



FORMULÁRIO PARA RELATÓRIO FINAL

1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

Efeito hipoglicemiante da mistura triterpênica alfa e beta amirona

Orientador

Emerson Silva Lima

Aluno

Frank do Carmo Guedes Júnior

2. Informações de Acesso ao Documento

2.1 Este documento é confidencial?

SIM

NÃO

2.2 Este trabalho ocasionará registro de

patente?

SIM

NÃO

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

SIM

NÃO

2.4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados? Especifique.



UFAM

RESUMO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



Com o crescente aumento da taxa de mortalidade causada por distúrbios metabólicos associados a hábitos de vida inadequados e terapias medicamentosas ineficazes, a exploração de produtos naturais como intervenção terapêutica vem se tornando um campo promissor nos últimos anos. O presente trabalho objetivou explorar o potencial terapêutico da mistura α,β -amirona, um componente minoritário da resina oriunda de *Protium heptaphyllum*, no tratamento da hiperglicemia em camundongos. Os testes realizados foram os de tolerância oral a carboidratos com os açúcares maltose, sacarose e amido em camundongos machos das linhagens BALB/c ou C57BL/6. Entre os principais achados estão a redução significativa da glicemia pós-prandial dos animais tratados com 25mg/kg e 50 mg/kg de amirona no tempo de 30 minutos após a ingestão dos açúcares simples maltose e sacarose. Foi constatado ainda que a α,β -amirona não demonstrou efeito hipoglicemiante significativo no tratamento com o amido. A partir desses achados foi possível demonstrar o efeito hipoglicemiante da mistura α,β -amirona na glicemia pos-prandial de camundongos induzida por açúcares simples. Estes dados podem ser úteis para o estudo do mecanismo de ação hipoglicemiante deste produto natural.

3. Introdução

A obesidade e a síndrome metabólica apresentam-se atualmente como as principais doenças crônicas presentes em países desenvolvidos, sendo responsáveis pelo alto índice e risco de mortalidade devido a complicações cardiovasculares e sistêmicas. Estudos demonstram que diversas populações estão aderindo a “ocidentalização” dos hábitos de vida, o que compreende práticas alimentares inadequadas, como o aumento da ingestão de ácidos graxos saturados, açúcares refinados e alimentos hipercalóricos, acompanhado de uma diminuição do gasto energético diário. Estando a síndrome metabólica associada a fatores como diabetes mellitus tipo 2, doenças cardiovasculares, dislipidemias, gordura abdominal e processos inflamatórios tais como esteatose hepática e pancreatite aguda, estudos relacionados ao tratamento e prevenção desses distúrbios se fazem necessários no contexto atual por motivos de saúde pública (CARVALHO et al., 2015; CANUTO et al., 2015; PINHO et al, 2015; PORTELA-CIDADE et al., 2015).

A utilização de extratos naturais tem sido aproveitada desde tempos remotos por diversas populações para tratamentos com os mais variados propósitos, estes que vão desde analgésicos e antibióticos até proteção contra estresse oxidativo, efeito gastroprotetor, hepatoprotetor e hipoglicemiante, sendo este potencial conhecido e amplamente explorado por pesquisadores ligados à área da saúde. É notável que plantas medicinais sejam, portanto, uma enorme fonte de compostos biologicamente ativos que podem ser aproveitados em diferentes formas farmacêuticas, sendo a busca relacionada ao seu mecanismo de ação e eventual eficácia terapêutica propícia ao avanço no tratamento de diversas doenças (MENEGUETTI et al, 2015; BERNARDI et al, 2015; FERREIRA et al, 2014; ALMEIDA, 2013; MELECCHI, 2005).

A espécie *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March, também conhecida como breu-branco, pertencente à família Burseraceae, exsuda uma resina amorfa constituída de quatro misturas binárias de triterpenoides, sendo a mistura de α,β -amirina o constituinte majoritário (FROTA, 2011; MELO, 2010). Em sua forma natural a resina é utilizada na medicina popular como anti-inflamatório, gastroprotetor, analgésico, expectorante e cicatrizante de feridas (MENEGUETTI et al, 2015, BERNARDI et al, 2015). Estudos experimentais com estes compostos pentacíclicos demonstraram a inibição de diferentes sistemas enzimáticos intimamente relacionados ao



UFAM

metabolismo de absorção de carboidratos e lipídios (CARVALHO et. al., 2015). Levando-se em consideração o potencial antiobesidade dos triterpenos isolados de *Protium heptaphyllum* previamente reportados, bem como os efeitos antiinflamatórios, antihiperlipidêmico, e hipolipêmico estabelecidos da α,β -amirina, é notável a necessidade de estudos complementares voltados para os demais componentes dessa mistura triterpênica, nesse caso a α,β -amirina.

4. Objetivos

4.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade hipoglicemiante da α,β -amirina *in vivo*.

4.2. Objetivos Específicos

- Analisar o efeito *in vivo* da mistura triterpênica α,β -amirina realizando teste de tolerância oral a carboidratos (maltose, sacarose e amido) em diferentes concentrações.
- Determinar o efeito da mistura α,β -amirina frente as concentrações séricas de glicose.

5. Revisão Bibliográfica

5.1. Distúrbios Relacionados ao Metabolismo dos Açúcares e Gorduras

5.1.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus trata-se até hoje de uma doença metabólica incurável, podendo ser classificada em dois tipos: Diabetes Mellitus Tipo 1 e Diabetes Mellitus Tipo 2, sendo reconhecida como um dos principais problemas de saúde na sociedade atual. Ambos os tipos estão associados a complicações a curto e a longo prazo que afetam a qualidade de vida do indivíduo podendo levar a quadros de medo e impotência o que compromete sua saúde física e psicológica (FROTA, 2011). Segundo REIMANN (2008), aproximadamente 230 milhões de pessoas no mundo são portadoras de Diabetes tipo 1 ou 2, com uma estimativa de prevalência global de 5,1%.

SANTOS et al (2012) a caracterizaram como um grupo de desordens metabólicas cujas consequências decorrem da hiperglicemia crônica devido a defeitos na secreção ou ação insuficiente da insulina. Ainda segundo SANTOS et al (2012), hiperglicemia e hiperlipidemia são os fatores recorrentes mais comuns em pacientes portadores da diabetes mellitus, e contribuem para o desenvolvimento de complicações microvasculares e macrovasculares, aumentando assim a taxa de morbidez e mortalidade causada por essa doença.

