

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri*
Baker**

JÉSSICA MARIA FÉLIX

Dourados - MS

2017

JÉSSICA MARIA FÉLIX

Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri*
Baker

Área do CNPq: Medicina II

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde
da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof.^a Dr.^a Virgínia Demarchi Kappel Trichez

Co-orientador: Prof.^a Dr.^a Sara Santos Bernardes

Dourados - MS

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F316p	<p>Félix, Jéssica Maria.</p> <p>Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de <i>Bidens gardneri</i> Baker. / Jéssica Maria Félix. – Dourados, MS : UFGD, 2021.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Virginia Demarchi Kappel Trichez.</p> <p>Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Glicação. 2. Diabetes Mellitus. 3. Antioxidante. I. Título.</p>
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR JÉSSICA MARIA FÉLIX, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "FARMACOLOGIA", REALIZADA NO DIA 26 DE JANEIRO DE 2018.

Ao vigésimo sexto dia do mês de janeiro do ano de dois mil e dezoito (26/01/2018), às 8h, em sessão pública, realizou-se, no Auditório da Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "**Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri* Baker**" apresentada pela mestrandia JÉSSICA MARIA FÉLIX, do Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos professores **Dra. Virginia Demarchi Kappel Trichez** (Presidente/orientador), **Dr. Arquimedes Gasparotto Junior** (membro titular/programa) e **Dra. Priscila Neder Morato** (membro titular/externo). Iniciada sessão, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, no tempo previsto de 30 até 40 minutos, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa da candidata, no tempo previsto de até 240 minutos. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou ao julgamento, tendo sido a candidata considerada **APROVADA**, fazendo jus ao título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 26 de janeiro de 2018.

Dra. Virginia Demarchi Kappel Trichez

Dr. Arquimedes Gasparotto Junior

Dra. Priscila Neder Morato

ATA HOMOLOGADA EM: 26/01/2018, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Profa. Kely de Picoli Souza
Pró-Reitora de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1 - Cromatografia líquida de alto desempenho.....	36
Figura 2 - Potencial antiglicação do EABG em 14 e 28 dias utilizando..... sistema albumina sérica bovina	37
Figura 3 - Efeito do EABG na atividade da maltase em animais..... normoglicêmicos	40
Figura 4 – Efeito do EABG na atividade da sacarase em animais..... normoglicêmicos	40
Figura 5 – Efeito do EABG na atividade lactase em animais..... normoglicêmicos	41
Figura 6 - Efeito do BGEA sobre o conteúdo de glicogênio hepático em..... animais normoglicêmicos	42
Figura 7 – Efeito do EABG sobre no conteúdo de glicogênio muscular em... animais normoglicêmicos	42
Figura 8 –Efeito do EABG sobre a glicemia dos animais diabéticos.....	44
Figura 9 – O efeito do EABG sobre a maltase, sacarase e lactase do..... intestino delgado de ratos diabéticos	45
Figura 10 – O efeito do EABG no glicogênio hepático e muscular em ratos diabéticos.....	46
Figura 11 - Efeito do EABG sobre a glicemia dos animais intolerantes a..... glicose	47
Figura 12 - O efeito inibitório do EABG sobre a maltase do intestino..... delgado de ratos intolerantes a glicose	48
Figura 13 - O efeito inibitório do EABG sobre a sacarase do intestino..... delgado de ratos intolerantes a glicose	48
Figura 14 - O efeito inibitório do EABG sobre a lactase do intestino..... delgado de ratos intolerantes a glicose	49
Figura 15 - Efeito do EABG no glicogênio hepático e muscular em ratos..... intolerantes a glicose da dieta comercial	50
Figura 16 - Efeito do EABG no glicogênio hepático e muscular em ratos..... intolerantes a glicose da dieta hipercalórica	50
Tabela 1 – Conteúdo total de fenóis, flavonóides, flavonóis e taninos de <i>B...</i> <i>Gardneri</i> BAK	35
Tabela 2 – Compostos e tempo de retenção.....	36
Tabela 3 - Efeito agudo do EABG sobre os níveis séricos de glicose (mg / dL) no teste oral de tolerância a glicose.....	39
Tabela 4 – Avaliação do peso inicial e após o tratamento de 10 dias com o EABG em ratos diabéticos.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AGEs	Advanced Glycated End-Products
BSA	Albumina Sérica Bovina
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
EABG	Extrato Aquoso de <i>Bidens gardneri</i>
GLUT-2	Glucose transporter 2
GLUT-4	Glucose transporter 4
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GLP-2	Glucagon-like peptide-2
HbA1c	Hemoglobina glicada
NaCl	Cloreto de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPAR γ	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
TOTG	Teste Oral de Tolerância a Glicose
TZDs	Tiazolidinedionas
V.O	Via Oral

Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri* Baker

RESUMO

Bidens gardneri Baker tem sido tradicionalmente usada como uma planta medicinal para o tratamento de Diabetes *mellitus*. No entanto, faltam evidências sobre os benefícios e mecanismos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antidiabético do extrato aquoso das folhas de *B.gardneri* (EABG). Avaliamos o potencial antiglicação pelo teste (BSA)/glicose e após 14 dias e 28 dias de incubação foram realizadas as leituras em um fluorímetro para quantificar os produtos da glicação avançada (AGEs). Quantificação do conteúdo de fenóis, flavonoides, flavonol e taninos. Identificação dos compostos por cromatografia líquida de alto desempenho. Realizou-se o teste oral de tolerância à glicose em ratos com diferentes doses (30 mg/kg, 100 mg/kg e 300 mg/kg). Animais diabéticos induzidos com aloxano receberam uma dose diária de EABG (300 mg/kg V.O.) durante 10 dias. Os níveis de glicemia foram utilizados para avaliar seus efeitos antidiabéticos. Animais resistentes a insulina foram induzidos com uma dieta hipercalórica durante 14 semanas associado ao tratamento com dose diária de EABG (300 mg/kg V.O) no período de 10 semanas. Após os animais serem submetidos a eutanásia foram determinados a atividade das dissacaridases intestinais (maltase, sacarase e lactase) e quantificação do conteúdo de glicogênio muscular e hepático. Na quantificação de metabólitos o ácido 4-O-cafeoilquínico foi o composto majoritário. O extrato apresentou potencial de inibição na formação de AGEs. O estudo mostrou que o EABG aumentou a concentração de glicogênio hepático e muscular e inibiu as enzimas intestinais sacarase e lactase em animais normoglicêmicos. No TOTG a dose de 300mg/kg do EABG foi a que demonstrou o melhor efeito na diminuição da glicemia dos animais, com um efeito parecido do medicamento glibenclamida. Nos animais diabéticos, uma dose diária de EABG durante 10 dias diminuiu significativamente os níveis de glicose no sangue, prevenindo a perda de peso, aumentou o conteúdo de glicogênio muscular e inibiu a atividade das enzimas intestinais. Além disso, dos animais resistentes a insulina o extrato preveniu o aumento da glicemia, aumentando o conteúdo de glicogênio muscular e inibindo a atividade das enzimas intestinais. Nossos resultados sugerem que o extrato aquoso de *Bidens gardneri* apresenta potencial para o tratamento da diabetes.

Palavras-chave: Glicação, Diabetes *Mellitus*, Antioxidante.

ABSTRACT

Antidiabetic potential of the aqueous extract of the leaves of *Bidens gardneri* Baker

Bidens gardneri Baker has been traditionally used as a medicinal plant for the treatment of Diabetes *mellitus*. However, there is a lack of evidence on the benefits and mechanisms. This study aimed to evaluate the antidiabetic effect of *B. gardneri* (EABG) leaves aqueous extract. We evaluated the potential anti-glycation by the test (BSA) / glucose and after 14 days and 28 days after incubation were carried out the readings in a fluorimeter to determine the formation of Advanced Glycation End-products (AGEs). the content of phenols, flavonoids, flavonol and tannins were quantified. We identified the compounds by high performance liquid chromatography. The oral glucose tolerance test was performed in rats at different doses (30 mg / kg, 100 mg / kg and 300 mg / kg). Diabetic animals induced with alloxan received a daily dose of EABG (300 mg / kg V.O.) for 10 days. Blood glucose levels were used to assess their antidiabetic effects. Insulinresistant animals were induced with a hypercaloric diet for 14 weeks associated with treatment of daily dose of EABG (300 mg / kg V.O) over the 10-week period. After the animals were submitted to euthanasia, the activity of intestinal disaccharidases (maltase, sucrase and lactase) and quantification of the muscular and hepatic glycogen contents were determined. In the quantification of metabolites 4-O-caffeoylquinic acid was identified as the major compound. The extract presented potential of inhibition in the formation of advanced glycation products (AGEs). The study showed that EABG increased the concentration of hepatic and muscular glycogen and inhibited intestinal sucrase and lactase enzymes in normoglycemic animals. In the TOTG the dose of 300mg / kg of the EABG was the one that demonstrated the best effect in the decrease of the glycemia of the animals, besides having an effect similar to the drug glibenclamide. . In diabetic animals a daily dose of EABG given once daily for 10 days significantly lowered blood glucose levels, prevented weight loss, increased muscle glycogen content and inhibited the activity of intestinal enzymes. In addition, of the insulin-resistant animals, the extract prevented the increase of glycemia, increasing the muscle glycogen content and inhibiting the activity of the intestinal enzymes. Our results suggest that the aqueous extract of *Bidens gardneri* presents potential for the treatment of diabetes.

Keywords: Glycation, Diabetes Mellitus, Antioxidant.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Homeostase da Glicose	13
2.2 Diabetes <i>mellitus</i>	15
2.3 Estresse Oxidativo	17
2.4 Plantas Medicinais	18
2.4.1 <i>Bidens gardneri</i>	19
3 OBJETIVOS	21
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
5 APÊNDICES	27
1 Artigo 1: Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de <i>Bidens Gardneri</i> Baker	28
2 Materiais e Métodos	30
2.1 Coleta do material	30
2.2 Conteúdo total de fenol	31
2.3 Conteúdo total de flavonoides	31
2.4 Conteúdo total de Flavonol	31
2.5 Conteúdo total de Taninos	32
2.6 Análise Fitoquímica	32
2.7 Avaliação do potencial antiglicação utilizando sistema albumina sérica bovina	32
2.8 Animais	33
2.8.1 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)	33
2.8.2 Animais Diabéticos Induzidos com Aloxano	34
2.8.3 Determinação da atividade das dissacaridases intestinais	34
2.8.4 Determinação do conteúdo de glicogênio	34
2.8.5 Modelo de intolerância à glicose induzidas por dieta hipercalórica	35
2.9 Análise Estatística	35
3 Resultados e Discussão	36
3.1 Conteúdo de fenóis, flavonoides, flavonol e Taninos do extrato aquoso de <i>B. gardneri</i>	36
3.2 Cromatografia líquida de alto desempenho	37
3.3 Potencial antiglicação utilizando sistema albumina sérica bovina	38
3.4 Teste oral de tolerância a glicose (TOTG)	39
3.5 Efeito do EABG na atividade das dissacaridases em ratos normoglicêmicos	40
3.6 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular	42
3.7 Efeito do EABG na glicemia e peso corporal de ratos diabéticos induzidos com aloxano	44

3.8 Atividade das dissacaridases em ratos diabéticos induzidos com aloxano	45
3.9 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular em animais diabéticos	47
3.10 Efeito do extrato da <i>Bidens gardneri</i> na glicemia de ratos intolerantes a glicose	48
3.11 Atividade das dissacaridases em ratos intolerantes a glicose.	49
3.12 Captação de glicogênio hepático e muscular em animais intolerantes a glicose	51
4 CONCLUSÃO	52
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1. INTRODUÇÃO

A Diabetes *mellitus* (DM) é descrita como uma desordem metabólica múltipla, caracterizada pela hiperglicemia crônica decorrente de defeitos na secreção e/ou ação da insulina, resultando em ausência ou resistência insulínica (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016). Altas concentrações de glicose no plasma levam ao desenvolvimento de degenerações crônicas associadas à falência de diversos órgãos, principalmente olhos, rins, coração, nervos e vasos (BOLAND; RHODES; GRIMSBY, 2017).

A DM tem se tornado uma doença muito frequente na população adulta e conseqüentemente tem desencadeado um aumento na mortalidade por doenças cardiovasculares, sendo considerado um dos maiores problemas de saúde pública em muitos países (SANTOS, 2012). Segundo Moraes et al. (2010) a prevalência da DM em 2000 ocupava o oitavo lugar, sendo que o Brasil ficava entre os dez países com maior número de casos de diabetes (4,6 milhões), e a previsão até 2030 é que ocupará a sexta posição, quando contará com 8,9 milhões de pessoas diagnosticadas.

Atualmente, fármacos hipoglicemiantes são uma alternativa para controlar os níveis de glicose no sangue, no entanto, apesar de grandes avanços na medicina moderna e o desenvolvimento de agentes terapêuticos, a busca de tratamentos usando plantas medicinais tem crescido (LI, 2017). Esta necessidade é dada à consequência dos medicamentos possuírem efeitos colaterais, além de seus altos custos que normalmente são custeados pelos próprios pacientes sendo um dos motivos principais identificado para não-adesão ao tratamento entre pacientes diabéticos. Desta forma, os pacientes buscam outros recursos e formas alternativas de terapia, tais como uso de plantas medicinais (EZURUIKE; PRIETO, 2014).

Plantas medicinais constituem parte da biodiversidade e são amplamente utilizadas desde o princípio da civilização por diversos povos e de várias maneiras, sendo consideradas fontes básicas do cuidado pela vida. Comunidades tradicionais utilizam as plantas medicinais como remédios caseiros, e também as espécies vegetais podem ser utilizadas como matériaprima de fitoterápicos e outros medicamentos (SHAHEEN et al., 2017; FIRMO et al., 2011). Tais plantas vêm sendo utilizadas pela população mundial no tratamento de diversas doenças crônicas, possuindo metabólitos, sendo assim de extrema importância para a saúde global (PEREZ, 2010). No Brasil essa prática é mais evidente, pois o país apresenta uma vasta biodiversidade e diversidade étnico-cultural. Estudos têm demonstrado a eficácia e a potencialidade das plantas no tratamento de doenças crônicas, inclusive como diabetes

(ARAÚJO, 2015; SOUZA et al, 2017). As plantas medicinais são utilizadas sozinhas como opção terapêutica, ou associada com medicamentos convencionais (EZURUIKE; PRIETO, 2014).

