V_1 baseado no volume necessário do composto para todos

os sistemas. Para o metilglioxal, por ser líquido, ainda se utilizou da fórmula de proporção massa/massa,

$$(\% m/m) = (m_{\text{solutivo}}/m_{\text{solução}}) \times 100,$$

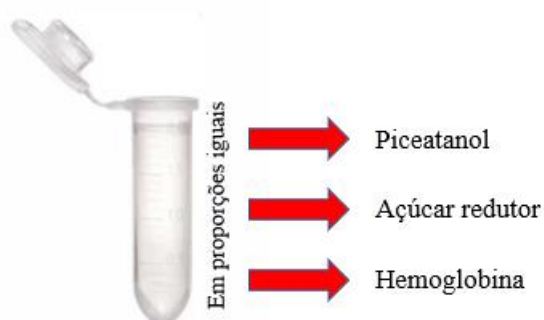
Equação 3

seguida da fórmula de densidade, $d = m/V$, a fim de calcular o volume a ser utilizado.

3.2.2 Tratamento com piceatanol

Cada sistema reacional de glicação foi monitorado também contendo o composto fenólico escolhido, o piceatanol (PIC), no qual é um dos compostos bioativos presente nas sementes de maracujá, cujo extrato etanólico já foi amplamente estudado em nosso grupo de pesquisa, avaliando suas atividades antiglicante, antidiabética e antioxidante, e também seus efeitos como um anti-Zika vírus e a proteção da placenta contra infecções causadas por ZIKV (XAVIER et al., 2022; DOS SANTOS et al., 2022). Os sistemas consistiram na mistura reacional de hemoglobina + glicose + piceatanol (HbPICG), hemoglobina + frutose + piceatanol (HbPICF) e hemoglobina + glicose-frutose + piceatanol (HbPICGF), seguindo o padrão mostrado na Figura 8. Nesta etapa avalia-se o grau de proteção do composto frente o processo de glicação da hemoglobina, bem como sua capacidade de inibição de AGE's.

Figura 8 - Sistema tratado com piceatanol

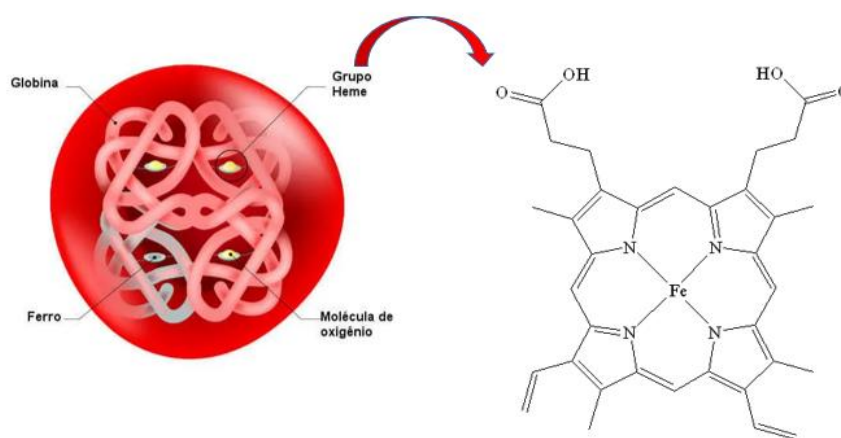


Fonte: Autora, 2023.

3.2.3 Avaliação da estrutura do grupo heme da hemoglobina

A fim de investigar as possíveis alterações na estrutura do grupo Heme da hemoglobina (Figura 9) foram obtidos os espectros UV/vis dos diferentes sistemas de glicação (Hb, HbG, HbF e HbGF) como descrito por Sahebi e Divsalar (2016), com algumas modificações. Para as medidas espectrofotométricas, utilizou-se a concentração final de 3 μM da proteína e em intervalo de comprimento de onda de 380 a 440 nm (região de absorção da banda de Soret da hemoglobina) à temperatura ambiente.