Segundo SMITH et al, (2011), aproximadamente 90-95% dos casos de diabetes são do tipo 2, uma doença que afeta desproporcionalmente as populações mais desfavorecidas. Já a DM tipo 1 é uma das doenças autoimunes mais comuns, podendo ocorrer em qualquer idade, porém mais comumente diagnosticada na infância até os 30 anos. Apesar de Diabetes Mellitus tipo 1 e tipo 2 diferirem quanto a sua patogênese, estes demonstram uma patologia e consequências comuns caracterizadas pela perda de células β pancreáticas funcionais e subsequente desregulação do metabolismo dos carboidratos e lipídios (FROTA, 2011).

O tratamento farmacológico de DM 1, até então, se dá pelo uso de insulina exógena, enquanto para o DM 2 pode-se ainda fazer uso de agentes hipoglicemiantes, em sua maioria



orais, como sulfonilureias, metformina, glitazonas, repaglinida, nateglinida, inibidores da alfa glucosidase e drogas que agem sobre as incretinas (BOLEN et al, 2007; GUPTA et al, 2012; JANEIRO et al, 2008).

Embora o desenvolvimento da farmacoterapia moderna tenha resultado em meios mais efetivos de controle da diabetes com o uso da insulina, biguanidas e sulfonilureias, ainda há a necessidade de se buscar novas drogas com o potencial de modificar o curso de suas complicações fisiológicas.

5.1.2. Obesidade e Síndrome Metabólica

Excesso de tecido adiposo visceral pode contribuir para o aparecimento de inflamação local ou sistêmica bem como promover aumento da resistência a insulina além de elevar significativamente o índice de morbidez e mortalidade cardiovascular. Resistência à insulina é um fator chave para ocorrência de desordens metabólicas, como hiperglicemia e hiperinsulinemia, as quais são também promovidas pela obesidade (CARVALHO et al, 2015).

Segundo CARVALHO et al (2015), obesidade e resistência à insulina são caracterizadas por hipertrofia adipocítica e uma baixa taxa de inflamação crônica presente na gordura visceral. A última é resultante de um aumento na liberação de fatores pró-inflamatórios incluindo a interleucina-6, proteína quimioatraente-1, e fator de necrose tumoral alfa de ambos adipócitos e macrófagos infiltrados. De acordo com NAVES & PASCHOAL (2007), a maior parte das adipocinas produzidas são mediadores pró-inflamatórios, o que aumenta dramaticamente durante o estado de obesidade e acredita-se estarem diretamente envolvidas na patogênese da resistência à insulina.

Estudos passados demonstraram que citocinas pró-inflamatórias e aumento dos ácidos graxos intracelulares inibem a fosforilação da tirosina dos substratos dos receptores de insulina em adipócitos e hepatócitos. Isso se dá por que essas substâncias fosforilam a porção serina do substrato receptor de insulina-1, que, ao contrário da fosforilação da tirosina (que permite a transmissão do sinal da insulina), bloqueia a ação intracelular da insulina, impedindo a internalização da glicose nas células (NAVES & PASCHOAL, 2007).

5.1.3. Dislipidemias

Entende-se por dislipidemias as alterações metabólicas lipídicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico, que ocasionem repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas (SBC, 2016).

Segundo PINHO et al (2015), o paciente portador de Diabetes mellitus do tipo 2 tem maior risco de desenvolver dislipidemia uma vez que a resistência à insulina o predispõe a alterações no metabolismo das lipoproteínas circulantes. Os padrões mais comumente observados na dislipidemia são a elevação dos níveis de triglicérides e a redução dos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL) - colesterol.

As prevalências de dislipidemias são geograficamente variáveis, dependendo dos hábitos dietéticos culturais ou adquiridos ou do estilo de vida das diferentes populações. O efeito do HDL é maior para as mulheres e os efeitos do Colesterol Total, e LDL são menores para esse gênero. A tendência dessas relações é modificar-se com a idade (SANTOS et al, 2015). SANTOS et al (2015) citam ainda que o fator dislipidemia tem contribuído significativamente para elevação dos números de doenças do sistema circulatório, como aterosclerose, doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral.



A hipertrigliceridemia é o resultado do acúmulo de quilomícrons e/ou de VLDL-c (lipoproteína de muito baixa densidade) no compartimento plasmático e decorre da diminuição da hidrólise dos triglicerídeos componentes destas lipoproteínas pela lipase proteica ou do aumento da síntese de VLDL-c (FROTA, 2011). Já o acúmulo de lipoproteínas ricas em colesterol como a LDL-c no compartimento plasmático resulta em hipercolesterolemia. Tal acúmulo pode ocorrer por motivo de doenças monogênicas, em particular, por defeito no gene do receptor de LDL-c ou no gene da apo B100 (SBC, 2016).

5.2. Produtos Naturais e *Protium Heptaphyllum*

O uso de plantas como fonte de alimento bem como sua utilização no tratamento de diferentes enfermidades, substituindo até mesmo medicamentos alopáticos, ainda é uma prática bastante versada no Brasil (ARAGÃO, 2004).

A busca por terapias alternativas envolvendo plantas medicinais com atividade hipoglicemiante, tanto por parte de leigos, quanto por profissionais da área, se dá em virtude destas apresentarem menos efeitos colaterais que os tratamentos convencionais (FIGUEIREDO & MODESTO-FILHO, 2008). Vários trabalhos experimentais já demonstraram o efeito de plantas medicinais sobre o controle da glicemia assim como o efeito de princípios ativos isolados, como por exemplo, flavonoides, catequinas, polifenóis e terpenos (FROTA, 2011 *apud* FAWZY et al, 2008; FARMAR; KAR, 2007; SILVA et al., 2001).

Uma meta-análise em estudos epidemiológicos, metabólicos e de intervenção dietética realizada por SANKAR et al (2006), demonstrou que a ingestão de grãos protege contra o aparecimento da Diabetes Mellitus tipo 2, e também participa da melhora do controle glicêmico tanto nos portadores dessa patologia como também em diabéticos hipertensos, por exemplo.

