

Antioxidant activities and antidiabetic potential of extract of fruits from the *Myrtaceae* family: inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities

Atividade antioxidante e potencial antidiabético de extratos de frutos da família Myrtaceae: efeito inibitório na atividade de α -amilase e α -glicosidase

Simone Muniz Pacheco ¹, Mauricio Seifert ², Rafael de Almeida Schiavon ³, Maiara Sandrielly Pereira Soares ¹,
Rejane Giacomelli Tavares ^{1,4*}, Mauricio Seifert ², Leonardo Nora ²

¹Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos- CCQFA- Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, S / N, Capão do Leão - RS, 96160-000, Brasil; ²Departamento de Ciências Agroindustrial e Tecnologia- Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel- Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, S / N, Capão do Leão - RS, 96160-000, Brasil; ³Centro de Ciências da Agricultura, Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Maringá, Av Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil; ⁴CBIOS/ ECTS-Universidade Lusófona, Av Campo Grande, 376, 1749-024, Lisboa, Portugal

*corresponding author: rejane.tavares@ulusofona.pt

Abstract

There is a great diversity of plants which are grown in the Atlantic Forest region of Brazil that produce small, colorful, edible fruit that are used in empiric mode to treat several diseases, such as diabetes, as fruits are a rich source of dietary phenolic antioxidants. In this study, we investigated the inhibitory activity of methanolic fruit extracts from the *Myrtaceae* family -*Psidium cattleianum* (araçá), *Syzygium cumini* (jambolão), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), *Eugenia uniflora* (pitanga) and *Eugenia pyriformis* (uvaia) - against α -amylase and intestinal α -glucosidase (maltose and sucrose). The antioxidant activities were evaluated using two different *in vitro* assays: the 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) (ABTS) test and the 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) test. The extracts of *P. cattleianum*, *S. cumini*, *E. pyriformis* inhibited α -amylase activity between 13% and 60% ($p < 0.05$). The extracts of *P. cattleianum* also inhibited α -glucosidase activity with either maltose or sucrose as substrate between 15% and 61% ($p < 0.05$). Additionally, these fruits are rich in phenolic compounds with antioxidant activities.

Keywords: *Myrtaceae*, diabetes, phenolics, α -glucosidase, α -amylase

Resumo

Existe uma grande diversidade de plantas que produzem pequenos frutos comestíveis na região da Mata Atlântica do Brasil e que são utilizados, de modo empírico, para tratar várias doenças, como diabetes, devido aos frutos coloridos serem fonte de antioxidantes fenólicos na dieta alimentar. Neste estudo investigamos a atividade inibitória de extratos metanólicos de frutos da família *Myrtaceae*: *Psidium cattleianum* (araçá), *Syzygium cumini* (jambolão), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), *Eugenia uniflora* (pitanga) e *Eugenia pyriformis* (uvaia) na inibição da atividade das enzimas α -amilase e α -glicosidase intestinal (maltose e sacarose). A atividade antioxidante foi determinada em dois diferentes ensaios *in vitro*: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolona-6-sulfonato) (ABTS) e 2,2'-difênil-1-picrilhidrazil (DPPH). Os extratos de *P. cattleianum*, *S. cumini*, *E. pyriformis* inibiram a atividade da α -amilase entre 13% e 60% ($P < 0,05$). O extrato de *P. cattleianum* inibiu a atividade da α -glicosidase (substrato maltose ou sacarose) entre 15% e 61% ($P < 0,05$). Além disso, esses frutos são ricos em compostos fenólicos com atividade antioxidante.

Palavras-chave: *Myrtaceae*, diabetes, fenólicos, α -glicosidase, α -amilase

Introduction

Chronic hyperglycemia due to carbohydrate metabolism alterations is the main characteristic of type 2 diabetes *mellitus* (T2DM). This disease frequently does not present many symptoms and thus can remain undiagnosed and untreated for many years, leading to micro- and macrovascular damage to the eyes, kidneys, heart, and nerves (1). Recommendations to prevent or to delay the complications of this disease include a healthy diet, regular physical exercise, and corporal weight control (lifestyle change) (2).

Several drugs are indicated to treat T2DM, including glucosidase inhibitors such as acarbose, miglitol, and voglibose (3). These drugs act through the interruption or slowing of the digestion of dietary starch in order to decrease the rate of blood sugar absorption in the small intestine by the inhibition of the activity of α -amylase and α -glucosidase enzymes (4,5). Although blood glucose is reduced, the glucosidase inhibitors may generate some unexpected adverse effects, such as diarrhea, abdominal pain, flatulence (3), and weight gain (6).

Consumption of fruits rich in phenolic compounds is associated with health benefits, and there is evidence that some fruit extracts inhibit enzymes involved in carbohydrate metabolism. Thus, fruit extracts have been shown to be a potential source of antihyperglycemic compounds, capable of slowing down glucose absorption with minimum side effects. The *Myrtaceae* family is one of the world's leading commercial fruit tree families with great potential to be explored economically, with fruits presenting excellent nutritional value. Among the various genera belonging to this family, leaf and fruits extracts from *Psidium cattleianum* (araçá), *Syzygium cumini* (jambolão), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), *Eugenia uniflora* (pitanga), and *Eugenia pyriformis* (uvaia) have been investigated in the treatment of diabetes. The fruits are considered sources of phytochemicals such as phenolic compounds, carotenoids, and volatile compounds. Many of these phytochemicals have the capability to act in controlling oxidative stress and protein glycation due to their potential to decrease hyperglycemia and hyperlipidemia by the inhibition of the catalysis of digestive enzymes. They are related to the prevention and management of several chronic and degenerative diseases, including cancer, cardiovascular diseases, obesity, amnesia among other disorders (5,7,8). These genera are common in the Atlantic Forest region in Brazil and are widely used in folk medicine

Introdução

A hiperglicemia crônica, decorrente de alterações no metabolismo dos carboidratos é a principal característica do diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2). Frequentemente esta doença não apresenta muitos sintomas e pode permanecer muitos anos sem diagnóstico e tratamento, levando a vários danos micro- e macrovasculares nos olhos, rins, coração e nervos (1). As recomendações para prevenir a doença ou retardar as complicações incluem uma dieta saudável, exercícios físicos regulares e controle do peso corporal (mudança de estilo de vida) (2).

Vários medicamentos são indicados para tratar DMT2, tais como inibidores de glicosidase (por exemplo, acarbose, miglitol e voglibose) (3). Estes medicamentos atuam interrompendo ou retardando a digestão do amido, diminuindo a taxa de glicose no sangue, proveniente da absorção através do intestino delgado. Este processo é mediado pela inibição da atividade enzimática da α -amilase e α -glicosidase (4,5). Apesar da redução da glicemia, os inibidores da glicosidase podem gerar efeitos adversos, tais como diarréia, dor abdominal, flatulência (3) e ganho de peso (6).