Levantamentos etnobotânicos realizados na região do Mato Grosso do Sul despertam o interesse científico para espécie do gênero *Bidens* de ocorrência no Estado, a *Bidens gardneri* Baker (*B. gardneri*), conhecida como picão-vermelho, a qual é utilizada como planta medicinal pela população local como anti-inflamatório e diurético, inclusive para o tratamento da diabetes (PEREIRA et al, 2007). As espécies do gênero *Bidens* são utilizadas popularmente e algumas ações biológicas já foram comprovadas cientificamente na literatura, principalmente com relação a espécie *Bidens pilosa* L., conhecida como picão-preto, sendo esta a espécie com mais estudos do gênero, inclusive relatos com potencial antidiabético (TROJAN-RODRIGUES et al., 2011).

O extrato de algumas espécies do gênero *Bidens* foram avaliadas e observou-se atividades antioxidantes e antidiabéticas relacionadas a presença de flavonoides e poliacetilenos (SILVA, 2011). No entanto, do ponto de vista químico e farmacológico, outras espécies nativas do Brasil são praticamente desconhecidas, destacando-se neste contexto a espécie *B. gardneri* (CARIBÉ; CAMPOS,1991). Desta forma este estudo tem como objetivo estudar os efeitos hipoglicemiantes e antioxidantes da *B. gardneri*, contribuindo cientificamente com informações.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Homeostasia da Glicose

Processos bioquímicos e fisiológicos estão associados à manutenção da homeostasia do organismo humano. Alterações nesse equilíbrio são percebidas e vários sistemas são ativados, incluindo o sistema endócrino, a fim de restabelecer o estado de homeostasia. Em resposta a uma má alimentação ocorre um processo que pode levar a uma série de doenças: obesidade, problemas cardiovasculares e da hipoglicemia ao diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (GELONESE; LAMOUNIER; COELHO, 2006).

A glicemia após uma refeição está relacionada com a taxa de digestão consumida de carboidratos. No organismo o amido dietético é digerido no intestino delgado pela ação da

α amilase, gerando dissacarídeos e oligossacarídeos, que ainda são hidrolisados por α glicosidase para produzir monossacarídeos. Inibidores da α -glucosidase mostram ser eficazes na hiperglicemia pós-prandial, limitando a absorção de glicose e a resposta à insulina. (OH et al., 2015). As enzimas intestinais capazes de hidrolisar a sacarose e maltose estão presentes na escova do intestino e são translocadas para a superfície da célula estando envolvidas também na digestão de açúcares e amido. Pacientes diabéticos tipo 2 têm aumentado os níveis dessas α -glicosidase que potencialmente aumenta a taxa de açúcar digestão e absorção e agrava o problema, tornando-se um alvo interessante para a inibição (PYNER, 2017).

Toda alteração de glicemia é detectada pelas células β , iniciando automaticamente o controle da secreção de insulina e captação ou liberação de glicose hepática (MACHEDA, et al., 2005). As células β pancreáticas produtoras de insulina são responsáveis pela manutenção da homeostase glicêmica fisiológica, sendo o regulador primário a resposta da elevação nas concentrações de glicose circulante após uma refeição. No entanto, a ação única da célula β para às mudanças crônicas na glicemia tem revelado uma adaptação da célula para produzir insulina dependendo da necessidade do metabolismo, associado com o transportador do pâncreas de glicose de membrana plasmática GLUT2, facilitando detecção de concentrações de glicose circulante (BOLAND; RHODES; GRIMSBY, 2017).

Quando a glicose entra nas células beta das ilhotas pela via GLUT2, é fosforilada para formar glicose-6-fosfato, sendo o passo limitante da taxa deste processo, a insulina liberada esta envolvida diretamente na homeostasia da glicose, no momento que há a presença elevada de glicose, a insulina é secretada das células as células β pancreáticas com característica bifásica(OHNEDA,1993). A primeira fase é rápida, as vesículas contendo grânulos de insulina são liberadas. Se a concentração de glicose permanecer elevada, a segunda fase é observada, tem uma durabilidade estendida. Nesta, os sinais para secreção de insulina são amplificados, levando ao recrutamento de vesículas localizadas no citoplasma da célula β pancreática e ativação da síntese do próprio hormônio (POSTAL, 2015). Homeostase de glicose do organismo baseia-se principalmente na capacidade das células β do pâncreas para regular a secreção de insulina em resposta a alterações na concentração de glicose no sangue. Quando secretada pelas células β das ilhotas pancreáticas regula a glicose em vários níveis, reduzindo a produção hepática de glicose (via diminuição da gliconeogênese e glicogenólise) e aumentando a captação periférica de glicose, principalmente nos tecidos muscular e adiposo (CARVALHIERA; ZECCHIN; SAAD, 2002; KITAMOTO, 2017).

Embora a glicose seja o principal mediador da secreção de insulina, uma variedade de outros fatores e macromoléculas podem contribuir para homeostase da glicose, como o peptídeo

semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), um hormônio encontrado no intestino, secretado pelas células L no íleo terminal, cólon e do reto. GLP-1 quando combinado com receptores específicos é capaz de promover a síntese e secreção de insulina nas células β (NIU et al., 2017). As células α produzem glucagon em resposta a níveis baixos de glicose no sangue, logo em seguida, o glucagon estimula o fígado para conversão de glicogênio em glicose. Consequentemente, o fígado libera glicose no sangue mais rapidamente, elevando os níveis glicêmicos em pessoas saudáveis, a ação do glucagon é de estimular a produção de glicose pelo fígado (CARLOS et al., 2014).

Quando há um aumento fisiológico da glicemia, o pâncreas produz uma quantidade maior de insulina, suprimindo a produção de glucagon e, consequentemente, reduz a produção hepática de glicose. De outro modo, há aumento na captação da glicose pelo músculo e tecido adiposo pela ativação da GLUT-4 (GELONESE; LAMOUNIER; COELHO, 2006).

A concentração de insulina e glucagon tem sido associada a síntese e a degradação, respectivamente, de glicogênio no fígado e músculos, portanto o glicogênio é uma das principais fontes de energia para o funcionamento adequado do metabolismo humano (COSTA, 2008). O glicogênio é distinto nos tecidos muscular e hepático; o glicogênio muscular é importante apenas para o músculo, metabolizado nesse local para fornecer energia para a contração muscular, enquanto o glicogênio hepático tem por função regular a glicemia e fornecer substrato energético para outros tecidos (CARLOS, 2014).

2.2 Diabetes Mellitus

Essa patologia é definida como uma desordem metabólica crônica caracterizada pelos altos níveis de glicose no sangue, resultado da insuficiência de secreção de insulina, também conhecida ou por defeitos na ação e secreção da insulina e na regulação da produção hepática de glicose (EZURUIKE; PRIETO, 2014). É classificada principalmente em três categorias: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e diabetes gestacional. Diabetes tipo 1 é uma doença autoimune caracterizada por destruição das células beta pancreáticas. Na diabetes tipo 2, existe uma resistência à insulina e da disfunção das células beta, fortemente associada à obesidade e a um estilo de vida sedentário. A diabetes gestacional é definida como uma alteração no metabolismo dos carboidratos, resultando em hiperglicemia diagnosticada na gestação (FERREIRA et al., 2011; DIRETRIZES SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016; JACOB et al., 2014).

A DM foi descoberta pelo médico grego, Aretaeus of Cappadocia (30-90 dC), o qual descreveu pela primeira vez esta doença relatando os sintomas, como sede constante (polidipsia), micção excessiva (poliúria) e perda de peso, que ainda são verdadeiras hoje em dia (YANG, 2014).

A Federação Internacional de Diabetes, relata que aproximadamente 415 milhões de pessoas serão acometidas por DM no mundo até 2040. Cerca de 75% das pessoas com diabetes vivem em países em desenvolvimento, nos quais se alimentam a base de dietas pouco saudáveis e estilos de vida sedentários, promovendo o desenvolvimento de diabetes tipo 2 (LI; YAO; LI, 2016).

Segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2016), a evolução do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) passa por estágios que recebem a denominação de glicemia de jejum alterada e tolerância à glicose diminuída. Esses estágios são provenientes de uma combinação de resistência à ação insulínica e disfunção de célula β .

O critério para o diagnóstico da Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), compreende na glicemia casual aquela realizada a qualquer hora do dia, independentemente do horário das refeições, glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl (7 mmol/dl). Em caso de pequenas elevações da glicemia, o diagnóstico deve ser confirmado pela repetição do teste em outro dia, glicemia de 2 h pós-sobrecarga de 75 g de glicose ≥ 200 mg/dl denominado teste de tolerância à glicose deve ser feito com os cuidados preconizados pela OMS, com coleta para diferenciação de glicemia em jejum e 120 min após a ingestão de glicose. Sabe-se que a diabetes tem se tornado um problema de saúde pública trazendo altos custos a identificação precoce da hiperglicemia e seu controle constitui um potencial terapêutico para a prevenção das complicações crônicas do diabetes (GELONEZE; LAMOUNIER; COELHO, 2006).

A atividade física é considerada um dos pilares do tratamento da DM tipo 2. O resultado do exercício físico no controle glicêmico se faz pelo efeito sensibilizador à insulina dos exercícios, e pelo estímulo à captação de glicose independentemente da ação insulínica (LARSEN et al., 1999). A dieta pode ser utilizada também na forma de tratamento com a ingestão de fibras solúveis, pela sua viscosidade e capacidade de retardar a absorção de carboidratos, melhorando a glicemia pós-prandial (HU; WILLET, 2002).

A terapia por meio de dieta e exercícios pode prevenir a progressão da diabetes. No entanto, no diabetes agravado, com a evolução da doença há a necessidade de associar agentes farmacológicos para manter o estado pós-prandial dentro de limites da normalidade (COSTA,

2008). Cada classe de antidiabéticos atua por vias biológicas diferentes, proporcionando as desvantagens e os benefícios potenciais de classe (YAO et al., 2011).

Dos hipoglicemiantes orais, a classe das biguanidas são as mais estudadas, esta classe aumenta a sensibilidade à insulina em pacientes com DM2 diminuindo a produção hepática de glicose e aumentando a absorção de glicose no músculo. Já as tiazolidinedios (TZDs) aumentam a sensibilidade à insulina através da ativação de receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR γ) (VIANNA; SANCHES; BARRETO, 2017). A classe das sulfonilureias atua como secretagogos de insulina por ligação a superfície de células β pancreáticas e, assim, estimulando a exocitose de insulina, a classe do Peptídeo insulínico dependente de glicose do intestino e o glucagon peptídeo 1 e 2 (GLP-1 e GLP2), hormônios liberados no duodeno e jejuno proximal e no L-células localizadas no íleo distal e cólon, respectivamente, os hormônios são secretados apenas após a ingestão de alimentos estimulando a liberação da insulina das células β (MORTENSEN, 2003).

Além dos hipoglicemiantes orais há também o tratamento à base de insulino terapia, tratamento com a reposição insulínica (PIRES; CHACRA, 2007). A insulina regular a base de insulina humana possui o início de ação 30 minutos, também pode ser associada com a de ação intermediária. Insulina intermediária é representada pela de insulina lenta e insulina humana recombinante (NPH) com início de ação entre 1 e 2 horas, elas podem ser misturadas na mesma seringa para facilitar a adesão da insulino terapia (MORTENSEN, 2003).

2.3 Estresse Oxidativo

A oxidação é parte fundamental do nosso metabolismo, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente, esses radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular e síntese de substâncias biológicas importantes, no entanto, seu excesso apresenta efeitos prejudiciais (BARREIROS; DAVID, 2005).

Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, podendo proteger o corpo humano contra os danos causados pelos radicais livres (ALMEIDA, 2006). Esses interceptam radicais livres gerados pelo metabolismo ou fontes endógenas, impedindo ataque e evitando a formação de lesões e perda de integridade celular, podem ainda reparar as lesões causadas, reconstituindo as células danificadas (ROCHA, 2006). A classificação mais

utilizada para estas substâncias é dividida em dois sistemas, o enzimático, composto por enzimas produzidas no organismo, e o não enzimático, sendo as vitaminas da dieta (VASCONCELOS, et al., 2014). Os principais antioxidantes presentes nos vegetais são as vitaminas C, E, os carotenóides e os compostos fenólicos, em particular os flavonoides. Esses antioxidantes absorvem radicais livres e interrompem a cadeia de transmissão das reações oxidativas promovidas pelos radicais (PODSEDEK, 2007).

Atualmente, os alimentos funcionais, estão sendo cada vez mais procurado pela população motivados pelas suas propriedades benéficas para a saúde e as ervas tornaram-se uma fonte promissora de antioxidantes naturais (XIAO et al., 2017).

A elevação dos níveis glicêmicos pode gerar complicações secundárias conhecidas como síndrome diabética ocasionada por um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio causando estresse oxidativo, uma vez que as células β pancreáticas estão sofrendo sobrecarga de glicose tornam-se mais vulneráveis ao ataque de radicais livres (VASCONCELOS et al., 2007).

As complicações vasculares do DM são as principais causas de morbimortalidade. A hiperglicemia crônica conduz aos danos celulares e teciduais, a formação dos produtos de glicação avançada, também chamados AGEs (do inglês, Advanced Glycated End-Products), é considerada uma das mais importantes agentes que produz esse tipo de dano tecidual. Os AGEs promovem, respectivamente, estresse oxidativo, alterações morfofuncionais e aumento da expressão de mediadores inflamatórios (BARBOSA, et al., 2008). O efeito patológico dos AGEs está relacionado à capacidade destes compostos de modificar as propriedades químicas e funcionais das células (JUNIOR, 2014).

A hemoglobina glicada é conhecida como um produto de Amadori, quando gerado possui grupos carbonilas, que se condensam com grupos aminas primários, dando origem aos produtos avançados – AGEs (BARBOSA, et al., 2008). Os indivíduos diabéticos apresentam concentrações séricas de AGEs, assim a mensuração da hemoglobina glicada (HbA1C), que carrega um produto da Amadori em sua cadeia β , reflete a ocorrência de hiperglicemias nos últimos três meses (BEM; KUNDE, 2006).

2.4 Plantas Medicinais

Plantas medicinais são consideradas plantas que administradas podem exercer alguma ação terapêutica. O tratamento com uso de plantas medicinais em suas diferentes formas

farmacêuticas, sem a utilização de princípios ativos isolados, é definido como fitoterapia (FIRMO et al., 2011). O uso de produtos naturais, com fins medicinais, foi encontrado já em civilizações antigas, considerada uma prática empregada pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007). No uso popular já foram encontrados inúmeras plantas no tratamento para diabetes cientificamente avaliados para o tratamento. Entre eles, *B. pilosa* é comumente usado como alimento e remédio, dados tem demonstrado o potencial desta planta e compostos ativos no tratamento embasado no mecanismo antidiabético (LI; YAO; LI., 2016).

