

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ev

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAÇÃO DA TOXIDADE E EFEITOS ANTIADIBÉTICOS DE UM EXTRATO
AQUOSO DAS SEMENTES TORRADAS DE AÇAÍ (*Euterpe sp.*)**

WILIBRAN CANDIDO DE BARROS

MANAUS – AM

2025

WILIBRAN CANDIDO DE BARROS

**AVALIAÇÃO DA TOXIDADE E EFEITOS ANTIDIABÉTICOS DE UM EXTRATO
AQUOSO DAS SEMENTES TORRADAS DE AÇAÍ (*Euterpe sp.*)**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal do
Amazonas como requisito para obtenção do
título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: PROF. DR. EMERSON SILVA LIMA

MANAUS – AM

2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

-
- B277a Barros, Wilibran Candido de
Avaliação da toxicidade e efeitos antidiabéticos de um extrato aquoso das sementes torradas de açaí (*Euterpe* sp.) / Wilibran Candido de Barros. - 2025.
109 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Emerson Silva Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Manaus, 2025.
1. Açaí. 2. Sementes Torradas. 3. Extrato Aquoso. 4. Toxicidade. 5. Diabetes. I. Lima, Emerson Silva. II. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. III. Título
-

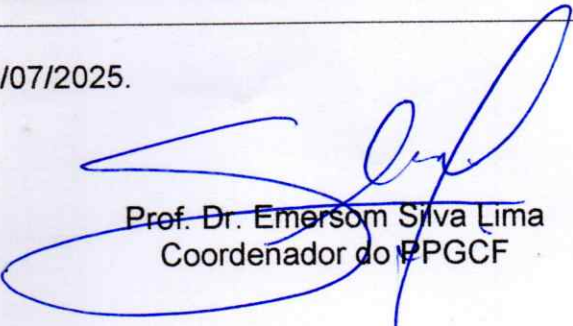
**“AVALIAÇÃO DA TOXIDADE E EFEITOS ANTIDIABÉTICOS DE UM
EXTRATO AQUOSO DAS SEMENTES TORRADAS DE AÇAÍ (EUTERPE
SP.)”**

DISCENTE: WILIBRAN CANDIDO DE BARROS

PARECER:

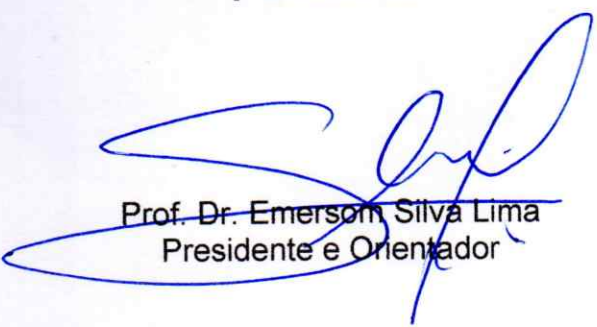
Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas em sua forma final e definitiva pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, AM, 30/07/2025.

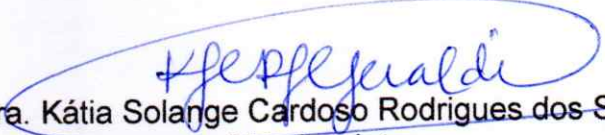


Prof. Dr. Emerson Silva Lima
Coordenador do PPGCF

**A mesma foi apresentada perante a banca composta pelos seguintes
professores:**



Prof. Dr. Emerson Silva Lima
Presidente e Orientador



Profa. Dra. Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos Geraldi
Membro Interno



Profa. Dra. Rosany Piccolotto Carvalho
Membro Externo

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ser a fonte da minha vida.

A minha mãe (*in memoriam*) que permanecerá comigo enquanto em mim houver vida, pois a ela devo toda gratidão, principalmente pelos conselhos e exemplos que me orientaram na caminhada e por seu amor incondicional.

A minha esposa que apesar de toda sua dificuldade física, é minha inspiração na vida, pois para ela nada é intransponível, nada é impossível. A meus filhos que me fazem manter a vida centrada na dádiva de ser pai.

Ao Prof. Dr. Emerson Silva Lima (orientador) por me permitir adentrar no âmbito da pesquisa.

A todos os professores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas que participaram direta ou indiretamente desse trabalho.

Aos colegas do BIOPHAR, Ângela Comapa, Barbara Janaína, em especial a Leonard Domingo Rosalez Acho pela sua disponibilidade e sensibilidade em nos ajudar na realização desse trabalho.

Ao veterinário Prof. Dr. Marcus Vinicius Alves da Silva do Biotério Central da UFAM.

A equipe do Laboratório de Histologia Funcional, em especial ao Prof., Dr. Fernando Marques Barcellos.