Figura 9 - Grupo Heme da Hemoglobina



Fonte: Autora, 2023.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

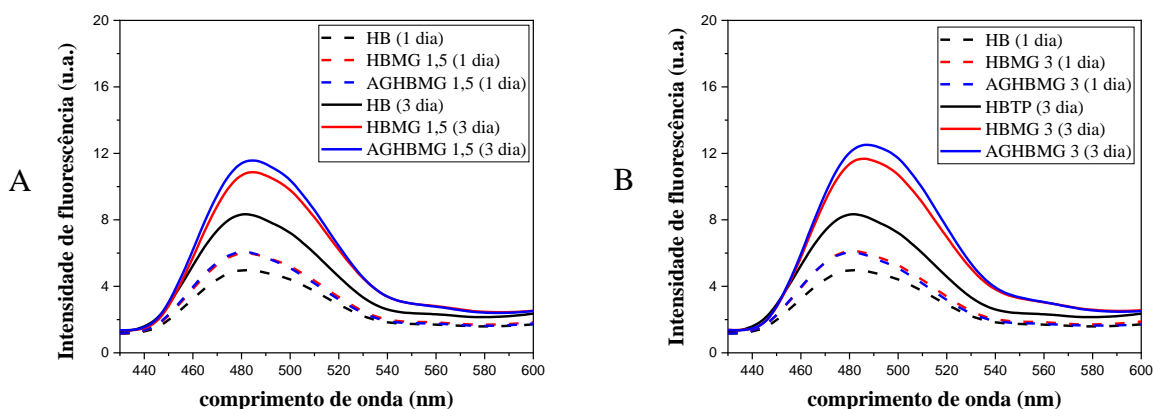
4.1 Investigação do processo de glicação da Hemoglobina

A otimização da glicação da hemoglobina foi realizada em 4 sistemas diferentes, como descrito na metodologia, a fim de analisar melhores condições de concentração de açúcar redutor como também observar a formação de AGE's advinda do processo de glicação e os efeitos que causam na estrutura da hemoglobina.

Inicialmente realizou-se testes em um período de 48 horas com a frutose e o metilglioxal em aminoguanidina, que é um composto amplamente estudado na literatura e é um padrão para capacidade antiglicante. Nessa análise inicial foi utilizado ambos os açúcares em duas concentrações diferentes, a fim de escolher com qual prosseguir os testes.

Na Figura 10, podemos observar os espectros de fluorescência para o sistema em que hemoglobina foi glicada com MG (1,5 μM e 3 μM), e aminoguanidina foi utilizada como padrão positivo. Podemos observar que há distinção entre a intensidade de fluorescência do sistema controle hemoglobina nativa e a do controle negativo, sistema contendo o MG (hemoglobina glicada), com maior formação de AGEs no sistema onde o MG foi utilizado na maior concentração (3,0 μM).

Figura 10 - Espectros de fluorescência na região de formação dos AGEs nos sistemas hemoglobina + aminoguanidina (100mg/mL) + metilglioxal 1,5 μM (A) e metilglioxal 3,0 μM (B).