Resinas constituintes de plantas, incluindo a resina oriunda de *Protium heptaphyllum*, são geralmente ricas em triterpenos pentacíclicos, os quais são considerados agentes terapêuticos multialvos para a prevenção e tratamento de doenças metabólicas e cardiovasculares sem toxicidade proeminente (CARVALHO et al, 2015). Ainda segundo CARVALHO et al (2015), a resina oriunda da *Protium* em sua ação antiobesidade afeta primariamente o metabolismo dos carboidratos e lipídeos por mecanismos que incluem a inibição de enzimas digestivas, regulação dos hormônios da fome e saciedade, e, por fim, a modulação de adipocitocinas inflamatórias.

6. Metodologia

6.1. Amostra Biológica

A mistura de alfa e beta amirona foi obtida a partir da extração da resina de *Protium spp* (Breu comercial). A amostra foi comprada no mercado municipal de Manaus, limpa, triturada e armazenada para posterior utilização. Os procedimentos foram realizados no laboratório de Produtos naturais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Para fracionamento e isolamento da substância a ser utilizada foram realizadas colunas cromatográficas abertas em fase normal (CCA). Em cada etapa foram utilizadas 30g de amostra de breu, previamente triturada, diretamente da coluna (5,5cm de diâmetro interno). A resina triturada foi submetida a uma filtração cromatográfica em coluna aberta com sílica-gel 60 (0,063 - 0,200 MM; 70-230 Mesh). Os eluentes utilizados foram hexano e acetato de etila em ordem crescente de polaridade. Este processo visou obter até seis frações com os eluentes



hexano e acetato de etila, sendo a primeira fração (F1) 100% hexano (500 mL); segunda fração (F2) 95:5 hexano/acetato (250 mL); frações 3 e 4 (F3 e F4) 90:10 hexano/acetato (250 mL); fração 5 e fração (F5 e F6), 80:20 hexano/acetato (250 mL).

Quanto ao processo de purificação as amostras foram lavadas com os solventes: acetona (PA) e metanol (PA), cinco vezes em cada solvente, em banho de ultrassom, por 10-15min. A cada lavagem as amostras foram filtradas em papel de filtro analítico, então foram secas e pesadas para verificação do rendimento. Após o processo foi realizada cromatografia em camada delgada (CCD), espectrômetro em massa (EM) e HPLC-DAD.

As amostras de α - β amirina purificadas foram submetidas ao processo de oxidação. Após o processo de isolamento e purificação da mistura de alfa e beta amirina, foi realizado o processo de oxidação adaptado ao método utilizado por SOLDI (2008). Para isso foi preparada uma solução contendo 1,0g de α , β -amirina em 30 mL de diclorometano. Em seguida foram adicionados 700mg de PPC (Clorocromato de Piridina), sendo a solução mantida sob agitação constante, em temperatura ambiente, até todo o substrato ter sido consumido. O processo de oxidação foi acompanhado por CCD durante todo o dia, até a síntese completa, que levou aproximadamente 30h. Após o término da oxidação foi adicionado à mistura éter etílico. A solução de éter então passou pelo processo de filtragem em coluna de sílica-gel para obtenção da mistura triterpênica. Ao final do processo, testes com CCD, HPLC e espectrometria de massa foram realizados para a confirmação da mistura dos compostos α , β -amirina.

6.2. Animais

Foram realizados testes *in vivo* em camundongos das linhagens BALB/c ou C57BL/6. Os testes realizados foram os de Tolerância Oral a Carboidratos - TTOC com os açúcares maltose, sacarose e amido.

6.3. Comitê de Ética

O presente projeto faz parte da Pesquisa de um Projeto de doutorado, do PPG BIONORTE, da doutoranda Rosilene Gomes da Silva Ferreira, sob o título Atividade hipolipemiante, hipoglicemiante e antiobesidade dos triterpenos alfa e beta-amirina, isolados a partir de *Protium* sp, já em andamento, protocolado sob o número de 014/2014, que foi submetido ao Comitê de Ética de Experimentação Animal da Universidade Federal do Amazonas, sendo aprovado no dia 22/01/2015.

6.4. Teste de Tolerância Oral a Carboidratos

Os camundongos da linhagens BALB/c foram utilizados nos testes com os açúcares maltose e amido. Dessa forma, foram divididos em 8 grupos, sendo 4 para o teste com maltose e 4 para o amido. Cada grupo foi composto por 5 animais divididos da seguinte forma: animais tratados apenas com o veículo Kooliphor 3% em soro fisiológico – 100 μ L (Grupo Controle); animais tratados com a substância padrão Acarbose 50mg (Grupo Padrão) e quatro grupos teste, sendo três, do teste com maltose, tratados com três dosagens diferentes da substância α , β -amirina - 25, 50 e 100 mg/kg e um, do teste com amido, tratado com α , β -amirina na dosagem de 50mg/kg. Os camundongos da linhagem C57BL/6 foram utilizados no TTOC com sacarose e foram divididos em 3 grupos: Controle, Padrão e Teste 50mg/kg, conforme já descrito anteriormente. Os animais foram mantidos em jejum por 12h antes da execução dos



testes, quando foi realizada a primeira coleta de sangue da veia da cauda dos animais de cada grupo. Após a coleta, foram realizadas as administrações via oral das substâncias testadas com o veículo e, apenas o veículo, para o grupo controle. Passados 30 minutos do tratamento, foi realizada a gavagem com os carboidratos correspondentes a cada teste: maltose e sacarose na concentração de 2g/kg e amido a 4g/kg. Após 30, 60 e 90 minutos de administração das substâncias, para maltose e sacarose, foram realizadas novas coletas para a dosagem de glicose sanguínea. Para o teste com amido, o sangue foi coletado após 30, 60, 90 e 120 minutos após o tratamento por este se tratar de um carboidrato complexo que normalmente leva mais tempo para ser metabolizado.

6.5. Indução experimental de diabetes por estreptozotocina + nicotinamida

Os testes *in vivo* foram realizados em da espécie BALBc, machos, com 8 semanas, oriundos do Biotério do INPA. Todos os experimentos foram conduzidos dentro das normas éticas e o projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), protocolo n. 014/2014 e aprovado dia 22.1.2015.

Para os Testes de Tolerância Oral a Carboidratos (maltose) os animais foram divididos em 5 grupos de cinco camundongos para cada teste. Os grupos foram divididos em: grupo controle negativo (Normoglicêmico); grupo padrão (GP-Arcabose); Grupo controle positivo (GCP) e grupos testes (50mg/kg e 25mg/kg de substância). Entretanto no terceiro dia foram perdidos os animais do grupo Padrão.