Mais valem as mãos que fazem do que as bocas que oram.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

O Diabetes Mellitus é uma síndrome metabólica que impacta diretamente a rotina dos doentes por ela acometidos. O uso do “café de açaí” pela população ribeirinha no tratamento do diabetes foi o que despertou o interesse em desenvolver a pesquisa do efeito antidiabético da semente de açaí. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade e os efeitos antidiabéticos de um extrato das sementes torradas de açaí (ESA) em modelo experimental murino. As sementes foram obtidas no município do Careiro-AM, passando pelos processos de higienização, secagem, torragem e moagem, sendo realizado a granulometria e considerado um pó fino, apresentando um tamanho de partícula de $462,5\mu\text{m}$, um teor de umidade de 8.40% e um resíduo seco de 0,1179g%. O ESA foi obtido a partir de uma infusão adicionada de dióxido de silício coloidal em spray dryer, apresentando um rendimento de 0,4% após a secagem. O percentual de proteína, fibras e cinzas foi de, $4,32 \pm 0,04$; $5,25 \pm 0,05$ e $5,2 \pm 0,79$ %, respectivamente. O ESA pulverizado foi caracterizado quimicamente e apresentou um teor de fenóis e flavonoides de $6,21 \pm 0,29$ e $5,15 \pm 3,9$ % respectivamente. Foi quantificado por HPLC a epicatequina numa concentração de 3,5%. Na avaliação das atividades biológicas in vitro o ESA apresentou atividade sequestrantes dos radicais DPPH e ABTS de forma dependente da concentração, contudo, não apresentou capacidade de inibir a glicação pelas vias oxidativa e não – oxidativa. O ESA também não foi capaz de inibir significativamente as enzimas α -glicosidase, lipase e α -amilase. O ESA não interferiu na viabilidade de fibroblastos humanos mesmo em concentrações mais altas. O ESA não apresentou toxicidade quando administrado oralmente em dose única de 2000mg/kg em modelo ZebraFish. Também não apresentou alterações como hemorragia, lise ou coagulação na membrana cório-alantóide do ovo de galinha. Não causou nenhum óbito quando administrado por gavagem na dose de 2000mg/kg em camundongos. No ensaio hipoglicemiante camundongos diabéticos foram tratados oralmente com o ESA por 28 dias em duas doses diferentes 200 e 400 mg/kg de peso. Ao final do experimento ambas as doses foram capazes de reduzir a glicemia quando comparado ao grupo não tratado. O estudo pela primeira vez explora os aspectos toxicológicos do extrato da semente torrada de açaí, demonstrando que o mesmo parece ser seguro para uso humano. O trabalho também demonstrou efeito hipoglicemiante do extrato aquoso das sementes torradas de açaí, corroborando com o uso popular do “café de açaí”. Os resultados aqui apresentados podem servir como base para futuros estudos explorando a toxicidade e a eficácia de alimentos baseados na semente torrada de açaí.

Palavra chaves: Açaí, sementes torradas, extrato aquoso; toxicidade; diabetes

ABSTRACT

Diabetes Mellitus is a metabolic syndrome that directly impacts on the daily lives of those affected. The use of "açai coffee" by riverside communities to treat diabetes sparked interest in research into the antidiabetic effects of açai seeds. This study aimed to evaluate the toxicity and antidiabetic effects of an extract of roasted açai seeds (ESA) in an experimental murine model. The seeds were obtained in the municipality of Careiro, Amazonas, and underwent cleaning, drying, roasting, and grinding. The powder was then granulometrically determined and determined to be a fine powder with a particle size of 462.5 μ m, a moisture content of 8.40%, and a dry residue of 0.1179g. The ESA was obtained from an infusion of colloidal silicon dioxide in a spray dryer, yielding 0.4% after drying. The percentages of protein, fiber, and ash were 4.32 $\pm$ 0.04, 5.25 $\pm$ 0.05, and 5.2 $\pm$ 0.79%, respectively. The pulverized ESA was chemically characterized and showed a phenol and flavonoid content of 6.21 $\pm$ 0.29 and 5.15 $\pm$ 3.9%, respectively. Epicatechin was quantified by HPLC at a concentration of 3.5%. In the evaluation of in vitro biological activities, ESA showed DPPH and ABTS radical scavenging activity in a concentration-dependent manner; however, it did not show the ability to inhibit glycation by the oxidative and non-oxidative pathways. ESA was also unable to significantly inhibit the enzymes α -glucosidase, lipase, and α -amylase. ESA did not interfere with the viability of human fibroblasts even at higher concentrations. ESA was not toxic when administered orally at a single dose of 2000 mg/kg in a zebrafish model. It also did not cause changes such as hemorrhage, lysis, or coagulation in the chorioallantoic membrane of hen eggs. It did not cause any deaths when administered by gavage at a dose of 2000 mg/kg in mice. In the hypoglycemic assay, diabetic mice were treated orally with ESA for 28 days at two different doses: 200 and 400 mg/kg. At the end of the experiment, both doses were able to reduce blood glucose levels compared to the untreated group. This study explores the toxicological aspects of roasted açai seed extract for the first time, demonstrating that it appears to be safe for human use. The study also demonstrated the hypoglycemic effect of the aqueous extract of roasted açai seeds, corroborating the popular use of "açai coffee." The results presented here may serve as a basis for future studies exploring the toxicity and efficacy of foods based on roasted açai seeds.