Alguns metabólitos presentes nas plantas medicinais são os responsáveis pelas atividades de cada uma, esses compostos podem adquirir a capacidade de proteção contra os efeitos do estresse oxidativo associado à hiperglicemia crônica (RAMAKRISHN et al., 2017). Os fenólicos são compostos com potente atividade antioxidante e também mostraram uma atividade inibitória contra amilase e glucosidase. Alimentos ricos em compostos fenólicos e flavonóides como parte de dietas auxiliam na hiperglicemia crônica e do estresse oxidativo (SARKAR; SHETTY, 2014).

2.4.1 *Bidens gardneri*

Bidens gardneri pertencente à família Asteraceae (HSU, 2008). Família Asteraceae ocupa um lugar em pesquisas devido suas características aromáticas e alta diversidade fitoquímica, já foram encontradas atividades hipoglicêmicas atribuídas a flavonóides presentes nas espécies dessa família como *Bidens pilosa* e *Bidens tripartita*, sendo frequentemente mencionadas para uso com diabetes (TROJAN-RODRIGUES, 2011; HSU, et al., 2009; ORHAN, et al., 2016).

Algumas espécies deste gênero são descritas no Brasil e são conhecidas popularmente como picão, em virtude da característica pegajosa de suas sementes. *B. subalternans*, conhecida como picão-do-campo, e *B. gardneri*, conhecida como picão-vermelho, são utilizadas popularmente na forma de chás como depurativas do sangue e para o tratamento de diversas doenças (diabetes, anemia, hepatite) (BRATTI et al, 2013; PEREIRA et al, 2011; BIANCO, E.M.; SANTOS, C.A.M., 2003).

O picão vermelho é caracterizado por possuir efeitos na aplicação da medicina caseira e comprovação biológica para ação diurético, antioxidante e anti-inflamatório (SILVA, 2013), encontrada principalmente em cerrado típico e frequente em áreas perturbadas e bordas de cerrado (JULIO, 2009). O picão-vermelho (*B. gardneri*) é uma erva ereta e pouco ramificada, com cerca de um metro de altura; suas folhas são simples e alternas e apresenta flores tubulares reunidas em capítulos radiados, com flores do raio apresentando coloração que varia do laranja ao vermelho (REIS, 2015). Estudos encontraram grande quantidade de flavonas e terpenos (SILVA, 2013).

3 OBJETIVOS

GERAL

Avaliar a potencial atividade antidiabética do extrato aquoso das folhas de *B.gardneri* Baker, através de modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*.

ESPECÍFICOS

Análise fitoquímica do EABG;

Avaliar o potencial antiglicação pelos testes (BSA)/glicose;

Verificar o efeito do extrato aquoso das folhas de *B. gardneri* Bak. na glicemia de animais normoglicêmicos no TOTG.

Verificar o efeito do extrato aquoso das folhas de *B. gardneri* Bak. na glicemia de animais diabéticos induzidos com aloxano por um período crônico de tratamento por via oral;

Verificar o efeito do extrato aquoso das folhas de *B. gardneri* Bak. na glicemia de animais hiperglicêmicos induzidos a resistência insulínica através de dieta hipercalórica e

Estudar o efeito do extrato aquoso no conteúdo de glicogênio hepático e muscular em ratos hiperglicêmicos e diabéticos;

Determinar o efeito do extrato nas atividades das dissacaridases, incluindo sacarase, maltase e lactase;

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, J.M. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante Utilizando Sistema β Caroteno/Ácido Linoléico e Método de Seqüestro de Radicais DPPH. **Ciências de Tecnologia Alimentos**, v 2, n.26 p. 446-452, 2006.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of Medical Care in Diabetesd. **Journal of clinical and applied research and education**. v.39. p.60-137. 2016.
- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacoly**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ARAUJO, C.R.F. *et al.* Tradição Popular do Uso de Plantas Medicinais: Ação Extensionista Sobre Crenças, Uso, Manejo e Formas de Preparo. **Revista Saúde e Ciência**, v 4, n 3, p. 5559, 2015.
- BARBOSA, J. H. P; OLIVEIRA, S. L; SEARA, L.T. O Papel dos Produtos Finais da Glicação Avançada (AGEs) no Desencadeamento das Complicações Vasculares do Diabetes. **Arq Bras Endocrinologia Metabolismo**. v.52, n.6, p.940-950, 2008.
- BARREIROS, A. L. B; DAVID, J. M., Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v 29, n. 1, p 113-123, 2005.
- BEM. A. F; KUNDE, J. A importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento das complicações diabetes *mellitus*. **Jornal Brasileiro Patologia Medica Laboratório**. v. 42, n. 3, p. 185-191, 2006.
- BIANCO, E.M.; SANTOS, C.A.M. Substâncias isoladas das folhas de *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr. (Caesalpiniaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p.93-99, 2003.
- BOLAND, B.B; RHODES,C.J; GRIMSBY, J.S. The dynamic plasticity of insulin production in b-cells. **Molecular Metabolism**, v. 9, n.6, p. 958-973, 2017.
- BRATTI, C., et al. Levantamento de Plantas Medicinais Nativas da Fazenda Azulão em Dourados-MS. **Rev. Brasileira Plantas Medicinai**s. v.15, n.4, supl.I, p.675-683, 2013.
- CARIBÉ, J.; CAMPOS, J. M. Plantas que agridem o homem: guia prático para a época atual. **Cultrix Pensamento**, v. 8, (Supl.), p. 319, 1991.
- CARLOS, C.S. et al. Glicogenoses: Uma Revisão Geral. **Biosciencia**, v. 30, n. 5, p. 15981605, 2014.

CARVALHEIRA, J.B.C; ZECCHIN,H.G; SAAD, M.J.A. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivo Brasileiro de endocrinologia e Metabolismo**. v.46, n.4, p.419-425, 2002.

COSTA, E.S. et al. Metformina Interage com o Treinamento Físico Diminuindo a Glicemia e Aumentando o Armazenamento de Glicogênio em Ratos Diabéticos. **Revista Brasileira Medicina Esporte**, v. 14, n. 4 p. 337-340, 2008.

CHERUBINI, V. et al. Premeal insulin treatment during basal-bolus regimen in young children with type 1 diabetes. **DIABETES CARE**. v.29, n. 10, p. 2311–2312, 2006.

EZURUIKE, U.F; PRIETO, J.M. The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeri Pharmacological and toxicological considerations. **Rev.Journal of Ethnopharmacology**, v. 11, n. 2, p. 857-924, 2014.

FERREIRA, L.T. *et al.*, Diabetes melito: hiperglicemia crônica e suas complicações. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, v.36, n. 3, p. 182-8, 2011.

FIRMO, W. C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de pesquisa**, v.18, n. especial, p.90-95, 2011.

GELONEZE, B.; LAMOUNIER,R.N.; COELHO,O.R. Hiperglicemia Pós-Prandial: Tratamento do seu Potencial Aterogênico Postprandial Hyperglycemia: treating its Atherogenic Potential. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 87, (Supl.), p.604-613, 2006.

HSU. Y.J. et al. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. **Journal Ethnopharmacology**, v.87, n.5 2008.

HU FB, WILLET WC. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. **JAMA** v.288, n.20, p. 2569-2578, 2002.

JACOB,T.A et al. Diabetes *Mellitus* gestacional: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**. v.6, n.2, p.33-37, 2014.

JULIO, P.G.S.; OLIVEIRA, D.M.T., Morfoanatomia comparada e ontogênese do pericarpo de *Bidens gardneri* Baker e *B. pilosa* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira Botanica**, V.32, n.1, p.109-116, 2009.

JUNIOR, J.P.L. **Produtos finais de glicação avançada fluorescentes (ages-f) e polimorfismos dos genes *mif*, *mtnr1b* e *cdkall* no diabetes gestacional**. 2014. Dissertação(Mestrado em farmácia)- Universidade Federal do Paraná Centro de Ciências da Saúde, Curitiba.

KITAMOTO,T. et al., Distinct roles of systemic and local actions of insulin on pancreatic β -cells. **Metabolism Clinical and Experimental**. v.18, p. 0026-0495, 2017.

- LARSEN. J.J; DELA. F; KJAER. M; GALVO. H., The effect of intense exercise on postprandial glucose homeostasis in type 2 diabetic patients. **Diabetologia**, v. 42, n.11, p.1282-1292, 1999.
- LI, H; YAO, Y; LI, L. Coumarins as potential antidiabetic agentes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.69, n.10, p. 1253-1264, 2017.
- MACHEDA, M.L., ROGERS, S.BEST, J.D. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. **Journal of cellula physiology**, v.202, n.3, p. 654662, 2005.
- MORAES, S.A. et al. Prevalência de diabetes mellitus e identificação de fatores associados em adultos residentes em área urbana de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, 2006: Projeto OBEDIARP. São Paulo: **Cadernos de Saúde Pública**, v.26, n.5, p.929-941, 2010.
- GAAL, L.F.V. et al. Exploiting the antidiabetic properties of incretins to treat type 2 diabetes mellitus: glucagon-like peptide 1 receptor agonist or insulin for patients with inadequate glycemic control?. **European Journal of Endocrinology**, v.158, p. 773–780, 2008.
- NIU, B. et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist exendin-4 protects against interleukin1 β -mediated inhibition of glucose- stimulated insulin secretion by mouse insulinoma β cells. **Experimental and therapeutic Medicine**, v.14, n.3, p.2671-2676, 2017.
- OH, J. et al. Selected Tea and Tea Pomace Extracts Inhibit Intestinal α -Glucosidase Activity *in Vitro* and Postprandial Hyperglycemia *in Vivo*. **Molecular Sciences**, v.88, n.4, p. 11-25, 2015.
- ORHAN, N. et al. Anti-hyperglycaemic and antioxidant effects of *Bidens tripartita* and quantitative analysis on its active principles. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, n.10, p. 1114-1124, 2016.
- OHNEDA, M. *et al.*, GLUT-2 Function in Glucose-unresponsive β Cells of Dexamethasoneinduced Diabetes in Rats. **Jornal da investigação clínica**, v.92 ,n.4, p. 1950-1956, 1993.
- PEREIRA, Z.V. *et al.* Levantamento das Plantas Medicinais do Cerrado Sensu Stricto da Fazenda Paraíso – Dourados, MS. **Revista Brasileira de biociências**. v. 5, supl. 1, p. 249251, 2007.
- PEREIRA, D. F. et al. Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition**. v. 27, n. 11, p. 1161-1167, 2011.
- PIRES, A.C; CHACRA, A.R. A Evolução da Insulinoterapia no Diabetes Melito Tipo 1. **Arq. Endocrinologia Metabolismo**. v.52, n.2, p.268-278, 2007.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Sci. Technol**, v. 40, p. 1-11, 2007.
- POSTAL, B.G. **Caracterização do efeito e de vias de Sinalização de compostos presentes em ilex paraguariensis st. Hil. Envolvidas na homeostasia da Glicose**. 2015. Dissertação(Mestrado em farmácia)- Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Ciências da Saúde, Florianópolis.

PYNER, A; SILAVWE,H.N; GARY,W. Inhibition of Human and Rat Sucrase and Maltase Activities To Assess Antiglycemic Potential: Optimization of the Assay Using Acarbose and Polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.65, p.8643–8651, 2017.

RAMAKRISHNA. R. et al. Improving phenolic bioactive-linked anti-hyperglycemic functions of dark germinated barley sprouts (*Hordeum vulgare* L.) using seed elicitation strategy. **Association of Food Scientists & Technologists**, v.54, n.11, p. 3666-3678, 2017.

REIS, C.D., Controle de Qualidade de Amostras de *Bidens Pilosa* Comercializadas no Município de Palmas Tocantins. 2015. 48f. Monografia (graduação)- Centro Universitário Luterano de Palmas, Tocantins.

ROCHA, F.D. *et al.* Diabetes mellitus e estresse oxidativo: produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. **Rev. Brasileira de farmácia**, v.87, n.2, p.49-54, 2006.

SARKAR, D; SHETTY, K. Metabolic stimulation of plant phenolics for food preservation and health. **Annu Rev Food Sci Technol**. v. 5, p.395–413, 2014.

SBD-SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014/Sociedade Brasileira de Diabetes** ; [organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio]. – São Paulo: AC Farmacêutica, 2016.

SHAHEEN, H. et al. Rural communities of Pearl Valley; Rawalakot, District Poonch Azad Jammu and Kashmir. **Plos One**, v.12, n.9, p. 2 017.

SILVA, D.B. et al. Flavanone glycosides from *Bidens gardneri* Bak. (Asteraceae). **Rev. phytochemistry**, v.96, (Supl.), p. 418-422 2013.

SILVA, F. L. *et al.* Compilation of Secondary Metabolites from *Bidens pilosa* L. **Rev. Journal molecules**, v.16, n.2, p. 1070-1102, 2011.

SOUZA, B.V.C. et al. *Bauhinia forficata* in the treatment of diabetes mellitus: a patent review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**. v.2, p. 129-138, 2017.

TROJAN, M.R. *et al.* Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Rev. Journal of Ethnopharmacology**, v.139, n.1, p.155-163, 2011.

VASCONCELOS, S.M.K. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n.5, p. 1323-1338, 2014.

VIANNA, A.G.D; SANCHES, C.P; BARRETO, F.C. Review article: effects of type 2 diabetes therapies on bone metabolism. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v.75, n. 9, p.111, 2017.

XIAO, X. et al. DPPH Radical Scavenging and Postprandial Hyperglycemia Inhibition Activities and Flavonoid Composition Analysis of Hawk Tea by UPLC-DAD and UPLCQ/TOF MS^E. **Journal Molecules**, v.22, (Supl.), p. 2017.

YANG, W.C. Botanical, Pharmacological, Phytochemical, and Toxicological Aspects of the Antidiabetic Plant *Bidens pilosa* L. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.128, p.1-14, 2014.