O consumo de frutos ricos em compostos fenólicos está associado a benefícios à saúde e existem evidências de que alguns extratos de frutos inibem as enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos, evidenciando uma fonte potencial de compostos anti-hiperglicêmicos, capazes de retardar a absorção da glicose com o mínimo de efeitos colaterais (5,7,8). A família *Myrtaceae* é uma das principais famílias de árvores frutíferas comerciais do mundo com grande potencial para ser explorada economicamente, cujos frutos apresentam excelente valor nutricional. Entre os vários gêneros pertencentes a esta família foram investigados no tratamento de DMT2 os extratos de folhas e frutos de *Psidium cattleianum* (araçá), *Syzygium cumini* (jambolão), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), *Eugenia uniflora* (pitanga) e *Eugenia pyriformis* (uvaia). Os frutos são considerados fontes de fitoquímicos como compostos fenólicos, carotenóides e compostos voláteis. Muitos desses fitoquímicos têm a capacidade de agir controlando o estresse oxidativo e a glicação proteica devido ao seu potencial de diminuir a hiperglicemia e a hiperlipidemia, pela inibição da catálise das enzimas digestivas. Eles estão relacionados à prevenção e ao manejo de várias doenças crônicas e degenerativas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, obesidade, amnésia entre outros distúrbios (5,7,8). Estes gêneros são comuns na região da Mata Atlântica no Brasil e são

to treat hyperglycemia, but without scientific evidence to support the effectiveness of treatment. Therefore, the aim of this study was to characterize fruits from plants of *Myrtaceae* family (*Psidium cattleianum*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia pyriformis*, *Eugenia uniflora* and *Syzygium cumini*) that grow in the Southern region of the Brazilian Atlantic Forest through determination of inhibitory potential of α -amylase and α -glucosidase, their total phenolic and total flavonoid content, and their antioxidant activity.

Materials and Methods

Analytical reagents and chemicals

Reagents, solvents, and enzymes were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Acarbose was purchased from Bayer (Glucobay® 100) and the glucose assay kit (Glicose GOD) was purchased from Labtest® (Minas Gerais, Brazil).

Plant material

The fully ripe fruit from *Psidium cattleianum* (red fruit, accesses 44 and 87, and yellow fruit, access ‘bicudo’), *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia pyriformis* (accesses 3, 4, 11, and 15) and *Eugenia uniflora* (access 156) were harvested from the experimental field at ‘Embrapa Clima Temperado’, Research Station, in Pelotas, RS, Brazil, (31° 42’ S, 52° 24’ W, Altitude: 57 m). Each access corresponds to a different germoplasm, identified and registered in the Active Germplasm Bank. The fully ripe fruit from *Syzygium cumini* was harvested from the experimental field at ‘Universidade Federal de Pelotas’, Capão do Leão, RS, Brazil. Only commonly edible parts were used for the analyses – whole fruit for *P. cattleianum* and *C. xanthocarpa*; peel and pulp for *E. pyriformis*, *E. uniflora* and *S. cumini*. Fruits were selected, processed, freeze-dried and stored at -20°C.

Preparation of fruit extracts

Extract preparation was based on the method of Alothman *et al.* (2009), with modifications. Frozen fruits (200 g) were ground to a fine powder in a ball mill (Marccone MA350, São Paulo, Brazil) with liquid nitrogen and mixed (1:3, weight (w)/volume (v) ratio) with an extraction solvent (methanol:water, 80:20, v/v ratio). Samples were incubated for 3 hours in a water bath with stirring and heating (40°C). Extracts were filtered, dried in a rotatory evaporator at 40°C (La Borota 4000

amplamente utilizados na medicina popular para tratar a hiperglicemia, mas sem evidências científicas que apoiem a eficácia do tratamento. Portanto, o objetivo deste estudo foi caracterizar frutos de plantas da família *Myrtaceae* (*Psidium cattleianum*, *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia pyriformis*, *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*) que crescem na região sul da Mata Atlântica brasileira, através da determinação do potencial inibitório da α -amilase e α -glicosidase, seu conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, bem como a atividade antioxidante.

Material e Métodos

Reagentes analíticos e produtos químicos

Reagentes, solventes e enzimas foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Acarbose foi obtida comercialmente do fabricante Bayer (Glucobay® 100) e o kit de ensaio de glicose (Glicose GOD) foi comprado da Labtest® (Minas Gerais, Brasil).

Material vegetal

Os frutos totalmente maduros de *Psidium cattleianum* (fruto vermelho, acessos 44 e 87 e fruto amarelo, acesso ‘bicudo’), *Campomanesia xanthocarpa*, *Eugenia pyriformis* (acessos 3, 4, 11 e 15) e *Eugenia uniflora* (acesso 156) foram colhidos do campo experimental na ‘Embrapa Clima Temperado’, Estação de Pesquisa, em Pelotas, RS, Brasil, (31° 42’ S, 52° 24’ W, Altitude: 57 m) sendo cada acesso correspondente a um germoplasma diferente, identificado e registrado no Banco de Germoplasma Ativo. O fruto totalmente maduro de *Syzygium cumini* foi colhido do campo experimental da Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS, Brasil. Para as análises foram utilizadas apenas partes comumente comestíveis - fruta inteira para *P. cattleianum* e *C. xanthocarpa*; casca e polpa para *E. pyriformis*, *E. uniflora* e *S. cumini*. Os frutos foram selecionados, processados, liofilizados e armazenados a -20°C.

Preparação dos extratos dos frutos

Os extratos foram realizados segundo o método de Alothman *et al.* (2009) com modificações. Frutos congelados (200 g) foram moídos em pó fino em um moinho de bolas (Marccone MA350, São Paulo, Brasil) com nitrogênio líquido e misturados (1:3, relação peso (m)/volume (v)) com o solvente de extração

Heidolph, Schawabach, Germany) and freeze-dried (Enterprise Terroni, São Carlos (SP), Brazil). Extracts were prepared in triplicate and dissolved in methanol/water (1:3) to a concentration of 5,0 g.ml⁻¹ and stored at - 20°C until analysis.

Determination of total phenolic content

Total phenolics were determined by using the Folin-Ciocalteu method described by Swain and Hillis (10). Results were expressed as milligram of gallic acid equivalents per 100 g fresh weight (mg of GAE/100 g fw).

Determination of total flavonoids content

The total flavonoid content was measured according to the method described by Zhishen *et al.* (11). Results were expressed as milligram catechin equivalents per 100 g fresh weight (mg of CE/100 g fw).

DPPH and ABTS radical-scavenging assay

Antioxidant activity was determined using the DPPH radical scavenging method according to Brand-Williams *et al.* (12). The ABTS method was performed according to Re *et al.* (13). Results were expressed as a percentage of inhibition of DPPH or ABTS radical, respectively.

α-amylase inhibition assay

Inhibitory activity of α-amylase was determined according to Yu *et al.* (14) with modifications. The tests were performed using α-amylase from *Bacillus licheniformis* (40 units/mL), aqueous extracts at different concentrations (0.1; 0.25; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0; 10.0 mg/mL) and a solution of soluble starch (1%). Acarbose was used as positive control (5 μM) (15). The inhibition (%) was calculated by using the following formula:

$$\text{Percent Inhibition} = \frac{(\text{Control Abs} - \text{Sample Abs})}{(\text{Control Abs})} \times 100$$

(metanol:água, 80:20, relação v/v). As amostras foram incubadas durante 3 horas em um banho de água com agitação e aquecimento (40°C). Os extratos foram filtrados e secos utilizando um evaporador rotatório a 40°C (La Borota 4000 Heidolph, Schawabach, Alemanha) e liofilizados (Enterprise Terroni, São Carlos (SP), Brasil). Os extratos foram preparados em triplicata e dissolvidos em metanol/água (1:3) a uma concentração de 5,0 g.ml⁻¹ e armazenados a - 20°C até a análise.