A diabetes tipo II foi induzida em animais machos normais. Os animais foram mantidos em jejum durante 12 horas (durante o período diurno) e administrada por via intraperitoneal uma dose de nicotinamida (210 mg/kg). Além disso, após 20 minutos uma dose de estreptozotocina (STZ) a 180mg/kg de peso corporal foi preparado previamente em 0,1 M tampão citrato (pH 4,5) em um volume de 1mL/kg de peso corporal injetado (ARYA et al., 2012). O diabetes foi confirmado após medir os níveis de glicose no sangue, determinados 72h após administração da STZ-nicotinamida. Camundongos com nível de glicose no sangue em jejum acima de 150mg/dL foram considerados com diabetes do tipo II e utilizados para o estudo. O tratamento iniciado a partir da confirmação do diabetes durante um período de 7 dias. A cada três dias foram realizados dosagens para medição da glicemia e pesagem. Os animais foram eutanasiados no 7º dia por perda de todo grupo controle.

6.6 Análises Bioquímicas

As amostras de sangue coletadas foram utilizadas para dosagens dos níveis de glicose sanguínea em miligramas por decilitro (mg/dL). As dosagens foram avaliadas por meio de método colorimétrico utilizando um analisador automático e kits comerciais disponíveis. As

tiras reagentes utilizadas no medidor automático foram das marcas Accu-Chek Active® e G-Tech® com número de série e lote 6656757047 e S0315098, respectivamente.

6.6. Análises Estatísticas

Para a análise estatística os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Para a comparação de múltiplos dados paramétricos foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e o teste post hoc de Tukey. Valores de $p < 0,05$ serão considerados estatisticamente significativos.

7. Resultados e Discussão

7.1. Teste de Tolerância Oral a Maltose

Os níveis glicêmicos dos animais nos diferentes grupos gavados com o açúcar maltose foram achados conforme a figura 1:

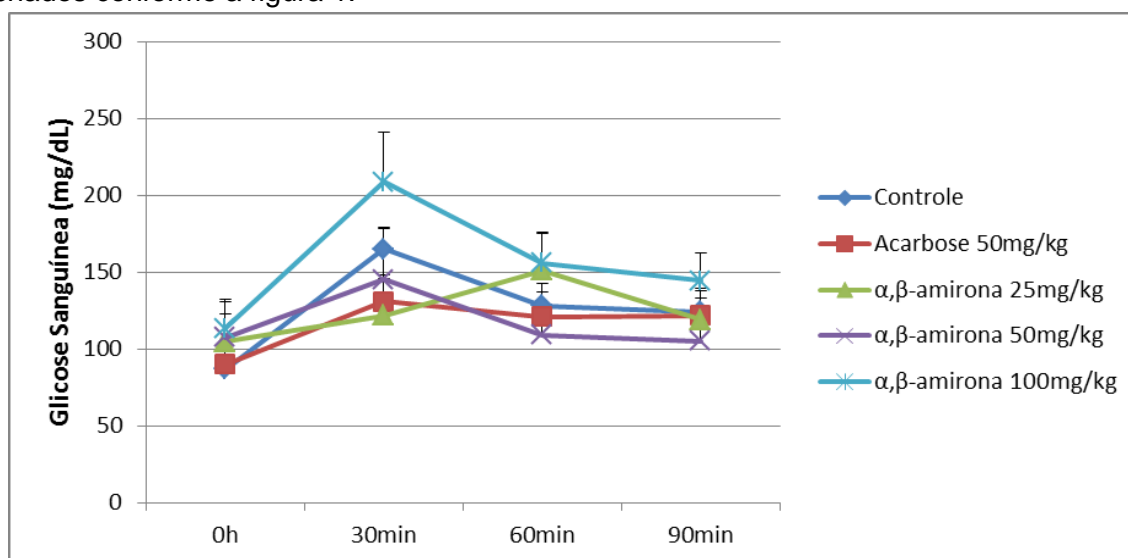


Figura 1: Efeito do tratamento com α,β -amirona frente aos níveis de glicose sanguínea após gavagem com maltose. Os dados apresentam a média \pm E.P.M. $p < 0,05$ significativo vs grupo controle (ANOVA e Tukey).

Com base na figura anterior é possível denotar uma ação bem mais significativa da substância α,β -amirona nos níveis glicêmicos dos camundongos tratados com 25mg/kg após 30 minutos de administração da maltose. A figura 2 reitera essa medida com o cálculo da variação da glicemia entre os tempos 0 e 30 minutos entre diferentes grupos tratados ou não.

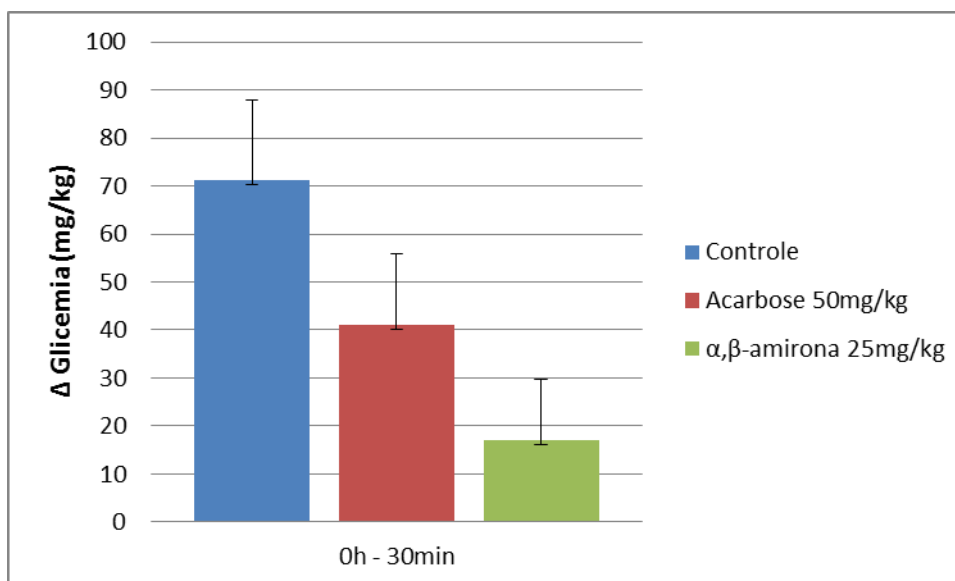


Figura 2: Variação da glicemia entre os tempos 0 e 30 minutos no TTOC - Maltose. Os dados apresentam a média \pm E.P.M. $p < 0,05$ significativo vs grupo controle (ANOVA e Tukey).