Keywords: Acai, roasted seeds, aqueous extract; toxicity; diabetes

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ABS – Absorbância

ABTS – 2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid

ADA – Associação Americana de Diabetes

ALT – Alanina Aminotransferase

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BSA – Albumina de Soro Bovino

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CN – Controle Negativo

CP – Controle Positivo

DAD – Detector de Arranjo de Diodos

DM – Diabetes Mellitus

DM1 – Diabetes Mellitus tipo 1

DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2

DMG – Diabetes Mellitus Gestacional

DMSO – Dimetilsulfóxido

DPPH – 2,2-Difenil-1-picrilhidrazila

ERO's – Espécies Reativas de Oxigênio

ESA – Extrato da Semente de Açaí

ESI – Extrato da Semente com Inulina ~

ESIA – Extrato da Semente de Açaí com Inulina e Aerosil

GLP-1 – Peptídeo Semelhante ao Glucagon-1

GP – Grupo Padrão

GT – Grupo Tratado

H₃PO₄ – Ácido Fosfórico

HbA1c – Hemoglobina Glicada

HCl – Ácido Clorídrico

IFD – Federação Internacional de Diabetes

IMC – Índice de Massa Corporal

ISE – International Society for Ethnopharmacology

MeOH – Metanol

MGO – Metilglioxal

MilliQ – Água ultrapura (Sistema Milli-Q®)

NPGP – 4-nitrofenil-D-glucopiranosídeo

PNP – p-Nitrofenila

SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes

SGLT2 – Inibidores do Co-transportador Sódio-Glicose tipo 2

SISGEN – Sistema Nacional do Patrimônio Genético

SUR – Receptores de Sulfoniluréia

SUS – Sistema Único de Saúde

ZDMS – Zebrafish Disease Models Society

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Epidemiologia do diabetes ao redor do mundo no ano de 2021 e percentual estimado de aumento até 2045: América do Norte e Caribe (24%), América do Sul e Central (50%), Europa (13%), Pacífico Ocidental (27%), Oriente Médio e Norte da África (87%), Sudeste Asiático (68%) e África (134%).

Figura 2 – Imagem dos cachos de *Euterpe* sp. começando a produzir no terceiro ano após o plantio, produzindo praticamente durante o ano todo, tendo o seu auge de produção nos meses de julho a outubro.

Figura 3 – Fitogeografia do açaí e suas aplicações na medicina, na produção de cosméticos, na alimentação, na produção de energia e embalagens.

Figura 4 – *Euterpe* sp. no momento da coleta no município do Careiro – AM, situado às margens da BR-319 a 107 km de Manaus – AM.

Figura 5 – Principais constituintes químicos presentes nas sementes e na polpa de *Euterpe* sp. que apresentam atividades biológicas.

Figura 6 – Componentes químicos presentes nas sementes e na polpa de *Euterpe* sp. que apresentam atividades biológicas.

Figura 7 – Delineamento experimental: obtenção da matéria-prima vegetal, obtenção do extrato bruto, obtenção do extrato pulverizado, ensaios *in vitro* (caracterização físico-química, química e citotoxicidade), ensaios *in vivo* (toxicidade em modelo zebrafish, HET-CAM, toxicidade aguda e teste hipoglicemiante crônico).

Figura 8 – Esquema do procedimento do teste HET-CAM.

Figura 9 – Distribuição granulométrica das sementes torradas de *Euterpe* sp., visando a caracterização da matéria-prima vegetal e sua influência na digestibilidade dos nutrientes.

Figura 10 – Curva de retenção e passagem da matéria-prima vegetal, demonstrando o impacto da superfície de contato entre o extrator e a droga vegetal na eficiência do processo.

Figura 11 – Cromatograma do extrato das sementes de açaí torradas e pulverizadas realizado em HPLC-DAD com identificação e quantificação de compostos fenólicos.

Figura 12 – Cromatograma da substância de referência epicatequina (padrão), com quantificação por padrão externo em triplicata.

Figura 13 – Curva de calibração do padrão da epicatequina realizada em coluna Synergi Hidro C18 com comprimento de onda de 254 nm.

Figura 14 – Espectros completos do extrato pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp. obtidos por espectrometria de massas.

Figura 15 – Espectros fragmentados do extrato pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp. analisado por espectrometria de massas do tipo ion trap com fonte APCI.

Figura 16 – Espectros isolados das sementes torradas de *Euterpe* sp. analisados por espectrometria de massas com fonte APCI.

Figura 17 – Efeito antioxidante do extrato seco da semente do açaí nas concentrações de 7,8 a 500 µg/mL pelo método DPPH.