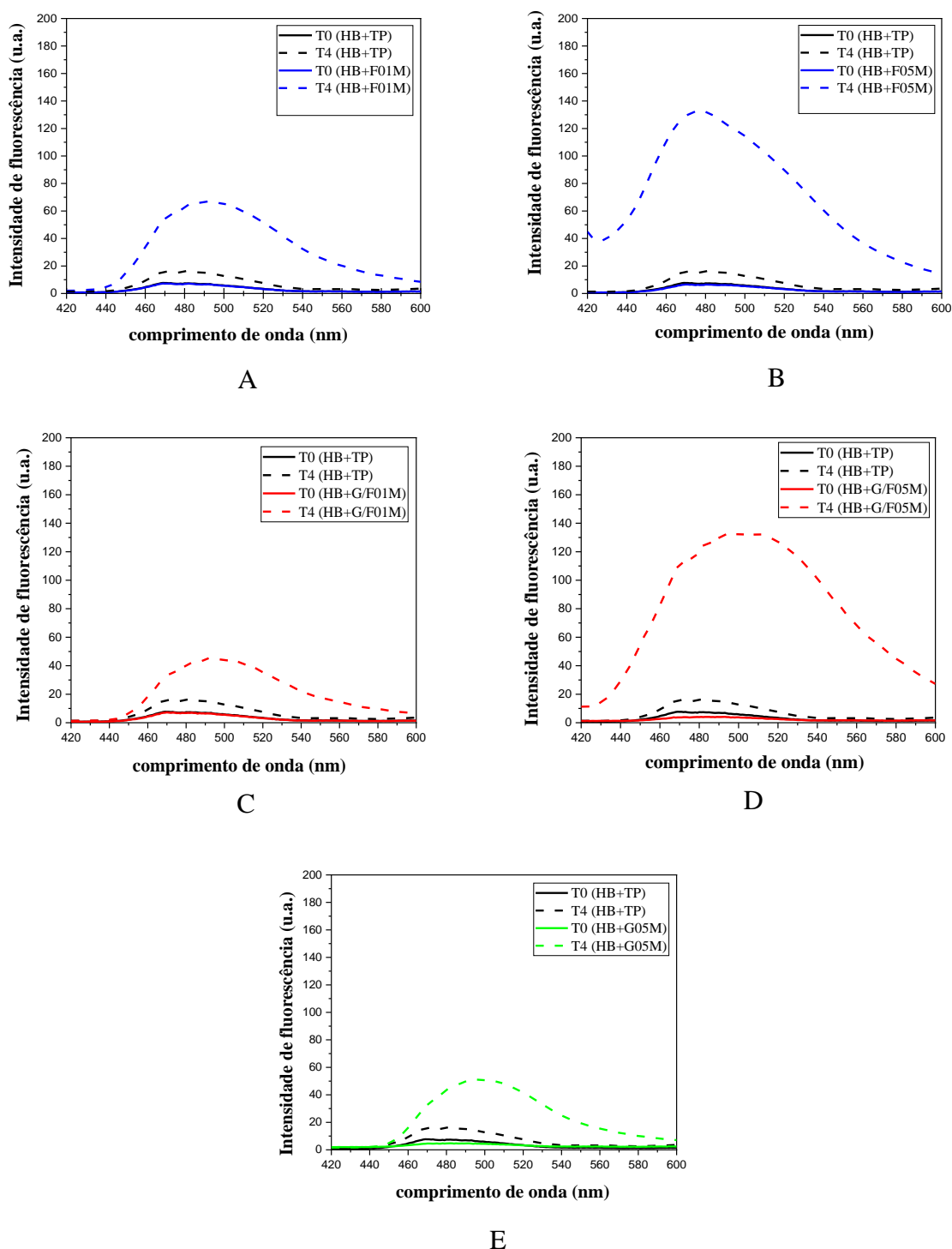
Fonte: Autora, 2023

O ensaio com a frutose em 48h apresentou baixa intensidade de fluorescência, em ambas as concentrações utilizadas, onde não houve diferença entre a curva do sistema com frutose e o controle positivo, que contém somente a hemoglobina nativa e o sistema tratado com aminoguanidina, sendo assim o curto tempo entre as medições levou a pouca formação de AGEs.

Após os resultados da análise inicial decidiu-se prosseguir os testes com a frutose, porém aumentando agora o período de medições para 5 semanas, como descrito na metodologia, a fim de se observar uma maior formação de AGEs e conseqüentemente avaliar o fator de proteção do composto fenólico no decorrer das semanas. Decidiu-se complementar os testes com a glicose e com um sistema reacional de glicose e frutose, para fins comparativos, no qual foram produzidos os sistemas descritos na metodologia.

Os resultados de formação de AGEs para os sistemas elaborados podem ser encontrados na Figura 11, nela é possível observar que no sistema em que a Hb foi submetida a glicação pela frutose nas concentrações de 0,1 M e 0,5 M (Figura 11A e B) a formação de AGEs é lenta e ocorre de maneira dependente do tempo de reação, com uma maior formação desses agentes sendo evidenciada na última semana de incubação. Essa mesma análise pode ser feita para o sistema que contém a mistura reacional de glicose/frutose (Figura 11C e D), porém, nele percebe-se uma formação de AGEs fluorescentes em uma escala um pouco menor do que no sistema contendo somente a frutose, de acordo com a intensidade de fluorescência, visto que se trata de uma mistura reacional onde a concentração final contém metade glicose metade frutose. Já ao analisarmos, o sistema contendo somente a glicose (Figura 11E) nota-se que há uma diferença na formação de AGEs quando comparado aos outros dois sistemas, tendo sido evidenciado uma pouca formação desse mesmo após o tempo final de incubação.