Nos demais períodos de tempo 60 e 90 minutos a α,β -amirona não demonstrou redução significativa da glicemia em relação ao grupo controle, tratado apenas com o veículo, nem em relação ao grupo padrão, acarbose.

Segundo os resultados obtidos por SANTOS et al (2012) e FROTA (2011) a substância similar, da qual α,β -amirona foi derivada, a α,β -amirina, apresenta resultado similar em teste de tolerância oral a glicose realizados em condições similares a este, porém com uma efeito mais pronunciado nos momentos de 60 e 90 minutos após a gavagem com o açúcar, nesse caso, a própria glicose.

7.2. Teste de Tolerância Oral a Sacarose

Para o TTOC utilizando sacarose foram achados os seguintes resultados:

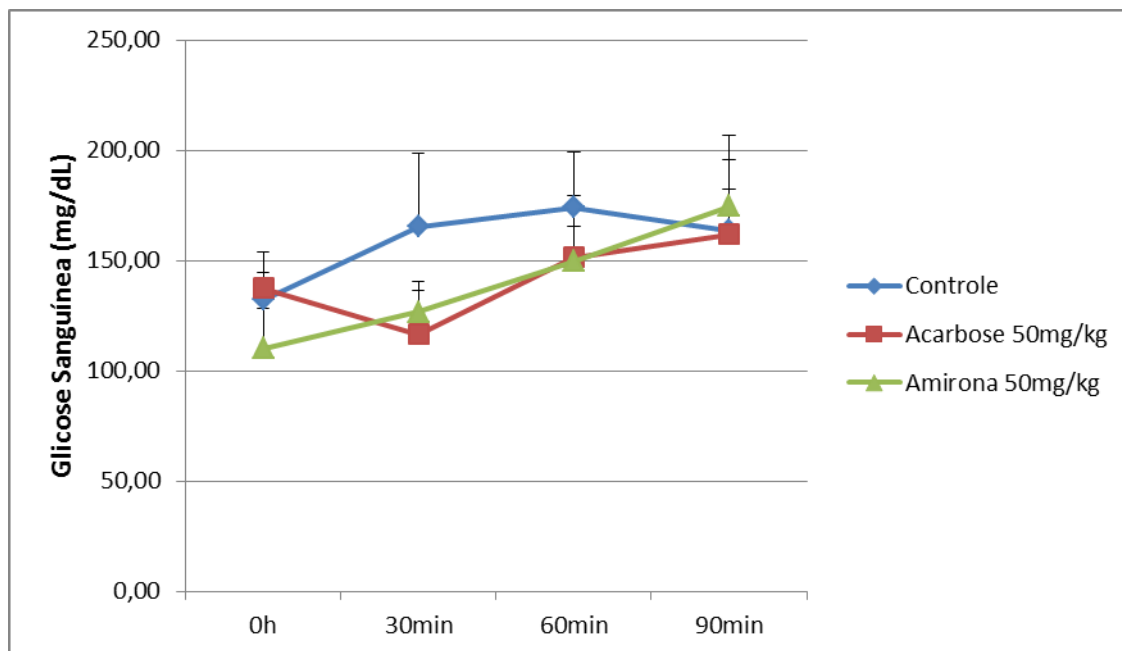


Figura 3: Efeito da mistura α,β -amirona frente aos níveis séricos de glicose após ingestão de sacarose. Os dados apresentam a média \pm E.P.M. $p < 0,05$ significativo vs grupo controle (ANOVA e Tukey).

Na figura 3 é possível observar, novamente, um resultado mais expressivo da redução dos níveis glicêmicos no momento 30 minutos, porém dessa vez com uma dosagem mais elevada da substância – 50mg/kg.

O gráfico da figura 4 ratifica esse achado demonstrando ainda uma redução menos expressiva que a alcançada com o tratamento com a substância padrão, acarbose, diferente do que aconteceu no experimento anterior, com a maltose.

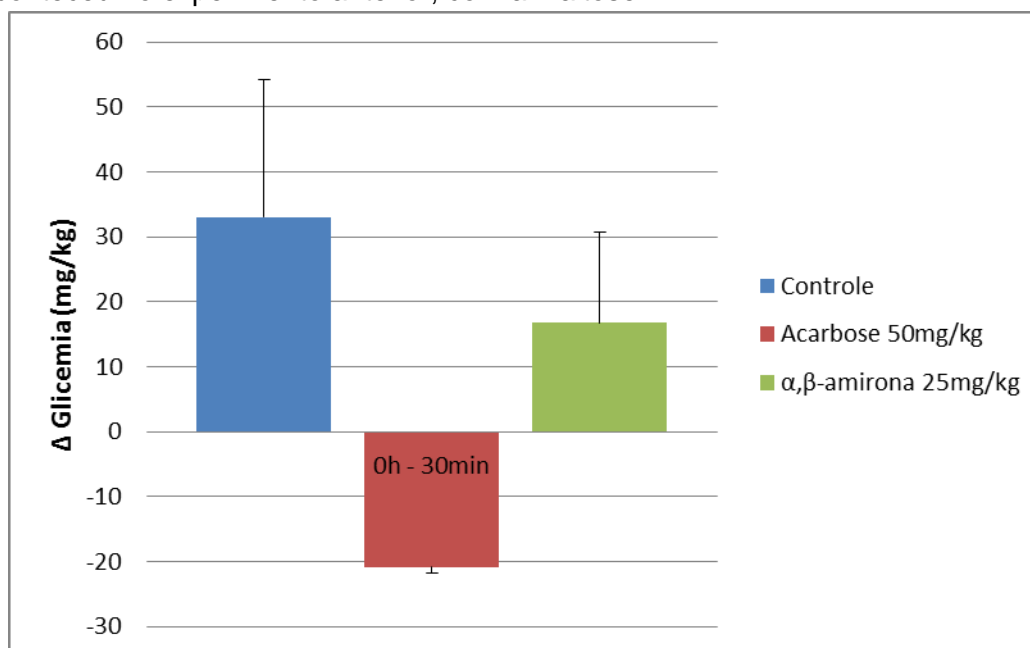


Figura 4: Variação da glicemia entre os tempos 0 e 30 minutos no TTCC – Sacarose. Os dados apresentam a média \pm E.P.M. $p < 0,05$ significativo vs grupo controle (ANOVA e Tukey).

