

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL HIPOGLICEMIANTE DO EXTRATO DE BACUPARI (*Salacia elliptica*) EM CAMUNDONGOS DIABÉTICOS

Telice Silva Costa¹

Luanna Patrícia Borges²

Matheus Henrique Barcelos Figueiredo³

Renata Mazaro e Costa⁴

Walter Dias Júnior⁵

RESUMO: O diabetes é uma doença metabólica crônica de origem múltipla, com elevado índice de casos, que o torna um grande problema de saúde mundial, sendo considerado uma das emergências de saúde global que mais crescem no século XXI. Em 2021, estima-se que 537 milhões de pessoas são portadores de diabetes, e esse número está projetado para chegar a 643 milhões em 2030, e 783 milhões até 2045. Com esse aumento significativo da doença o tratamento terapêutico alternativo utilizando plantas medicinais tem se tornado uma opção viável de tratamento de doenças crônicas, como o diabetes. O objetivo desse estudo é avaliar a capacidade hipoglicemiante do extrato bruto (etanólico) das folhas de bacupari em camundongos com diabetes tipo I induzidos por aloxana. Metodologia: O extrato foi elaborado após a secagem e trituração das folhas do Bacupari, pelo método de maceração em etanol na proporção 1:3 (massa:volume), sendo 500 gramas de folhas moídas imersas em 1,5L de etanol 92,8% à temperatura ambiente em 3 etapas de filtração, depois foi encaminhado para rotaevaporador a 40°C para a finalização. Para testar o efeito do extrato bruto das folhas do Bacupari foram utilizados 60 Camundongos Swiss machos adultos pesando cerca de 50-60g, 30 deles foram selecionados para fazer do grupo controle (animais normais), e os outros 30 foram submetidos a indução de diabetes pela administração de aloxana, com dose de 150 mg/Kg via intraperitoneal. Depois foi realizada redistribuição dos animais conforme os grupos de tratamento, sendo 10 animais/grupo: Grupo Controle (C); Grupo Diabético Controle (DC); Grupo *Salacia elliptica* (extrato) (CS); Grupo Diabético + *Salacia elliptica* (extrato) (DS); Grupo Acarbose (inibidor α -glicosidase) (CA); Grupo Diabético + Acarbose (inibidor α -glicosidase) (DA). Cada animal antes de receber o seu tratamento recebeu uma dose de 10% de carboidratos (amido de milho) via gavagem. Após os tratamentos foi verificada a glicemia de cada animal por 240 min (4h) para analisar a influência dos tratamentos na glicemia pós-prandial. A aloxana comprovou sua atividade diabetogênica, desenvolvendo um alto percentual de condição diabética nos animais e baixa mortalidade. Quanto a efetividade do extrato etanólico das folhas de Bacupari (*Salacia elliptica*) foi constatado que a dose única de 400mg/Kg suprimiu ($p < 0,05$) os níveis de glicose pós-prandial em camundongos não diabéticos. No entanto, essa redução não foi observada ($p > 0,05$) nos animais diabéticos. Os efeitos do extrato bruto na diminuição da glicemia pós-prandial

3330

¹Discente de graduação em Enfermagem Universidade Estadual de Goiás - Unidade Universitária de Ceres/GO.

²Graduada em Enfermagem pela UEG - Unidade Universitária de Ceres/GO, Pós-graduada em Saúde e Segurança no Trabalho de nível Lato Sensu pela faculdade FOCUS.

³Discente de graduação em Enfermagem Universidade Estadual de Goiás - Unidade Universitária de Ceres/GO.

⁴Doutorado em Fisiologia (FMRP-USP), Instituto de Ciências Biológicas II (ICB-II), Departamento de Farmacologia (DFar) - Universidade Federal de Goiás (UFG).

⁵Doutorado em Ciências (Fisiologia Geral), Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto/ SP.

foram comprovados em animais normais, necessitando o desenvolvimento de novas pesquisas para compreender os efeitos bioquímicos do extrato do Bacupari no intuito de desenvolver e ofertar terapias que auxiliem no tratamento do diabetes.

Palavras-Chave: *Diabetes mellitus*. Fitoterapia. Hipoglicemia e Alfa-glicosidase.

ABSTRACT: Diabetes is a chronic metabolic disease of multiple origins, with a high rate of cases, which makes it a major global health problem, being considered one of the fastest growing global health emergencies in the 21st century. In 2021, it is estimated that 537 million people have diabetes, and this number is projected to reach 643 million in 2030, and 783 million by 2045. With this significant increase in the disease, alternative therapeutic treatment using medicinal plants has been becoming a viable treatment option for chronic diseases, such as diabetes. The objective of this study is to evaluate the hypoglycemic capacity of the crude (ethanolic) extract of bacupari leaves in mice with type I diabetes induced by alloxan. Methodology: The extract was prepared after drying and crushing Bacupari leaves, using the maceration method in ethanol in a 1:3 (mass:volume) ratio, with 500 grams of ground leaves immersed in 1.5L of 92.8% ethanol. at room temperature in 3 filtration stages, then it was sent to a rotary evaporator at 40°C for finalization. To test the effect of the crude extract of Bacupari leaves, 60 adult male Swiss mice weighing around 50-60g were used, 30 of them were selected to form the control group (normal animals), and the other 30 were subjected to diabetes induction by administration of alloxan, with a dose of 150 mg/kg intraperitoneally. The animals were then redistributed according to treatment groups, with 10 animals/group: Control Group (C); Diabetic Control Group (DC); *Salacia elliptica* group (extract) (CS); Diabetic Group + *Salacia elliptica* (extract) (DS); Acarbose Group (α -glucosidase inhibitor) (CA); Diabetic Group + Acarbose (α -glucosidase inhibitor) (DA). Each animal before receiving its treatment received a dose of 10% carbohydrates (corn starch) via gavage. After the treatments, each animal's blood glucose was checked for 240 min (4h) to analyze the influence of the treatments on postprandial blood glucose. Alloxan has proven its diabetogenic activity, developing a high percentage of diabetic conditions in animals and low mortality. Regarding the effectiveness of the ethanolic extract of Bacupari (*Salacia elliptica*) leaves, it was found that a single dose of 400mg/kg suppressed ($p < 0.05$) postprandial glucose levels in non-diabetic mice. However, this reduction was not observed ($p > 0.05$) in diabetic animals. The effects of the crude extract in reducing postprandial glycemia were proven in normal animals, requiring the development of new research to understand the biochemical effects of the Bacupari extract in order to develop and offer therapies that help in the treatment of diabetes.

3331

Keywords: *Diabetes mellitus*. Phytotherapy. Hypoglycemia. Alpha-glucosidase.

1. INTRODUÇÃO

O *Diabetes mellitus* (DM) é uma doença metabólica crônica de etiologia multifatorial, caracterizada por uma incidência considerável, o que a torna um desafio de magnitude global para a saúde pública (BRASIL, 2017).

Essa doença é gerada pela ausência ou insuficiência da secreção de insulina pelas células beta do pâncreas (DM tipo I) ou pela resistência destas células à ação deste hormônio

(DM tipo II), o que culmina em uma elevação substancial dos níveis sanguíneos de glicose, acarretando diversas repercussões prejudiciais no organismo (ROSA *et al.*, 2012 e ERTEN *et al.*, 2020).

É uma condição que afeta indivíduos de todas as faixas etárias, raças e origens socioeconômicas indiscriminadamente (SUGANDH *et al.*, 2023). O DM tipo II configura-se como a variante mais prevalente da doença. Sua ocorrência está frequentemente correlacionada com a condição de obesidade e o processo de envelhecimento. Já o DM tipo I é mais predominante em indivíduos em fase de infância e adolescência. Sua apresentação clínica é abrupta, com uma notória propensão à cetose e cetoacidose, o que exige a adoção imediata de insulino terapia completa desde o momento do diagnóstico ou após um breve intervalo de tempo (RODACKI *et al.*, 2022).

Segundo a 10ª Edição do Atlas da Federação Internacional de Diabetes (IDF), o diabetes figura entre as emergências de saúde de crescimento exponencial no século XXI. Em 2021, estimou-se a presença de diabetes em aproximadamente 537 milhões de indivíduos, com a projeção de um aumento para 643 milhões até 2030 e 783 milhões até 2045 (ATLAS DA FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES, 2021).

A ingestão de carboidratos a longo prazo, considerando tanto o tipo quanto a quantidade, emerge como o fator preponderante no risco primário associado à indução da hiperglicemia, desencadeando resistência à insulina em células-alvo, no tecido adiposo e nas células musculares. Após sua ingestão, o amido sofre ação da enzima amilase pancreática, resultando na produção de oligossacarídeos e dissacarídeos, os quais, por sua vez, são hidrolisados pela enzima α -glicosidase intestinal para gerar monossacarídeos de absorção eficaz. Como consequência desse processo, a captação dos monossacarídeos pela corrente sanguínea se efetiva no intestino delgado, por meio de transportadores de glicose, promovendo o aumento da glicemia pós-prandial (AKSORNCHU *et al.*, 2021).

3332

Os primeiros recursos empregados no controle do *Diabetes mellitus* (DM) frequentemente se relacionam diretamente com a modificação dos hábitos de vida, abrangendo uma alimentação equilibrada, a prática regular de atividade física, a moderação no consumo de álcool e a cessação do tabagismo, podendo ou não ser complementados pelo tratamento farmacológico (BRASIL, 2013).

Quando os resultados não se manifestam na fase inicial do tratamento do Diabetes, que envolve a modificação dos hábitos de vida, torna-se imperativo a introdução de recursos medicamentosos. Nesse contexto, incluem-se a administração de insulina e a utilização de

fármacos, agentes hipoglicemiantes orais, tais como as biguanidas, sulfoniluréias e glibenclamida (SANTOS *et al.*, 2012 e DADA *et al.*, 2013).

O impacto do DM assume proporções notavelmente significativas em nações de baixa e média renda, caracterizadas pela restrição na disponibilidade de recursos relacionados aos cuidados de saúde e educação, resultando, conseqüentemente, na amplificação das suas graves repercussões. Como resultado, a doença contribui de forma substancial para a perpetuação das disparidades na saúde, agravando as variações nos desfechos de saúde observadas entre distintas regiões geográficas e grupos populacionais. Por ser uma patologia complexa, que se manifesta por meio de uma ampla diversidade de manifestações clínicas e variações individuais na resposta ao tratamento, a adoção de abordagens terapêuticas padronizadas pode não se mostrar adequada para atender plenamente às necessidades individualizadas, considerando as características únicas de cada paciente e a realidade socioeconômicas que enfrentam. Isso, por sua vez, gera desafios consideráveis no alcance de um controle glicêmico ideal (SUGANDH *et al.*, 2023).

Como resultado, surge a necessidade de implementação de abordagens terapêuticas alternativas, capazes de abranger uma ampla gama de público-alvo. A fitoterapia tem adquirido um espaço cada vez mais notório no campo da medicina, provocando, por conseguinte, um aumento do interesse por parte de pesquisadores em linhas de estudo relacionadas ao tratamento do Diabetes. O desenvolvimento de agentes fitoterápicos com respaldo científico requer menos recursos e acarreta menores riscos do que o processo de desenvolvimento de medicamentos sintéticos (GUILHERMINO, 2011).

3333

Nos países desenvolvidos, a principal motivação por trás das pesquisas voltadas à fitoterapia reside na busca por alternativas de tratamento primário à saúde que sejam mais benéficas ou menos agressivas, à luz das evidências dos efeitos colaterais associados aos medicamentos alopáticos, bem como na procura de soluções para superar as dificuldades de acesso aos fármacos de origem química, decorrentes de seus custos mais elevados (MATTOS, 2017).