YAO, Y. et al. A Determination of Potential α -Glucosidase Inhibitors from Azuki Beans (*Vigna angularis*). **Molecular Sciences**, v.10, n.12, p. 6445-6451, 2011. **5 APÊNDICES Artigo 1 a ser submetido na “Journal of Ethnopharmacology” (Qualis A2) Link com as normas da revista: [https://www.elsevier.com/journals/journal-of-](https://www.elsevier.com/journals/journal-of-ethnopharmacology/0378-8741/guide-for-authors)**

[ethnopharmacology/0378-8741/guide-for-authors](https://www.elsevier.com/journals/journal-of-ethnopharmacology/0378-8741/guide-for-authors)

Potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri* Baker Antidiabetic potential of *Bidens gardneri* Baker aqueous extract

RESUMO

Bidens gardneri Baker tem sido tradicionalmente usada como uma planta medicinal para o tratamento de Diabetes *mellitus*. No entanto, faltam evidências sobre os benefícios e mecanismos. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antidiabético do extrato aquoso das folhas de *B.gardneri* (EABG). Avaliamos o potencial antiglicação pelo teste (BSA)/glicose e após 14 dias e 28 dias de incubação foram realizadas as leituras em um fluorímetro para quantificar os produtos da glicação avançada (AGEs). Quantificação do conteúdo de fenóis, flavonoides, flavonol e taninos. Identificação dos compostos por cromatografia líquida de alto desempenho. Realizou-se o teste oral de tolerância à glicose em ratos com diferentes doses (30 mg/kg, 100 mg/kg e 300 mg/kg). Animais diabéticos induzidos com aloxano receberam uma dose diária de EABG (300 mg/kg V.O.) durante 10 dias. Os níveis de glicemia foram utilizados para avaliar seus efeitos antidiabéticos. Animais resistentes a insulina foram induzidos com uma dieta hipercalórica durante 14 semanas associado ao tratamento com dose diária de EABG (300 mg/kg V.O) no período de 10 semanas. Após os animais serem submetidos a eutanásia foram determinados a atividade das dissacaridases intestinais (maltase, sacarase e lactase) e quantificação do conteúdo de glicogênio muscular e hepático. Na quantificação de metabólitos o ácido 4-O-caffeoilquínico foi o composto majoritário. O extrato apresentou potencial de inibição na formação de AGEs. O estudo mostrou que o EABG aumentou a concentração de glicogênio hepático e muscular e inibiu as enzimas intestinais sacarase e lactase em animais normoglicêmicos. No TOTG a dose de 300mg/kg do EABG foi a que demonstrou o melhor efeito na diminuição da glicemia dos animais, com um efeito parecido do medicamento glibenclamida. Nos animais diabéticos, uma dose diária de EABG durante 10 dias diminuiu significativamente os níveis de glicose no sangue, prevenindo a perda de peso, aumentou o conteúdo de glicogênio muscular e inibiu a atividade das enzimas intestinais. Além disso, dos animais resistentes a insulina o extrato preveniu o aumento da glicemia, aumentando o conteúdo de

glicogênio muscular e inibindo a atividade das enzimas intestinais. Nossos resultados sugerem que o extrato aquoso de *Bidens gardneri* apresenta potencial para o tratamento da diabetes.

Palavras-chave: Glicação, Diabetes Mellitus, Antioxidante.

a b s t r a c t

Bidens gardneri Baker has been traditionally used as a medicinal plant for the treatment of Diabetes mellitus. However, there is a lack of evidence on the benefits and mechanisms. This study aimed to evaluate the antidiabetic effect of *B. gardneri* (EABG) leaves aqueous extract. We evaluated the potential anti-glycation by the test (BSA) / glucose and after 14 days and 28 days after incubation were carried out the readings in a fluorimeter to determine the formation of Advanced Glycation End-products (AGEs). the content of phenols, flavonoids, flavonol and tannins were quantified. We identified the compounds by high performance liquid chromatography. The oral glucose tolerance test was performed in rats at different doses (30 mg / kg, 100 mg / kg and 300 mg / kg). Diabetic animals induced with alloxan received a daily dose of EABG (300 mg / kg V.O.) for 10 days. Blood glucose levels were used to assess their antidiabetic effects. Insulin-resistant animals were induced with a hypercaloric diet for 14 weeks associated with treatment of daily dose of EABG (300 mg / kg V.O) over the 10-week period. After the animals were submitted to euthanasia, the activity of intestinal disaccharidases (maltase, sucrase and lactase) and quantification of the muscular and hepatic glycogen contents were determined. In the quantification of metabolites 4-O-caffeoylquinic acid was identified as the major compound. The extract presented potential of inhibition in the formation of advanced glycation products (AGEs). The study showed that EABG increased the concentration of hepatic and muscular glycogen and inhibited intestinal sucrase and lactase enzymes in normoglycemic animals. In the TOTG the dose of 300mg / kg of the EABG was the one that demonstrated the best effect in the decrease of the glycemia of the animals, besides having an effect similar to the drug glibenclamide. . In diabetic animals a daily dose of EABG given once daily for 10 days significantly lowered blood glucose levels, prevented weight loss, increased muscle glycogen content and inhibited the activity of intestinal enzymes. In addition, of the insulin-resistant animals, the extract prevented the increase of glycemia, increasing the muscle glycogen content and inhibiting the activity of the intestinal enzymes. Our results suggest that the aqueous extract of *Bidens gardneri* presents potential for the treatment of diabetes.

Keywords: Glycation, Diabetes Mellitus, Antioxidant.

Introdução

Diabetes mellitus (DM) é considerada um distúrbio endócrino caracterizado por hiperglicemia, ocasionada pelos níveis elevados de glicose no sangue resultantes a insuficiência de secreção de insulina ou resistência à insulina (Madhuri, 2017). Diabetes se tornou a terceira causa de morte, após câncer e doenças cardiovasculares (Oh, 2015). A hiperglicemia crônica

esta associada ao risco de doença cardiovascular e aos danos oxidativos. Na DM2, órgãos como fígado, músculo e adipócitos desenvolvem resistência à insulina (Kasangana, 2017).

A absorção de glicose nos tecidos periféricos acontece nos músculos e adipócitos desempenhando papel na manutenção da glicose corporal (DeFronzo, 2004). O aumento abusivo de glicose pode gerar complicações secundárias conhecida como síndrome diabética, ocasionada por um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio causando estresse oxidativo. Portanto, a descoberta de novos medicamentos para o diabetes ainda é necessária (Al-Rasheed et al., 2017).

As plantas medicinais são as mais antigas no tratamento empregado pelo homem nas enfermidades de todos os tipos. Entre elas, *Bidens gardneri* Baker pertencente à família Asteraceae, tem sido usada para tratar diabetes em diferentes regiões do mundo (Damasceno, 2007; Queiroz et al., 2006; Pereira et al, 2007). As espécies do gênero *Bidens* são utilizadas popularmente e algumas ações etnofarmacológicas já foram comprovadas cientificamente na literatura, principalmente com relação a espécie *Bidens pilosa* L., conhecida como picão-preto, a qual é a espécie com mais estudos químicos e farmacológicos, inclusive relatos com potencial antidiabético (TROJAN-RODRIGUES et al., 2011).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antidiabético do extrato aquoso das folhas da *Bidens gardneri* BAK através dos testes de tolerância à glicose, indução por aloxano e dieta hipercalórica.

2. Materiais e Métodos

2.1. Coleta do material vegetal e preparação dos Extratos

As folhas de *B. gardneri* foram coletadas no assentamento lagoa grande, Ithaum, Mato Grosso do Sul, Brasil, sob as coordenadas geográficas: 21°59'52,75" e 55°20'21,85" a espécie vegetal foi identificada pela Prof^a Dr^a Zefa Valdivina Pereira e está registrada no herbário da Universidade Federal da Grande Dourados sob o registro nº 5560. As folhas de *B. gardneri* foram secas em estufa a 40°C durante 4 dias e trituradas. O material vegetal foi submetido à extração através de infusão (15 min, 90°C, 1:5, m:v, 11,63% de rendimento). Após

arrefecimento, o extrato aquoso foi filtrado e liofilizado resultando no extrato bruto aquoso. O extrato foi armazenado a -20°C até à sua utilização.

Testes *in vitro*

2.2. Conteúdo total de fenol

O extrato aquoso de *B.gardneri* (1 g / L), foi dissolvido em metanol (1 g / L), onde 100 μL de solução foram misturados com água destilada (1,0 mL) e 0,5 mL de reagente de folinciocaleu (1:10 hgv / v). Finalmente, adicionou-se solução de carbonato de sódio (2%, 1,50 mL) a um tubo de ensaio e agitou manualmente durante 30 minutos, com intervalos. A absorbância foi medida a 765 nm utilizando um espectrofotómetro. A concentração fenólica total é expressa como equivalente de ácido gálico (GAE) em mg por grama de extrato (Lin et al., 2007), utilizando a curva de calibração com ácido gálico.

2.3. Conteúdo total de flavonoides

O extrato aquoso *B. gardneri* (1 g / L), foi misturado com etanol (95%, 1,50 mL), cloreto de alumínio (10%, 0,10 mL), acetato de sódio (1 M, 0,10 mL) e água destilada (2,80 mL) em um tubo de ensaio. Em seguida, a mistura foi incubada durante 40 min. A absorbância foi medida a 415 nm utilizando um espectrofotómetro. Para calcular a concentração de flavonoides, uma curva de calibração usando quercetina foi realizada como padrão, e a concentração de flavonoides é expressa como equivalentes de quercetina (QE) em mg por grama de amostra (Lin et al., 2007).

2.4. Conteúdo total de flavonol

Adicionou-se um extrato aquoso *B. gardneri* (1 g / L), AlCl_3 (2%) e acetato de sódio (3 mL, 50 g / L) em um tubo de ensaio. A mistura foi agitada e incubada durante 2,5 h a 20°C . A absorbância foi registrada a 440 nm (Maxson e Rooney, 1972) em um espectrofotômetro. O flavonol total é expresso como mg de equivalentes de quercetina por grama de peso seco (mg

QE / g de amostra), utilizando a mesma curva de calibração para flavonoides.

2.5. Conteúdo total de Tanino

A concentração de tanino foi medida pela reação da vanilina, de acordo com o método de Broadhurst e Jones (1978), adaptado por Agostini-Costa et al. (1999). Em que foram adicionados 5 ml de vanilina, reagente preparado recentemente a cada tubo de ensaio (em cinco vezes). Os tubos de ensaio foram pré-aquecidos em banho de água a 30 ° C durante 30 min. Em seguida, foram adicionados 1 ml de extrato aquoso (1 g / L) de *B. gardneri* a cada tubo foi submetido a vórtice durante 30 segundos. A reação foi mantida a 30 ° C durante 20 minutos e a absorbância foi registrada a 510 nm dentro de um período máximo de 1 hora. A quantificação foi feita por meio da curva de calibração externa, usando a catequina como padrão e os resultados são expressos em mg de catequina equivalente (EAC) por 1 g de amostra.

2.6. Análise fitoquímica

Os compostos foram identificados por cromatografia líquida de alto desempenho (Acquity-UPLCTM) acoplada a um detector de matriz de fotodiodo (PDA) e um espectrômetro de massa de alta resolução (Xevo® G2 QToF modelo - WATERS®) equipado com uma fonte de ionização electrospray Funcionamento (ESI) no modo positivo. a separação cromatográfica foi realizada usando uma coluna de Synergi™ (Phenomenex®-identificação 4 µm, 150 x 2.0 mm) a 40 ° C e o volume de injeção foi definido como 5 µl. a eluição foi realizada usando uma fase aquosa consiste em ácido fórmico a 2% (solvente A) e acetonitrila contendo 1% de ácido fórmico (solvente B). Utilizou-se um gradiente linear de acordo com as seguintes condições: 0-10 min, 5-12% B; 10-29 min, 12-18% B; 29-33 min, 18% B; 33-34 min, 5% B com um fluxo constante de 0,4 mL.min⁻¹. A detecção realizou-se a 340 nm e o intervalo de varredura espectral na região visível variou entre 190 e 600 nm (PDA). Massa digitalização variou de m / z 100 a 1500 com um tempo de varredura de 0,5 s. MS / MS analisa foram realizadas usando uma rampa de energia de colisão (10-30 eV) com argônio como gás de colisão. a tensão capilar de 1,0 kV, temperatura do bloco de 120 ° C, temperatura de desolvation de 600 °C; taxa de fluxo de nitrogênio de nebulização de 80 L.h⁻¹, desolvation do fluxo de gás nitrogênio de 800 L.h⁻¹ e cone tensão de 40 V foram usados controlados pelo MassLynx v.4.1 software para processamento e aquisição de dados.

2.7. Avaliação do potencial antiglicação utilizando sistema albumina sérica bovina

A glicação de proteínas foi avaliada utilizando metodologia adaptada utilizada por Spera e Silva (2014), em 2,0ml do volume total da reação de glicação foram incluídas diferentes diluições dos extratos das plantas, 10mg/mL de albumina sérica bovina (BSA), 500mM de glicose, e 0,02% (p/v) de azida de sódio. Após incubação a 37°C durante três semanas, a quantidade global de produto final da glicação (AGEs) através de fluorescentes formadas foi determinada utilizando um fluorímetro, em comprimento de onda de excitação de 370nm e comprimento de onda de emissão de 700nm. A porcentagem de inibição da formação de AGE para cada concentração foi calculada pela seguinte equação, % de inibição = $[1 - (\text{fluorescência da solução com inibidores} / \text{fluorescência da solução, sem inibidores})] \times 100\%$.

Testes *in vivo*

2.8. Animais

Utilizou-se ratos Wistar machos entre 50-55 dias de idade, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Os animais ficaram mantidos em gaiolas plásticas e alimentados com ração comercial e água *ad libitum* em sala climatizada onde submetidos a um ciclo normal de claro/escuro, todos os animais sendo cuidadosamente monitorados e mantidos em concordância com as recomendações do Conselho Brasileiro de Medicina Veterinária e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Protocolo CEUA 02/2017).

2.8.1 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Ratos normoglicêmicos de idade entre 45-50 dias ficaram em jejum por 8 horas e foram divididos em diferentes grupos. Grupo I, controle, não tratado que recebeu salina (kg); Grupo II, tratados com glibenclamida (5mg/kg v.o.); Grupo III, tratado com extrato dose 30 mg/kg v.o.; Grupo IV tratado com extrato 100mg/kg v.o.; e Grupo V tratado com 300mg/kg, v.o. verificou-se a glicemia de jejum em seguida os animais foram tratados com os extratos e depois de 30 min receberam uma carga de glicose (4g/kg). Os níveis de glicose no plasma foram verificados nos tempos 15, 30, 60, e 180 min após a carga de glicose, por meio de sangue obtido da veia da cauda do animal, utilizando-se o glicosímetro da marca Accu-Chek. Após verificação

da glicemia os animais foram submetidos a eutanásia e retirada a parte inicial do intestino delgado para teste de inibição das dissacaridasas, também foram retirados parte do fígado e o músculo sóleo para análise da presença de glicogênio nos tecidos.