A atividade hipoglicêmica da mistura α,β -amirona nesse caso é semelhante ao experimento anterior, visto que a sacarose é um açúcar simples e de fácil degradação pela α -glucosidase, um dos prováveis alvos farmacológicos dessa substância (CARVALHO et al, 2015). A redução significativa da glicemia no tempo de 30 minutos demonstra uma ação rápida de inibição da degradação do açúcar, o que impede a elevação pronunciada da glicemia mesmo pouco tempo após a ingestão do alimento.

7.3. Teste de Tolerância Oral a Amido

Os resultados do TTOC de amido estão dispostos no gráfico da figura 5:

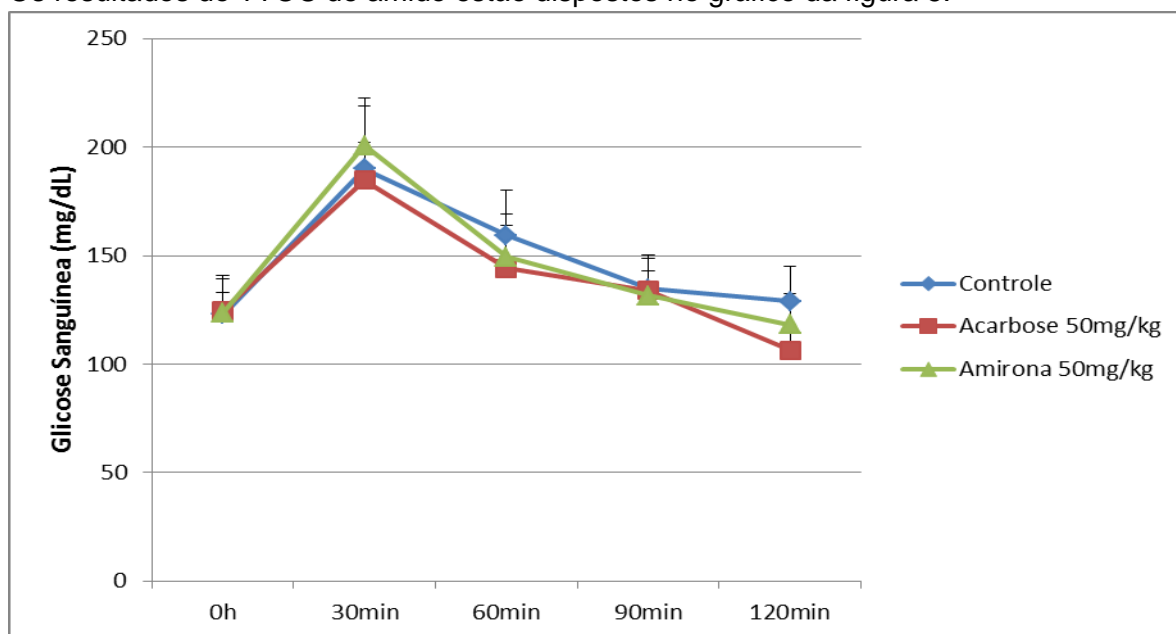


Figura 5: Efeito da mistura α,β -amirona frente aos níveis séricos de glicose após ingestão de amido. Os dados apresentam a média \pm E.P.M. $p > 0,05$ não significativo vs grupo controle (ANOVA e Tukey).

Os valores obtidos no experimento com o amido apontam para uma ineficácia na inibição do sistema de degradação enzimática do açúcar em questão, visto que não há diferença significativa entre os níveis glicêmicos dos grupos controle, padrão e teste em nenhum dos períodos de tempo observados.

Segundo revisão realizada por WALTER et al (2005), o amido é, de fato, em grande parte, degradado até glicose pelas enzimas α -glicolíticas presentes por todo o trato digestivo de mamíferos superiores. Esta característica se atribui essencialmente a alta produção de α -amilase pancreática secretada no intestino delgado, de forma que, até pouco tempo atrás, acreditava-se que o amido era completamente hidrolisado por essa enzima.

Porém, ainda segundo WALTER et al (2005), certos fatores tais como a relação estrutural amilose: amilopectina, forma física do alimento e inibidores enzimáticos, podem influenciar sua taxa de hidrólise e absorção, permitindo que uma quantidade significativa de amido escape a essa digestão, podendo alcançar o cólon e ser fermentado pela flora microbiana presente no intestino grosso do animal, sendo essa porção caracterizada como amido resistente.

De acordo com DEGHAN-KOOSHKHAZI & MATTERS (2004), o tratamento com acarbose como inibidora da α -glucosidase intestinal aumenta significativamente a passagem de

amido não degradado para o intestino grosso e conseqüentemente sua taxa de fermentação local e de excreção fecal em ratos jovens alimentados com uma dieta hipercalórica rica em amido.

Dessa forma, pressupõe-se que a acarbose deveria ter apresentado um efeito hipoglicemiante mais pronunciado, mesmo se tratando o amido de um polissacarídeo complexo, cuja digestão se dá em etapas mais demoradas e potencialmente incompletas, como é o caso do amido resistente. A α,β -amirona não demonstrou atividade quantitativa aparente na redução da glicemia durante esse tratamento em especial.

7.4 Efeito hipoglicemiante

Os animais foram inicialmente induzidos a hiperglicemia com doses de estreptozotocina e nicotinamida o que mimetiza em partes os efeitos do diabetes tipo 2. Conforme demonstrado na figura 6, observa-se que os animais desenvolveram hiperglicemia a partir do 3º dia da indução e iniciaram o tratamento com o triterpeno. Após o terceiro dia já observou-se certo efeito da amirona na dose de 25 mg/kg o que foi mais acentuado no 6º dia. Observou-se, entretanto um retorno da glicemia, mesmo no grupo não tratado (controle positivo). Isto se deve ao fato deste tratamento não destruir completamente as células produtoras de insulina e ocorre uma recuperação natural do animal. Entretanto, percebe-se que na dose de 25 mg/kg os valores de glicemia são mais baixo do que no grupo controle positivo no 6º dia.