Figura 11 -Espectros de fluorescência na região de formação dos AGEs nos sistemas hemoglobina + frutose (0,1 M) (A), hemoglobina + frutose (0,5 M) (B), glicose/frutose (0,1 M) (C), hemoglobina + glicose/frutose (0,5 M) (D) e hemoglobina + glicose (0,5 M) (E)

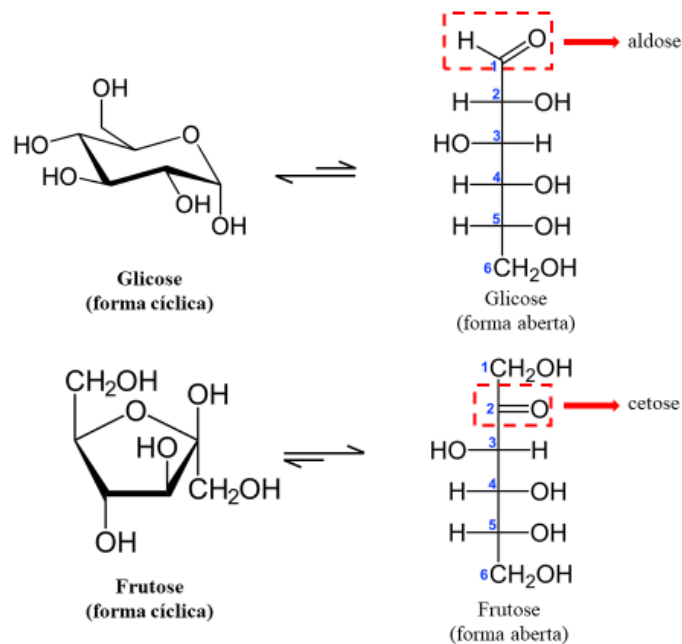


Fonte: Autora, 2023

A diferença entre as formações dos AGEs comparando os sistemas contendo somente frutose e aqueles que contém a glicose, se dá devido ao fato da frutose ser um açúcar redutor

bem mais reativo que a glicose, o que influenciou na formação dos produtos finais de glicação avançada. Isto ocorre pelo fato de que apesar da frutose ser uma cetose e a glicose uma aldose, em solução elas estão em equilíbrio entre a forma aberta e a cíclica, Figura 12. Sendo que a forma reativa para reação de glicação é a aberta, e a frutose em solução encontra-se na forma aberta em uma proporção de 8 – 10 vezes mais que a glicose.

Figura 12 - Reação de equilíbrio entre as formas abertas e fechadas da glicose e da frutose



Fonte: Autora, 2023.