Figura 18 – Efeito antioxidante do extrato seco da semente do açaí nas concentrações de 7,8 a 500 µg/mL, com análise estatística por ANOVA Two-way com pós-hoc de Tukey.

Figura 19 – Viabilidade celular do extrato da semente de açaí (ESA) em linhagem HEPG2, avaliada por 24 a 72 horas com método Alamar Blue.

Figura 20 – Viabilidade celular do extrato da semente de açaí (ESA) em linhagem MRC-5, avaliada por 24 a 72 horas com método Alamar Blue.

Figura 21 – Alterações histológicas no intestino, fígado e rins de *Danio rerio* zebrafish. A e B - intestino de zebrafish, onde observa-se a transição da camada mucosa para a submucosa (CM), vilosidades (V), células caliciformes (CC) e hipertrofia das células epiteliais (HtCE); C e D - fígado de zebrafish, onde observam-se hepatócitos (H) normais; E e F - rins de zebrafish, com túbulos (Tb) e tecido linfóide (TL) visíveis. Aumento em 40X, coloração em Hematoxilina e Eosina.

Figura 22 – Imagem da membrana còrio-alantóide (CAM) demonstrando os efeitos dos controles e do extrato seco pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp.

Figura 23 – Efeito do extrato seco da semente de açaí na glicemia de camundongos diabéticos tratados em um período de 28 dias, onde houve a indução do diabetes através da administração oral de uma bebida hipercalórica, seguida da administração intraperitoneal de Nicotinamida e Estreptozotocina por três dias consecutivos. Os camundongos com glicemia superior a 200mg/dl foram considerados diabéticos e separados em grupos: Grupo normoglicêmico (NG), Controle (CTL), MET (200mg/kg), ESA (200mg/kg) e ESA (400mg/kg). O grupo NG fora tratado com 200µl de soro fisiológico 0,9%. Os valores foram expressos em média ± SEM para (n = 5). ANOVA Two-way com teste Dunn aplicado.

Figura 24 – Comparação das glicemias do 28º dia de tratamento com grupo controle não tratado CTL, onde os camundongos com glicemia superior a 200mg/dl foram considerados diabéticos e separados em grupos: Grupo normoglicêmico (NG), Controle (CTL), MET (200mg/kg), ESA (200mg/kg) e ESA (400mg/kg). O grupo NG foi tratado com 200µl de soro fisiológico 0,9%.

Figura 25 – Alterações histológicas no rim de camundongo c57bl6 após o tratamento de 28 dias com o extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí. A – Parênquima renal cortical normal. B - Atrofia glomerular (0* a *), nota-se um glomérulo adjacente de diâmetro normal. C – Dilatação e congestão vascular (*), observa-se o acúmulo de hemácias no vaso sanguíneo. D – Vacuolização nuclear evidente (0*). E – Necrose focal pequena (0*), onde ficam evidenciadas degeneração citoplasmática e nuclear e F – Necrose do parênquima renal (região cortical) com degeneração citoplasmática acentuada (***).

Figura 26 – Alterações histológicas no fígado de camundongo c57bl6 após o tratamento de 28 dias com o extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí. A – Parênquima hepático normal. B – Infiltração leucocitária (0*). C – Hipertrofia nuclear e celular, resultantes do aumento da atividade metabólica celular. D – Dilatação dos sinusóides. E – Parênquima hepático com ocorrência de núcleos na periferia da célula e deformação no contorno celular. F – Necrose focal evidenciada pela presença de degeneração citoplasmática e núcleos picnóticos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais medicamentos regulamentados para o manejo do diabetes, distribuídos pelo SUS e recomendados pela Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023).

Tabela 2 – Tipos de insulinas utilizadas no Brasil, com respectivos inícios de ação, pico de ação e duração.

Tabela 3 – Parâmetros de secagem no *spray dryer* durante o processo de pulverização das sementes torradas de *Euterpe* sp., para os testes *in vivo* e *in vitro*.

Tabela 4 – Concentração dos solventes A e B empregados no HPLC em relação ao tempo, utilizando coluna Synergi Hidro C18 e gradiente de fase móvel.

Tabela 5 – Classificação das alterações comportamentais segundo estágios observados em intervalos de tempo, conforme recomendação da OECD 425.

Tabela 6 – Esquema de pontuação para testes de irritação com base no tempo de aparecimento das alterações: hemorragia, lise e coagulação.

Tabela 7 – Graduação das alterações observadas na membrana corio-alantóide após exposição ao extrato pulverizado das sementes torradas de açaí.

Tabela 8 – Classificação final do extrato pulverizado quanto ao seu potencial de irritabilidade na membrana corio-alantóide do ovo embrionado.

Tabela 9 – Análises realizadas na matéria-prima vegetal e sua classificação segundo a Farmacopeia Brasileira (2019).

Tabela 10 – Determinação do resíduo seco nas sementes torradas de *Euterpe* sp., após perda por dessecação.