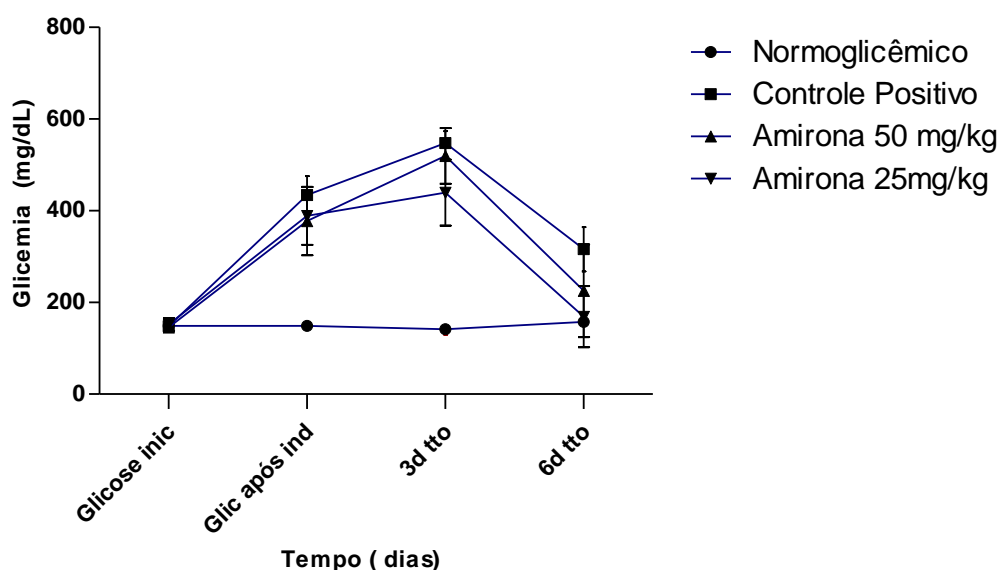


Figura 6: Efeito da administração oral de amirona sobre a glicemia de camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina e nicotinamida.

8. Conclusões

A partir desses experimentos foi possível inferir que o derivado oxidado da mistura triterpênica α,β -amirina, a α,β -amirona, possui um efeito hipoglicemiante mais imediato e menos duradouro que a substância da qual foi derivada, ainda que esta não tenha demonstrado ação significativa na inibição da degradação do amido. Embora o presente trabalho não tenha como objetivo elucidar seu mecanismo de ação, pressupõe-se que este se dê por meio da



inibição de enzimas glicolíticas presentes no trato digestivo inferior dos animais, sendo esta uma pauta pertinente a ser tratada em trabalhos posteriores.

9. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, Patricia Danielle Oliveira de, **Triterpenos isolados de Óleo-resina de *Protium Paniculatum* Engler (Burseraceae)**, Universidade Federal do Amazonas, 2013.

ARAGÃO, Gislei Frota, **Atividade Antiinflamatória, Antiagregante Plaquetária e Efeitos Centrais de Alfa e Beta Amirina Isolada de *Protium heptaphyllum* Aubl. March**, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

BERNARDI, W. A.; ZANOTELLI, J. de C.; LIMA, E. M. de; SOUZA, T. D.; EDRINGER, D. C.; SOUZA, V. R. C., Effects of topical application of essential oil from resin of almescar (*Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand) in experimentally induced skin wound in rats, **Revista Brasileira de ciências Veterinárias**, v. 22, n.1, p. 10-15, jan./mar. 2015.

BOLEN, S.; FELDMAN, L.; VASSY, J.; WILSON, L.; YEH, H. C.; MARINOPOULOS, S.; WILEY, C.; SELVIN, E.; WILSON, R.; BASS, E. B.; BRANCATI, F. L. Systematic review: comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. **Ann Intern Med.**, V. 147, n. 6, p. 386-399, 2007.

BONFIM, M. R.; OLIVEIRA, A. S. B.; AMARAL, S. L.; MONTEIRO, H. L. Tratamento das Dislipidemias com Estatinas e Exercícios Físicos: Evidências Recentes das Respostas Musculares, **Arq Bras Cardiol**. 2015; 104(4): 324-332.

CANUTO, Raquel; PATUSSI, Marcos Pascoal; MACAGNAN, Jamile Block Araldi; HENN, Ruth Liane; OLINTO, Maria Teresa Anselmo, Metabolic syndrome in fixed-shift workers, **Revista Saúde Pública**, 49:30, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, 2015.

CARVALHO, K. M. M. B.; RAO, V. S.; CHAVES, M. H.; BRITO, G. Anne de Castro; FONSECA, S. Gonçalves da Cruz; HAVT, A.; TOMÉ, A. R.; SILVA, A. A. C. Almeida da; MELO, K. Moura de; CUNHA, M. P. S. Saldanha da; QUETZ, J. S.; ARAÚJO, A. J.; MELO, T. Sousa de; FILHO, J. D. B. M.; SANTOS, F. M., The Resin from *Protium heptaphyllum* prevents High-fat Diet-Induced Obesity in Mice: Scientific Evidence and Potential Mechanisms, **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, Vol. 2015, 106157, 01-13, 2015.

DEGHAN-KOOSHKHAZI, Mashid; MATTERS, John C., Starch Digestion, Large Bowel Fermentation and Intestinal Mucosal Cell Proliferation in Rats Treated with the α -glucosidase Inhibitor Arcabose, **British Journal of Nutrition (2004)**, 91, 357-365, 2004.

FERREIRA, Natália; MONTEIRO, Rafael; LOURENÇO, Geane, **Effects of $\alpha\beta$ -amirona on inflammation in topical edema ear model in mice**, BMC Proceedings, 8(Suppl): P35, 2014.

FIGUEIREDO, Ângela Siqueira; MODESTO-FILHO, João, Efeito do uso da farinha desengordurada do *Sesamum indicum* L nos níveis glicêmicos em diabéticas tipo 2, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(1): 77-83, Jan./Mar. 2008.



UFAM

FRANKISH, Neil; SHERIDAN, Helen; KUSTER, Ricardo Machado; RUELA, Siqueira Halliny; MINTO, Andréa B. M.; MENEZES, Fábio de Souza, Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia Monandra* Kurz, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(1): 08-13, Jan./Mar. 2007.

FROTA, Julyanne Torres, **Avaliação das Atividades Hipoglicemiante e Hipolipidêmica da Mistura de α,β -amirina, Triterpenos Pentacíclicos Isolados do *Protium Heptaphyllum*, em Camundongos**, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

GUPTA, R.; DEEDWANIA, P.C.; SHARMA, K.; GUPTA, A.; GUPTHA, S.; ACHARI, V., Association of educational, occupational and socioeconomic status with cardiovascular risk factors in Asian Indians: a cross-sectional study. **PLoS One**. 2012; 7(8): e44098. DOI: 10.1371/journal.pone.0044098.