Determinação do conteúdo fenólico total

O conteúdo fenólico total foi determinado utilizando o método Folin-Ciocalteu descrito por Swain e Hillis (10). Os resultados foram expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico por 100 g de material fresco (peso fresco) (mg de EAG/100 g mf).

Determinação do teor total de flavonoides

O conteúdo total de flavonoides foi determinado utilizando o método descrito por Zhishen *et al.* (11). Os resultados foram expressos em equivalente de catequina miligrama por 100 g de material fresco (peso fresco) (mg de EC/100 g mf).

Ensaio de DPPH e ABTS para a remoção de radicais

A atividade antioxidante foi determinada utilizando o método DPPH, de acordo com Brand-Williams *et al.* (12). O método ABTS foi realizado de acordo com Re *et al.* (13). Os resultados foram expressos como percentagem de inibição do radical DPPH ou ABTS, respectivamente.

Ensaio da inibição da α-amilase

A atividade inibitória da α-amilase foi determinada de acordo com Yu *et al.* (14) com modificações. Os testes foram realizados utilizando α-amilase de *Bacillus licheniformis* (40 unidades/mL), extratos de frutos em diferentes concentrações (0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 mg/mL) e solução de amido solúvel (1%). Acarbose foi utilizada como controle positivo (5 μM) (15). A inibição (%) foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\text{Inibição percentual} = \frac{(\text{Abs Controle} - \text{Abs Amostra})}{(\text{Abs Controle})} \times 100$$

α -glucosidase inhibition assay

Intestinal α -glucosidase inhibitory activity was based on the method of Adisakwattana *et al.* (16) with modifications. Intestinal acetone powder from rat (Sigma-Aldrich catalog n° I1630) were used for the enzyme solution and maltose (86 mM) or sucrose (400 mM) solutions as the substrate. Fruits extracts were used in different concentrations (1; 2.5; 5.0; 10.0 mg/mL) in aqueous solution. Acarbose was used as a positive control (5 μ M) (15). The inhibition (%) was calculated by using the following formula:

$$\text{Percent Inhibition} = \frac{(\text{Control Abs} - \text{Sample Abs})}{(\text{Control Abs})} \times 100$$

Statistical analysis

The results were expressed as mean values and standard error (SE). Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's Test with $p < 0.05$. The statistical program used was GraphPad Prism® version 5.0 (San Diego, California, USA). All analyses were performed in triplicate.

Results and Discussion

Phenolic content and antioxidant capacity

The total content of phenolic compounds and flavonoids of the fruits analyzed in this study are shown in Table 1. The total phenolic compound content ranged from 181.48 to 541.15 mg of GAE/100 g fw. *S. cumini* had the highest phenolic compound content (541,15 mg of GAE/100 g fw) followed by *C. xanthocarpa* (495,86 mg of GAE/100 g fw) and *P. cattleianum* (all accesses) (range 435,81 to 445,64 mg of GAE/100 g fw). Gajera *et al.* (17) evaluated the phenolic content in methanolic extract of *S. cumini* and describe results similar to those in our study. According the authors, seven phenolic compounds (gallic acid, catechin, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, ellagic acid and quercetin) were identified in higher concentrations in seeds and seeds parts. In the *P. cattleianum*, we observed similar quantitative results as reported by Pereira *et al.* (18). However, discrepant higher values (632.56 to 581.02 mg of GAE/100 g fw) were reported by Medina *et al.*

Ensaio da inibição da α -glicosidase

A medida da inibição da α -glicosidase intestinal foi baseada no método de Adisakwattana *et al.* (16), com modificações. Foi utilizado pó de acetona intestinal obtida de rato (Sigma-Aldrich catalog n° I1630) como solução enzimática e maltose (86 mM) ou sacarose (400 mM) como substrato. Os extratos de frutos foram utilizados em diferentes concentrações (1; 2,5; 5,0; 10,0 mg/mL) em solução aquosa. Acarbose foi utilizada como controle positivo (5 μ M) (15). A inibição (%) foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\text{Inibição percentual} = \frac{(\text{Abs Controle} - \text{Abs Amostra})}{(\text{Abs Controle})} \times 100$$

Análise estatística

Os resultados foram expressos como valores de média \pm erro padrão (EP). Os dados foram analisados utilizando a análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo Teste de Tukey com $p < 0,05$. O programa estatístico utilizado foi o GraphPad Prism® versão 5.0 (San Diego, Califórnia, EUA). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Resultados e Discussão

Conteúdo fenólico e capacidade antioxidante

O conteúdo total de compostos fenólicos e flavonoides dos frutos analisados estão descritos na Tabela 1. O conteúdo de compostos fenólicos total variou de 181,48 a 541,15 mg de EGA/100 g mf). A maior concentração de compostos fenólicos foi identificada nos frutos de *S. cumini* (541,15 mg de EGA/100 g mf) seguido por *C. xanthocarpa* (495,86 mg de EGA/100 g mf) e *P. cattleianum* (todos os acessos) (435,81 a 445,64 mg de EAG/100 g mf). Gajera *et al.* (17) avaliaram o conteúdo fenólico em extrato metanólico de *S. cumini* e descreveram resultados similares aos obtidos em nosso estudo. Segundo os autores, sete compostos fenólicos (ácido gálico, catequina, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido elágico e quercetina) foram identificados em maiores concentrações nas sementes e partes das sementes. Para *P. cattleianum*, em nosso estudo observamos resultados quantitativos semelhantes aos relatados por Pereira *et al.* (18). Entretanto, valores maiores (632,56 a 581,02 mg de EAG/100 g mf) foram descritos no estudo de Medina *et al.* (19), que avaliaram a composição da polpa em extrato aquoso. Estas diferenças podem ser devidas a

Table 1 - Total phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant capacities of methanolic extracts of fruits from *Myrtaceae* family from the Rio Grande do Sul, Brazil. Data represents the mean of three independent determinations (n=3), performed in triplicate. Values in each column with distinct letters are significantly different ($*p<0.05$) using ANOVA and Tukey's post hoc analysis

Tabela 1 - Compostos fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante de extratos metanólicos de frutos da família *Myrtaceae* do Rio Grande do Sul, Brasil. Dados representam a média de três determinações independentes (n=3), realizadas em triplicatas. Valores descritos na mesma coluna, seguidas por letras distintas, diferem estatisticamente ($p<0,05$) na análise estatística ANOVA seguida de análise post hoc pelo teste de Tukey.