2.8.2 Animais Diabéticos Induzidos com Aloxano

A diabetes foi induzida através de uma única injeção – intraperitoneal dose única de monohidrato de aloxano (Sigma) 5% em solução fisiológica (NaCl 0,9%) na dose de 140 mg/kg de peso corporal de animais mantidos sob anestesia. Esta solução foi preparada imediatamente antes do uso. Oito dias depois foram coletadas as amostras de sangue e os níveis de glicose foram determinados para confirmar o desenvolvimento da diabetes. Foram considerados diabéticos apenas os animais que apresentarem glicemia acima de 140 mg/dl de glicose (Okolo et al., 2016). Posteriormente, iniciou-se o tratamento durante 10 dias com dose de 300mg/kg, v.o. após o término do tratamento os animais foram submetidos a eutanásia e retirada a parte inicial do intestino delgado para teste de inibição das dissacaridasas e retirado parte do fígado e o músculo sóleo para análise da presença de glicogênio nos tecidos.

Semanalmente, foram avaliados o peso do animais.

2.8.3 Determinação da atividade das dissacaridasas intestinais

O segmento do jejuno foi removido, lavado em 0,9% de solução de NaCl, pesado, cortado, homogeneizado com NaCl a 0,9% (400 mg por mL) e centrifugado (10.000 r.p.m./8 min). O sobrenadante foi incubado a 37 °C durante 5 min com o substrato (maltose, sacarose e lactose) em tampão fosfato. O tratamento foi realizado 5 min antes da incubação com os substratos. Atividades da maltase, lactase e sacarase foram determinadas pelo método glicose oxidase. A atividade específica foi definida como a atividade da enzima (U) por mg de tecido.

2.8.4 Determinação do conteúdo de glicogênio

Para determinação do glicogênio muscular e hepático, músculo sóleo e o fígado foram removidos dos animais. Os tecidos foram pesados e digeridos com KOH 30% sob fervura a 100

°C por 30 min. Após a fervura, foi adicionado etanol 95% e agitados, as amostras foram aquecidas durante 10 minutos seguida de banho de gelo para precipitação do glicogênio. As amostras foram então centrifugadas a 300 r.p.m. durante 10 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado solubilizado em água. O conteúdo de glicogênio foi determinado pelo tratamento com reagente de iodo e posterior leitura em espectrofotômetro a 460 nm. Os resultados foram expressos em mg de glicogênio/g de tecido.

2.8.5 Modelo de intolerância à glicose induzidas por dieta hipercalórica

Inicialmente, os ratos foram divididos em dois grupos. Grupo I, que foi alimentado com ração comercial e Grupo II que recebeu dieta hipercalórica (detalhes da dieta composição). O experimento durou 14 semanas. Nas quatro primeiras quatro semanas, os animais receberam somente a ração, não sendo administrado nenhum extrato. Nas dez próximas semanas, os ratos foram subdivididos em quatro grupos, Grupo I, controle ração comercial; Grupo I tratado, ração comercial recebendo o extrato 300mg/kg, v.o; Grupo II, controle dieta hipercalórica; Grupo II tratado, dieta hipercalórica recebendo o extrato 300mg/kg, v.o. Ao final das 14 semanas, a glicose foi mensurada por meio de sangue obtido da veia da cauda do animal, utilizando-se o glicosímetro. Após o término do tratamento os animais foram submetidos a eutanásia e retirada a parte inicial do intestino delgado para teste de inibição das dissacaridases e retirado parte do fígado e o músculo sóleo para análise da conteúdo de glicogênio nos tecidos.

2.9. Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média \pm , conforme número de amostras especificadas. As comparações estatísticas foram realizadas através da análise de variância de uma ou duas vias (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Bonferroni pelo programa INSTAT versão 2.02 ou o programa Graph Pad 5 Prism versão 5.01. As diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significativas para “p” igual ou menor que 0,05.

3. Resultados e Discussões

3.1. Conteúdo de fenóis, flavonoides, flavonol e Taninos do extrato aquoso de *B. gardneri*

A Tabela 1 apresenta os teores encontrados de fenólicos totais, flavonoides, flavonol e taninos totais da amostra do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri*. Os teores encontrados foram $766,02 \pm 0,495$ mg equivalente de ácido gálico por grama para fenólicos totais, $185,137 \pm 11,380$ mg equivalente de quercetina por g para flavonoides totais, $251,911 \pm 2.623$ mg equivalente de quercetina por g para flavonol total e $15,282 \pm 6,946$ mg equivalente de catequina por g para taninos totais.

Tabela 1: Conteúdo total de fenóis, flavonóides, flavonóis e taninos de *B. Gardneri* BAK

Amostra	Total Fenóis (mg GAE/ g extrato)	Total Flavonoides (mg QE/ g extrato)	Total Flavonol (mg QE/ g extrato)	Total Taninos (mg EAC/ g extrato)
Extrato aquoso de <i>B. gardneri</i>	$766,02 \pm 0,495$	$185,137 \pm$ 11,380	$251,911 \pm$ 2.623	$15,282 \pm 6,946$

Os compostos fenólicos são compostos amplamente encontrados em frutas, folhas, chás e vinhos. Existem seis classes principais de flavonoides, incluindo antocianinas (cianidina, pelargonidina, delphinidina, malvidina), flavonóis (quercetina, rutina, kampferol e miricetina), flavonóis (epicatequinas, luteoprol, proceanidinas e teaflavinas), flavanonas (hesperidina e naringerina), flavonas (apigenina e luteolina) e isoflavonas (daidzeína, genisteína). Estes polifenóis atuam como antioxidantes e antiinflamatórios, eliminando os radicais livres, regulando o ciclo celular, e modulando algumas vias importantes de sinalização celular (Souza et al, 2017).

Os flavonoides e compostos fenólicos atuam como agentes hipoglicemiantes, reduzindo a absorção intestinal de carboidratos, melhorando a função das células β e a secreção e ação da

3,15	377,0847	163/145/117	C ₁₆ H ₁₈ O ₉ Na	-0,5	295/325	caffeoilquinico
5,38	377,0847	163/145/117	C ₁₆ H ₁₈ O ₉ Na	-0,5	295/325	Ácido 5-O-caffeoilquinico
6,22	349,0890	147	C ₁₅ H ₁₈ O ₈ Na	-0,9	313	Ácido p-Cumarico glucosido
6,60	377,0844	163/145/135/117	C ₁₆ H ₁₈ O ₉ Na	-2,1	295/325	Ácido 4-O-caffeoilquinico
7,43	349,0900	147	C ₁₅ H ₁₈ O ₈ Na	0,3	313	Ácido p-Cumarico glucosido
15,34	391,0977	189/163/145/117	C ₁₇ H ₂₀ O ₉ Na	-6,2	270/320	Ácido feruloilquinico
18,95	391,1007	163/145/117	C ₁₇ H ₂₀ O ₉ Na	0,5	270/315	Ácido feruloilquinico

Pode-se observar que o composto majoritário é o ácido 4-O-caffeoilquinico [6,60], pertencente à família de ésteres, compostos fenólicos, produzidos através da via chiquímico - e fenilpropanoides. Estes compostos estão presentes em quase todas as plantas e contribuem uma fração significativa da ingestão total de fenóis na dieta humana diária. Os mais comuns ocorrem naturalmente ácido cinâmico, são *p*-cumarínico-, cafeico - e ácido ferúlico, que dão origem a *p*-ácido coumaroylquinic (*p*CoQA), cafeoilquínico ácido (CQA) e ácido feruloylquinic (FQA). (Ncube, 2014).

3.3. Potencial antiglicação utilizando sistema albumina sérica bovina

Na figura 2 estão apresentados os valores do potencial antiglicante do EABG avaliados na concentração de 10µg/mL, 100µg/mL e 1000µg/mL em 14 dias e 28 dias. Todas as concentrações apresentaram inibição significativa. ****p*<0,001.

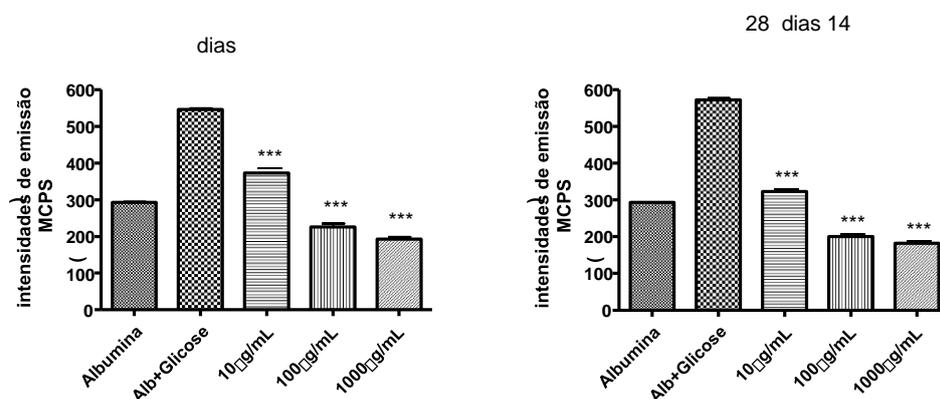


Figura 2. Avaliação de inibição da glicação do EABG através do método BSA/glicose no período de 14 E 28 dias. Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao controle. ****p*≤0.001.

A utilização da BSA em estudo *in vitro* foi utilizada como proteína glicada simulando a glicação humana. Para tal, realizou-se uma indução de glicação, através da incubação de BSA (Sigma) com glicose por 14 e 28 dias, levando a formação de AGEs, sendo o controle da reação a amostra de BSA incubada na ausência de glicose. A formação de AGEs pode ser dividida em

três fases. Na primeira ocorre a glicação, originando os produtos de Amadori, estruturalmente mais estáveis. A hemoglobina glicada (HbA1c) é conhecida como exemplo de produtos de Amadori. Na fase intermediária, os produtos de Amadori são transformados em compostos dicarbonílicos através de oxidações e desidratações. A última fase compreende na formação do composto irreversível chamado AGE (Postal, 2015).

A inibição de qualquer uma destas três fases pode reduzir a formação dos AGEs e beneficiar o tratamento da diabetes. Estudos recentes realizados têm demonstrado a importância da investigação da capacidade antiglicante de compostos naturais de origem vegetal (Ramkisson et al., 2013). Compostos bioativos provenientes de vegetais, podem auxiliar na prevenção e tratamento de doenças degenerativas, relacionadas com o envelhecimento, pois podem exercer ações específicas em alvos biológicos, incluindo a atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicante (Beaulieu et al., 2010). Esses vegetais possuem aplicabilidade principalmente devido ao potencial antioxidante proporcionado pelos flavonoides (Spera, 2014). Diante disso o EABG avaliado neste estudo pode contribuir de forma direta como um agente antiglicante associado a presença de fenólicos e sua capacidade de captar radicais livres.

3.4. Teste oral de tolerância a glicose (TOTG)

O efeito do EABG sobre os níveis de glicose no TOTG em ratos normoglicêmicos é apresentado na tabela 3. Conforme o esperado o grupo controle após a sobrecarga de glicose, apresentou picos glicêmicos após 15 minutos até 60 minutos. O EABG nas doses de 30 e 100 mg/kg diminuiu significativamente a glicemia nos tempos de 15 e 30 minutos e aumentou em 60 minutos. Por outro lado, o tratamento com a dose de 300 mg/kg significativamente diminuiu a glicemia nos tempos de 15, 30 e 60 min. Desta forma, o perfil de diminuição da glicemia da dose de 300 mg/kg, quando comparadas as AUC, foi semelhante ao fármaco de referência (glibenclamida). Baseado neste resultado do TOTG, escolhemos a dose de

300mg/kg, pois foi a dose perfil mais parecida com os resultados do fármaco, usamos então para nosso tratamento de animais diabéticos induzidos por aloxano e no tratamento dos animais intolerantes a glicose.

Tabela 3: Efeito agudo do extrato bruto de *B. gardneri* sobre os níveis séricos de glicose (mg / dL) teste oral de tolerância a glicose

Grupos

Tempo (min)	Controle	<i>B.gardneri</i> (30mg/kg)	<i>B.gardneri</i> (100mg/kg)	<i>B.gardneri</i> (300mg/kg)	Glibenclamida (100mg/kg)
0	87,6±2,52	89,4±1,69	92,0±2,70	89,6±1,78	87,6±1,63
15	185±3,0	137,4±2,92***	119,2±1,65***	149±5,34***	151,6±7,49***
30	245,6±3,90	231,2±11,58*	240,8±11,32	230,6±6,46*	228,2±7,4*
60	211,4±3,51	230±6,61*	228,4±9,75*	185±10,95***	155±10,14***
180	100,8±2,35	106,6±1,77	109±1,64	102,2±1,24	98,4±2,54
Area sobre 30861 a curva		31580	31566	28103	25595

Os valores são expressos como média ± S.E.M; n= 5 para este tratamento. Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao controle. * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$. AUC

Não há nenhum estudo relatando efeito de dose única do EABG em níveis de glicose no sangue, porém há estudos relacionados a outras espécies desse gênero, como *Bidens pilosa*, a qual apresentou efeito anti-hiperglicêmico em ratos nas doses de 10 mg/kg e 50mg/kg de extrato aquoso no modelo de tolerância a glicose (Hsu et al., 2009).

A insulina exibe uma resposta bifásica de secreção a um estímulo de glicose, na primeira fase há liberação imediata de insulina atingindo seu pico, seguida de uma diminuição aos níveis basais, no momento que há um estímulo contínuo de glicose, inicia a segunda fase de secreção, com uma liberação mais lenta e gradativa de insulina (Zhuo Fu, 2013). Assim pode-se sugerir que o extrato na dose de 300mg/kg apresenta uma resposta tanto na primeira fase quanto na segunda fase, assemelhando com a ação da glibenclamida, enquanto a dose de 30mg/kg e 100mg/kg pode estar agindo apenas na fase inicial.

3.5. Efeito do EABG na atividade das dissacaridases em ratos normoglicêmicos

A figura 3, 4 e 5 mostra a atividade do EABG sobre as enzimas intestinais maltase, sacarase e lactase dos animais submetidos ao TOTG. Estes resultados indicam que houve inibição da atividade das enzimas intestinais sacarase e lactase na dose de 300 mg/kg. Por outro lado, houve aumento na atividade dose-dependente da enzima maltase em comparação com o controle.