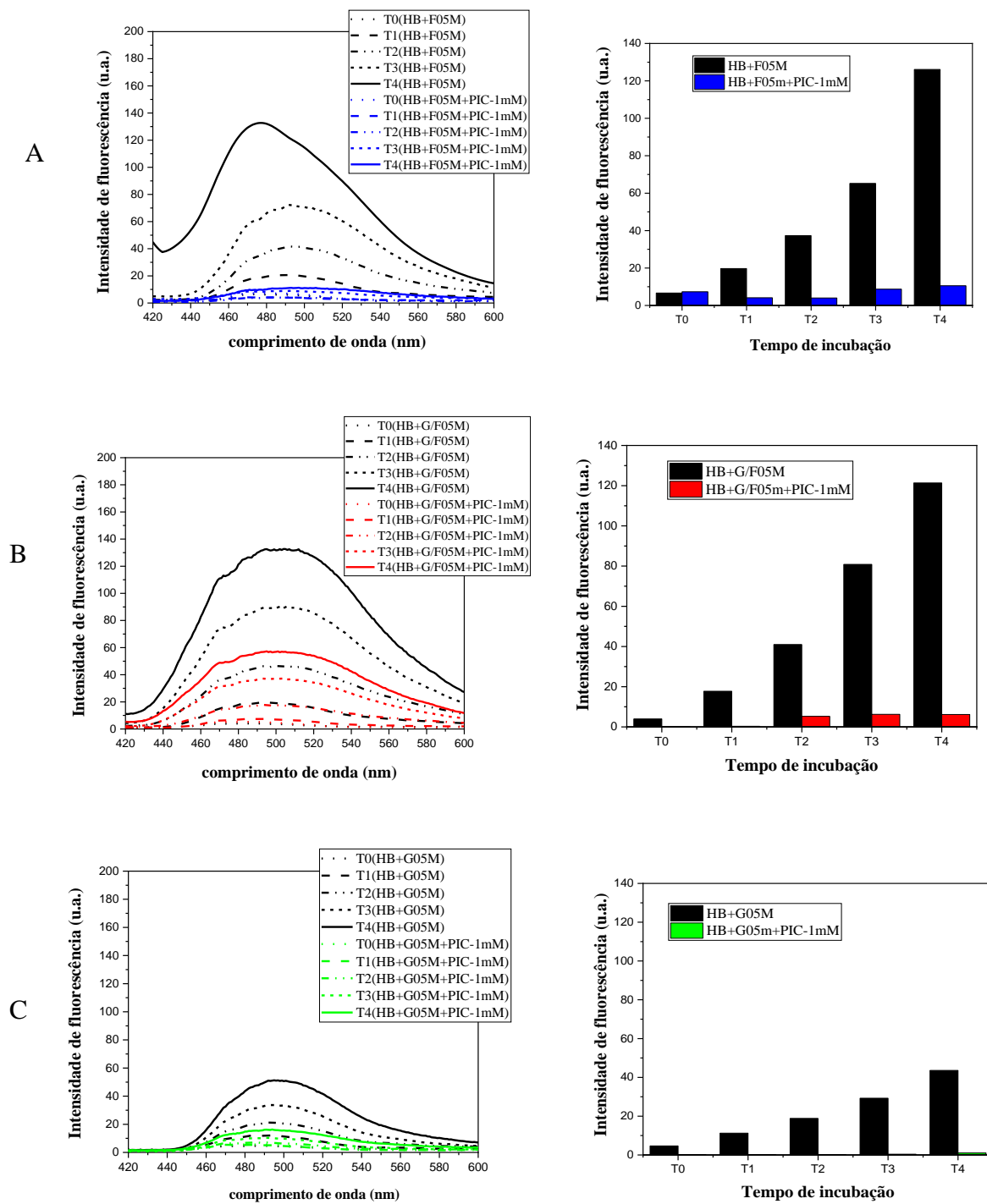
4.2 Tratamento com piceatanol

As análises utilizando os sistemas produzidos de acordo com as proporções descritas na metodologia, Figura 8, prosseguiram-se com base na maior concentração dos açúcares em ambos os sistemas reacionais – onde evidenciamos maior formação de produtos finais de glicação avançada – na presença de piceatanol, o composto fenólico, a fim de avaliar seu efeito protetor e/ou inibidor sob a glicação da proteína. As análises seguiram utilizando o tempo de leitura de 5 semanas, assim como realizado na avaliação da glicação da hemoglobina.

A eficiência do piceatanol frente a proteção da glicação da hemoglobina em todos os sistemas reacionais analisados é possível ser observada na Figura 13 abaixo, onde nota-se que

preveniu a formação de AGEs em até aproximadamente 90% até a última semana, podendo ser melhor observado nos gráficos em barras a direita.

Figura 13 - Espectros de fluorescência da hemoglobina glicada com frutose - 0,5 M (A), glicada com glicose/frutose - 0,5 M (B) e glicada com glicose - 0,5 M (B) na presença piceatanol(1mM).