O estudo conduzido por Grochanke *et al.* (2016) evidencia que a adoção de tratamentos terapêuticos alternativos, baseados no uso de plantas medicinais, está emergindo como uma estratégia viável para a prevenção de doenças crônicas, notadamente o Diabetes. A medicina Ayurveda, praticada no Sri Lanka e na Índia, recomenda o uso das raízes e caules de *Salácia oblonga* e *Salácia reticulata* como um meio de prevenir o Diabetes em seu estágio inicial. No Japão, por sua vez, essas plantas são empregadas para mitigar a

hiperglicemia pós-prandial (MATSUDA *et al.*, 2002; DEEPAK *et al.*, 2015; STOHS e RAY, 2015). Tal contexto realça a imperatividade de empreender investigações químicas e ensaios clínicos experimentais voltados à validação das propriedades terapêuticas dessas plantas preconizadas para fins fitoterápicos.

O Brasil abriga uma extensa diversidade de aproximadamente 21 espécies de Salácia, destacando-se a presença natural de *Salácia elliptica* no bioma do Cerrado, localizado na região Centro-Oeste do país (GONÇALVES-ESTEVEZ e MELHEM, 2000). Popularmente conhecida como Bacupari ou Saputá, esta espécie é uma das alternativas de plantas medicinais estudadas no contexto do tratamento do Diabetes (SILVA, 2009).

O gênero Salácia, anteriormente categorizado por alguns pesquisadores como pertencente à família Hippocrateaceae, atualmente é considerado parafilético, sendo agrupado igualmente sob a denominação de Celastraceae, desdobrando-se em duas subfamílias: Hippocrateoideae e Salacioideae (LOMBARDI, 2010).

A literatura científica apresenta inúmeros relatos do uso de extratos de Salácia para a redução dos elevados níveis de glicose no sangue. Em determinados casos, tais efeitos hipoglicemiantes foram associados aos extratos provenientes dos caules e raízes das espécies *Salácia oblonga* e *Salácia reticulata* (MATSUDA *et al.*, 2002), enquanto em outros, a ação hipoglicemiante é observada com a ingestão de extratos das folhas da *Salácia elliptica* (DUARTE *et al.*, 2010).

3334

Em uma análise cienciométrica conduzida por Borges, Costa e Júnior (2023) acerca da aplicação terapêutica da Salácia, identificou-se sua eficácia no tratamento de 32 categorias de recomendações, destacando-se o controle da hiperglicemia como a indicação mais prevalente.

Shivaprasad *et al.* (2013) mostram em seu estudo que os extratos de Salácia demonstraram eficácia no tratamento de condições pré-diabéticas e casos de hiperlipidemia de intensidade leve a moderada, resultando na redução dos níveis glicêmicos.

Esses extratos contêm ingredientes ativos como salacinol, kotalanol, acetato de kotalagenina-16 e mangiferina, que desempenham uma série de funções, notadamente a redução da glicose pós-prandial por meio da inibição da enzima alfa-glicosidase presente na borda em escova intestinal, retardando, assim, a conversão de carboidratos em monossacarídeos absorvíveis (MATSUDA *et al.*, 2002; LI, HUANG e YAMAHARA *et al.* 2008; DUARTE *et al.* 2010; SINGH *et al.* 2018 e MAJEED *et al.*, 2021).

A alfa-glicosidase é uma enzima de importância central que desencadeia a etapa final do processo digestivo dos carboidratos. Ela encontra-se ancorada na membrana do epitélio do intestino delgado, tanto em seres humanos quanto em animais, e tem como função facilitar a absorção de glicose pelo intestino delgado. Ela alcança essa função ao catalisar a quebra hidrolítica de oligossacarídeos, como a sacarose, transformando-os em monossacarídeos de fácil absorção, a exemplo da glicose e frutose (KUMAR *et al.*, 2011 e TRINH *et al.*, 2019).

A inibição da enzima α -glicosidase no intestino tem como consequência a redução da clivagem hidrolítica dos oligossacarídeos, prolongando, portanto, o processo de digestão dos carboidratos até a porção inferior do intestino delgado. Esse atraso no processo digestivo reduz a absorção de glicose, o que, por conseguinte, ocasiona uma diminuição nos níveis sanguíneos de glicose. A inibição enzimática e o consequente retardo na absorção de carboidratos têm se mostrado como uma das estratégias mais eficazes para atenuar o aumento de glicose no sangue após as refeições, contribuindo, assim, para a prevenção do surgimento de complicações associadas ao Diabetes (KUMAR *et al.*, 2011 e TRINH *et al.*, 2019).

Assim, a inibição da enzima alfa-glicosidase durante a digestão de carboidratos é responsável pela diminuição dos níveis de glicose no plasma após as refeições, resultando na supressão da hiperglicemia pós-prandial. Por isso, nos últimos anos, tem ocorrido uma crescente ênfase na busca por inibidores eficazes da alfa-glicosidases de fontes naturais, com o propósito de desenvolver alimentos funcionais ou alternativas para o tratamento do Diabetes Mellitus. 3335

Deste modo, esperamos que as substâncias presentes no extrato etanólico das folhas de *Salácia elliptica* possam: 1) inibir a absorção da glicose, bloqueando a absorção dos monossacarídeos (glicose), ou 2) inibir a atividade da(s) enzima(s) hidrolizante(s) de carboidratos, retardando ou interrompendo a liberação de glicose dos carboidratos durante a digestão, resultando na redução dos níveis plasmáticos de glicose pós-prandial ou supressão da hiperglicemia pós-prandial devido a não absorção ou não digestão de polissacarídeos.

Portanto, o objetivo desse trabalho é avaliar a capacidade hipoglicemiante do extrato bruto (etanólico) das folhas de bacupari em camundongos com diabetes tipo I induzidos por aloxana, e assim contribuir um pouco mais com a compreensão sobre a ação hipoglicemiante dos compostos produzidos pela *Salácia*, e comprovar que as espécies brasileiras como a *S. elliptica*, nativa do cerrado, também possuem ação hipoglicemiante, servindo como um

futuro fitoterápico, uma vez que a fitoterapia faz parte da prática médica e é bem aceita e acessível à população.

2. METODOLOGIA

2.1 Identificação das folhas de *Salácia elliptica* (bacupari)

A planta de *Salácia* utilizada como fonte do material de preparação do extrato já foi identificada pelo depósito de uma exsicata da árvore coletada na Chácara Paulo de Freitas, Município de Ceres, Estado de Goiás, Brasil (15°19'12,7"S/49°36'15,8"W). O espécime foi identificado pelo Prof. José Ângelo Rizzo, curador do Herbário da Universidade Federal de Goiás (Instituto de Ciências Biológicas; Unidade de Conservação – PRPPG) onde a exsicata foi depositada sob o número de registro 30344, no dia 30 de setembro de 2006.

2.2 Obtenção do extrato etanólico das folhas de *Salácia elliptica* (bacupari)

Para a preparação do extrato, foram utilizadas folhas de *Salácia elliptica* (família Hippocrateaceae), colhidas em um período aleatório do ano na Chácara Paulo de Freitas Ceres/GO.

O material vegetal (folhas) foi limpo e seco à sombra por pelo menos uma semana (até estabilização do peso avaliada pela amostragem de folhas durante o processo de secagem) e em seguida triturado em moinho de facas. Após secagem e pulverização, a extração foi realizada por maceração em etanol 92,8%, na proporção 1:3 (massa:volume), acondicionados em um recipiente de vidro, sendo 500 gramas de folhas moídas imersas em 1,5L de etanol 92,8% à temperatura ambiente, sob agitação mecânica por três vezes ao dia (9h, 16h e 23h). A cada agitação foi registrada a temperatura ambiente e após uma semana do início da maceração, o solvente foi filtrado com o auxílio de coador de algodão e encaminhado para rotaevaporador a 40°C para a finalização do extrato (FIUZA, *et al.*, 2015). O extrato etanólico bruto obtido ficou armazenado em freezer para posterior diluição e administração aos animais.

2.3 Animais

Antes de iniciarmos a utilização experimental dos animais, um projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEG) para avaliação ética do manejo e execução da metodologia, o qual foi aprovado – protocolo CEUA/UEG n.013/2022. Foram

utilizados 60 Camundongos Swiss machos adultos com aproximadamente 100 dias de idade e pesando cerca de 50-60g, os quais ficaram no Biotério do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da Universidade Estadual de Goiás – Unidade Universitária de Ceres, em condições controladas de luminosidade (12h luz: 12h escuro) e temperatura ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$), recebendo alimento sólido (ração comercial da marca Presence) e água filtrada à vontade.

2.4 Determinação do horário de pico de glicose pós-prandial

Para determinação do horário de pico de glicemia pós-prandial, os animais normais (não diabéticos) receberam uma solução de amido de milho pré-cozido (mingau de maizena) como fonte de carboidrato. A concentração de carboidrato da solução fornecida aos animais foi de 5% (calculada a partir das especificações do rótulo do produto), a qual foi administrada via gavagem, no volume máximo de 10% do peso corporal, atendendo as determinações da RN n.33 do (CONCEA, 2016). Em seguida, foi realizada a coleta seriada de sangue para dosagem da glicemia. Esse procedimento visou determinar o horário do pico da glicemia pós-prandial necessário para determinar o horário da amostragem de sangue após a administração do extrato de bacupari.

3337

Após período de adaptação de aproximadamente 15 dias no biotério do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da UEG de Ceres, os animais foram divididos em 4 grupos com 10 indivíduos cada, que estiveram em jejum prévio de 4h (retirada da ração às 8:00h), mas com livre acesso à água. Também foi trocada a serragem da caixa para eliminar a possibilidade de acesso dos animais aos farelos da ração.

Ao meio dia, foi retirada uma gota de sangue por punção da veia caudal ou safena (ZANATTO *et al.*, 2019) para dosagem da glicemia, que foi realizada em um aparelho medidor de glicose com fitas (Accu-check) representando o tempo 0 (zero) da coleta, e em seguida realizada a gavagem (ZANATTO *et al.*, 2019) com a solução de amido. A partir desse momento, de cada grupo (n=10) foi retirada uma gota de sangue com intervalo de 1h cada (totalizando 5 amostragens no grupo I e 4 amostragens nos grupos restantes), de maneira que se obteve uma curva glicêmica com 15min de intervalo entre as amostragens, totalizando um pool de 17 amostras entre os grupos, que compuseram uma curva com 17 pontos (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180, 195, 210, 225 e 240 min após a gavagem). Imediatamente após a última amostragem pós-administração da solução de amido/glicose de cada grupo (3 a 4h depois), os animais tiveram acesso à ração. É importante salientar que

o tempo de jejum efetivo foi de apenas 4h antes da realização da gavagem com solução de 5% glicose/amido.

Dessa forma, foi possível determinar o horário do pico de absorção da glicose, e em que momento a glicemia retornou aos níveis basais, acompanhando a glicemia até no máximo 4h após a administração da solução de amido.

Esse mesmo procedimento foi adotado para testar outra fonte de carboidrato (açúcar), permitindo aos animais uma semana de intervalo para recuperação. Foram utilizados os mesmos animais, uma vez que o tratamento não interferiu em seu metabolismo, e a intervenção feita nos animais foi somente uma punção caudal para coleta de uma gota de sangue, necessária para ativar a fita do glicosímetro. Esse procedimento garantiu ainda resultados confiáveis, aproveitando um número amostral significativo e atendendo aos princípios dos 3R's, reduzindo a necessidade de animais, graças ao seu reaproveitamento.

Assim, ao testarmos duas fontes de glicose, foi possível confirmar se o pico de glicose seria semelhante para ambos os tipos de carboidratos, e a partir desses dados, direcionar de forma mais eficiente a escolha da melhor fonte de carboidratos para os testes subsequentes com o extrato de bacupari, ampliando o entendimento sobre seu potencial e otimizando futuras investigações nessa área.

3338

2.5 Tratamentos

Os animais receberam 200mg/Kg de extrato etanólico das folhas de bacupari (VENKATESWARLU *et al.*, 1993; AKUODOR *et al.*, 2019; ERTEN *et al.*, 2020) administrado via oral (V.O. – gavagem - ZANATTO *et al.*, 2019), 24h após a constatação do diabetes. O extrato foi aplicado nos animais, em jejum prévio de 4h, 5 min antes da aplicação da solução de 5% de carboidratos, tendo como fonte o amido de milho pré-cozido (mingau de maizena) e/ou uma solução de açúcar. As soluções de amido e açúcar foram administradas com intervalo de 72h.