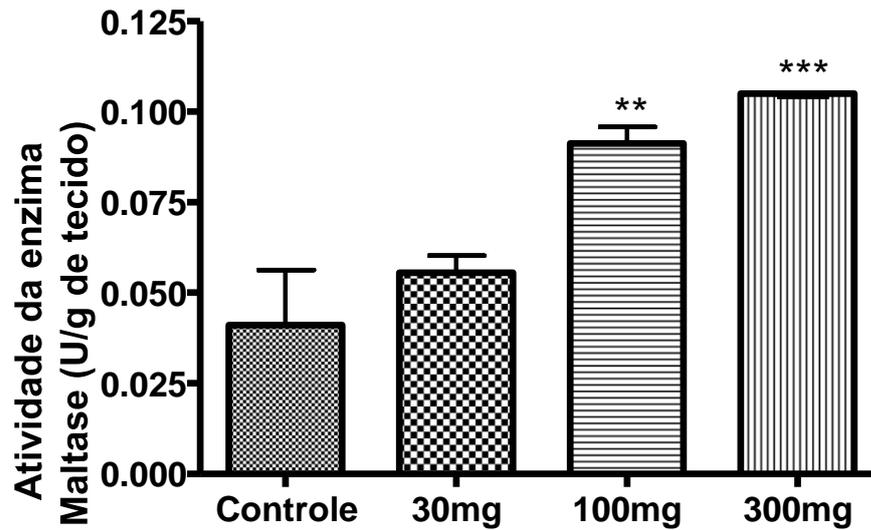


Figura 3. Efeito do extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri* na atividade da maltase . Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao controle. * $P < 0.05$.

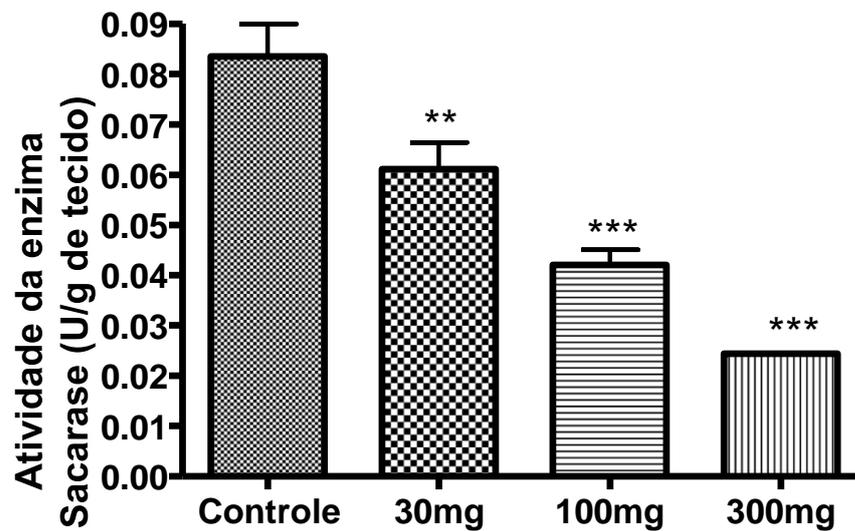


Figura 4. Atividade inibidora do extrato aquoso *Bidens gardneri* na atividade da sacarase. Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao controle. *** $p < 0.001$. * $P < 0.05$.

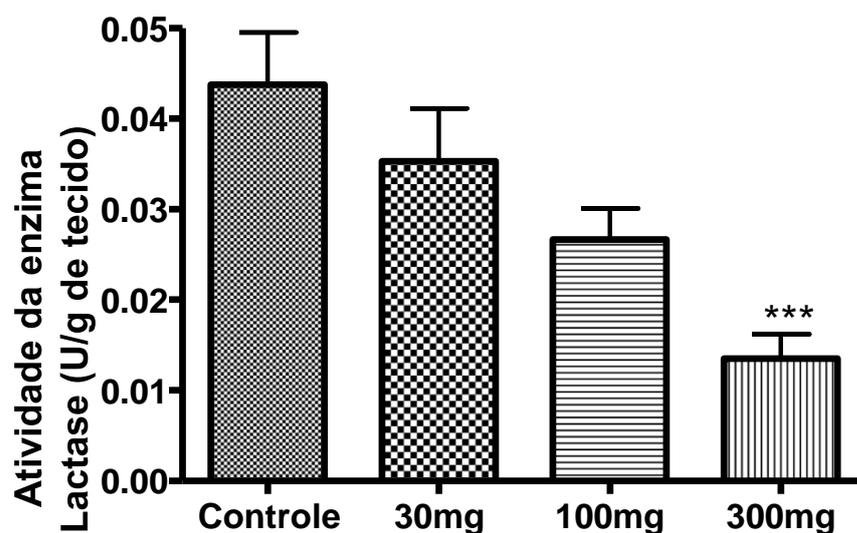


Figura 5. Efeito do extrato aquoso de *Bidens gardneri* na atividade da lactase. Diferença estatisticamente significativa quando comparado ao controle. * $p \leq 0.05$.

A capacidade inibitória na atividade das enzimas sacarase e lactase pode ser atribuída a presença de fenólicos totais e flavonoides. Uma vez que, comparando com outras espécies de *Bidens* na qual a atividade inibitória das dissacaridases é relacionada na literatura pela presença de fenóis e flavonóides no extrato (Brandão, 1997; Silva, 2013).

Já há estudos direcionados a inibição de dissacaridases intestinais, por flavonoides, seguida de redução da absorção intestinal de glicose (Pereira et al., 2011). A atividade antihiperlipidêmica e antioxidante é atribuído ao conteúdo de polifenóis, particularmente ácidos fenólicos, flavonoides e taninos, que inibem a absorção de α -amilase, α -glucosidase e glicose intestinal (Chin, 2014). Observado que o extrato bruto foi capaz de reduzir a atividade das enzimas sacarase e lactase não dependente de concentração em comparação com o grupo controle e que já possuem estudos que comprovam a presença de flavonoides no extrato bruto da *Bidens gardneri* e suas espécies. Pode-se assim justificar o seu efeito na inibição das dissacaridases pela presença destes compostos o extrato

3.6. Conteúdo de glicogênio hepático e muscular

Dado que *B. gardneri* diminuiu os níveis de glicose na tabela 3 no teste de tolerância a glicose, observamos que houve a diminuição do nível de glicose na dose de 300mg/kg, também procuramos determinar se o extrato pode aumentar a capacidade de armazenamento de glicose na forma de glicogênio na célula hepática e muscular. No fígado e músculo encontramos

aumento de glicogênio nos grupos tratados com EABG quando comparado com o grupo controle, figura 6 e figura 7 respectivamente.

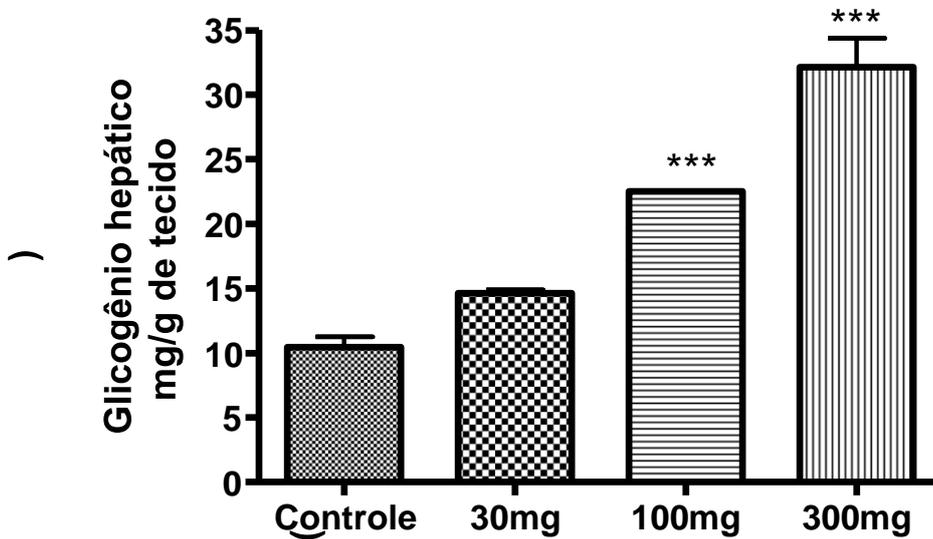


Figura 6. Efeito do BGEA sobre o conteúdo de glicogênio hepático. Os valores representam a média \pm SEM dos grupos. ** $p < 0,01$. significativamente diferente do controle. Colocar mg/kg no gráfico, ou coloca a legenda, ou embaixo do eixo não precisa os dois

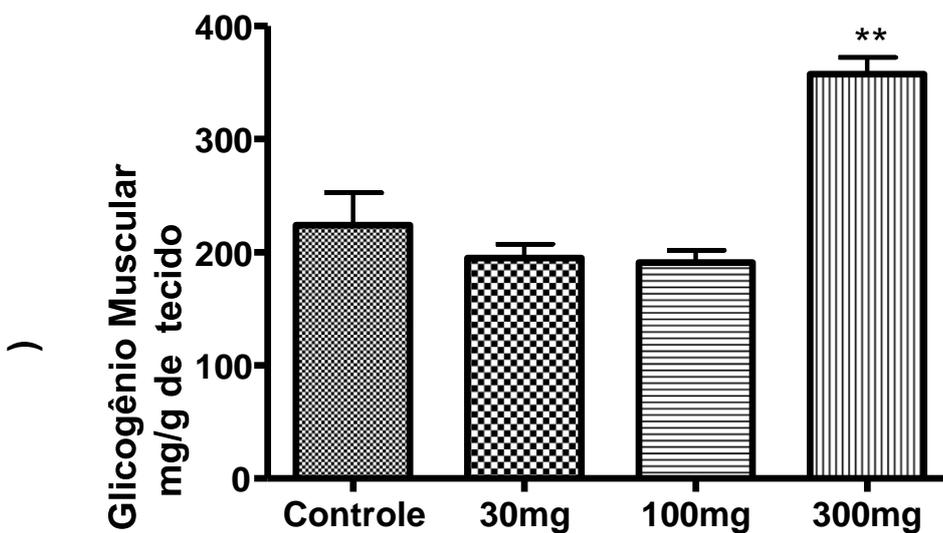


Figura.7. Efeito do BGEA sobre o conteúdo de glicogênio muscular. Os valores representam a média \pm SEM dos grupos. * $p < 0,05$. significativamente diferente do controle.

A captação de glicose pelo músculo se dá através da liberação de insulina pela ativação da GLUT-4 e da diminuição da liberação de glicose pelo fígado, com sobrecarga de glicose aumenta a captação de glicose pelo fígado resultando em um aumento do armazenamento de glicogênio tanto no fígado quanto no músculo (Costa et al., 2008). Assim, como observamos um efeito anti-hiperglicêmico no TOTG o efeito sobre o aumento do glicogênio muscular e hepático foi aumentado, sendo que esses resultados podem estar relacionados

3.7. Efeito do EABG na glicemia e peso corporal de ratos diabéticos induzidos com aloxano.

O efeito no peso e a glicemia com o tratamento prolongado de EABG na dose de 300mg/kg no período de dez dias em ratos diabéticos induzidos por aloxano é mostrado na tabela 4 e figura 8 respectivamente.

Para o modelo de DM tipo 1, foi analisado o peso inicial e final dos animais, glicemia de jejum inicial e final. A tabela 4 mostra a diferença no peso entre os grupos tratados com o extrato e não tratados. No peso final mostrou que os animais não tratados apresentaram uma diminuição no peso significativo quando comparado com seu peso inicial $***p<0,001$, enquanto no grupo tratado não observou-se essa diferença. A perda de peso em animais diabéticos é associada à condição patológica, devido a um aumento do catabolismo muscular (Ravi *et al.*, 2004). Nesse sentido, o tratamento de 10 dias com EABG na dose de 300mg/kg preveniu a perda de peso.

Tabela 4: Avaliação do peso em ratos diabéticos induzidos por aloxano e tratados durante 10 dias com extrato aquoso das folhas de *Bidens gardneri* BAK

GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	Tratados 300mg/kg	Não tratado
Peso inicial (g)	224±4,18	225,7±7,8
Peso final (g)	199,5±10,60	182,8±7,12***

Valores expressos em média ± desvio padrão. Dados analisados com o teste ANOVA oneway. Diferença estatística significativa entre os grupos comparados entre o mesmo grupo $***p<0,001$.

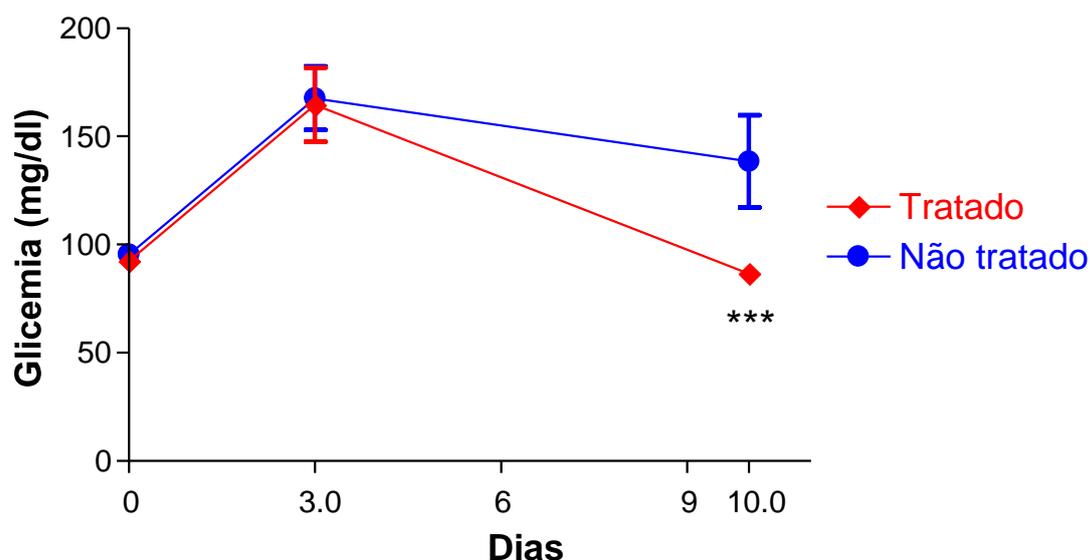


Figura 8. Curva do efeito do EABG sobre a glicemia dos animais diabéticos. Os valores representam a média \pm SEM dos grupos. *** $p < 0,001$. Significativamente diferente dos não tratados.