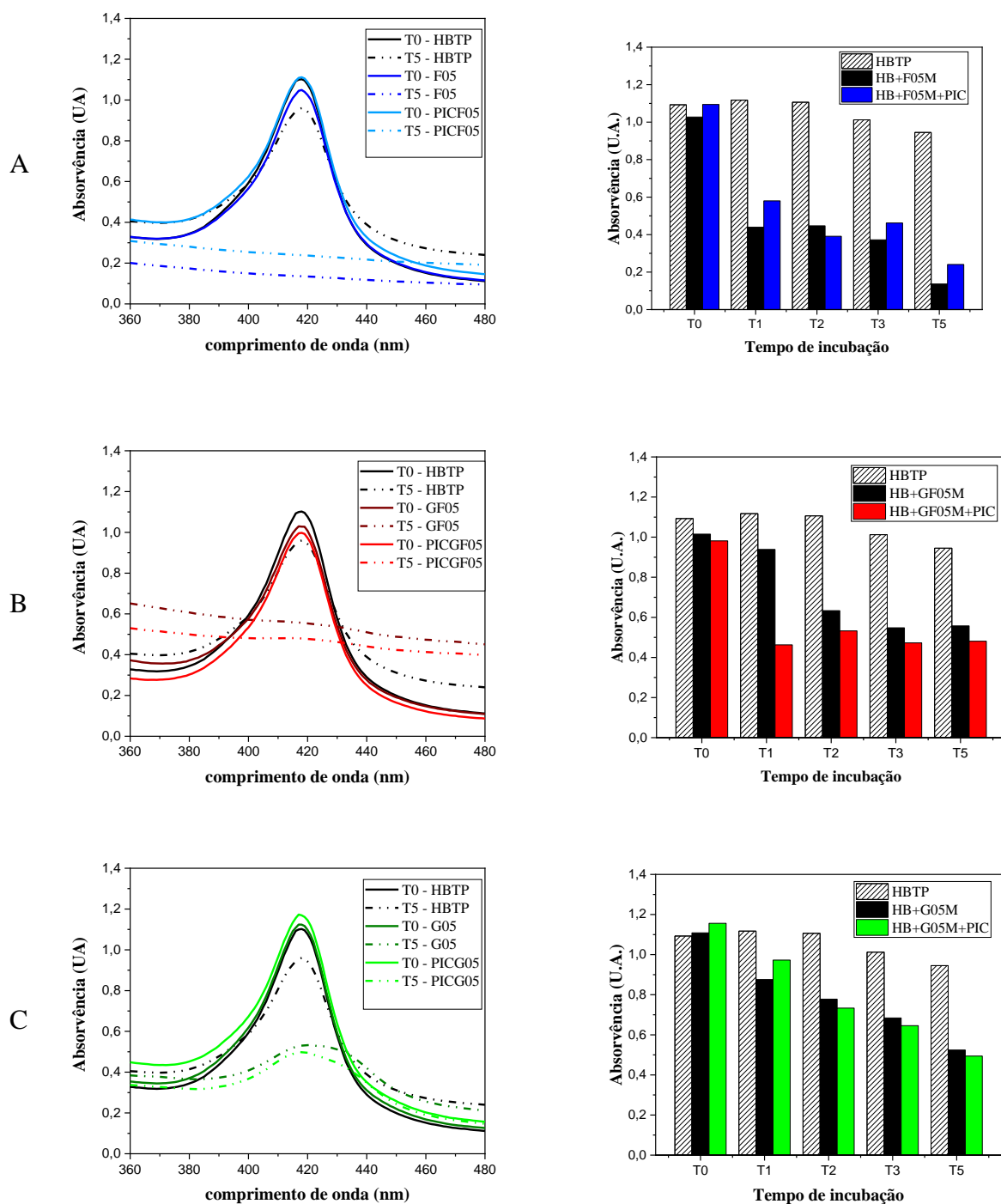


4.3 Avaliação da estrutura do grupo Heme da Hemoglobina

O grupo Heme tem uma função muito importante na hemoglobina, sendo ele o responsável pelo transporte de oxigênio para órgãos e tecidos, logo qualquer alteração na estrutura desse grupo pode comprometer essa função vital da Hb em diferentes graus. Tendo isso em vista, além de analisar a formação dos AGEs (Tópico 4.1) e a proteção do composto fenólico frente a hemoglobina glicada (Tópico 4.2), também foi monitorado as alterações no grupo heme da hemoglobina, através da análise da banda de Soret, na ausência e presença do piceatannol no decorrer das 5 semanas,

Para o ensaio de avaliação de alterações no grupo Heme da hemoglobina utilizou-se 100 μ L do sistema e 2400 μ L do tampão fosfato. Ao analisar os gráficos na figura abaixo podemos ver que tanto em A quanto em B houve a perda do sinal característico da banda de soret associado ao grupo heme da hemoglobina, mesmo que com o passar das semanas indique um sinal do sistema com PIC maior que o sistema que contém somente o açúcar redutor. Já em C não houve essa perda total do sinal, porém, ainda apresentou uma curva muito baixa associada ao grupo heme, onde vemos que o piceatannol não foi tão eficaz quanto o esperado na proteção desse grupo. Sendo assim, os resultados se mostram análogos aos apresentados no Tópico 4.2, indicando que o PIC previne a formação de AGEs no processo de glicação, porém não evita alterações causadas no grupo heme da hemoglobina.