Para evidenciar o efeito hipoglicemiante do tratamento com o extrato de bacupari, foram utilizados animais com *Diabetes mellitus* induzido por aloxana (indução descrita abaixo).

Os tratamentos foram distribuídos em 6 grupos, da seguinte forma: **Grupo Controle (C) (n=10)**, animais não diabéticos e não tratados que receberam somente o veículo e foram utilizados para a comparação dos parâmetros de polifagia, polidipsia e alterações metabólicas

(ex: perda de peso); **Grupo Diabético Controle (DC) (n=10)**, controle diabético, animais diabéticos não tratados que receberam somente o veículo; **Grupo *Salacia elliptica* (extrato) (CS) (n=10)**, animais não diabéticos que receberam extrato etanólico de folhas de *S. elliptica*, na dose de 200 mg/Kg, V.O.; **Grupo Diabético + *Salacia elliptica* (extrato) (DS) (n=10)**, animais diabéticos que receberam extrato etanólico bruto de folhas de *S. elliptica*, na dose de 200mg/Kg, V.O.; **Grupo Acarbose (inibidor α -glicosidase) (CA) (n=10)**, animais não diabéticos que receberam uma dose do inibidor da α -glicosidase; **Grupo Diabético + Acarbose (inibidor α -glicosidase) (DA) (n=10)**, animais diabéticos que receberam uma dose de 100 mg/Kg de Acarbose. A acarbose é um oligossacarídeo complexo, inibidor da alfa-glicosidase intestinal (CLISSOLD *et al.*, 1988), que retarda a digestão dos carboidratos ingeridos, resultando em um menor aumento da concentração de glicose no sangue após as refeições (MOSBY'S, 2002), e devido a essa característica foi utilizado como controle positivo.

Para avaliar o potencial efeito hipoglicemiante do extrato de bacupari na glicemia pós-prandial, foram coletadas amostras de sangue no horário do pico de absorção de glicose (a ser definido na Determinação do horário de pico de glicose pós-prandial – descrito acima) e de hora em hora até atingir 4h de jejum após a aplicação da solução de amido.

3339

2.6 Indução do diabetes mellitus

O *Diabetes mellitus* foi induzido pela administração de aloxana, administrada na dose de 150 a 200mg/Kg (ZAREIE, 2018 e GUO, 2017), via intraperitoneal (i.p.) de acordo com técnica recomendada por Zanatto *et al.* (2019), estando os animais em jejum de 12h (8h pré-aplicação e 4h pós-aplicação) (ZAREIE, 2018; GUO, 2017; AKINDELE *et al.* 2015 e DADA *et al.* 2013). Após 48h da aplicação de aloxana, foi realizada a dosagem de glicose plasmática utilizando um aparelho medidor de glicose com fita (tipo Accu-check). Somente os animais que apresentaram valores de glicemia iguais ou superiores a 250mg/dL foram considerados diabéticos e selecionados para o estudo do efeito hipoglicemiante do bacupari.

2.7 Coleta seriada de sangue

A coleta de sangue (adaptada da técnica descrita por Zanatto *et al.* (2019) foi dividida em dois tipos diferentes: 1) Gota - realizada pela utilização de apenas uma gota de sangue coletada por punção caudal ou da veia safena para ser utilizada na fita do aparelho medidor de glicose tipo Accu-check. Essa coleta foi preferencialmente utilizada para acompanhar a

glicemia dos animais; 2) 50 μ L de sangue - realizada para utilização de 10 μ L de plasma obtido de uma alíquota de aproximadamente 50 μ L de sangue, para determinação da glicemia por colorimetria (kit enzimático) nos momentos em que a glicemia estourava a escala do aparelho Accu-check (>600mg/dL). Após a coleta, as amostras de sangue desse método foram centrifugadas para obtenção do plasma e subsequente determinação da glicose pelo método colorimético (kit para dosagem de glicose).

Para a execução da coleta, inicialmente procedeu-se à imobilização do animal (BAAMONDE, 2021 e ZANATTO *et al.*, 2019), assepsia (álcool 70%) da cauda e/ou tricotomia do membro pélvico, para acesso da veia caudal ou da veia safena, respectivamente, que foi perfurada no sentido distal-proximal, utilizando uma agulha esterilizada de calibre 27. Após a punção venosa, o sangue fluía na superfície da pele e era coletado uma gota diretamente na fita do aparelho medidor de glicose, ou aproximadamente 50 μ L, em um Eppendorf previamente heparinizado com 5 μ L de heparina.

As amostras de sangue foram coletadas de forma seriada por punção caudal de acordo com o descrito no item “Determinação do horário de pico de glicose pós-prandial” (descrito acima), e de hora em hora (totalizando 4 amostragens) após o pico de absorção de glicose nos animais do experimento com o extrato. Especificamente para a coleta de sangue da veia safena (50 μ L), foi feito um garrote do membro com os dedos visando causar ingurgitamento do vaso, seguido da punção com uma agulha (ZANATTO *et al.*, 2019). Depois da coleta foi realizada a hemostasia por compressão com uma gaze no local da punção, como recomendado por Bogdanske (2010).

3340

2.8 Eutanásia e coleta de tecidos

Os machos foram eutanasiados por decapitação após anestesia com isoflurano (1,5% via inalatória) para coleta de sangue e retirada dos tecidos para análises. Esse processo foi realizado em uma sala diferente de onde os animais foram mantidos. Cada animal foi conduzido individualmente para o local da eutanásia, que foi realizada por um dos colaboradores com experiência.

Após a eutanásia e exsanguinação dos animais, foi retirado o fígado e o músculo gastrocnêmio para posterior dosagem de glicogênio (método descrito por CARROL *et al.*, 1956) e lipídeos totais (método gravimétrico). Resumidamente, 500mg de tecido foram triturados em uma mistura de clorofórmio-metanol (2:1), posteriormente filtrados e misturados em solução salina para separação das fases. O sobrenadante foi aspirado, e a fase

inferior foi despejada em um recipiente previamente tarado, para evaporação do clorofórmio em estufa a 45°C. A diferença de peso resultou do total de lipídios no tecido.

2.9 Análise estatística

Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias. O experimento e todas as análises foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da UEG Campus Ceres. Aos resultados foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e o Teste t de Student, sendo adotado o nível de significância de 5%.

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Produção do extrato das folhas do bacupari

O procedimento de extração dos constituintes solúveis das folhas de Bacupari (*Salacia elliptica*) pelo método de maceração a frio, foi realizado em uma proporção de 1:3 (500mg de folhas de bacupari moídas para 1,5L de etanol 92,8%), seguidas de três etapas de filtração, realizadas a cada 7 dias. Ao final de cada período de extração (a cada 7 dias), foi realizada a filtragem do macerado, reservando-o após filtração, e adicionado mais solvente às folhas moídas, seguindo a mesma proporção de 1:3, até que se complete o ciclo de 3 etapas. Na primeira etapa de extração de foi obtido 0,5L de macerado, já na segunda e terceira etapa foi obtido 1,5L de macerado respectivamente, totalizando ao final do processo 3,5 litros de macerado. Subsequentemente, o extrato foi submetido ao processo de finalização no rotaevaporador a uma temperatura de 40°C em baixa pressão. Nesse estágio, houve a redução de 98% do volume de etanol e foi obtido um rendimento de 70 mL de extrato etanólico de Bacupari.

3341

Crispim, (2012) em seu estudo para obtenção do extrato etanólico de *Casearia sylvestris* (popularmente conhecida como Guaçatonga ou Cafezeiro do mato), utilizou também 3 etapas de filtração, sendo cada uma de 24h, tempo menor em relação a nossa extração. Esse autor também realizou a extração do solvente das amostras em rotaevaporador e encontrou uma redução de apenas 62,5% do volume de etanol.

Na evaporação rotativa, os extratos são constantemente agitados por rotação, promovida pela técnica de rotação causada pelo motor do rotaevaporador, com o intuito de eliminar o solvente na forma de vapor. Esse solvente é subsequentemente condensado em

um balão, tornando possível sua recuperação. Conseqüentemente, os volumes reduzidos dos extratos são concentrados em baixas temperaturas, as quais são mantidas dentro da faixa de 30°C a 40°C, porém em baixa pressão (SILVA, 2012).

Após a passagem pelo rotaevaporador o extrato foi armazenado em freezer para posteriormente ser utilizado no experimento. Ainda no sentido de caracterizarmos o extrato, separamos uma alíquota de 750mg desse extrato para determinar o teor de umidade e quantidade de massa do extrato seco.

Para isso, foram utilizadas três placas de Petri, secas previamente em estufa, com 250mg de extrato úmido (pós rotaevaporação) em cada uma. Em seguida as amostras foram colocadas em uma estufa a aproximadamente 40°C por 12h para secagem prévia. Diariamente foram pesadas até a constatação da estabilização do peso, seguindo a determinação da massa seca e o cálculo da umidade (%), que atingiu valores de 64%.

Albino *et al.*, (2015) em seu estudo realizou processo de determinação do rendimento de massa ao final de cada intervalo de extração. Os frascos contendo extrato etanólico foram colocados em estufa com circulação de ar a 55 °C para secagem até peso constante, porém os autores não relataram os valores encontrados.

A produção de extrato etanólico é uma técnica amplamente utilizada na indústria farmacêutica e cosmética. Além disso, o etanol tem muitos benefícios em comparação com outros solventes, além de apresentar um custo relativamente baixo, ele não é considerado tóxico para consumo humano (SILVA, 2022; BARBI, 2016), isso torna os fitoterápicos obtidos por essa técnica mais acessível ao consumidor.

Dessa forma, a determinação do extrato bruto, nos permitiu fazer uma estimativa da massa de extrato a ser usada, para atender a dose a ser testada.

3.2 Determinação do pico de glicose e definição da fonte de carboidrato usada no experimento

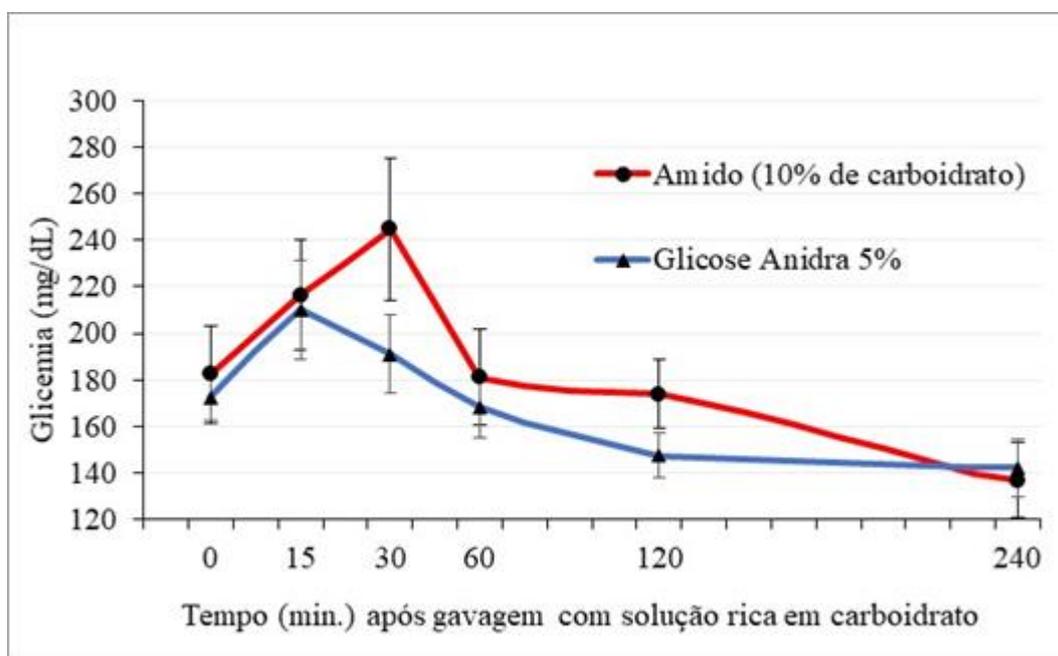
O pico da glicemia em camundongos não diabéticos submetidos à administração (via gavagem) de uma solução de glicose anidra 5% foi observado nos 15 primeiros minutos após a gavagem (Figura 1), atingindo um valor de 210mg/dL. A glicemia retornou aos níveis iniciais 60min após a gavagem (172 e 168mg/dL respectivamente) e continuaram a cair até os 240 minutos após a aplicação da solução de glicose (142mg/dL).