Tabela 11 – Percentual de rendimento do extrato seco das sementes de açaí adicionado de dióxido de silício coloidal após pulverização em *spray dryer*.

Tabela 12 – Determinação do teor de cinzas no extrato pulverizado das sementes torradas de açaí, realizada em triplicata.

Tabela 13 – Determinação do teor de proteínas, fibras e cinzas nas sementes torradas de *Euterpe* sp.

Tabela 14 – Quantificação de fenóis totais e flavonoides no extrato aquoso das sementes de *Euterpe precatoria*.

Tabela 15 – Avaliação da atividade antiglicante do extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí sobre as vias oxidativa e não oxidativa.

Tabela 16 – Atividade inibitória das enzimas digestivas α -glicosidase, lipase e α -amilase pelo extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí.

Tabela 17 – Média do Índice de Alteração Histopatológica em intestino, fígado e rins de zebrafish tratados com 2000 mg/kg do extrato pulverizado e controle.

Tabela 18 – Resultados das análises bioquímicas dos grupos normoglicêmico (NG), diabético não tratado (DNT), metformina (200 mg/kg), ESA 200 mg/kg e ESA 400 mg/kg, após 28 dias de tratamento.

Tabela 19 – Frequência de ocorrência de alterações nos cortes histológicos renais e hepáticos dos camundongos C57BL/6 após eutanásia.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1. Diabete mellitus	20
2.2. Classificação do diabetes	21
2.3. Epidemiologia.....	22
2.4. Fisiopatologia do diabetes	24
2.5. Tratamento	24
2.6. Açaí: considerações gerais.....	26
2.7. Toxicidade do açaí.....	33
2.8. Atividades biológicas do açaí	33
3. OBJETIVOS.....	35
3.1. Objetivo geral.....	35
3.2. Objetivos específicos.....	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. Delineamento experimental.....	36
4.2. Obtenção da matéria prima vegetal.....	37
4.3. Obtenção do extrato aquoso.....	37
4.4. Obtenção do extrato seco	37
4.5. Caracterização Físico-Química da Matéria Prima Vegetal	38
4.5.1. Granulometria.....	38
4.5.2. Umidade	38
4.5.3. Determinação do resíduo seco.....	38
4.6. Determinação de Proteínas no Extrato Seco Pulverizado	39
4.7. Determinação de Fibras no Extrato Seco Pulverizado.....	39
4.8. Determinação do Teor de Cinzas no Extrato Seco Pulverizado.....	40
4.9. Caracterização Química do Extrato Seco Pulverizado	40
4.9.1. Teor de fenólicos totais.....	40
4.9.2. Teor de flavonoides totais	40
4.9.3. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC	41
4.9.4. Análise por espectrometria de massas – MS/MS.....	42
4.10. Atividades Biológicas <i>in Vitro</i>	42
4.10.1. Atividade sequestrante do radical DPPH	42
4.10.2. Atividade sequestrante do radical ABTS	43
4.10.3. Atividade antiglicante	43

4.10.4.	Atividade Inibidora α -Glicosidase	44
4.10.5.	Atividade inibidora de lipase	44
4.10.6.	Atividade inibidora da α -Amilase.....	45
4.10.7.	Citotoxicidade	45
4.11.	Atividades Biológicas <i>in Vivo</i>	46
4.11.1.	Toxicidade aguda em modelo ZebraFish	46
4.11.1.3.	Avaliação das alterações histológicas	47
4.12.	HET CAM	49
4.13.	Toxicidade Aguda.....	51
4.14.	Teste Hipoglicemiante	51
4.15.	Análises Bioquímicas	52
4.16.	Análises Histopatológicas	52
4.17.	Aspectos Éticos e Legais	53
4.17.1.	CEUA.....	53
4.17.2.	SISGEN.....	53
4.18.	Análise dos Dados	53
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1.	Caracterização Físico-Química da Matéria Prima Vegetal	54
5.1.1.	Perda por dessecação e granulometria.....	54
5.1.2.	Granulometria	55
5.1.3.	Determinação do resíduo seco	57
5.1.4.	Rendimento do extrato pulverizado em <i>Spray Dryer</i>	58
5.1.5.	Determinação de Proteínas no Extrato Pulverizado	58
5.2.	Determinação do Teor de Fibras no Extrato Pulverizado.....	59
5.3.	Determinação do Teor de Cinzas Totais no Extrato Pulverizado	59
5.4.	Caracterização Química do Extrato Seco	61
5.4.1.	Determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais.....	61
5.4.2.	Fenólicos.....	61
5.4.3.	Flavonoides	62
5.4.4.	Análise por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC	62
5.4.5.	Análise por espectrometria de massa MS/MS.....	65
5.5.	Atividades Biológicas <i>in Vitro</i>	69
5.5.1.	Atividade sequestrante do radical DPPH.....	69
5.5.2.	Atividade sequestrante do radical ABTS ⁺	70
5.5.3.	Atividade antiglicante da via oxidativa e não oxidativa	72
5.5.4.	Atividade Inibidora das Enzimas, α -glicosidase, lipase e α -amilase	73