Figura 14 - Máximo de absorção da banda de Soret da hemoglobina glicada com frutose (A), com a mistura reacional de glicose/frutose (B) e somente com glicose (C).



Fonte: Autora, 2023

5 CONCLUSÃO

Por fim o desenvolvimento da pesquisa nos permitiu avaliar a progressão da glicação da hemoglobina, a formação de AGEs e alterações estruturais do grupo heme da proteína através da banda de Soret. Vimos que a frutose, por ser um açúcar redutor mais reativo que a glicose, levou a uma maior glicação da hemoglobina e a maiores alterações na banda de Soret que está associada ao grupo heme. Apesar disso, os sistemas tratados com piceatanol apresentaram uma capacidade de inibição dos AGEs, porém não foi capaz de proteger a hemoglobina das alterações causadas pelos açúcares redutores em sua estrutura. Assim, podemos concluir que o piceatanol possui um potencial promissor para uso em terapias antiglicantes e/ou patologias que possam levar ao estresse carbonílico, ainda tendo em vista ser realizados testes que avaliem de forma mais completa a proteção do composto frente a estrutura da hemoglobina.

6 REFERÊNCIAS

- ABATE, G.; DELBARBA, A.; MARZIANO, M.; MEMO, M. UBERTI, D. **Advanced Glycation End Products (Ages) in Food: Focusing on Mediterranean Pasta.** Journal of Nutrition & Food Sciences, v. 05, n. 06, 2015.
- ANGUIZOLA, J.; MATSUDA, R.; BARNABY, O. S.; HOY, K. S.; WA, C.; DEBOLT, E.; KOKE, M.; HAGE, D. S. Review: **Glycation of human serum albumin.** Clinica Chimica Acta, v. 425, p. 64-76, 2013.
- ARAGNO, M.; MASTROCOLA, R. **Dietary sugars and endogenous formation of advanced glycation endproducts: Emerging mechanisms of disease.** Nutrients, v. 9, n. 4, p. 1–16, 2017.
- BANIK, K.; RANAWARE, A. M.; HARASHA, C.; NETESH, T.; GIRISA, S.; DESHPANDE, V.; FAN, F.; NALAWADE, S. P.; SETHE, G.; & KUNNUMAKKARA, A. B. **Piceatannol: a natural stilbene for the prevention and treatment of câncer.** Pharmacological Research, 153, 104-135, 2020.
- BEM, A. F.; KUNDE, J. **A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações crônicas do diabetes mellitus.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, Rio de Janeiro, v. 42, n. 3, p. 185-191, jun. 2006.
- BYUN, K.; YOO, Y.; SON, M.; LEE, J.; JEONG, G. B.; PARK, Y. M.; LEE, B. **Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: a common contributor to inflammation and degenerative diseases.** Pharmacology & therapeutics, v. 177, p. 44-55, 2017.
- CAMARGO, J. L., GROSS, J. L. **Glico-Hemoglobina (HbA1c): Aspectos Clínicos e Analíticos. Teste A1c: Aspectos Clínicos e Analíticos.** Arq Bras Endocrinol Metab vol 48 n° 4. Agosto 2004
- DIAS, A. F. **A reação de Maillard nos alimentos e medicamentos.** São Paulo: Petra, 2009.
- DORNAS, W. C.; OLIVERIA, T. T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G., SANTOS, A. F.; NAGEM, T. J. **Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo.** Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 28, n.3, p. 241- 249, 2007 ISSN 1808-4532
- DOS SANTOS, F. A. R.; XAVIER, J. A.; DA SILVA, F. C.; MERLIN, J. P. J.; GOULART, M. O. F.; RUPASINGHE, H. P. V. **Antidiabetic, Antiglycation, and Antioxidant Activities of Ethanolic Seed Extract of *Passiflora edulis* and Piceatannol In Vitro.** *Molecules* 2022, 27, 4064. <https://doi.org/10.3390/molecules27134064>
- HELLWIG, M.; HENLE, T. Baking, Ageing, **Diabetes: a Short History of the Maillard Reaction.** Angewandte Chemie International Edition, v. 53, n. 39, p. 10316– 10329, 2014.
- HENNING, C.; GLOMB, M. A. **Pathways of the Maillard reaction under physiological conditions.** Glycoconjugate Journal, v. 33, n. 4, p. 499–512, 2016.