Já os animais tratados com amido como fonte de carboidratos (solução 10% de carboidrato), apresentaram o pico glicêmico após 30 minutos da gavagem com a solução de

amido (Figura 2), atingindo um valor de 245mg/dL. Da mesma forma que observado nos animais tratados com a solução de glicose anidra, a glicemia retornou aos valores iniciais após 60min do tratamento (182 e 181mg/dL respectivamente), continuando a cair até valores de 137 mg/dL aos 240min após o tratamento.

Assim, a partir desses resultados, a escolha do amido como fonte de glicose para o tratamento dos animais foi fundamentada em 2 características: no maior tempo para atingir o pico de glicemia, que para o amido foi 15 minutos à mais que para a glicose anidra, e no maior valor de glicemia apresentado. Dessa forma, além dos valores nutricionais como fonte de carboidratos na dieta humana, encontrado abundantemente em grão de cereais, raízes e tubérculos de nossa alimentação, o amido representa 80 a 90% da fonte de carboidratos da dieta humana (WALTER *et al.*, 2005). Além disso, seu impacto no tempo para atingir o pico de glicemia, e os níveis mais elevados de glicose no sangue, fez com que se tornasse uma opção relevante como fonte de glicose para esse experimento.

Figura 1 – Glicemia (mg/dL) dos camundongos não diabéticos durante 4h (240min) após o tratamento com solução de glicose anidra 5% e com uma solução de amido/maisena (10% de carboidratos) como fonte de açúcar, via gavagem, fornecidas na proporção de 1% do peso corporal.



Outro elemento que justificou a utilização do amido reside no fato de que a geração de glicose a partir desse substrato se mostra, de forma surpreendente, associada não somente à atividade da alfa-amilase, mas também à das alfa-glicosidases presentes na mucosa intestinal, como afirmado por Lin *et al.*, (2012).

3.3 Indução de diabetes

Inicialmente os 30 animais com idade entre 97 a 103 dias, receberam a dose de aloxana 150mg/Kg via intraperitoneal, sendo que 67% (20) animais apresentaram diabetes (glicemia ≥ 250 mg/dL) até 72h após.

Após 28 dias da primeira aplicação de aloxana, os 10 animais que não ficaram diabéticos, foram submetidos a segunda aplicação de aloxana intraperitoneal. Depois de 48 horas dessa nova aplicação 60% (6) apresentaram diabetes (glicemia ≥ 250 mg/dL), 20% (2) animais não ficaram diabéticos e outros 20% (2) morreram. Dessa forma o desenvolvimento de diabetes foi de 87% (26 animais diabéticos), sendo que, 6,67% (2) não diabéticos e 6,67% (2) mortes.

A aloxana constitui um dos agentes diabetogênicos mais minuciosamente investigados e frequentemente empregados na comunidade científica para a indução de diabetes experimental. Isso ocorre devido à notável semelhança entre as manifestações provocadas por essa substância e os sintomas característicos da síndrome diabética em seres humanos, que incluem glicosúria, polifagia, polidipsia, hiperglicemia, entre outros.

É importante ressaltar que a aloxana apresenta uma citotoxicidade altamente específica em relação às células beta do pâncreas, uma vez que estas células demonstram uma notável capacidade de acumulação da referida substância, e também exibem maior sensibilidade aos radicais peróxidos quando comparadas a outros tecidos. Isso culmina na indução de insuficiência insulínica primária, desencadeando uma resposta trifásica nos níveis glicêmicos nas primeiras horas após a administração de aloxana. Essa resposta se caracteriza pela subsequente instauração do diabetes permanente no período de 24 horas que sucede a administração da substância. A insuficiência de insulina resultante gera uma condição de *Diabetes mellitus* experimental que ficou conhecida como "diabetes aloxânico" e passou a ser amplamente adotada como um modelo para a indução da *Diabetes mellitus* tipo 1 (OLIVEIRA, 2012).

A dose de aloxana necessária para induzir o diabetes depende da espécie animal, via de administração e estado nutricional (SZKUDELSKI, 2001). Segundo Szkudelski (2001) a administração intraperitoneal de aloxana em doses inferiores a 150mg/kg de peso corporal pode apresentar uma insuficiência em induzir a condição de diabetes em ratos. Além disso, os animais em estado de jejum demonstram maior suscetibilidade a aloxana, pois uma quantidade maior de glicose sanguínea oferece uma proteção parcial contra tal efeito.

Em um experimento realizado por Carvalho *et al.*, (2016) em 60 ratos Wistar fêmeas, foi usado a mesma dose e mesma via de administração que usamos, mas com um período de jejum de 24 horas. Após sete dias, a glicose sanguínea foi quantificada para a seleção dos animais diabéticos, sendo considerado apenas os que apresentaram glicemia de jejum igual ou superior a 200 mg/dL. Como resultado dessa indução, apenas 26,7% dos animais apresentaram diabetes, 6,7% apresentaram aumento do índice glicêmico, porém, não atingindo 200 mg/dL, 26,7% não apresentaram alteração dos índices glicêmicos, e 40,00% foram a óbito antes das primeiras 24 horas após a indução.

Ao comparar tais resultados com os obtidos em nosso estudo, é possível observar que, na nossa primeira instância de indução, não se registrou óbitos, e a proporção de animais manifestando diabetes revelou-se superior a relatada no experimento do Carvalho *et al.*, (2016), mesmo com a utilização da mesma dose e da mesma via de administração da aloxana.

Alguns grupos de pesquisa relatam dificuldades em conseguir induzir o diabetes de maneira satisfatória, pois alguns animais apresentam-se mais resistentes aos efeitos da aloxana, e apenas uma pequena proporção de animais tratados realmente torna-se diabéticos. Os efeitos diabetogênicos da aloxana e a suscetibilidade do organismo hospedeiro, podem estar correlacionados com diversos elementos, sendo que tais fatores podem não somente deixar de precipitar o desenvolvimento do quadro diabético, mas também culminar no óbito do animal tratado. É importante que se mantenha vigilância constante sobre tais elementos, a fim de alcançar uma indução do diabetes que se mostre satisfatória, viabilizando, assim, a instauração da condição diabética em um número substancialmente maior de animais, minimizando, conseqüentemente, a mortalidade (SILVA, 2011; FEDERIUK, 2004).

3345

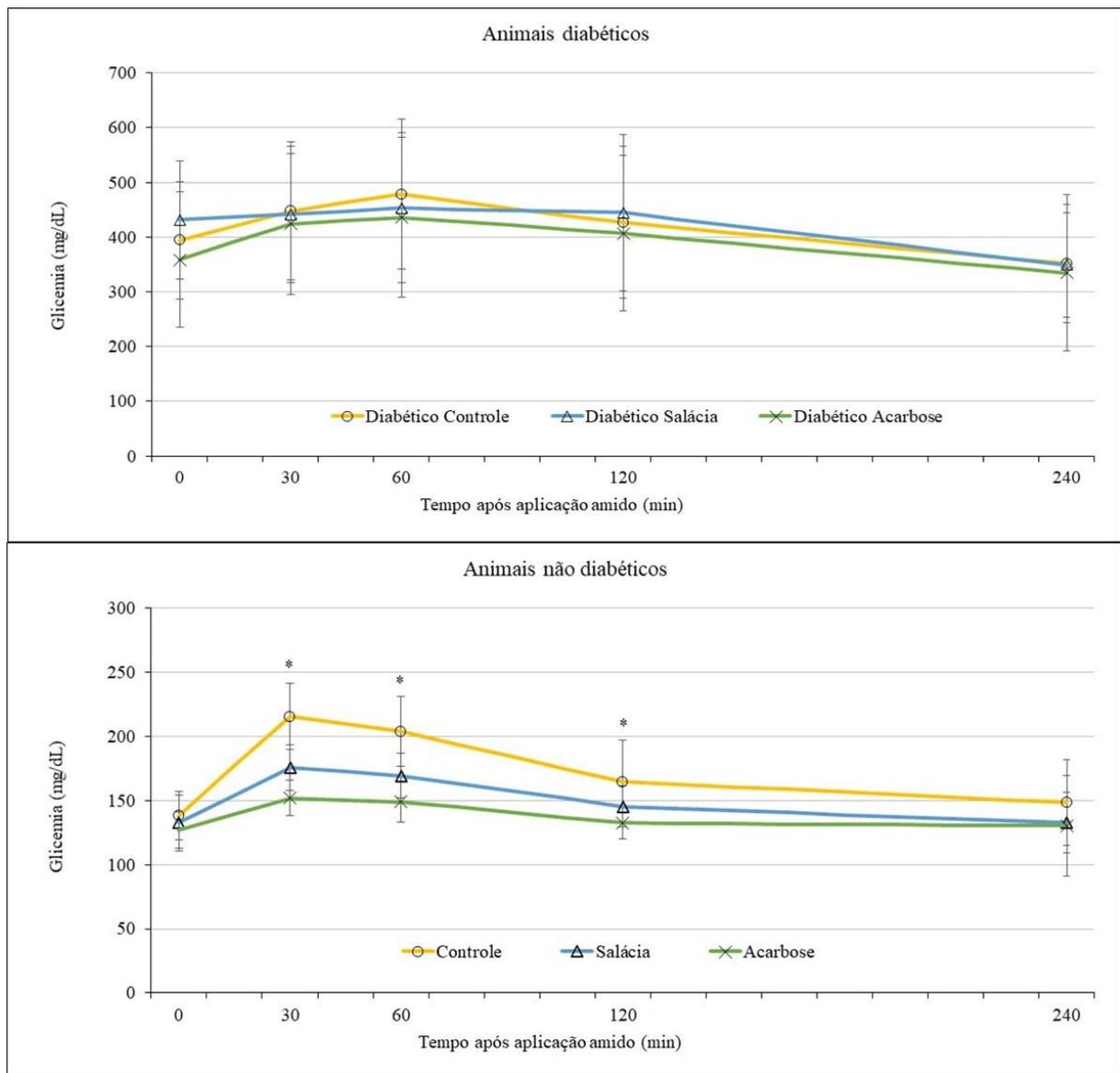
3.4 Efeito hipoglicemiante do bacupari

Nos primeiros camundongos que manifestaram a condição de diabetes (glicemia >250mg/dL) foi efetuada a avaliação do efeito hipoglicemiante do tratamento com 200mg/Kg do extrato bruto etanólico das folhas de Bacupari, de acordo com o delineado no protocolo experimental. Contudo, os resultados da análise preliminar não evidenciaram quaisquer alterações ($p > 0,05$) nos níveis de glicemia investigados.

Assim, foi feita uma adaptação do protocolo experimental, que implicou na revisão da dose administrada. Dessa forma, optou-se por dobrar a dose, e o demais animais que ainda não tinham sido tratados, receberam 400mg/Kg do extrato bruto de Bacupari.

Neste contexto, foi constatado que a administração de dose única de 400mg/Kg do extrato etanólico das folhas de Bacupari (*Salácia elliptica*) suprimiu de forma significativa ($p < 0,05$) os níveis de glicose pós-prandial em camundongos não diabéticos. No entanto, essa redução não foi observada ($p > 0,05$) nos animais diabéticos (Figura 2).

Figura 2 - Glicemia (mg/dL) dos camundongos diabéticos e não diabéticos durante 4h (240min) após o tratamento com Salina, Salácia e Acarbose, após a administração solução de amido/maisena (10% de carboidratos) como fonte de açúcar, via gavagem, fornecidas na proporção de 1% do peso corporal. * ($p < 0,05$) Controle versus Salácia; Controle versus Acarbose; Salácia versus Acarbose.