5.5.5. Citotoxicidade	74
5.7. Atividades Biológicas <i>in Vivo</i>	77
5.7.1. Toxidade aguda em modelo Zebrafish	77
5.6.2. HET CAM.....	79
5.6.3. Toxicidade aguda	82
5.6.4. Teste hipoglicemiante	82
5.7. Análises bioquímicas	86
5.8. Análises histopatológicas	87
5.8.1. Macroscopia	87
5.8.2. Microscopia.....	87
6. CONCLUSÃO	92
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
Anexos:	106

1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia crônica, decorrente de defeitos na secreção e/ou na ação da insulina (BEM et al., 2018). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2021), cerca de 537 milhões de adultos na faixa etária de 20 e 79 anos apresentavam diabetes, sendo que aproximadamente metade desses indivíduos não possuíam diagnóstico. O DM é classificado em diabetes mellitus tipo 1 (DM1), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), diabetes mellitus gestacional (DMG) e diabetes autoimune latente do adulto (LADA). Dentre esses, o DM2 é o mais prevalente, correspondendo a aproximadamente 90 a 95% dos casos (OMS, 2021).

Fatores como sedentarismo, maus hábitos alimentares e desinformação contribuem significativamente para o agravamento da doença. A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2019) estima que cerca de 10 milhões de brasileiros sejam acometidos pelo DM, com aproximadamente 500 novos diagnósticos diários. Segundo De Boer et al. (2011), o DM pode causar complicações em diversos sistemas do organismo, principalmente por meio da formação de produtos de glicação avançada (AGEs), além da atuação das espécies reativas de oxigênio (ERO's) (VALMADRI et al., 2000). Tais complicações incluem alterações microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia diabética) e macrovasculares (doença cardiovascular, cerebrovascular e arterial periférica) (ROBERTSON, 2004; HUDSON et al., 2008).

Compostos bioativos de origem vegetal apresentam potencial antioxidante e oferecem diversos benefícios à saúde (BERTUCI et al., 2021). A polpa do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) possui atividades anti-inflamatória, antioxidante, cardioprotetora (BARBOSA et al., 2020) e cito protetora (MAGALHÃES et al., 2021). Estudos apontam efeitos positivos do açaí na cognição e no humor (YILDIRIM et al., 2020), além de efeito antidepressivo demonstrado *in vivo* (SOUZA-MONTEIRO et al., 2019). Segundo Trindade et al. (2019), o extrato da semente do açaí pode reduzir danos hepáticos e melhorar o metabolismo da glicose.

Estudos clínicos demonstraram que a polpa do açaí melhora a resposta vascular sistêmica e induz efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, inclusive em nível cerebral (CARVALHO et al., 2022). D'Amico et al. (2022) observaram que a suplementação com açaí reduziu déficits motores e sintomas de ansiedade e depressão. Além disso, estudos demonstraram efeitos antitumorais do extrato da semente de açaí em linhagens celulares de câncer de próstata (FILHO et al., 2023) e atividade Antiplasmodial contra cepas de *Plasmodium falciparum* (FERREIRA et al., 2019).

Borges et al. (2019) relataram que o extrato de açaí foi capaz de reduzir a biomassa fúngica em superfícies de materiais médico-hospitalares. Segundo De Oliveira et al. (2023), a dieta enriquecida com açaí preveniu o comprometimento eletro neurofisiológico associado à retinopatia diabética.

O uso da semente do açaí como substituto do café teve origem no estado do Pará, em regiões ribeirinhas com dificuldades de acesso ao café tradicional. Nessas comunidades, passou-se a aproveitar as sementes descartadas da polpa do açaí para torrar e moer, obtendo-se um produto com aroma similar ao café, conhecido como “café de açaí”. Esse produto passa pelos mesmos processos de obtenção do café convencional: higienização, secagem, torrefação e moagem. Seus principais fitoquímicos incluem antocianinas, proantocianidinas e flavonoides, com destaque para as antocianinas, principais responsáveis pela atividade antioxidante (VELASQUE; LOBO, 2017).

Embora haja diversos estudos com a polpa do açaí, são escassas as investigações sobre o potencial antidiabético das sementes. Segundo Menezes Neto (2004), entre os constituintes do caroço do açaí encontram-se substâncias como inulina, polifenóis e taninos. Considerando a necessidade de estudos que confirmem tais propriedades, este trabalho visa avaliar a toxicidade e o possível efeito antidiabético das sementes torradas de açaí, por meio da obtenção e caracterização de um extrato seco, com posterior avaliação *in vitro* e *in vivo*.