Fruits/ Frutos	Total Phenolics / Fenólicos totais ¹	Total Flavonoids / Flavonoides totais ²	Antioxidant capacities / Capacidade antioxidante	
			DPPH ³	ABTS ⁴
<i>P. cattleianum</i> access 44	435.81 ^b	82.51 ^a	95.62 ^a	66.12 ^a
<i>P. cattleianum</i> access 87	439.33 ^b	85.37 ^a	93.95 ^a	65.18 ^a
<i>P. cattleianum</i> access bicudo	445.64 ^b	100.07 ^a	94.51 ^a	71.95 ^a
<i>C. xanthocarpa</i>	495.86 ^b	52.61 ^b	95.13 ^a	55.32 ^b
<i>S. cumini</i>	541.15 ^a	86.75 ^a	94.53 ^a	64.14 ^a
<i>E. uniflora</i> access 156	293.48 ^c	12.65 ^c	67.10 ^c	21.78 ^c
<i>E. pyriformis</i> access 3	399.01 ^c	43.67 ^b	87.20 ^b	25.99 ^c
<i>E. pyriformis</i> access 4	181.48 ^c	14.35 ^c	40.78 ^d	18.32 ^c
<i>E. pyriformis</i> access 11	240.25 ^c	20.50 ^c	47.02 ^d	21.37 ^c
<i>E. pyriformis</i> access 15	211.93 ^c	21.84 ^c	41.60 ^d	24.13 ^c

¹ Total phenolics compounds expressed in milligram of gallic acid equivalents per 100 g fresh weight (mg GAE/100g fw) / Compostos fenólicos totais expressos em miligrama de equivalente de ácido gálico por 100 g de material fresco (mg EAG/100 g mf).

² Total flavonoids expressed in milligram of catechin equivalents per 100 g fresh weight (mg CE/100g fw) / Flavonoides totais expressos em miligrama de equivalente de catequina por 100 g de material fresco (mg EC/100 g mf).

³ Expressed in % of inhibition of DPPH radical / Expresso em % de inibição do radical DPPH.

⁴ Expressed in % of inhibition of ABTS radical / Expresso em % de inibição do radical ABTS.

(19), who evaluated the composition of pulp in aqueous extracts. These differences can be due to several factors, such as humidity, soil type, climate during the development phase, stage of maturation (20), genetic differences, and postharvest storage conditions (21). The part(s) of the fruit utilized and the method of extraction can also contribute to these differences (18).

In order to determine the antioxidant activity of the extracts, two distinct methods were used (DPPH and ABTS) (Table 1). The highest percentage of inhibition of DPPH radicals were observed in *C. xanthocarpa* (95.13%), *S. cumini* (94.53%) and *P. cattleianum* (all accesses) (93.95% to 95.62%), which correlated with the highest levels of phenolic compounds detected. Similar results were observed in the inhibition of ABTS radicals. Total phenolic content is positively correlated with antioxidant activity. In fact, major phenolic compounds related to fruits from *Myrtaceae* family, such as gallic acid, catechin, ellagic and ferulic acids are strongly linked to antidiabetic and free radical scavenging activity (17). Chelation, inhibition of lipid peroxidation, anti-inflammatory, and antiproliferative properties are also linked to phenolic compounds (18). Other authors have also described the antioxidant property of methanolic extract of *S. cumini* in leaves, fruit peel, and leaf gall, corroborating with our results (22).

Inhibitory activities against α -amylase and α -glucosidase

Currently available drugs for the control of hyperglycemia are effective, however, the search for alternatives that will have fewer side effects is of great interest. Therefore, this study assessed fruit extracts for their inhibitory potential in the activity of α -amylase and α -glucosidase which are directly related to glucose absorption. Extracts of plants that are rich in phenolic compounds have been described as inhibiting both enzymes (5). In our study, *P. cattleianum* access 44 (2.5 mg/mL), *S. cumini* (0.1, 0.25, 0.5 and 1.0 mg/mL) and *E. pyriformis* access 11 (0.1, 0.25, 0.5 and 1.0 mg/mL) and access 15 (0.1, 0.25 and 0.5 mg/mL) extracts significantly inhibited ($p < 0.05$) α -amylase activity *in vitro* (Figure 1). The extract of *S. cumini* demonstrated the highest percentage of α -amylase activity inhibition ($60.50 \pm 1.37\%$) at lower concentrations (0.1 mg/mL). In an *in vivo* study, rats fed with ethanolic extract of *S. cumini* seed and pulp were observed to have an ameliorated / lower production of insulin and a better blood sugar balance (17). This effect was attributed

vários fatores como umidade, tipo de solo, clima durante a fase de desenvolvimento, estágio de maturação (20), diferenças genéticas e condições de armazenamento pós-colheita (21). Além disso, a parte da fruta utilizada e o método de extração também podem ser responsáveis por estes resultados (18).

Para determinar a atividade antioxidante dos extratos, foram utilizados dois métodos distintos (DPPH e ABTS) (Tabela 1). A maior porcentagem de inibição dos radicais DPPH foi observada para *C. xanthocarpa* (95,13%), *S. cumini* (94,53%) e *P. cattleianum* (todos os acessos) (93,95% a 95,62%), sendo observada a relação da atividade antioxidante naqueles frutos com as maiores concentrações de compostos fenólicos. Resultados semelhantes foram observados para inibição dos radicais ABTS. O conteúdo fenólico total está positivamente correlacionado com a atividade antioxidante. De fato, os principais compostos fenólicos encontrados nos frutos da família *Myrtaceae*, tais como ácido gálico, catequina, ácido elágico e ácido ferúlico estão altamente relacionados com a atividade antidiabética e antioxidante (17). As propriedades quelantes, inibição da peroxidação lipídica, anti-inflamatórios e antiproliferativos também estão correlacionadas com compostos fenólicos (18). Outros autores também descrevem a propriedade antioxidante do extrato metanólico de *S. cumini* obtido a partir de folhas, casca de frutas e galhas das folhas, corroborando com nossos resultados (22).

Inibição da atividade de α -amilase e α -glicosidase

Os medicamentos atualmente disponíveis para o controle da hiperglicemia são efetivos. Entretanto, a busca de alternativas que tenham menos efeitos colaterais é de grande interesse. Portanto, este estudo avaliou extratos de frutos que apresentem potencial inibitório na atividade da α -amilase e α -glicosidase, enzimas que estão diretamente relacionados à absorção da glicose. Dentre os possíveis frutos a serem utilizados, aqueles ricos em compostos fenólicos são descritos como inibidores de ambas as enzimas (5). Em nosso estudo, extratos de *P. cattleianum* acesso 44 (2,5 mg/mL), *S. cumini* (0,1, 0,25, 0,5 e 1,0 mg/mL) e *E. pyriformis* acessos 11 (0,1, 0,25, 0,5 e 1,0 mg/mL) e 15 (0,1, 0,25 e 0,5 mg/mL) significativamente inibiram a atividade da α -amilase *in vitro* ($p < 0,05$) (Figura 1). O extrato de *S. cumini* foi responsável pela maior porcentagem de inibição ($60,50 \pm 1,37\%$) da atividade da α -amilase em concentrações mais baixas (0,1 mg/mL). Em um estudo *in vivo*, ratos foram tratados com extrato etanólico de *S. cumini*, obtido a partir de semente