3346

Os camundongos foram alimentados com uma fonte de carboidrato (amido de milho) e, em seguida, submetidos aos tratamentos. Os grupos controles (C normais) e (Diabéticos Controle) receberam salina, os grupos (Controle Salácia) e (Diabetes Salácia) foram tratados com o extrato de bacupari, os grupos de controles positivos (Controle

Acarbose) e (Diabético Acarbose) foram submetidos à acarbose, um inibidor da α -glicosidase.

Os níveis de glicose em jejum nos camundongos foram verificados antes do início do tratamento (tempo 0) e registrados como referência. Subsequentemente, a glicemia foi avaliada nos momentos 30, 60, 120 e 240 minutos após o tratamento e os valores de glicemia estão apresentados na Figura 2 e Tabela 1.

Tabela 1: Glicemia (mg/dL) dos grupos controle normal após gavagem com extrato de folhas de Salácia e fonte de carboidrato. *($p < 0,05$) CS x C; #($p < 0,05$) CA x C; \diamond ($p < 0,05$) CS x CA.

Tempo pós gavagem (min)	Controle (C)	Controle Salácia (CS)	Controle Acarbose (CA)
0	138,2 \pm 18,6	132,4 \pm 21,9	126,9 \pm 14,2
30	215,4 \pm 25,7	175,8 \pm 17,8*	152,0 \pm 13,6# \diamond
60	203,8 \pm 27,2	169,2 \pm 17,6*	148,9 \pm 16,0# \diamond
120	164,7 \pm 32,3	145,3 \pm 16,1*	132,5 \pm 12,1# \diamond
240	148,4 \pm 33,3	132,5 \pm 23,6	130,2 \pm 39,4

Foi observado que nos intervalos de 30, 60 e 120 minutos, os níveis de glicemia plasmática nos grupos Controle tratado com Salácia (CS) e Controle tratado com Acarbose (CA) foram consideravelmente inferiores ($p < 0,05$) em comparação ao grupo Controle (C). Isso mostra que o extrato etanólico do Salácia é capaz de diminuir a glicemia pós-prandial, assim como a Acarbose, a qual é uma medicação que age como inibidor enzimático da α -glicosidase. Adicionalmente, o grupo (CA) revelou níveis glicêmicos diferentes ($p < 0,05$) quando comparado aos valores do grupo (CS), comprovando a atividade hipoglicemiante da acarbose e reafirmando esse tratamento como controle positivo (Figura 2 e Tabela 1).

3347

No entanto, no tempo de 240 minutos, a glicemia dos grupos não apresentou diferença entre os tratamentos. Além disso, demonstram valores inferiores ao tempo 0, no qual os camundongos se encontravam em jejum prévio de aproximadamente 8h (Figura 2).

Contrariamente aos achados de nossa pesquisa, em que o extrato da *Salacia elliptica* apresentou efeitos em camundongos saudáveis, mas não nos diabéticos, Erten *et al.* (2020), evidenciou em seu estudo, que o extrato da *Salacia chinensis* demonstrou maior eficácia em ratos diabéticos do que em ratos normais.

Jeykodi *et al.* (2016) conduziu uma pesquisa com uma amostra de pessoas saudáveis, isentos de diagnóstico de diabetes, os quais receberam cápsulas contendo extrato de *Salacia chinensis* (SCE) após a ingestão de sacarose, para analisar os níveis de glicose pós-prandial

dos participantes. Foi observado que o referido extrato ocasionou uma significativa redução na digestão e absorção da sacarose. Essa redução foi atribuída à ação inibitória da alfa-glicosidase, culminando na diminuição dos picos de glicemia pós-prandial, sem registrar efeitos adversos graves. Como resultado, os pesquisadores concluíram que o extrato de *S. chinensis* pode representar uma abordagem suplementar segura e eficaz para o controle da saúde metabólica, mantendo níveis adequados de glicose e insulina no organismo.

Um estudo realizado por Kobayashi *et al.* (2021) em indivíduos diagnosticados com diabetes limítrofe e leve revelou uma supressão significativa, e dependente da dose do extrato de *Salacia chinensis*, nos níveis de glicose pós-prandial. Dentro das diversas doses testadas, a dose de 600 mg foi identificada como a mais eficaz nesse contexto. Adicionalmente, a administração do extrato de Salácia resultou em melhorias substanciais em diversos parâmetros associados à glicemia, incluindo a redução dos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c), uma medida comumente usada na avaliação da eficácia do tratamento e no controle dos níveis de glicose no sangue ao longo do tempo, assim como a melhora na tolerância à glicose após o teste de sobrecarga com glicose. Esses achados sugerem a possibilidade de efeitos benéficos do extrato de *Salacia chinensis* em pacientes diagnosticados com diabetes.

3348

Williams *et al.* (2007) e Stohs e Ray (2015) afirmam que tanto a *Salacia reticulata* quanto a *Salacia oblonga* possuem a capacidade de reduzir a glicemia pós-prandial em indivíduos diagnosticados com diabetes tipo 2.

Shivaprasad *et al.* (2013) mostram que os extratos derivados de Salácia têm demonstrado eficácia no tratamento de pré-diabetes, uma vez que os constituintes ativos da Salácia, apresentam uma série de propriedades, incluindo a capacidade de reduzir a glicose pós-prandial por meio da inibição da enzima alfa-glicosidase localizada na borda em escova do epitélio intestinal.

Na composição fitoquímica das espécies da Salácia encontram-se diversos compostos tais como, salacinol, kotalanol, ponkorinol, salaprinol, neosalaprinol, neoponkoranol, mangiferina, 16-acetato kotalagenina, epigallocatequina, epicatequina, epiafzelechina e pristemerina. Os sulfônios sulfatos, como salacinol, kotalanol, ponkorinol e salaprinol, demonstram responsabilidade na atividade antidiabética dessas substâncias. Além disso, seus análogos dessulfonados, neosalaprinol e neoponkoranol, exercem a inibição da enzima α -glicosidase. A inibição enzimática decorrente da ação desses compostos resulta na redução da quebra de polissacarídeos e oligossacarídeos, tais como amido e sacarose, ocasionando a

desaceleração do processo de transformação de carboidratos em monossacarídeos absorvíveis. Este mecanismo retarda o aumento dos níveis de glicose no sangue após a ingestão de refeições ricas em carboidratos, culminando na observação do efeito hipoglicemiante (MOHAN, S.; ESKANDARI, R.; PINTO, B. M, 2014; MATSUDA *et al.*, 2002; DEEPAK *et al.*, 2015).

Os usos históricos e contemporâneos da Salácia, no continente asiático evidenciam sua aplicação como um agente fitoterápico, sob a forma de extrato de ervas, consumido durante as refeições, seja como chá ou suplemento. Este uso está associado às propriedades antidiabéticas atribuídas a essa substância (LI *et al.*, 2008).

Este cenário ressalta a importância desta pesquisa direcionada a compreender os efeitos terapêuticos e os mecanismos de ação da Salácia, ou das espécies desse gênero, encontradas no território brasileiro, visando potenciais aplicações no contexto do tratamento ou gerenciamento de condições relacionadas ao diabetes e suas complicações metabólicas, e para melhor conhecimento do perfil fitoterápico e botânico dessas espécies.

3.5 Lipídios hepáticos

Os lipídios hepáticos dos camundongos normais (Controle, Controle tratado com Salácia e Controle tratado com Acarbose) apresentaram os valores de 0,43%, 0,26% e 0,40% respectivamente. Já os animais Diabéticos (Diabético Controle, Diabético tratado com Salácia e Diabético tratado com Acarbose) tiveram os respectivos percentuais de 0,31%, 0,31% e 0,53% (Figura 3).

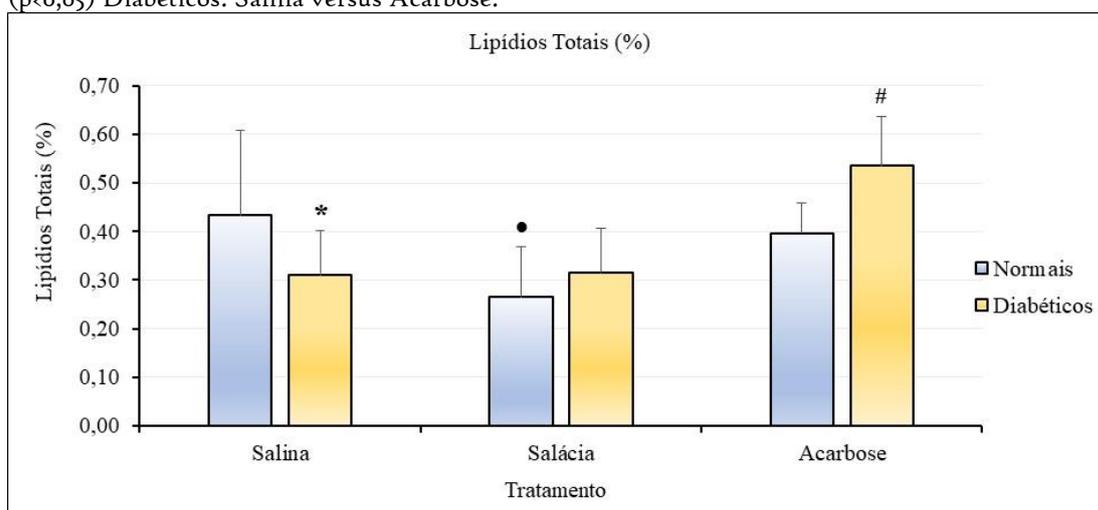
Considerando os grupos de tratamentos (Salina, Salácia e Acarbose) foi constatado uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os animais normais e diabéticos tratados com Salina (Figura 3 - *). Isso significa que o diabetes promoveu uma diminuição de 28% nos valores de lipídios totais hepáticos.

No período pós prandial, a glicose é convertida em glicogênio, ácidos graxos ou aminoácidos no fígado. Os ácidos graxos livres são esterificados com glicerol-3-fosfato para gerar triacilglicerol, que pode ser estocado em gotas lipídicas nos hepatócitos ou então secretados na circulação como partículas de VLDL. Os ácidos graxos não esterificados são oxidados nas mitocôndrias dos hepatócitos através da beta oxidação para geração de energia celular (RUI, 2014).

O fígado desempenha um papel crucial na regulação dos metabolismos da glicose e lipídico, exercendo funções fundamentais na síntese e degradação de ácidos graxos. A

eficiente capacidade de armazenamento de ácidos graxos sob a forma de triglicerídeos não tóxicos, notadamente triacilgliceróis (gordura), destaca-se, proporcionando uma produção energética mais do que o dobro por unidade de massa em comparação com carboidratos ou proteínas (HUANG, BORENSZTAJN e REDDY, 2011).

Figura 3 – Lipídios totais (%) hepáticos dos camundongos normais e diabéticos, 4h (240min) após o tratamento com Salina, Salácia (extratato bruto de *Salacia elliptica*) e Acarbose, após a administração solução de amido/maisena (10% de carboidratos) como fonte de glicose, via gavagem, fornecida na proporção de 1% do peso corporal. * ($p < 0,05$) Salina: Normais versus Diabéticos; • ($p < 0,05$) Normais: Salina versus Salácia; # ($p < 0,05$) Diabéticos: Salina versus Acarbose.



Para manter a homeostase corporal, o fígado depende da interação hormonal com células endócrinas pancreáticas. Os hormônios glucagon e insulina desempenham papéis centrais na regulação dos metabolismos da glicose e lipídico. A insulina inibe a secreção de glucagon, promovendo o armazenamento de lipídios e carboidratos. Em contrapartida, o glucagon facilita processos como a gliconeogênese (Síntese de glicose a partir de substâncias não-carboidratos) e o efluxo de glicose do fígado (ALBRECHTSEN, *et al.*, 2019; BERGMAN e IYER, 2017).