Em relação a glicemia, os animais do grupo diabético não tratados continuaram diabéticos após 10 dias quando comparado a glicemia inicial $*p < 0,05$ e quando comparado a glicemia inicial após 3 dias de indução com a final dos animais tratados (figura 8), o tratamento de 10 dias com o EABG na dose de 300mg/kg foi eficaz em diminuir a glicemia dos animais diabéticos.

Aloxano é um potente agente diabetogênico que danifica células β -pancreáticas e tem sido amplamente utilizado como indutor de diabetes. Estudos com plantas da família Asteraceae demonstrou ter melhor capacidade de utilização de glicose, esta atividade está atribuída à presença de flavonoides e compostos fenólicos (Bahar, 2017). Assim podemos atribuir o efeito antidiabético a presença de flavonoides e flavonol, onde já foi relatado em estudo realizado com ratos diabéticos induzidos por STZ, reduzindo os níveis de glicemia e aumentou o teor de glicogênio e a atividade da síntese de glicogênio (Babu, 2013).

3.8. Atividade das dissacaridases em ratos diabéticos induzidos com aloxano

Os inibidores das dissacaridases interferem na borda do intestino delgado, impedindo a liberação de glicose a partir de oligossacarídeos e dissacarídeos (Oh et al., 2015). Isso resulta em baixa taxa de absorção de glicose, reduzindo os níveis de glicose plasmática pósprandial.

Para determinar a atividade inibitória em animais diabéticos examinamos o efeito do EABG 300mg/dL.

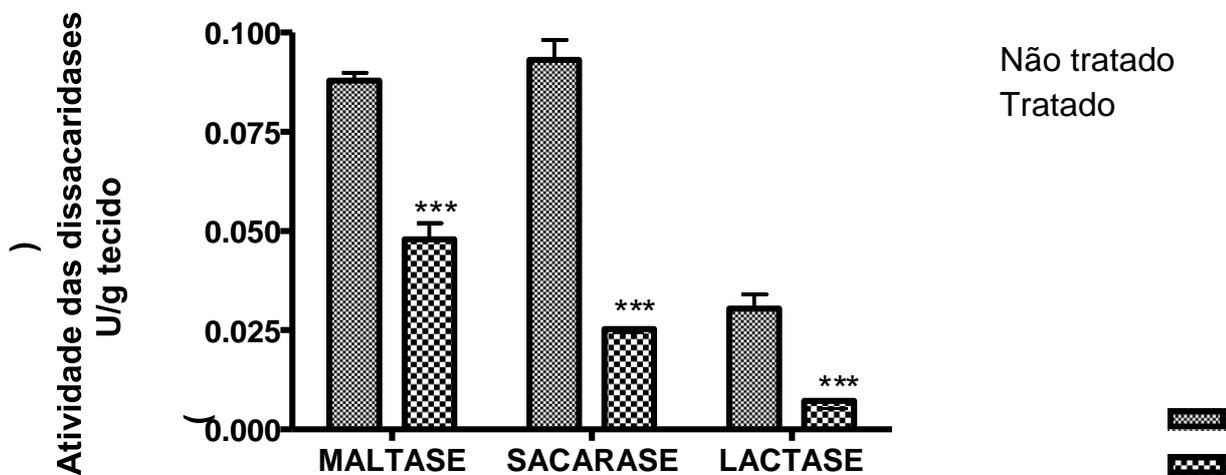


Figura 9. O efeito inibitório do EABG sobre a maltase, sacarase e lactase do intestino delgado de ratos diabéticos. Os resultados foram expressos como média \pm DP. Diferença estatística significativa entre os grupos comparados entre o mesmo grupo *** $p < 0,001$.

Inibidores das dissacaridases são agentes de interesse terapêutico, uma vez que apresentam atividade contra diabetes. Uma inibição significativa ou inibição pouca significativa pode ser potencialmente usada como uma terapia complementar efetiva na hiperglicemia pós-prandial, com a vantagem de apresentar menos efeitos colaterais como aqueles decorrentes da excessiva inibição de α -amilase pancreática (Pereira., 2011).

3.9. Conteúdo de glicogênio hepático e muscular em animais diabéticos

O Efeito do EABG 300mg/kg no glicogênio muscular demonstrou um aumento no conteúdo significativo, figura 10, em comparação com o não tratado ** $p < 0,01$.

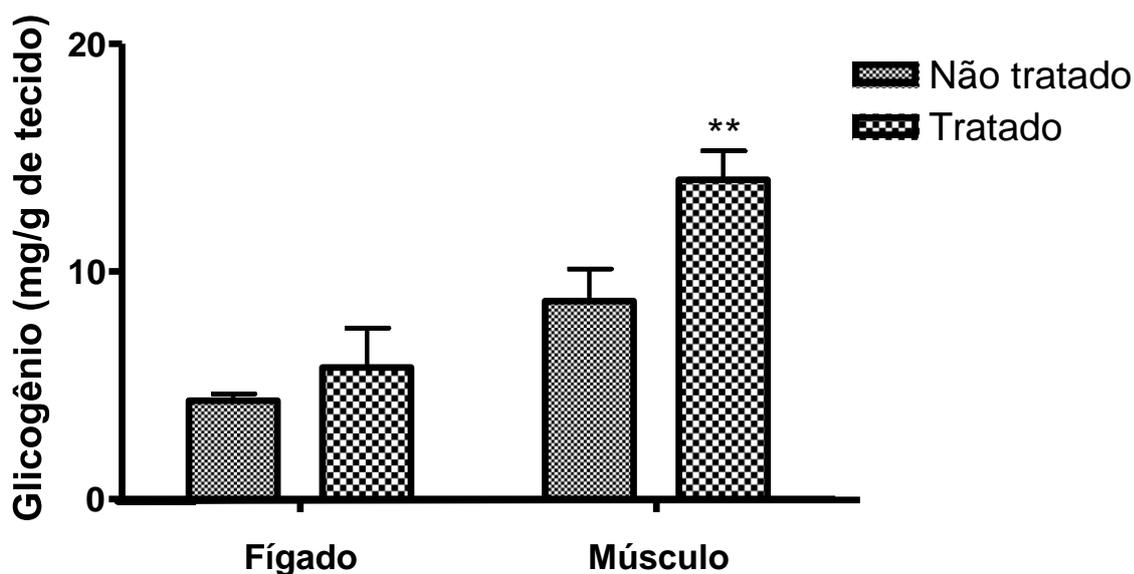


Figura 10. Efeito do EABG no glicogênio hepático e muscular em ratos diabéticos induzidos por aloxano. Todos os valores estão representados na média \pm SEM. Os valores significativamente $p < 0,01$ **

A reserva de glicogênio é essencial para a homeostase da glicose organismo. Em ratos diabéticos, o depósito de glicogênio diminui significativamente, pois o aloxano causa danos às células β pancreáticas. O fígado e o músculo são os principais tecidos de armazenamento. Logo o fígado equilibra a absorção e armazenamento de glicose. Na presente investigação, o conteúdo de glicogênio muscular foi significativamente aumentado em ratos diabéticos tratados quando comparado aos não tratados, possivelmente devido à estimulação da liberação de glicose pelo fígado e a captação de glicose pelo músculo (Madhuri, 2017). O glicogênio hepático é reservatório de glicose para os tecidos, quando a glicose não está disponível ocorre secreção do hormônio glucagon, que tem sinaliza a liberação de glicose para a circulação, proveniente da degradação do glicogênio hepático fazendo com que fique disponível glicose na corrente sanguínea (Costa, 2008).

3.10 Efeito do extrato da *Bidens gardneri* na glicemia de ratos intolerantes a glicose

O efeito na glicemia com o tratamento prolongado de EABG na dose de 300mg/kg no período de 14 semanas em ratos intolerantes a glicose é mostrado na figura 11. Houve diferença observada com grupo tratado e não tratado que receberam dieta hipercalórica. O EABG 300mg/kg mostrou que no período de 4 semanas na qual os animais receberam apenas ração não houve diferença na glicemia com nenhuma das dietas. Porém no período final de 10

semanas de tratamento o grupo da dieta hipercalórica controle quando comparados com a dieta comercial obtiveram a glicemia aumentada. Na glicemia dos animais da dieta hipercalórica tratada obtiveram a diminuição da glicemia quando comparado ao controle $**p<0,01$.

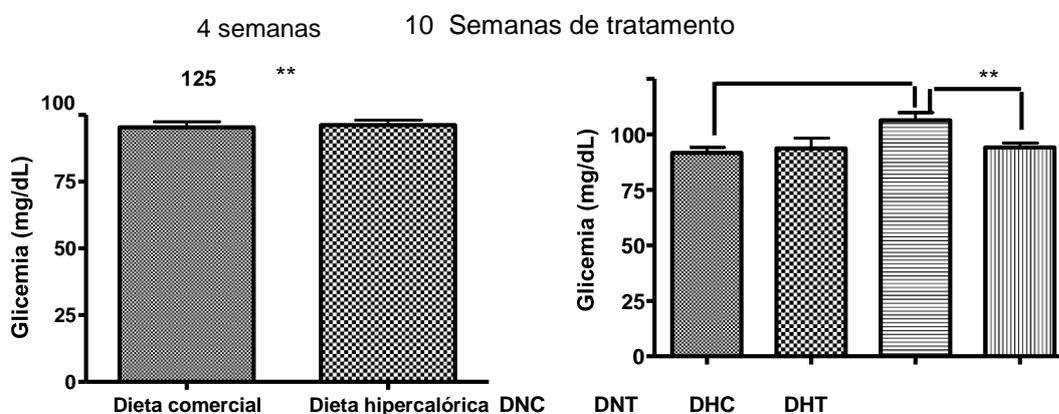


Figura 11 Efeito do EABG sobre a glicemia dos animais intolerantes a glicose. Os valores representam a média \pm SEM dos grupos. $**p<0,01$. Significativamente diferente dos não tratados.

DNC= dieta normal controle DNT= dieta normal tratado DHC= dieta hipercalórica controle DHT= dieta hipercalórica tratado

Glicemia mostra a evolução ao longo das 14 semanas de experimentação. Notando, ainda, que a tendência à hiperglicemia, observada nas semanas de estudo, tendeu à normalização nas etapas finais de experimentação com o tratamento do EABG. O resultado pode estar associado a presença de fenóis, sendo que há estudos que demonstram que o ácido cafeoilquinico, quando encontrado em grandes quantidades apresenta redução a absorção de glicose pela inibição da atividade enzimática da (glicose-6-fosfatase) G6Pase (Jackson, 2017).

3.11 Atividade das dissacaridases em ratos intolerantes a glicose.

A figura 12, 13 e 14 mostra a atividade do EABG sobre as enzimas intestinais maltase, sacarase e lactase dos animais intolerantes a glicose. Estes resultados indicam que houve inibição da atividade das enzimas intestinais maltase, sacarase e lactase na dose de 300 mg/kg na dieta hipercalórica, e na dieta comercial apenas houve a inibição da enzima maltase. Por outro lado, houve aumento na atividade das enzimas na dieta hipercalórica controle em comparação com o controle da dieta normal, já que na dieta hipercalórica a uma quantidade maior de amido, açúcar e leite (Babu,2013; Bahar, 2017).

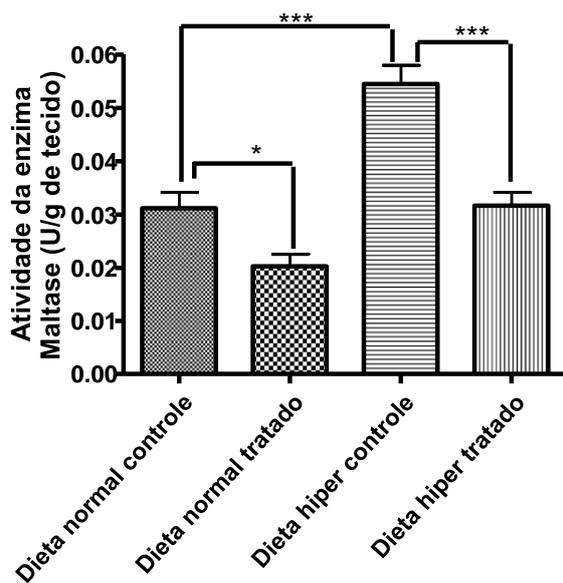


Figura 12. O efeito inibitório do EABG sobre a maltase do intestino delgado de ratos intolerantes a glicose. Os resultados foram expressos como média \pm DP. Diferença estatística significativa entre os grupos comparados entre o mesmo grupo * $p<0,05$; *** $p<0,001$.

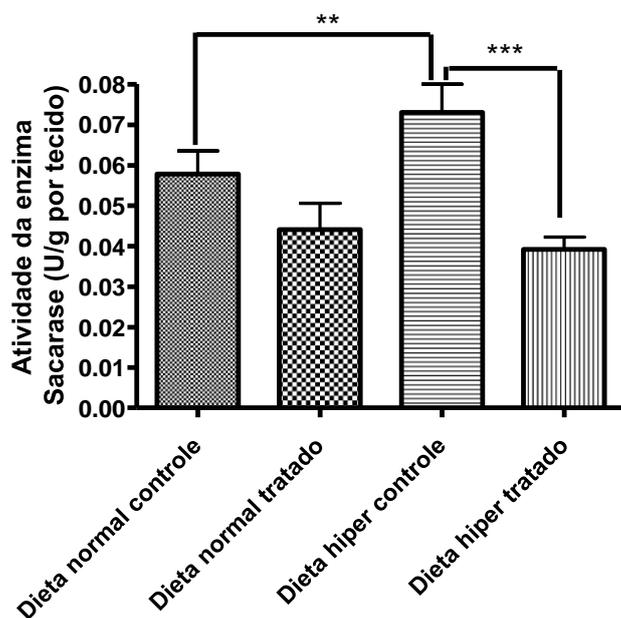


Figura 13. O efeito inibitório do EABG sobre a sacarase do intestino delgado de ratos intolerantes a glicose. Os resultados foram expressos como média \pm DP. Diferença estatística significativa entre os grupos comparados entre o mesmo grupo ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

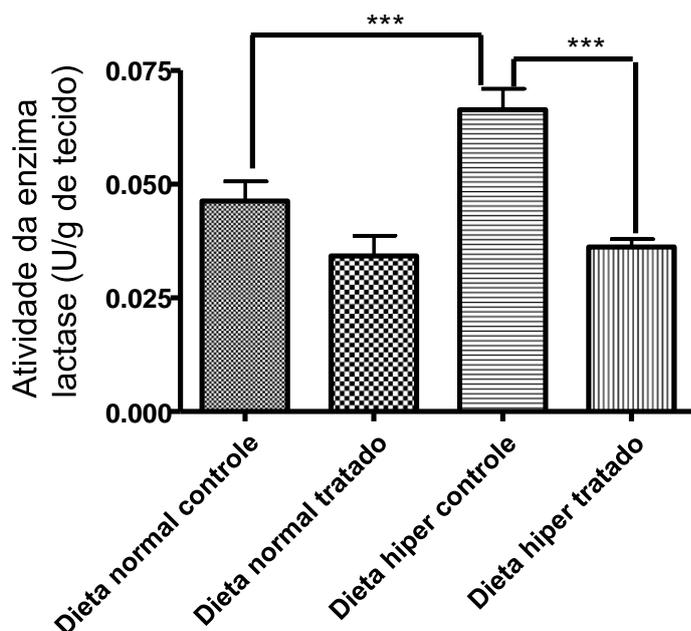


Figura 14. O efeito inibitório do EABG sobre a lactase do intestino delgado de ratos intolerantes a glicose. Os resultados foram expressos como média \pm DP. Diferença estatística significativa entre os grupos comparados entre o mesmo grupo *** $p < 0,001$.