LIMA, F. P. P. **Envelhecimento cutâneo da pele: relação entre o excesso de carboidratos e a Reação de Maillard na formação de produtos de glicação avançada (AGES).** Scire Salutis, v.8, n.1, p.1-7, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2236-9600.2018.001.0001>

MALTA, D. C. et al. **Prevalência de diabetes mellitus determinada pela hemoglobina glicada na população adulta brasileira,** Pesquisa Nacional de Saúde. REV BRAS EPIDEMIOL 2019; 22 (SUPPL 2): E190006. SUPL.2

NETTO, A. P. et al. **Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1C) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais.** J Bras Patol Med Lab, v. 45, n. 1, p. 31-48. Fevereiro, 2009.

PATEL, M. J. H.; YETISKUL, E.; ANOKHIN, A.; MAJMUNDAR, S.H. **Physiology, Carbon Dioxide Retention.** In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 29494063.

POTTER, G.; PATTERSON, L.; WANOGHO, E. et al. **The cancer preventative agent resveratrol is converted to the anticancer agent piceatannol by the cytochrome P450 enzyme CYP1B1.** *Br J Cancer* **86**, 774–778 (2002). <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600197>

RAHMANIFAR, E.; MIROLIAEI, M. **Differential effect of biophenols on attenuation of AGE-induced hemoglobin aggregation.** International Journal Of Biological Macromolecules, v. 151, p. 797805, 2020.

ROCHA, T. S. **Agregação de proteínas como consequência da glicação não enzimática: Investigação in vitro da mitigação de seus efeitos por piceatanol.** Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2023.

SILVA, M. O. **Avaliação do potencial antiglicante, antioxidante e fotoprotetor de extratos etanólicos de diferentes partes do jenipapo (*Genipa americana L.*)** Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2023.

STITT, A. W. **AGEs and diabetic retinopathy.** *Investigative ophthalmology & visual science*, 2010, 51.10: 4867-4874

TORRES, N. M. P. O.; XAVIER, J. A.; GOULART, M. O. F.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P. **A Química dos Produtos Finais de Glicação Avançada.** Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (2), no prelo. Data de publicação na Web: 2 de abril de 2018. <http://rvq.sbq.org.br>

TWARDA-CLAPA, A. et al. **Advanced Glycation End-Products (AGEs): formation, chemistry, classification, receptors, and diseases delated to AGEs.** Cells, v. 11, n. 8, p. 1312, 2022.

URIBARRI, J.; DEL CASTILLO, M. D.; DE LA MAZA, M. P.; FILIP, R. et al. **Dietary Advanced Glycation End Products and Their Role in Health and Disease.** Advances in Nutrition vol 6, issue 4, July 2015, Pages 461-473 <https://doi.org/10.3945/an.115.008433>

VISTOLI, G.; MADDIS, D. D.; CIPAK, A.; ZARKOVIC, N.; CARINI, M.; ALDINI, G. (2013). **Advanced glycooxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation.** Free Radical Research, 47, 3–27

XAVIER, J. A. **Estresse Carbonílico: Avaliação in vitro de efeitos pró e antiglicantes de adoçantes não nutritivos e de extratos vegetais.** Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.

XAVIER, J. A.; SANTOS, J. C.; NOVA, M. A. V.; GONÇALVES, C. M. et al. **Anti-Zika Virus Effects, Placenta Protection and Chemical Composition of *Passiflora edulis* Seeds Ethanolic Extract.** J. Braz. Chem. Soc., Vol. 33, No. 7, 701-714, 2022.

ZAMAN, M.; KHAN, A. N.; WAHIDUZZAMAN; ZAKARIYA, S. M.; KHAN, R. H. **Protein misfolding, aggregation and mechanism of amyloid cytotoxicity: an overview and therapeutic strategies to inhibit aggregation.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 134, p. 1022-1037, 2019.

ZOMER, A. P. L.; RODRIGUES, C. A.; MALDANER, L. **Piceatannol: um estilbeno natural com amplo espectro de atividades biológicas.** Investigação, Sociedade e Desenvolvimento, [S. l.], v. 11, n. 9, pág. e49211932221, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i9.32221. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/32221>. Acesso em: 21 fev. 2023