O Diabetes (DM tipo 1 e DM tipo 2) prejudica o metabolismo da glicose e dos lipídios, devido a secreção insuficiente de insulina e pela liberação excessiva de glucagon, que promove a lipólise hepática e a cetogênese. A falta insulina provoca a inativação da regulação parácrina do glucagon, o que contribui para o desenvolvimento da hiperglucagonemia e para o aumento da gliconeogênese, que além de causar a diminuição dos lipídios hepáticos, também leva à hiperglicemia (JIANG, *et al* 2020).

A redução dos lipídios hepáticos observada nos camundongos diabéticos, resultante da gliconeogênese, gera um aumento da glicemia. Esta resposta metabólica pode ter impactado nos níveis glicêmicos dos camundongos diabéticos tratados com o extrato bruto

das folhas da Salácia. Se o organismo está produzindo glicose a partir de compostos não-carboidratos, mesmo que o extrato iniba a absorção de glicose, o metabolismo pode estar compensando por meio da síntese de glicose.

Contudo, o teor de lipídios hepáticos dos animais normais e diabéticos não foram alterados em função do tratamento com o extrato bruto de Salácia e nem com Acarbose ($p > 0,05$).

Ao observarmos os efeitos dos tratamentos (Salina, Salácia e Acarbose) nos animais normais, é possível observar (Figura 3 - ●) que o extrato de Bacupari (Salácia) promoveu uma diminuição de 39,5% nos valores de lipídios hepáticos dos camundongos.

Um estudo realizado por Akase (2011), evidencia que o extrato de *Salacia reticulata*, tem efeitos benéficos como diminuir o teor de lipídios e melhorar a condição dos hepatócitos, facilitando a lipólise tanto no fígado quanto nos adipócitos. Em contrapartida, observou-se que os níveis plasmáticos de triglicerídeos não apresentam melhora, possivelmente devido à transferência de ácidos graxos livres, resultantes da lipólise nos tecidos hepáticos e células adiposas, para o plasma.

Stohs e Ray (2015) descreve que os extratos de *Salacia reticulata* têm demonstrado a capacidade de reduzir os níveis de glicose plasmática em seres humanos. Além disso, observa-se uma diminuição nos valores de HbA_{1c} (hemoglobina glicada) e regula os níveis de lipídios séricos, sem relatos de efeitos adversos.

3351

Yoshikawa et al, (2002) relata que o extrato das raízes de *S. reticulata* solúvel em água quente, possui vários polifenóis altamente concentrados, incluindo mangiferina, catequinas e taninos condensados, que inibem as enzimas metabolizadoras de lipídios e estimula a lipólise.

Por outro lado, a Acarbose promoveu um aumento de 41,5% ($p < 0,05$) nos valores de lipídios hepáticos dos animais diabéticos (Figura 3 - #).

Esse aumento de lipídios hepáticos em animais diabéticos do nosso trabalho, diverge dos estudos, que sugerem que a acarbose pode interferir no metabolismo lipídico, reduzindo as concentrações pós-prandiais de triglicerídeos e diminuindo o perfil lipídico em pacientes com diabetes.

No contexto do tratamento com acarbose, vários estudos relatam uma redução nas concentrações elevadas de colesterol em pessoas com diabetes não dependentes de insulina. Além disso, esses trabalhos evidenciam a supressão do aumento dos triglicerídeos séricos, indicando uma melhoria na hiperlipidemia pós-prandial em pacientes com *Diabetes mellitus*

tipo 2, resultando em melhor controle glicêmico e aprimoramento do perfil lipídico (KADO, 1998; LEONHARDT, 1991; DEROSA, 2011).

Embora estudos afirmem que a acarbose melhora o perfil lipídico no geral, nenhum deles abordaram especificamente sobre o perfil de lipídios hepáticos, como também, não foram encontrados artigos que avaliam o perfil lipídico no fígado de animais tratados com acarbose. Isso mostra a necessidade do desenvolvimento de mais pesquisas para investigar qual é a ação desse fármaco diretamente na concentração de lipídios no fígado.

3.6 Glicogênio hepático e muscular

As médias de concentrações de glicogênio hepático dos camundongos normais, tratados com Salina (C), Salácia (CS) e Acarbose (CA) foram de 3,37, 2,74 e 2,29 μ g de glicose/100mg de fígado respectivamente. Analisando esse grupo de animais normais, foi constatado que os tratamentos de Salácia e Acarbose reduziram o nível de glicogênio hepático ($p < 0,05$). (Figura 4).

Um estudo realizado por Haugaard *et al.* (1984) evidenciou que o aumento de glicogênio no fígado de ratos normais, proveniente de uma dieta rica em carboidratos, foi completamente inibido com a inclusão de acarbose na alimentação. Por outro lado, em animais diabéticos, a presença de glicogênio hepático manteve-se consistentemente inferior aos níveis observados nos animais normais, independentemente da dieta adotada ou da presença de acarbose. Nossos dados corroboram os resultados encontrados por Hauggard *et al.* (1984).

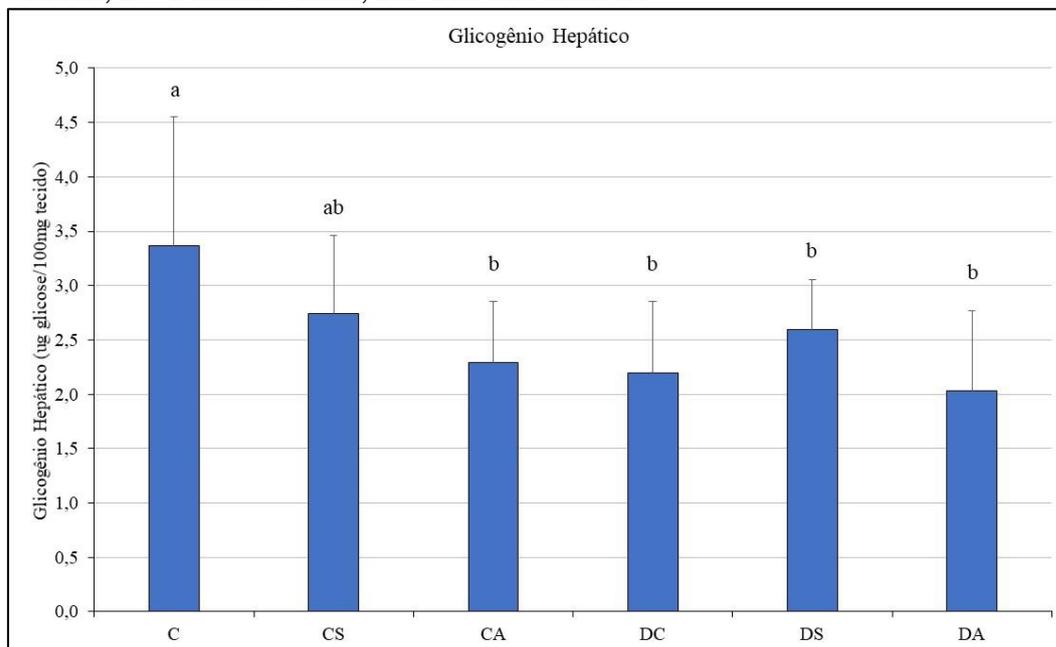
3352

Hess *et al.* (1986) mostrou que a acarbose diminuiu o conteúdo de glicogênio hepático em ratos normais alimentados com uma dieta rica em carboidratos. O que indica que a acarbose afeta o metabolismo do glicogênio hepático, modulando o armazenamento e o metabolismo do glicogênio no fígado.

Por outro lado, os camundongos diabéticos tratados com Salina (DC), Salácia (DS) e Acarbose (DA) tiveram uma concentração média de glicogênio hepático de 2,27 \pm 0,29 μ g de glicose/100mg de fígado ($p > 0,05$) (Figura 4).

Em indivíduos portadores de *Diabetes mellitus* (DM), a síntese hepática de glicogênio encontra-se comprometida, a diminuição na sinalização da insulina, ou a sua ausência, são responsáveis pela diminuição na síntese de glicogênio. Isso indica que a diminuição no armazenamento de glicogênio no fígado contribui para a ocorrência de hiperglicemia pós-prandial em indivíduos diabéticos (JIANG, *et al.* 2020).

Figura 4 – Glicogênio Hepático (concentração de glicose em $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de fígado) dos camundongos normais e diabéticos, 4h (240min) após o tratamento com Salina, Salácia (extrato bruto de *Salacia elliptica*) e Acarbose, após a administração de uma solução de amido/maisena (10% de carboidratos) como fonte de glicose, via gavagem, fornecida na proporção de 1% do peso corporal. Médias seguidas de letras diferentes ($p < 0,05$). Médias seguidas de mesma letra ($p > 0,05$). C: controle; CS: Controle Salácia; CA: Controle Acarbose, DC: Diabético Controle; DS: Diabético Salácia; DA: Diabético Acarbose.



Krssak, *et al* (2004) realizou uma pesquisa, na qual ele monitorou pacientes diabéticos tipo 2 e indivíduos controles voluntários não diabéticos. Os pacientes diabéticos apresentaram redução da síntese de glicogênio hepático pós-prandial, quando comparados com os não diabéticos, o que corrobora com o nosso estudo.

3353

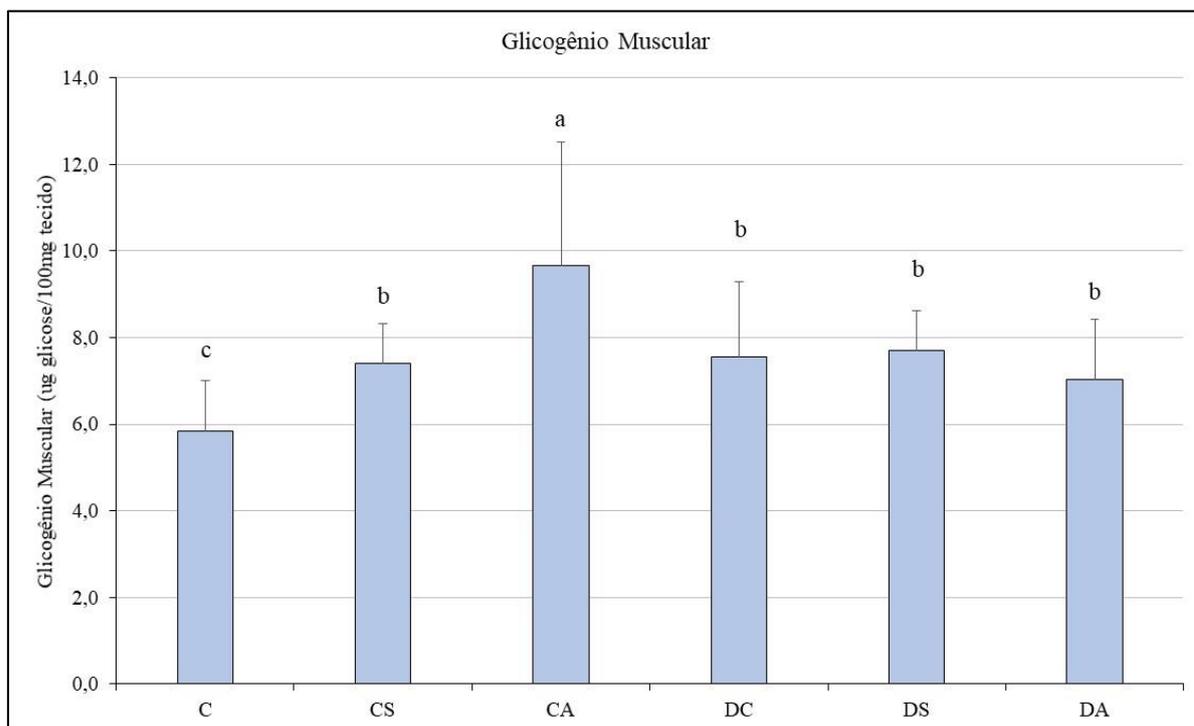
Os depósitos de glicogênio muscular dos animais normais, tratados com Salina (C), Salácia (CS) e Acarbose (CA) apresentaram concentrações de 5,58, 7,41, 9,65 μg de glicose/100mg de músculo, respectivamente (Figura 5). Os níveis de glicogênio muscular dos animais tratados com Acarbose e com Salácia mostraram um perfil diferente do glicogênio hepático. Neste caso, os dois tratamentos aumentaram a concentração de glicogênio nos músculos ($p < 0,05$), quando comparadas com o grupo controle.