Abordagem terapêutica para diabetes mellitus é retardar a absorção de glicose através da inibição de enzimas digestivas, tais como a α - glucosidase. Naturalmente flavonoides têm sido muito estudados como inibidores α - glucosidase. Geralmente, inibidores α - glicosidase são consumidos com as refeições, resultando em um atraso na absorção de glicose que reduz níveis de açúcar no sangue pós-prandial. Estudos tem demonstrado que a quercetina possui ação inibitória potente de enzimas digestivas, sendo reconhecida como controle positivo para determinar a atividade antidiabética natural (Sarian, et al 2017).

Além disso, o consumo de polifenóis tem sido associado com diminuição da incidência de diabetes tipo 2 e doença cardiovascular, pois podem influenciar a digestão e absorção de carboidratos no intestino delgado. Assim, polifenóis têm o potencial de agir da mesma forma como acarbose atua inibindo as enzimas maltase e sacarase impedindo assim a quebra dos dissacarídeos, isto também poderia fornecer um mecanismo para a redução no risco de diabetes, atribuída a dietas rica em polifenóis (Postal, 2015).

3.12. Captação de glicogênio hepático e muscular em animais intolerantes a glicose

O Efeito do EABG 300mg/kg no glicogênio muscular demonstrou um aumento no conteúdo significativo tanto na dieta comercial quanto na dieta hipercalórica, figura 15 e figura16, em comparação com o não tratado $**p<0,01$

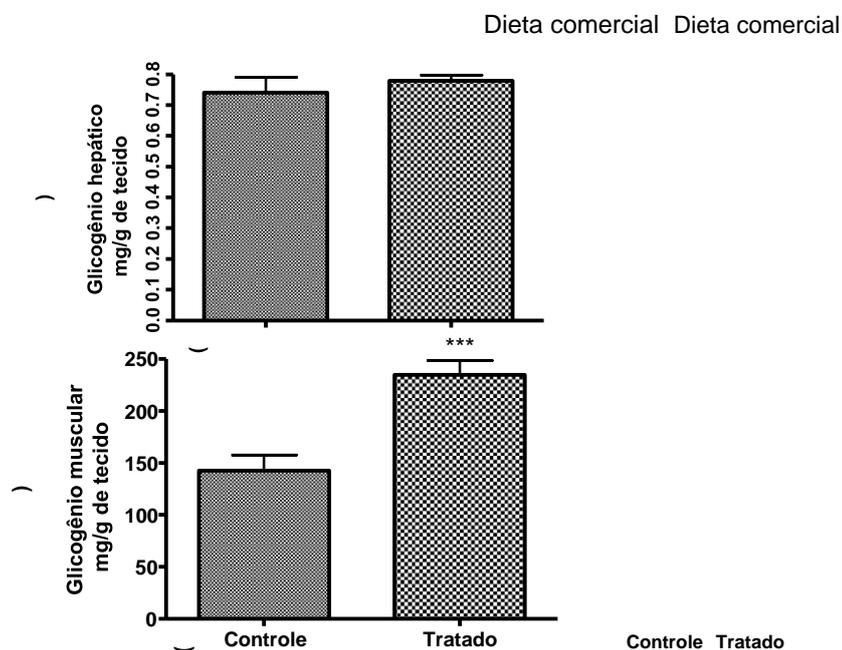


Figura 15. Efeito do EABG no glicogênio hepático e muscular em ratos intolerantes a glicose da dieta comercial. Todos os valores estão representados na média \pm SEM. Os valores significativamente $p<0,001$ ***

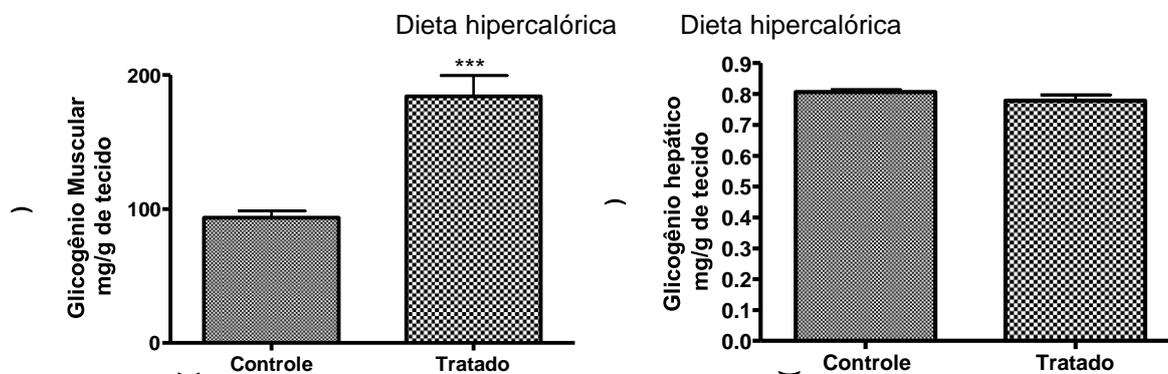


Figura 16. Efeito do EABG no glicogênio hepático e muscular em ratos intolerantes a glicose da dieta hipercalórica. Todos os valores estão representados na média \pm SEM. Os valores significativamente $p<0,001$ ***

A família Asteraceae destaca-se pelo seu uso no tratamento de doenças gastrointestinais e inflamatória, estudos desenvolvidos mostraram que os ácidos cafeoilquínicos (CQAs) são os polifenóis dominantes nessas espécies. Esta classe de compostos é particularmente abundante em plantas de Asteraceae possuindo propriedades hipoglicemiantes, hipolipidêmicas e hepatoprotetoras benéficas (Spínola, 2017). Nosso estudo mostrou que a *Bidens gardneri*,

pertencente a esta família, apresentou efeito hipoglicemiante, aumentando o armazenamento de glicogênio muscular. Estes resultados sugerem um possível mecanismo de ação da *Bidens gardneri* que poderia aumentar a sensibilidade à insulina, através da diminuição da glicose-6fosfatase(G6Pase), uma vez que seus compostos majoritários, como ácido cafeoilquinico possui atividade hipoglicemiante comprovada relacionada com esse mecanismo de ação.

(Jackson, 2017).

CONCLUSÃO

Em conclusão, nosso trabalho demonstra que a ação da *Bidens gardneri* Baker desempenha um importante papel na homeostasia glicêmica em modelos experimentais de Diabetes mellitus, além de apresentar inibições das principais enzimas digestivas maltase, sacarase e lactase. A *Bidens* também mostrou atividade anti-glicação, demonstrando outro papel eficiente no atraso ou na prevenção de complicações diabéticas. Os ácidos fenólicos, como o majoritário ácido 4-O-caffeoilquinico, podem representar os metabólito ativos para as atividades antidiabéticas relatadas. Outros estudos devem ser realizados para confirmar possíveis mecanismos de ação hipoglicemiantes do extrato analisado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-RASHEED, N.M. et al. Simvastatin ameliorates diabetic cardiomyopathy by attenuating Oxidative stress and inflammation in rats. **Oxidative medicine and cellular longevity**. v.2017. ID 1092015, 2017.

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

BAHAR, E. et al. Atividades de proteção e antidiabético β -célula de *Crassocephalum crepidioides* (Asteraceae) Benth. S. Moore extrair contra o estresse oxidativo induzido por aloxano através da regulação da apoptose e espécies reativas de oxigênio (ROS). **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v.17, n.179, 2017.

BEAULIEU, L.P. et al. Inibitory effect of the cree traditional medicine wiishichimanaan (Vaccinium vitis-idaea) on advanced glycation endproducts formation: identification of active principles. **Phytotherapy research**. v.24, n.5, p.741-747, 2010.

BRANDÃO, M.G.L.; KRETTLI, A.U.; SOARES, L.S.R.; NERY, C.G.C., MARINUZZI, H.C.; Antimalarial activity of extracts and fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds: **Journal Ethnopharmacology**. v.2, n.131, p.8, 1997.

CHIN, W.Y., Botanical, Pharmacological, Phytomical, and Toxicological Aspects of the Antidiabetic Plant *Bidens pilosa* L. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v.2014.

COSTA, E.S. et al. Metformina Interage com o Treinamento Físico Diminuindo a Glicemia e Aumentando o Armazenamento de Glicogênio em Ratos Diabéticos. Campinas: Revista **Brasileira Medicina Esporte** .v. 14, n. 4, 2008.

DAMASCENO, A.D; BARBOSA, A.A.A. Levantamento etnobotânico de plantas do bioma cerrado na comunidade de martinésia, Uberlândia, mg. v.2, n.1, 2007.

DEFRONZO, R.A., RALPH, A., Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **The medical clinics of North America**. v.88, p.787-835, 2007.

FIRMO, W. C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de pesquisa**. v. 18, n. especial, 2011.

HSU. Y.J. et al. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. **Journal Ethnopharmacology**. v.2, p.379-83, 2009.

JACKSON, K.M.V.P; RATHINASABAPATHI, K; ESPÓSITO, D; KOMARNYTSKY, S.

Structural constraints and importance of caffeic acid moiety for anti-hyperglycemic effects of caffeoylquinic acids from chicory. **Molecular Nutrition & Food Research**. v.61, n.9, 2017.

KASANGANA, P.B. et al. Root bark extracts of *Myrianthus arboreus* P. Beauv. (Cecropiaceae) exhibit anti-diabetic potential by modulating hepatocyte glucose homeostasis. **Journal of Ethnopharmacology**. v.17, n.1, p.0378-874, 2017.

MADHURI, K; NAIK, P.R. Ameliorative effect of borneol, a natural bicyclic monoterpene against MARK hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 96, p.336–34, 2017.

MOKASHI P, KHANNA A, PANDITA N. Flavonoids from *Enicostema littorale* blume enhances glucose uptake of cells in insulin resistant human liver cancer (HepG2) cell line via IRS-1/PI3K/Akt pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v.90, p. 268-277, 2017.

NCUBE, E.N. et al. Analyses of chlorogenic acids and related cinnamic acid derivatives from *Nicotiana tabacum* tissues with the aid of UPLC-QTOF-MS/MS based on the in-source collision-induced dissociation method. **Chemistry Central Journal**. v. 8, p:66, 2014.

OH, J. et al. Selected Tea and Tea Pomace Extracts Inhibit Intestinal α -Glucosidase Activity *in Vitro* and Postprandial Hyperglycemia *in Vivo*. **Molecular Sciences**. v.4, p. 8811-25, 2015.
OKOLO et al., Hexane extract of *dacryodes edulis* fruits possesses anti-diabetic and hypolipidaemic potentials in alloxan diabetes of rats. **African Journal Traditional Complementary and Alternative Medicines**. v. 13, n.4, p.132-144, 2016.

PEREIRA, Z.V. et al. Levantamento das Plantas Medicinais do Cerrado Sensu Stricto da Fazenda Paraíso – Dourados, MS. **Revista Brasileira de biociências**. v. 5, n. 1, p. 249-251 2007.

PEREIRA, D. F. et al. Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition**. v. 27, n. 11, p. 1161-1167, 2011.

POSTAL, B.G. **Caracterização do efeito e de vias de Sinalização de compostos presentes em *ilex paraguariensis* st. Hil. Envolvidas na homeostasia da Glicose**. 2015. Dissertação (Mestrado em farmácia)- Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Ciências da Saúde, Florianópolis.

QUEIROZ, M. S.; NOGUEIRA, L.S.; VIEIRA, M, C.; HEREDIA, L.; NÉSTOR, A.; Etnobotânica de plantas medicinais nativas da fazendinha ecológica, em dourados-ms. In: Reunião Anual da SBPC, 58., 2006, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis.

RAMKISSOON, J.S., MAHOMOODALLY, M.F., AHMED, N., SUBRATTY, A.H. Antioxidant and antiglycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. **Asian Pacific Journal of Tropic Medicine**. p.561-569, 2013.

RAVI, K., RAMACHANDRAN, B., SUBRAMANIAN, S. Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Life Sciences**. v. 75, n.22, p.2717-31, 2004.

SARIAN, N.B. et al. Antioxidante e efeitos antidiabéticos de flavonoides: uma relação estrutura-atividade com base em estudo. **Biomed Research international**. v. 2017, p.14, 2017.

SILVA, D.B. et al. Flavanone glycosides from *Bidens gardneri* Bak. (Asteraceae). **Phytochemistry**. v.96, p.418-22, 2013.

SOUZA, B.V.C. et al. *Bauhinia forficata* in the treatment of diabetes mellitus: a patent review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**. v.2, p. 129-138, 2017.

SPERA, K.D. **Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicação dos extratos de folhas e frutos de espécies da família annonaceae**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biociências)- Universidade Estadual Paulista, Assis.

SPÍNOLA.V; CASTILHO.P.C. Evaluation of Asteraceae herbal extracts in the management of diabetes and obesity. Contribution of caffeoylquinic acids on the inhibition of digestive enzymes activity and formation of advanced glycation end-products (*in vitro*). **Phytochemistry**. v.143, p29-35, 2017.

TROJAN, M.R. et al. Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v.1, p.155-63, 2011.

ZHUO FU ,R.E; GILBERT; LIU, D. Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. **Curr Diabetes Rev**. v.9, n.1, p. 25–53, 2013.