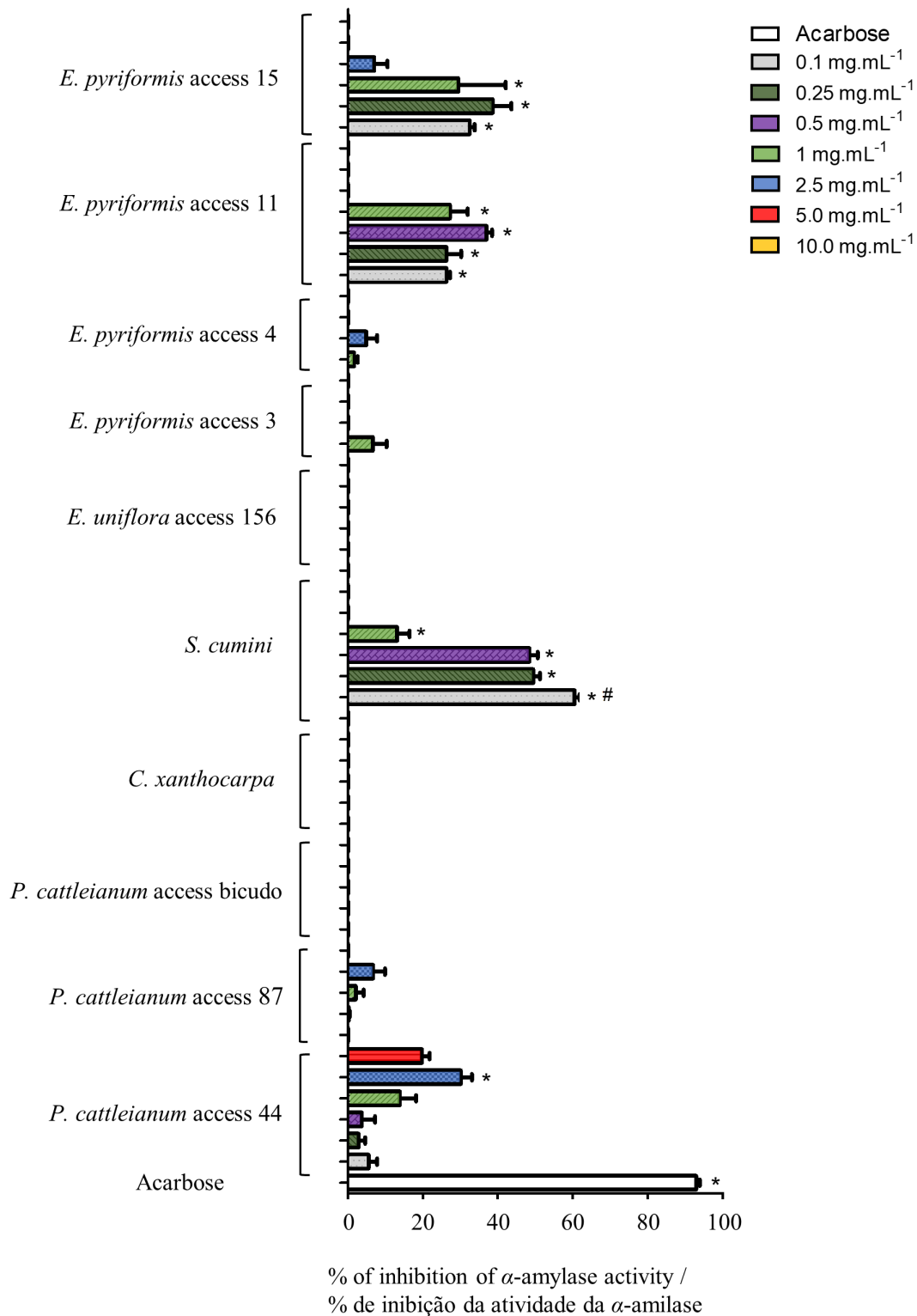


Figure 1 - α -amylase inhibitory activities of fruits from *Myrtaceae* family from the Rio Grande do Sul, Brazil. Data are expressed in % of inhibition in relation of control (n=3). * Indicates significantly difference ($*p < 0.05$) using ANOVA and Tukey's post hoc analysis in relation of control (0% of inhibition); # Indicates significantly difference ($*p < 0.05$) between different concentrations of the same group

Figura 1 - Inibição da atividade de α -amilase por frutos da família *Myrtaceae* do Rio Grande do Sul, Brasil. Dados são expressos em % de inibição em relação ao controle (n=3). *Indica diferença significativa ($*p < 0,05$) usando ANOVA e análise post hoc de Tukey, em relação ao controle (0% de inibição); # Indica diferença significativa ($*p < 0,05$) entre diferentes concentrações do mesmo grupo.

to ellagic acid and its ability to stop the conversion of starch into sugar when glucose level increases in blood (17,23). The α -amylase inhibition is also attributed to catechins. These are able to bind to the active site side chains, resulting in a complex that prevents the substrate from binding (noncompetitive inhibition), and variations in catechin structure can affect their power of inhibition. The addition of a galloyl group, for example, creates a powerful inhibitor inhibition (24). Similarly to our results, Poonguran *et al.* (25) also demonstrate a significantly higher inhibitory effects on α -amylase using methanol and water extracts of *S. cumini* leaves, rich in tetraterpenoids ursolic acid and oleanolic acid.

e polpa, onde foi observada uma melhora na produção de insulina e do balanço de glicose no sangue (17). Este efeito foi atribuído ao ácido elágico e sua capacidade de modular a conversão de amido em açúcar quando o nível de glicose no sangue aumenta (17, 23). A inibição da α -amilase também pode ser atribuída às catequinas. Estas são capazes de se ligar às cadeias laterais do sítio ativo, resultando em um complexo que impede a ligação do substrato (inibição não competitiva). A variação na estrutura da catequina pode afetar seu poder de inibição. Ao adicionar o grupo galoil o composto formado é capaz de exercer uma poderosa inibição (24). Semelhante aos nossos resultados, Poonguran *et al.* (25)