O tratamento com acarbose em ratos não diabéticos pode promover um aumento dos níveis de proteína GLUT₄ transportadora de glicose para o músculo, e conseqüentemente aumentar a concentração de glicogênio muscular, devido a absorção de glicose nos micócitos (DOLAN, *et al*,1997).

Já os animais diabéticos tratados com Salina (DC), Salácia (DS) e Acarbose (DA) tiveram uma concentração de glicogênio muscular média de $7,42 \pm 0,36 \mu\text{g}$ de glicose/100mg de tecido muscular esquelético ($p > 0,05$) (Figura 5). Isso mostra que o estado catabólico

promovido pela diabetes não evidenciou nenhuma possível alteração decorrente dos tratamentos aplicados (Figura 5).

Figura 5 - Glicogênio Muscular (concentração de glicose em $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de fígado) dos camundongos normais e diabéticos, 4h (240min) após o tratamento com Salina, Salácia (extrato bruto de *Salacia elliptica*) e Acarbose, após a administração de solução de amido/maisena (10% de carboidratos) como fonte de glicose, via gavagem, fornecida na proporção de 1% do peso corporal. Médias seguidas de letras diferentes ($p < 0,05$). Médias seguidas de mesma letra ($p > 0,05$). C: controle; CS: Controle Salácia; CA: Controle Acarbose; DC: Diabético Controle; DS: Diabético Salácia; DA: Diabético Acarbose.



3354

Os animais diabéticos apresentaram uma hiperglicemia devido a administração da aloxana, fármaco que atua nas células beta pancreáticas secretoras de insulina, a qual é responsável por secretar a insulina, o principal hormônio capaz de controlar os altos níveis glicêmicos do sangue. Devido a incapacidade em liberar insulina não ocorre a mobilização dos transportadores de glicose (GLUT₄) resultando em baixas taxas de captação de glicose pelo músculo (MACHADO *et al.*,2006). Isso pode justificar os níveis estáveis de glicogênio muscular nos camundongos diabéticos, pois os transportadores de glicose para os miócitos são insulino-dependentes.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, a metodologia aplicada na extração dos constituintes solúveis das folhas de Bacupari (*Salacia elliptica*) demonstrou ser eficaz na obtenção do extrato etanólico das folhas dessa espécie botânica.

Existe uma efetividade considerável na indução do diabetes com aloxana, resultando em um alto percentual de desenvolvimento da condição diabética nos animais, com baixa mortalidade, comprovando sua eficácia como agente diabetogênico.

A avaliação do extrato etanólico das folhas de Bacupari mostrou uma supressão significativa dos níveis de glicose pós-prandial em camundongos não diabéticos, quando administrada uma dose única de 400mg/Kg. Entretanto, esta redução não foi evidenciada nos animais diabéticos, indicando a necessidade de estudos mais aprofundados para compreender a ação desse fitoterápico nos diabéticos, como também de investigar se as reações metabólicas (gliconeogêneses) dos portadores de diabetes, conseguem compensar os níveis de glicose que foram inibidos pelo extrato da Salácia (Bacupari).

Em relação a composição de lipídios hepáticos, os resultados obtidos evidenciam diferenças expressivas entre os camundongos normais e diabéticos submetidos a diferentes tratamentos. No entanto, os tratamentos com o extrato das folhas de *S. elliptica* e Acaborse não mostraram diferenças significativas entre si, independente do estado diabético ou normal.

Quanto ao metabolismo de glicogênio, os animais diabéticos exibiram uniformidade nos níveis de glicogênio muscular e glicogênio hepático, independentemente dos tratamentos administrados, sugerindo uma resposta homogênea.

3355

Em contraste, nos animais normais, a variação marcante nas concentrações de glicogênio muscular e hepático indicam uma influência diferenciada dos tratamentos na regulação deste carboidrato. Além disso, os achados demonstram que a acarbose desempenha um papel significativo na redução da concentração de glicogênio hepático em camundongos normais.

A potencial eficácia do extrato etanólico bruto das folhas de Bacupari na regulação da glicose pós-prandial em modelos não diabéticos é um ponto de destaque, comprovando o seu efeito hipoglicemiante, estabelecendo, assim, uma base para a continuidade de investigações aprofundadas para compreender as ações desse extrato sob os mecanismos bioquímicos dos portadores de diabetes, bem como em situações de hiperglicemia e hiperlipidemia.

A relevância clínica do desenvolvimento dessas pesquisas vai além de uma simples descrição dos efeitos bioquímicos. Ao revelar informações mais detalhadas sobre o extrato do Bacupari, não apenas consolidará a compreensão científica sobre os seus efeitos

hipoglicemiantes, mas também construirá o caminho para o desenvolvimento e disponibilização de uma terapia inovadora que contribuirá para o tratamento do diabetes.

5. REFERÊNCIAS

AKASE, T., *et al.* Preventive Effects of *Salácia reticulata* on Obesity and Metabolic Disorders in TSD Mice. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v.2011, p. 1-10, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ecam/nep052>. Acesso em: 15 nov 2023

AKINDELE, A.J. *et al.* Hypoglycemic, antilipidemic and antioxidant effects of valproic acid in alloxan-induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology** . v.762, p.174-183. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.044>. Acesso em: 19 out. 2023.

AKSORNCHU, P. *et al.* Inhibitory Effect of *Antidesma bunius* Fruit Extract on Carbohydrate Digestive Enzymes Activity and Protein Glycation In Vitro. **Antioxidants**. v.10, n.32, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antiox10010032>. Acesso em: 25 out. 2023.

AKUODOR, G.C. *et al.* Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of ethanol extract of *Salácia lehmbachii* stem bark in alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**. v.30, n.2, p.239-244, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2018-0059>. Acesso em: 19 out. 2023.

ALBINO, A. M. *et al.* PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS INFLORESCÊNCIAS E FOLHAS DE *Amaranthus viridis* L. (AMARANTHACEAE). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological** , v. 2, n. 2 p.74-83, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/363/208> . Acesso em: 19 out. 2023.

3356

ALBRECHTSEN, N.J.W, *et al.* The liver- α cell axis and type 2 diabetes. **Endocr Rev**. v.40 p.1353-1366, 2019. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30920583/>. Acesso em: 15 nov. 2023

BAAMONDE, J. M. Video: **Tres dedos mejor que dos. Refinamiento de la técnica de scruffing (piel de la nuca)**. Bioterios.com – Aprendiendo de los animales de laboratório. Producido por Norecopa en colaboración con la Norwegian University of Life Sciences (Universidad Noruega de Ciencias de la Vida). 2021. Disponível em: bioterios.com/post.php?s=2021-03-09-video-tres-dedos-mejor-que-dos-refinamiento-de-la-tecnica-de-scruffing-piel-de-la-nuca. Acesso em: 19 out. 2023.

BARBI, R. C. T. **Extração e quantificação de compostos fenólicos e antioxidantes da chia (Salvia hispânica L) usando diferentes concentrações de solventes**. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2016. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/6605/3/CM_COEAL_2016_I_II.pdf. Acesso em: 19 out. 2023.

BERGMAN, R.N, IYER, M.S. Indirect Regulation of endogenous glucose production by insulin: The single gateway hypothesis revisited. **Diabetes**. v. 66 p.1742-1747, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db16-1320>. Acesso em: 15 nov. 2023

BOGDANSKE, J.J. *et al.* **Laboratory mouse procedural techniques**: manual and DVD. CRC Press, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/b17377>. Acesso em: 19 out. 2023.

BORGES, L. P.; COSTA, T. S.; DIAS JÚNIOR, W. Bacupari como planta medicinal hipoglicemiante: formas de uso e propriedades terapêuticas. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**. v. 9, n. 2, p. 580-605, 2023. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/8520/3345>. Acesso em: 25 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36). Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/estrategias_cuidado_pessoa_doenca_cronica_cab35.pdf. Acesso em: 02 fev. 2022.

BRASIL - Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2017-2018**. São Paulo: Clannad; 2017. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4925460/mod_resource/content/1/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf. Acesso em: 06 fev. 2023.

CARROL. N. V.; LONGLAY, R. W.; ROE, J. H. The determination of glycogen in liver and in liver and muscle by use of anthrone reagent. **J. Biol. Chem**. v.220, n.2, p.583-593, 1956. Disponível em: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)65284-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)65284-6/pdf) . Acesso em: 19 out. 2023.

3357

CARVALHO, C. *et al.* PERFIL GLICÊMICO DE RATOS DIABÉTICOS ALOXANO-INDUZIDOS TRATADOS COM *Momordica charantia* L. **Revista Ciência e Saúde Online**, v. 1, n. 1, 2016. Disponível em: <https://revistaeletronicafunvic.org/index.php/c14ffdi0/article/view/13/0>. Acesso em 17 de out 2023

CLISSOLD SP.; EDWARDS C. Acarbose. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential. **Drugs**. v.35, n.3, p.214-243, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.2165/00003495-198835030-00003>. Acesso em: 19 out. 2023.

CONCEA. **Resolução Normativa n. 33 de 18 de Novembro de 2016**. Capítulo “Procedimentos - Roedores e Lagomorfos mantidos em instalações de instituições de ensino ou pesquisa científica”. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 2016. Disponível em: https://antigo.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/institucional/concea/arquivos/legislacao/resolucoes_normativas/Resolucao-Normativa-CONCEA-n-33-de-18.11.2016-D.O.U.-de-21.11.2016-Secao-I-Pag.-05.pdf. Acesso em: 23 mar. 2022.

CRISPIM, A.G. **Obtenção de forma farmacêutica sólida de extrato etanólico de *Casearia sylvestris* Swartz**. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia-Bioquímica) - Universidade

Estadual de Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2012. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/1a81ad78-aod2-4269-83e7-428ec3362f90>. Acesso em: 19 out. 2023.

DADA, O.K. *et al.* Hypoglycemic and antioxidant activities of the hydroethanolic leaf extract of *Byrsocarpus coccineus* Schumach. & Thonn. (Connaraceae). **Chinese Journal of Natural Medicines** v.II, n.6, p.0628–0637, 2013. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(13\)60073-4](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(13)60073-4). Acesso em: 06 fev 2023.

DEEPAK, K.G.K. *et al.* Salácia as an ayurvedic medicine with multiple targets in diabetes and obesity. **Annals Of Phytomedicine**. v. 4, n. 1, p. 46-53, jun. 2015. Disponível em: <https://oaji.net/articles/2015/2347-1441460923.pdf> . Acesso em: 27 set. 2023

DEROSA, G., *et al.* A acarbose age sobre a resistência à insulina e parâmetros inflamatórios durante uma carga de gordura oral. **Revista Europeia de Farmacologia**. v.651, n.1, p.240-250, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.11.015>. Acesso em: 15 nov. 2023

DOLAN, P.L., *et al.* Effects of feeding acarbose on muscle glucose transport and GLUT4 protein in lean and obese diabetic (ZDFGmi-fa) rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.8, n.6, p.322-327, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(97\)84448-8](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(97)84448-8) Acesso em: 15 nov. 2023

DUARTE, L. P. *et al.* Chemical constituents of Salácia elliptica (Celastraceae). **Quim. Nova**. v.3, n.4, p.900-903, 2010. Disponível em: scielo.br/j/qn/a/HXkhWNR8Sw3CqWhttX6f4tK/?format=pdf&lang=en. Acesso em: 05 jun. 2023

3358

ERTEN, F. *et al.* Salácia chinensis exerts its antidiabetic effect by modulating glucose-regulated proteins and transcription factors in high-fat diet fed-streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. **J Food Biochem**. v.44, n.12, e13513. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13513>. Acesso em: 02 fev. 2023.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES. **Atlas de diabetes da IDF**, 10^a ed. Bruxelas, Bélgica: 2021. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/>. Acesso em: 06 fev. 2023

FEDERIUK, I. F. *et al.* Induction of type-1 *Diabetes mellitus* in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pittalls, and insulin treatment. **Comp Med.**, v.54, p.252-257, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15253270/>. Acesso em: 19 out. 2023.