Então, a partir do uso empírico das sementes torradas de açaí pelas populações ribeirinhas da Amazônia no tratamento de diversas doenças entre elas o DM, despertou o interesse em comprovar cientificamente o efeito antidiabético das sementes de açaí. Assim, o presente estudo contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso de subprodutos vegetais amazônicos como alternativa terapêutica no manejo do diabetes mellitus tipo 2, ressaltando o potencial funcional das sementes de açaí.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Diabetes mellitus

Segundo a Federação Internacional de Diabetes (IDF, 2021), o diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica caracterizada por um estado de hiperglicemia persistente, resultante principalmente de defeitos na ação da insulina, o que define a resistência insulínica ou da ausência da produção desse hormônio pelo pâncreas. A hiperglicemia, quando mantida por longos períodos, pode causar danos a diversos sistemas do organismo, incluindo o sistema ocular, renal, cardíaco, nervoso e vascular, comprometendo a rotina tanto dos pacientes quanto de seus familiares (SBD, 2019; ELSAYED et al., 2023).

O DM está entre as doenças crônicas não transmissíveis de alta prevalência, figurando como a quarta causa de morte no mundo. Por comprometer vários sistemas do organismo, exerce elevada sobrecarga ao Sistema Único de Saúde (SUS), podendo, em futuro próximo, comprometer não só o SUS, mas também outros sistemas de saúde, devido à elevada taxa de hospitalizações decorrentes do DM (DIAS; ANDRADE, 2023).

Estudos clínicos recentes identificam como principais fatores de risco para o desenvolvimento do DM a obesidade, o sedentarismo e o envelhecimento (MOTA et al., 2023). Entre esses, destaca-se a obesidade, considerada uma das principais responsáveis pelas complicações macro e microvasculares que levam a quadros graves no organismo humano (CAMARGOS et al., 2021).

Projeções da IDF, (2021) indicam que as metas globais estabelecidas para conter o avanço do diabetes até 2025 — como a redução dos fatores de risco, o acesso ao tratamento e a melhoria da infraestrutura dos sistemas de saúde — têm perspectiva de alcance inferior a 1% para mulheres e ainda menor para homens. Os determinantes sociais da saúde são apontados como principais obstáculos para o cumprimento dessas metas, sobretudo em países de baixa e média renda, que enfrentam subfinanciamento crônico dessas áreas. Nesses países, desafios socioeconômicos, como má nutrição, pobreza e falta de atividade física, dificultam ainda mais o alcance das metas estabelecidas (ONG et al., 2023).

2.2. Classificação do diabetes

Segundo a Federação Internacional de Diabetes (IDF, 2022), a classificação do diabetes baseia-se em sua etiopatogenia e inclui: diabetes mellitus tipo 1 (DM1), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), diabetes mellitus gestacional (DMG) e “outros tipos”, como o diabetes MODY (*Mature-Onset Diabetes of the Young*), de natureza genética, e o diabetes mitocondrial, resultante de alterações no genoma mitocondrial, ambos considerados formas monogênicas da doença.

Classificações adicionais segmentam o DM em subtipos a partir de características clínicas como função residual de células β , presença de autoanticorpos, histórico familiar, índices de resistência insulínica e risco de complicações (AHLQVIST et al., 2018; OMS, 2019).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2022), o DM1 ocorre predominantemente em crianças e adolescentes, está associado a autoimunidade e caracteriza-se pela falência pancreática na produção de insulina; manifesta-se rapidamente, podendo evoluir para cetose ou cetoacidose, exigindo terapia insulínica desde o diagnóstico. A precocidade do aparecimento implica risco de danos agudos e crônicos (LEITÃO FILHO et al., 2023). O DM1 eleva a glicemia em virtude da destruição autoimune das células β , tornando o indivíduo dependente de insulina exógena e dificultando o controle metabólico (GONZÁLEZ-MORALES et al., 2020). A gestão glicêmica é sensível à rotina diária — dieta, exercício, adesão terapêutica, atividade laboral, estresse emocional e vida social (RAMALHO et al., 2022).

Pacientes com DM2 podem ser agrupados em cinco categorias, com base na idade em que foi realizado o diagnóstico, índice de massa corporal (IMC), resistência insulínica, função de células β , níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) e presença de autoanticorpos anti-glutamato-descarboxilase. Esses grupos são: (1) diabetes autoimune grave, (2) diabetes grave com deficiência de insulina, (3) diabetes grave resistente à insulina, (4) diabetes leve relacionado à obesidade e (5) diabetes leve relacionado à idade (DEMIR et al., 2021).

O DM2, forma mais prevalente, está fortemente relacionado a obesidade, envelhecimento, hipertrigliceridemia, sedentarismo e hábitos de vida inadequados; resulta de resistência insulínica, falhas de captação de glicose e redução de incretinas (RODACKI et al., 2021). Embora típico da idade adulta, a epidemia de obesidade favorece sua ocorrência em crianças e adolescentes. Manifesta-se, comumente, por poliúria, polidipsia,

polifagia e perda de peso sem causa aparente (RODAKI et al., 2021). A hiperglicemia decorre de estado catabólico com glicogenólise exacerbada, resistência e secreção insulínica deficitária (AZEVEDO et al., 2022). O DM2 representa cerca de 90 % dos casos de diabetes diagnosticados globalmente e está associado a retinopatia, doença vascular periférica, cardiopatias e neuropatia (ANTUNES et al., 2021).