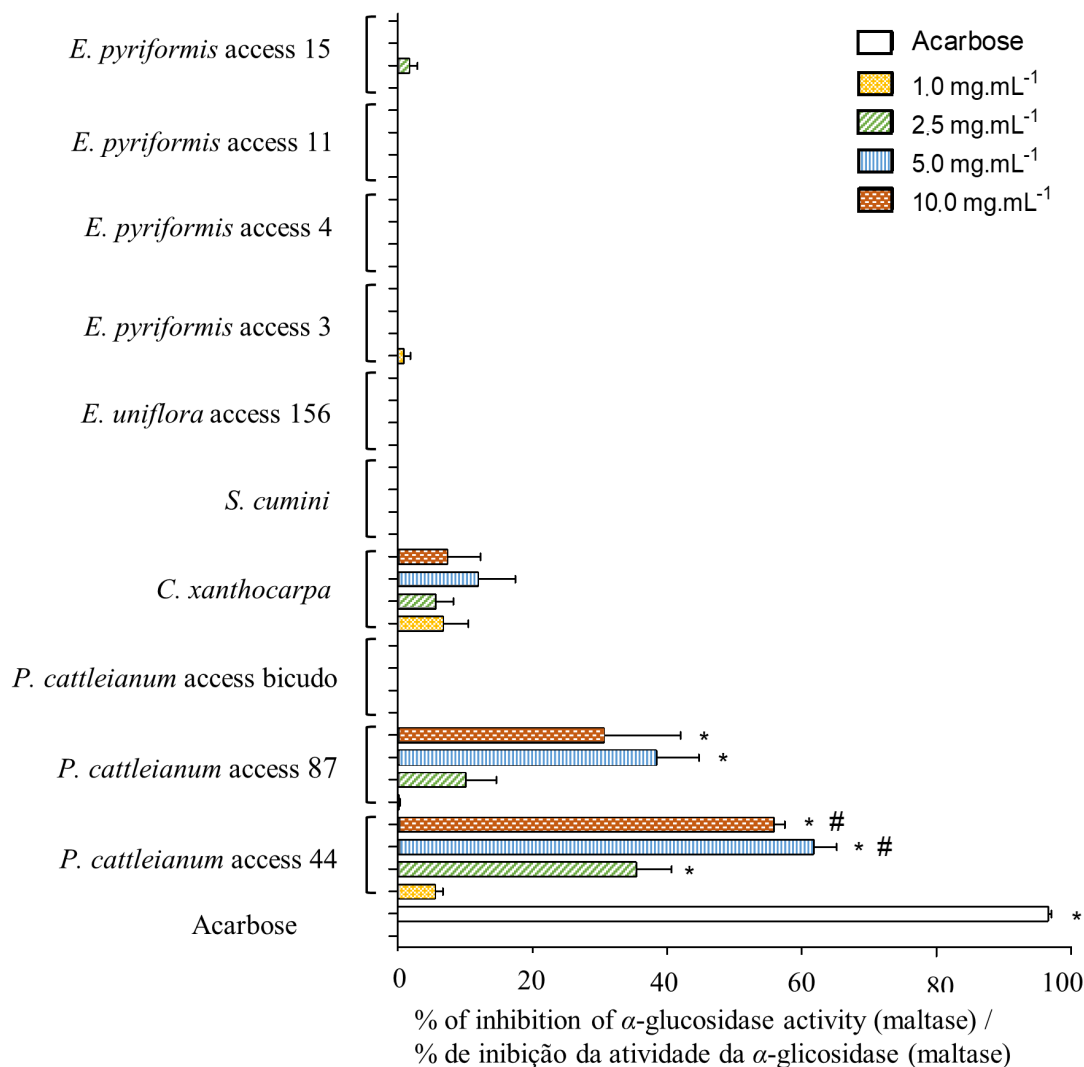


Figure 2 - α -glucosidase/maltase inhibitory activities of fruits from *Myrtaceae* family from the Rio Grande do Sul, Brazil (maltose substrate). Data are expressed in % of inhibition in relation of control (n=3)* Indicates significantly difference ($*p<0.05$) using ANOVA and Tukey's post hoc analysis in relation of control (0% of inhibition); # Indicates significantly difference ($*p<0.05$) between different concentrations of the same group.

Figura 2 - Inibição da atividade de α -glicosidase/maltase por frutos da família *Myrtaceae* do Rio Grande do Sul, Brasil (substrato maltose). Dados são expressos em % de inibição em relação ao controle (n=3)

*Indica diferença significativa ($*p < 0,05$) usando ANOVA e análise post hoc de Tukey, em relação ao controle (0% de inibição); # Indica diferença significativa ($*p < 0,05$) entre diferentes concentrações do mesmo grupo.

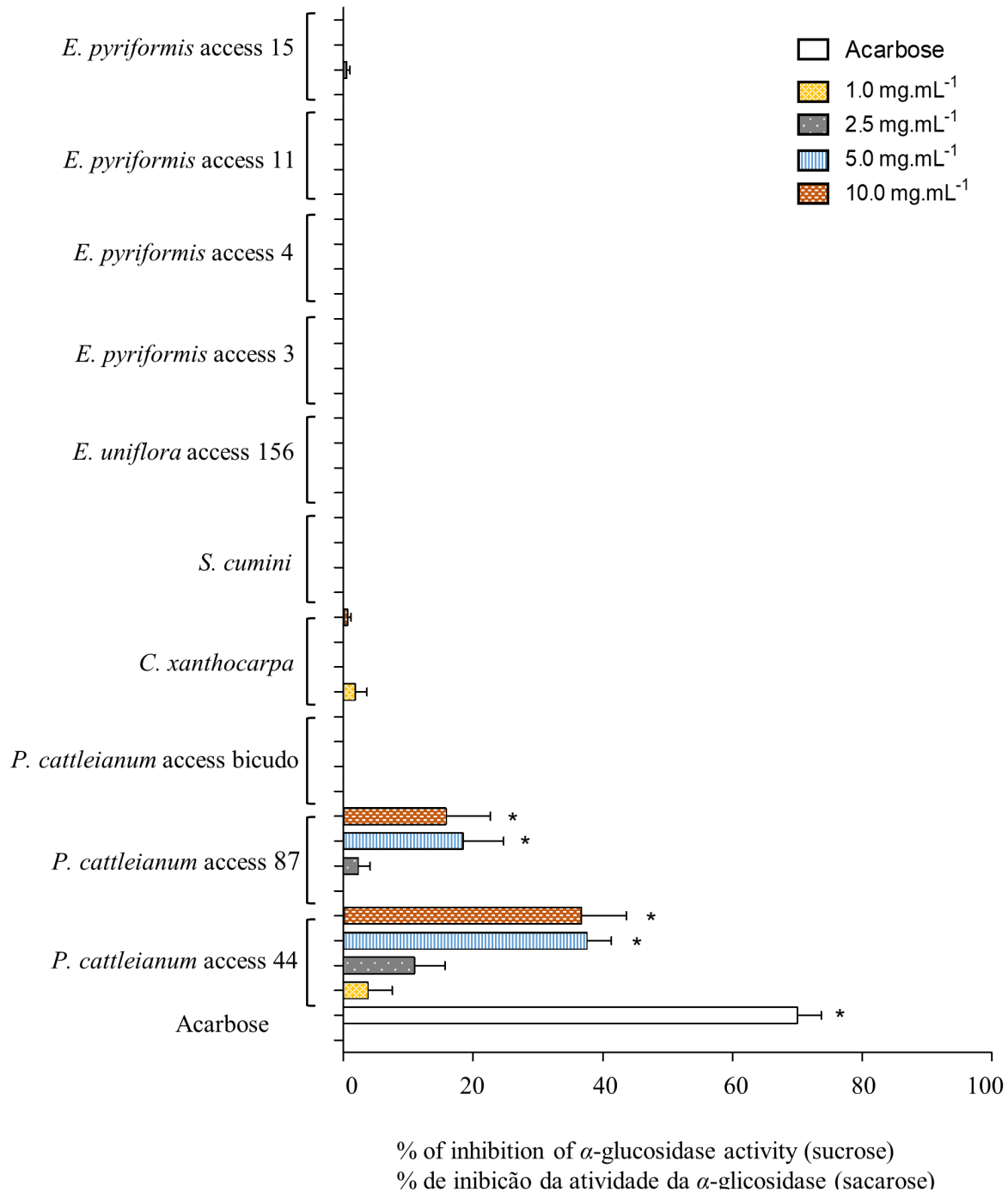


Figure 3 - α -glucosidase inhibitory activities of fruits from *Myrtaceae* family from the Rio Grande do Sul, Brazil (sucrose substrate). Data are expressed in % of inhibition in relation of control (n=3). * Indicates significantly difference (* p <0.05) using ANOVA and Tukey's post hoc analysis in relation of control (0% of inhibition); # Indicates significantly difference (* p <0.05) between different concentrations of the same group.

Figura 3 - Inibição da atividade de α -glicosidase por frutos da família *Myrtaceae* do Rio Grande do Sul, Brasil (substrato sacarose). Dados são expressos em % de inibição em relação ao controle (n=3). *Indica diferença significativa (* p <0,05) usando ANOVA e análise post hoc de Tukey, em relação ao controle (0% de inibição); # Indica diferença significativa (* p <0,05) entre diferentes concentrações do mesmo grupo.