JANEBRO, Daniele Idalino; CUNHA, Maria Auxiliadora L. da; SABAA-SRUR, Armando U. O.; RAMOS, Alessandra T.; QUEIROZ, Maria do Socorro R. de; DINIZ, Margareth de Fátima F. M., Efeito da farinha da casca do maracujá-amarelo (*Passifora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) nos níveis glicêmicos e lipídicos de pacientes diabéticos tipo 2, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18 (Supl): 724-732, Dez. 2008.

KOKKINOS, P.F.; FASELIS C.; MYERS, J.; PANAGIOTAKOS, D.; DOUMAS, M. Interactive effects of fitness and statin treatment on mortality risk in veterans with dyslipidemia: a cohort study. **Lancet**. 2013; 381(9864): 394-9.

MELO, Caroline Mourão; CARVALHO, Karine M. M. Bezerra; NEVES, J. C. de Sousa; MORAIS, Talita Cavalcante; RAO, V. S.; SANTOS, Flávia Almeida; BRITO, G. Anne de Castro; CHAVES, M. H., α,β -amirin, a natural triterpenoid ameliorates L-arginine-induced acute pancreatitis in rats, **World Journal of Gastroenterology**, 16(34): 4272-4280, 14 de setembro, 2010.

MELO, Caroline Mourão, **Estudo do Efeito Farmacológico da α,β -amirina, uma Mistura de Triterpenos Isolada de *Protium heptaphyllum*, na Pancreatite Aguda Experimental**, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

MELECCHI, M. I. S. **Caracterização Química de Extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: Estudo Comparativo de Métodos de Extração**. UFRGS, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química. Porto Alegre. Outubro, 2005.

MENEGUETTI, D. U. de Oliveira; LIMA, R. A.; MACEDO, S. R. A.; BARROS, N. B. de; FACUNDO, J. B.; MILITÃO, J. S. L. T.; NICOLETE, Roberto; FACUNDO, V. A., Plantas da Amazônia Brasileira Com Potencial Leishmanicida *in vitro*, **Revista Patologia Tropical**, Vol.44 (4): 359 – 374, outubro – dezembro, 2015.

NAVES, Andréia; PASCHOAL, V. C. P., Regulação Funcional da Obesidade **ConScientiae Saúde**, São Paulo, vol. 6, n.1, p.189-199, 2007.

PINHO, Lucineia; AGUIAR, Ana Paula Soares; OLIVEIRA, Maíra Rodrigues; BARRETO, Nair Amélia Prates; FERREIRA, Cristiane Maria Mendes, Hipertensão e dislipidemia em pacientes



diabetes mellitus tipo 2: uma revisão integrativa, **Revista Norte Mineira de Enfermagem**, 4(1): 87-101, 2015.

PORTELA-CIDADE, José Pedro; LEITE-MOREIRA, Adelino Ferreira; BORGES-CANHA, Marta; PIMENTEL-NUNES, Pedro, Systematic Review of the Relation Between Intestinal Microbiota and Toll-Like Receptors in the Metabolic Syndrome: What Do We Know So Far?, **Portuguese Journal of Gastroenterology**. 2015; 22(6): 240-258

REIMANN, M.; BONIFACIO, E.; SOLIMENA, M.; SCHWARZ, P. E.; LUDWIG, B.; HANEFELD, M.; BORNSTEIN, S. R. An update on preventive and regenerative therapies in diabetes mellitus. **Pharmacol Ther.**, v. 121, n. 3, p, 317-331, 2008.

SANKAR, D.; RAO, M. R.; SAMBANDAM, G.; PUGALENDI, K. V.; A pilot study of open label sesame oil in hypertensive diabetics. **J. Med. Food** 9: 408 – 412, 2006.

SANTOS, F. M.; FROTA, J. T.; ARRUDA, B. R.; RAO, V. S.; CHAVES, M. H.; BRITO, G. Anne de Castro; SILVA, A. A. C. Almeida da; MELO, T. Sousa de, Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of α,β -amyirin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice, **Lipids in Health and Disease**, 11-98, 2012.

SANTOS, H. V.; FONSECA, J. M.; FREITAS, R. F. ROYOS, V. A. Caracterização Laboratorial de Dislipidemias e o Uso de Fitoterápicos, **Revista Multitexto**, 2015, v. 3, n. 01.

SMITH, B. T.; LYNCH, J. W.; FOX, C. S.; HARPER, S.; ABRAHAMOWICZ, M.; ALMEIDA, N. D.; LOUCKS, E. B. Life-Course Socioeconomic Position and Type 2 Diabetes Mellitus: The Framingham Offspring Study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 173, p. 438-447, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (2016). Disponível para acesso na internet em <http://cientifico.cardiol.br/> (Acesso em Janeiro de 2016).

SOLDI, C; PIZZOLATI, M; LUIZ, A; MARCON, R; MEOTTI, F; MIOTO, L; SANTOS, A. Synthetic Derivatives of the Alpha- and Beta- Amyrin Triterpenes and their Antinociceptive Properties. **Bioorganic & Medical Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 3377-86, 2008.

WALTER, Melissa; SILVA, Leila Picolli da; EMANUELLI, Tatiana, Amido Resistente: Características Físico-Químicas, Propriedades Fisiológicas e Metodologias de Quantificação, **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, jul-ago, 2005.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

10. Cronograma de Atividades

| Nº | Descrição | Ag o 201 5 | Set | Out | Nov | Dez | Jan 201 6 | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul |
|----|---|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1 | Revisão da Literatura; | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R |
| 2 | Isolamento e Purificação da Substância; | R | R | | | | | | | | | | |
| 3 | Padronização das doses de carboidratos a serem testadas; | R | R | X | | | R | R | | | R | R | |
| 4 | Realização do TTOC utilizando Maltose; | | | | R | R | | | | | | | |
| 5 | Realização do TTOC utilizando sacarose; | | | | | | R | R | | | | R | |
| 6 | Realização do TTOC utilizando Amido; | | | | | | | | | R | R | | |
| 7 | Realização de Testes Bioquímicos | R | R | R | R | R | R | R | | R | R | R | |
| 8 | Elaboração do Resumo e Relatório Final | | | | | | R | R | R | R | R | R | X |
| 9 | - Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória) - Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória) | | | | | | | | | R | R | R | R |