FIUZA, T.S. *et al.* Efeito do extrato etanólico bruto e das frações da *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley em brânquias de *Oreochromis niloticus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, p.1-8, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/13_044. Acesso em: 01 fev. 2023

GONÇALVES-ESTEVEES, V.; MELHEM, T.S. Palinotaxonomia de espécies de brasileiras de Salácia L. (Hipocrateaceae). **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo. v.23, n.4, p.427-442. 2000. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbb/v23n4/a09v23n4.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2023.

GROCHANKE, B.S. *et al.* Compostos fenólicos da casca de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos e efeitos do extrato aquoso no perfil lipídico, glicêmico e na lipoperoxidação em ratos diabéticos. **Rev. Bras. Pl. Med., Campinas**, v.18, n.1, p.264-272, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_129 . Acesso em: 05 jun. 2023.

GUILHERMINO, J.F. **Sistema de Inovação em Fitomedicamentos: uma análise dos desafios e da complexidade da inovação a partir da biodiversidade brasileira.** Tese de (Doutorado) em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, UFRJ, Escola de Química. p.274. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/19204/2/5.pdf> Acesso em: 19 out. 2023.

GUO, Y. *et al.* Anti-hyperglycemic activity of polysaccharides from calyx of *Physalis alkekengi* var. *franchetii* Makino on alloxan-induced mice. **Rev. Biological Macromolecules**, v.99, p.249-257, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.086> Acesso em: 19 out. 2023.

HAUGAARD, N. *et al.* Metabolic effects of acarbose administration in normal and diabetic rats. **Biochemical pharmacology**, v. 33, n. 9, p. 1503-1508, 1984. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6732866/> . Acesso em: 15 nov. 2023

HESS, M.E., *et al.* Metabolic effects of acarbose in normal and diabetic rats: long-and short-term administration. **Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie**, v.283, n.1, p.163-176. Disponível em: <https://europepmc.org/article/MED/3800510> . Acesso em: 15 nov. 2023

HUANG, J., BORENSZTAJN, J, REDDY, JK. Metabolismo lipídico hepático. In: Monga, S. (eds) *Patologia Molecular de Doenças Hepáticas. Biblioteca de Patologia Molecular*, v.5, p.133-146. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-7107-4_10. Acesso em: 15 nov. 2023

JEYKODI, S. *et al.* Salácia Extract Improves Postprandial Glucose and Insulin Response: A Randomized Double-Blind, Placebo Controlled, Crossover Study in Healthy Volunteers **Journal of Diabetes Research**, v.2016, p. 1-9, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/7971831>. Acesso em: 15 nov. 2023

JIANG, S., *et al.* Diabetic-induced alterations in hepatic glucose and lipid metabolism: The role of type 1 and type 2 diabetes mellitus. **Molecular Medicine Reports**, v.22, p.603-611, 2020. Disponível: <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11175> . Acesso em: 15 nov. 2023

KADO, S., *et al.* Effect of acarbose on postprandial lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus. **Diabetes research and clinical practice**, v.41 n.1, p.49-55. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0168-8227\(98\)00062-x](https://doi.org/10.1016/s0168-8227(98)00062-x) Acesso em: 15 nov. 2023

KOBAYASHI, *et al.* Dose-Dependent Suppression of Postprandial Hyperglycemia and Improvement of Blood Glucose Parameters by *Salácia chinensis* Extract: Two Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Studies. **Journal of medicinal food**, v.24, n.1, p.10-17. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/jmf.2020.4751>. Acesso em: 15 nov. 2023

KRSSAK, M., *et al.* Alterations in postprandial hepatic glycogen metabolism in type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 53 n.12. p.3048-3056, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.12.3048> . Acesso em: 15 nov. 2023

KUMAR, S. *et al.* α -Glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. **Pharmacognosy Reviews**, v.5, n.9, p.19-30, 2011. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.79096>. Acesso em: 19 out. 2023

LEONHARDT, W., *et al.* Beneficial effects on serum lipids in noninsulin dependent diabetics by acarbose treatment. **Arzneimittel-Forschung**, n.41, v.7, p.735-738, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1772463/>. Acesso em: 15 nov. 2023.

LI, Y., HUANG, T. H., YAMAHARA, J. Salácia root, a unique Ayurvedic medicine, meets multiple targets in diabetes and obesity. **Life sciences**, v. 82 n. 21-22, p.1045-1049. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2008.03.005> . Acesso em: 06 jun. 2023

LIN, A.H.M. *et al.* Starch Source Influences Dietary Glucose Generation at the Mucosal α -Glucosidase Level. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 287, n. 44, p. 36917-36921, out. 2012. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.378331>. Acesso em: 27 set. 2023

LOMBARDI, J. Notas nomenclaturais em Salacioideae (Celastraceae). **Rodriguésia**. v.61, n.1, p.123-125, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2175-78602010061115> . Acesso em: 19 out. 2023

3360

MACHADO, U.F. *et al.* Transportadores de glicose na síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 50, n. 2, p. 177-189, abr. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302006000200004>. Acesso em: 15 nov. 2023

MAJEED, M. *et al.* Randomized, double-blind clinical trial of a herbal formulation (GlycaCare-II) for the management of type 2 diabetes in comparison with metformin. **Diabetology & metabolic syndrome**. v.13, n.1, p.132. 2021. Disponível em: <https://dmsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13098-021-00746-0>. Acesso em: 19 out. 2023

MATSUDA, H. *et al.* Antidiabetogenic constituents from several natural medicines. **Pure And Applied Chemistry**. v. 74, n. 7, p. 1301-1308, 1 jan. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1351/pac200274071301> . Acesso em: 27 set. 2023.

MATTOS, A. E. R. **Sistema Nacional de Inovação em Saúde: um estudo dos movimentos governamentais recentes na área de fitoterápicos**. 2016. 73 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/18485>. Acesso em: 02 nov. 2023

MOHAN, S.; ESKANDARI, R.; PINTO, B. M. Naturally occurring sulfonium-ion glucosidase inhibitors and their derivatives: a promising class of potential antidiabetic agents. **Accounts of Chemical Research**, v. 47, n. 1, p. 211-25, Jan 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ar400132g> Acesso em: 02 nov. 2023

MOSBY'S Drug Consult. **Acarbose**; Monograph 3262. St. Louis, MO: Elseiver Publ., 2002. Disponível

em:<https://archive.org/details/mosbysdrugconsulooounse/page/n9/mode/zup> Acesso em: 17 out. 2023.

OLIVEIRA, G.I. V. **Monitoring the induction of *Diabetes mellitus* in wistar rats with alloxan in different doses**. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2012. Disponível em: <http://bdtd.unoeste.br:8080/jspui/handle/tede/672>. Acesso em: 02 nov. 2023

RODACKI, Melanie *et al.* Classificação do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, [S.L.], v.2022 p. 1-28, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.29327/557753.2022-1>. Acesso em: 15 nov. 2023.

ROSA, R.L.; BARCELOS, A.LV., BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com *Diabetes mellitus* na cidade de Herval D' Oeste – SC. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.2, p. 306-310, 2012. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-650671>. Acesso em: 02 fev. 2023

RUI, L. Energy Metabolism in Liver. **Compr Physiol.**, v. 4, n.1, p. 177-197, 2014. Disponível: <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024> . Acesso em: 15 nov. 2023

SANTOS, M.; NUNES, M.G.S.; MARTINS, R.D. Uso empírico de plantas medicinais para tratamento de diabetes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Botucatu**, v.14, n.2, p. 327-334, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000200012> . Acesso em: 07 fev. 2023.

3361

SHIVAPRASAD, H.N. *et al.*; *Salácia reticulata* improves serum lipid profiles and glycemic control in patients with prediabetes and mild to moderate hyperlipidemia: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. **Journal of medicinal food**, v.16, n.6, p. 564-568, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23767865/>. Acesso em: 02 nov. 2023

SILVA, G. A. **Constituintes químicos do caule e raiz de *Salácia elliptica* (Mart.) Peyr.** Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 44p. 2009. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/1060/1/dissertacao%20gilmar%20quimica.pdf> Acesso em: 19 out. 2023.

SILVA, L.O. **Formulações nanotecnológicas delineadas com extratos vegetais e suas aplicações terapêuticas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/47812> . Acesso em: 19 out. 2023.

SILVA, R. M. F. *et al.* Abordagem sobre os diferentes processos de secagem empregados na obtenção de extratos secos de plantas medicinais. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v. 14, n. 1, p. 103-09, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000100015>. Acesso em: 19 out. 2023.

SILVA, V.D. **Indução experimental do Diabetes mellitus em ratos Wistar submetidos à injeção intraperitoneal de aloxana em diferentes doses.** Dissertação Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista Presidente. Presidente Prudente, São Paulo. 2011. Disponível em:

http://bdtd.unoeste.br:8080/tede/bitstream/tede/648/1/Dissertao_Final%5b1%5d.pdf

Acesso em: 19 out. 2023

SINGH, A. K. *et al.* Isolated mangiferin and naringenin exert antidiabetic effect via PPAR γ / GLUT4 dual agonistic action with strong metabolic regulation. **Chemico-Biological Interactions.** v.280, p.33-44, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.12.007> Acesso em: 19 out. 2023

STOHS, J.S.; RAY, S. Anti-diabetic and Anti-hyperlipidemic Effects and Safety of *Salácia reticulata* and Related Species. **Phytother. Res.** v.29, n.7, p. 986-995, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.5382>. Acesso em: 05 fev. 2023.

SUGANDH, F. *et al.* Advances in the Management of Diabetes Mellitus: a focus on personalized medicine. **Cureus**, [S.L.], v. 8, n. 15, e43697, 18 ago. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.7759/cureus.43697>. Acesso em: 17 out. 2023.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the Rat pancreas. **Physiol Res**, v.50 p.536-546, 2001. Disponível em: http://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/50/50_537.pdf. Acesso em: 15 nov. 2023.

TRINH, P. T. N. *et al.* Alfa glucosidase inhibitory, anti-inflammatory activities and a new furanocoumarin derivative of *Ruellia tuberosa*. **Natural Product Research**, v.35, n.22, p.4248-4255, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1696790> Acesso em: 19 out. 2023

3362

VENKATESWARLU, V. *et al.* Activity of Roots of *Salácia macrosperma*. **Planta Med.** v.59, n.5, p.391-393, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-2006-959715> . Acesso em: 19 out. 2023

VYAS, N., MEHRA, R., & MAKHIJA, R. *Salácia* – The new multi-targeted approach in diabetics. **Ayu**, v.37, p. 92 - 97. Disponível em: https://doi.org/10.4103/ayu.ayu_134_13 Acesso em: 15 nov. 2015

WALTER, M. *et al.* Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.4, n. 35, p. 974-980, ago. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000400041> Acesso em: 27 set. 2023

WILLIAMS, J. A. *et al.* Extract of *Salácia oblonga* lowers acute glycemia in patients with type 2 diabetes. **The American journal of clinical nutrition**, v.86, n.1, p.124-130, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.1.124> . Acesso em 02 nov. 2023

YOSHIKAWA, M., *et al.* *Salácia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats. **The Journal of**

nutrition, v.7, n.132 p.1819–1824, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/132.7.1819> .
Acesso em: 15 nov. 2023

ZANATTO, D. A. *et al.* Boas Práticas em Experimentação Animal: **Procedimentos em Ratos de Laboratório**. 2019. Disponível em: <https://sites.usp.br/bpeanimal/> . Acesso em: 19 out. 2023

ZAREIE, P. *et al.* Sodium valproate ameliorates memory impairment and reduces the elevated levels of apoptotic caspases in the hippocampus of diabetic mice. **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**. v.391, p.1085–1092, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00210-018-1531-3> . Acesso em: 19 out. 2023