Phenolic compounds were found to be effective inhibitors of intestinal α -glucosidase/maltase activity. Phenolic compounds positively interact with enzymes by changing their biocatalytic action. The carboxyl and hydroxyl groups of phenolic acids bind to the starch through hydrogen bonds, chelation or covalent bonds, forming bridges or cross-links (23). α -Glucosidase activity was evaluated using maltose and sucrose substrates. *P. cattleianum* access 44 (2.5, 5.0 and 10.0 mg/ml) and access 87 (5.0 and 10.0 mg/ml) were capable of significantly inhibiting maltase activity ($p < 0.05$) (Figure 2). When we used sucrose as substrate, *P. cattleianum* access 44 (5.0 and 10.0 mg/ml) and access 87 (5.0 and 10.0 mg/ml) were able to inhibit α -glucosidase activity ($p < 0.05$) (Figure 3). Interestingly, the inhibitory effects were observed in the presence of the highest flavonoids contents. In a study with red fruits of *P. cattleianum*, several anthocyanins (cyanidin-3-glucoside, malvidin-3-glucoside, and cyanidin chloride) were identified as majority compounds (26). Flavonoids myricetin and quercetin, found in *Hovenia Dulcis Thunb.*, have been reported to reversibly inhibit α -glucosidase in a noncompetitive manner (8). It should also be noted that enzymes of different origin showed different results. When assessing inhibition of yeast α -glucosidase, cyanidin (99%), myricetin (94%) and genistein (93%) were the main inhibitors. When using α -glucosidase from rat small bowel, the main inhibitors were epigallocatechin gallate (32%), myricetin (29%), and quercetin (28%) (27). Moreover, other authors have reported the α -glucosidase inhibitory activity might be due to the present of ellagitannins, such as punicalin and punicalagin (28).

Extracts from yellow *P. cattleianum* access 'bicudo', *E. uniflora*, and *E. pyriformis* accesses 3 and 4 did not significantly inhibit α -amylase or α -glucosidase activity in our study. However the concentration of total content of phenolic compounds and flavonoids reported are similar in red and yellow fruits of *P. cattleianum*, previous studies demonstrate that yellow fruits are rich in carotenoids (18) and red fruits has high content of anthocyanins (20), that may contribute to explain specific biological activities observed in our study. Pinto *et al.* (21) and Podsędek *et al.* (4) report that inhibition of the activity of both enzymes seems not to depend on the total phenolic compound content but the characteristics of the individual compounds such as concentration, structure, and interaction between them. These characteristics can contribute to the stability, solubility, and binding ability of these compounds to target enzymes (4).

demonstram um efeito inibitório significativamente maior na atividade da enzima α -amilase utilizando extratos metanólicos e aquosos de folhas de *S. cumini*, ricos em dois triterpenóides, ácido ursólico e ácido oleanólico.

Os compostos fenólicos são descritos como inibidores eficazes da atividade intestinal α -glicosidase/maltase. Estes interagem positivamente com as enzimas, alterando sua ação biocatalítica. Os grupos carboxil e hidroxil dos ácidos fenólicos ligam-se ao amido através de ligações de hidrogênio, quelação ou ligações covalentes, formando pontes ou ligações cruzadas (23). A atividade da α -glicosidase foi avaliada tendo como substratos maltose e sacarose. *P. cattleianum* acesso 44 (2,5, 5,0 e 10,0 mg/ml) e acesso 87 (5,0 e 10,0 mg/ml) inibiram significativamente a atividade da maltase ($p < 0,05$) (Figura 2). Para o substrato sacarose, *P. cattleianum* acesso 44 (5,0 e 10,0 mg/ml) e acesso 87 (5,0 e 10,0 mg/ml) também inibiram a atividade da α -glicosidase ($p < 0,05$) (Figura 3). Curiosamente, estes efeitos inibidores foram observados na presença dos mais altos conteúdos de flavonoides. Em um estudo com frutos vermelhos de *P. cattleianum* foi identificada a presença de antocianinas (cianidina-3-glicosídeo, malvidina-3-g glicosídeo e cloreto de cianidina) como compostos majoritários (26). Também os flavonoides miricetina e quercetina encontrados em *Hovenia Dulcis Thunb.*, foram descritos como inibidores reversíveis de α -glicosidase, de forma não competitiva (8). Além disso, enzimas de diferentes origens apresentaram resultados diferentes. Ao se avaliar a inibição da α -glicosidase de levedura, a cianidina (99%), a miricetina (94%) e a genisteína (93%) foram os principais inibidores. Quando se utilizou α -glicosidase de intestino de ratos, os principais inibidores foram a epigallocatequina galato (32%), a miricetina (29%) e a quercetina (28%) (27). Outros autores também relataram que a atividade inibitória α -glicosidase pode ser devida à presença de elagitaninas, como a punicalina e a punicalagina (28).

Os extratos de *P. cattleianum* amarelo acesso 'bicudo', *E. uniflora*, *E. pyriformis* acessos 3 e 4 não inibiram significativamente a atividade de α -amilase e α -glicosidase em nosso estudo. Embora a concentração do conteúdo total de compostos fenólicos e flavonoides relatados sejam semelhantes nos frutos vermelhos e amarelos de *P. cattleianum*, estudos anteriores demonstram que os frutos amarelos são ricos em carotenóides (18) e os frutos vermelhos possuem alto teor de antocianinas (20), que pode contribuir para explicar atividades biológicas específicas observadas em nosso estudo. Pinto *et al.* (21) e Podsędek *et al.* (4)

Conclusion

Extracts of *P. cattleianum* (accesses 44 and 87), *S. cumini* and *E. pyriformis* (accesses 11 and 15) evaluated in this study were effective in inhibiting the activity of α -amylase and/or α -glucosidase *in vitro*, correlated with high content of phenolic compounds and antioxidant capacity. Considering the evidence which suggests that phenolic compounds are relevant in the prevention or treatment of chronic diseases, including T2DM, increasing knowledge on the biological activities of native fruits rich in this compounds could be useful for developing functional foods focus on health benefits.

Authors Contributions Statement

SMN, MS, and MSP prepared the extracts and performed enzymatic assays. RAS performed phytochemical analysis, RGT and LN performed the conceptualization and study design, SMN wrote the manuscript, RGT ensured statistical analysis, supervision, and final writing /correction of the manuscript.

Funding

This study was supported by CNPq.

Acknowledgements

We are grateful to Rodrigo Cezar Franzon and to the Embrapa Clima Temperado for the supply of fruits.

Conflict of Interests

The authors declare there are no financial and/or personal relationships that could present a potential conflict of interests

relatam que a inibição da atividade de ambas as enzimas parece não depender do conteúdo total dos compostos fenólicos e sim das características dos compostos individuais, como concentração, estrutura e interação entre eles. Estas características podem contribuir para a estabilidade, solubilidade e a capacidade de ligação destes compostos com as enzimas alvo (4).

Conclusões

Extratos de *P. cattleianum* (acessos 44 e 87), *S. cumini* e *E. pyriformis* (acessos 11 e 15) avaliados neste estudo foram eficazes na inibição da atividade de α -amilase e / ou α -glucosidase *in vitro*, correlacionado com alto teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Considerando as evidências que sugerem que os compostos fenólicos são relevantes na prevenção ou tratamento de doenças crônicas, incluindo o DMT2, aumentar o conhecimento das atividades biológicas de frutas nativas ricas nesses compostos pode ser útil para o desenvolvimento de alimentos funcionais com foco em benefícios à saúde.

Declaração sobre as contribuições do autores

SMN, MS, e MSP prepararam os extratos e realizaram ensaios enzimáticos. RAS realizou a análise fitoquímica, RGT e LN realizaram a conceituação e delineamento do estudo, SMN redigiu o manuscrito, RGT realizou a análise estatística, supervisão e redação final / correção do manuscrito.

Financiamento

Este estudo foi financiado pelo CNPq.

Agradecimentos

Agradecemos a Rodrigo Cezar Franzon e à Embrapa Clima Temperado pelo fornecimento dos frutos.

Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver relações financeiras e / ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses. Satil teropublium acipse, mo Castum ta nonimur. Quod dem inprid parbit.

References / Referências

1. Broholm, S.L., Gramsbergen, S.M., Nyberg, T., Jäger, A.K., Staerk, D. (2019) Potential of *Sorbus* berry extracts for management of type 2 diabetes: Metabolomics investigation of H NMR spectra, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities, and *in vivo* anti-hyperglycaemic activity of *S. norvegica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 242, 112061. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112061>
2. Xiao, J. (2015) Natural polyphenols and diabetes: understanding their mechanism of action. *Current Medical Chemistry*, 22(1): 2-3. <https://doi.org/10.2174/0929867321666141012173816>
3. Hedrington, M.S. & Davis, S.N. (2019) Considerations when using alpha-glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opinion Pharmacotherapy*, 20 (18): 2229-2235. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1672660>
4. Podsedek, A., Majewska, I., Redzynia, M., Sosnowska, D., Koziolkiewicz, M. (2014). *In vitro* inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20): 4610-4617. <https://doi.org/10.1021/jf5008264>
5. Papoutsis, K., Zhang, J., Bowyer, M.C., Brunton, N., Gibney, E.R., Lyng, J. (2021) Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with α -amylase and α -glucosidase inhibition properties: A review. *Food Chemistry*, 338 (2021) 128119. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128119>
6. Carpené, C., Gomez-Zorita, S., Deleruyelle, S., Carpené, M. A. (2015) Novel strategies for preventing diabetes and obesity complications with natural polyphenols. *Current Medical Chemistry*, 22(1): 150-164. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140815124052>
7. Correia, R. T., Borges, K. C., Medeiros, M. F., Genovese, M. I. (2012) Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. *Food Science and Technology International*, 18(6): 539-547. <https://doi.org/10.1177/1082013211433077>
8. Sun, L. & Miao, M. (2019) Dietary polyphenols modulate starch digestion and glycaemic level: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-15. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1544883>
9. Alothman, M., Bhat, R., Karim, A. A. (2009) Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extract with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3): 785-788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.005>
10. Swain, T., Hillis, W. E. (1959) The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. – The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1): 63-68. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>
11. Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.
12. Brand-Wiliams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
13. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
14. Yu, Z., Yin, Y., Zhao, W., Yu, Y., Liu, B., Liu, J., Chen, F. (2011) Novel peptides derived from egg white protein inhibiting alpha-glucosidase. *Food Chemistry*, 129(4): 1376-1382.
15. Jockovic, N., Fischer, W., Brandsch, M., Brandt, W., Dräger, B. (2013) Inhibition of human intestinal α -glucosidases by calystegines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(23): 5550-5557. <https://doi.org/10.1021/jf4010737>
16. Adisakwattana, S., Ruengsamran, T., Kampa, P., Sompong, W. (2012). *In vitro* inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 12: 110. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-12-110>.
17. Gajera, H.P., Getiya, S.N., Hirpara, D.G., Patel, S.V., Golakiya, B.A. (2017) Antidiabetic and antioxidant functionality associated with phenolic constituents from fruit parts of indigenous black jamun (*Syzygium cumini* L.) landraces. *Journal of Food Science and Technology*, 54(10): 3180-3191. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2756-8>
18. Pereira, E.S., Vinholes, J., Franzon, R.C., Dalmazo, G., Vizzotto, M., Nora, L. (2018). *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. *Food Chemistry*, 258:95-103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.024>
19. Medina, A. L., Haas, L. I. R., Chaves, F. C., Salvador, M., Zambiasi, R. C., Silva, W. P., Nora, L., Rombaldi, C. V. (2011) Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*, 128(4): 916-922. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>
20. Biegelmeier, R., Andrade, J. M. M., Aboy, A. L., Apel, M. A., Dresch, R. R., Marin, R., Raseira, M. C. B., Henriques, A. T. (2011) Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry guava fruit. *Journal of Food Science*, 76(7): 991C-996C. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02319.x>
21. Pinto, M. S., Kwon, Y., Apostolidis, E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., Shetty, K. (2010) Evaluation of red currants (*Ribes rubrum* L.), black currants (*Ribes nigrum* L.), red and green gooseberries (*Ribes uva-crispa*) for potential management of type 2 diabetes and hypertension using *in vitro* models. *Journal of Food Biochemistry*, 34(3): 639-660.
22. Franco, R.R., Zabisky, L.F.R., Lima Júnior, J.P., Alves, V.H.M., Justino, A.B., Saraiva, A.L., Goulart, L.R., Espindola, F.S. (2020) Antidiabetic effects of *Syzygium cumini* leaves: A non-hemolytic plant with potential against process of oxidation, glycation, inflammation and digestive enzymes catalysis. *Journal of Ethnopharmacology*, 261: 113132. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113132>
23. Chhikara, N., Kaur, R., Jaglan, S., Sharma, P., Gat, Y., Panghal, A. (2018) Bioactive compounds and pharmacological and food applications of *Syzygium cumini* – a review. *Food and Function*, 9: 6096-6115. <https://doi.org/10.1039/c8fo00654g>
24. Miao, M., Jiang, H., Jiang, B., Li, Y., Cui, S. W., Zhang, T. (2014) Structure elucidation of catechins for modulation of starch digestion. *LWT – Food Science and Technology*, 57(1): 188-193.
25. Poonguran, J., Perera, H.K.I., Jayasinghe, L., Fernando, I.T., Sivakanesan, R., Araya, H., Fujimoto, Y. (2017) Bioassay-guided fractionation and identification of α -amylase inhibitors from *Syzygium cumini* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 55 (1): 206-211. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1257031>
26. Nora, C. D., Jablonski, A., Rios, A. O., Hertz, P. F., Jong, E. V., Flôres, S. H. (2014) The characterization and profile of the bioactive compounds in red guava (*Psidium cattleianum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand). *International Journal of Food Science & Technology*, 49: 1842-1849. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12493>
27. Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., Matsuoka, T. (2006) Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(2): 149-153. <https://doi.org/10.3177/jnsv.52.149>
28. Vinhole, J., Reis, S.F., Lemos, G., Barbieri, R.L., Freitas, V., Franzon, R.C., Vizzotto, M. (2018) Effect of *in vitro* digestion on the functional properties of *Psidium cattleianum* Sabine (araçá), *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick (butiá) and *Eugenia uniflora* L. (pitanga) fruit extracts. *Food & Function*, 9: 6380-6390. <https://doi.org/10.1039/c8fo01329b>