O DMG, é diagnosticado no segundo ou terceiro trimestre de gestação, não se enquadra em DM1 ou DM2; apresenta prevalência entre 6 % e 21 % mundialmente. Fatores de risco incluem sobrepeso, obesidade, macrosomia prévia, idade materna > 25 anos e histórico familiar (ADA, 2012). Gestantes com DMG têm maior risco subsequente de hipertensão arterial, dislipidemia, obesidade, síndrome metabólica e evolução para DM1 ou DM2. A recorrência em gestações futuras alcança 60 %–70 % (SIMÕES et al., 2013).

Filhos de mães com DMG apresentam risco aumentado de miocardiopatia hipertrófica, icterícia, distúrbios respiratórios, hipoglicemia e macrosomia; já as gestantes podem vivenciar abortos prematuros, restrição de crescimento intrauterino e malformações congênitas — sobretudo cardíacas, do sistema nervoso central e geniturinárias — especialmente quando o controle glicêmico é inadequado. Estima-se que 50 % da mortalidade perinatal decorra dessas malformações (PEREIRA; DOBBINS, 2019).

2.3. Epidemiologia

De acordo com a *International Diabetes Federation* (IDF, 2021), havia aproximadamente 537 milhões de adultos na faixa etária de 20 a 79 anos convivendo com diabetes mellitus (DM) em 2021. As projeções indicam elevação para 643 milhões em 2030 e 783 milhões em 2045. Ainda segundo a IDF (2021), cerca de três a cada quatro desses indivíduos residem em países de baixa ou média renda, condição que ajuda a explicar o impacto global da doença: somente em 2021, o DM foi responsável por 6,7 milhões de óbitos — o equivalente a uma morte a cada cinco minutos.

O ônus econômico acompanha a alta prevalência. As despesas globais com saúde atribuídas ao DM totalizaram US\$ 966 bilhões em 2021, valor 316 % superior ao registrado em 2006 (IDF, 2021). Esses custos abrangem tanto sistemas públicos quanto privados e refletem complicações que exigem tratamentos prolongados e de alta complexidade.

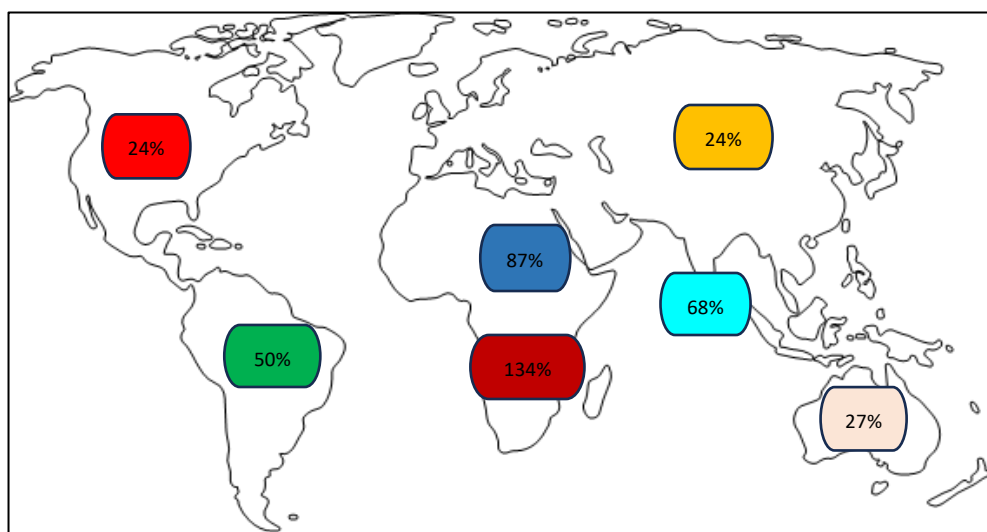
Quando se analisa esses dados por continente, a IDF (2021) estima que, em 2021, o Pacífico Ocidental concentrava 206 milhões de pessoas com DM, seguido pela Europa (61 milhões), Sudeste Asiático (90 milhões), Médio Oriente e Norte da África (73 milhões),

América do Norte e Caribe (51 milhões) e África (24 milhões). Considerando conjuntamente a América do Norte, Central e do Sul, o total nas Américas alcançou 83 milhões de casos naquele ano.

No contexto brasileiro, dados da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2021) apontam 15,8 milhões de adultos vivendo com DM em 2021. As projeções sugerem que esse contingente alcançará 19,2 milhões em 2030 e 23,2 milhões em 2045. Estima-se que aproximadamente 30 % dos casos, cerca de 5 milhões de pessoas, permaneçam sem diagnóstico. Ainda em 2021, foram atribuídas ao DM 214 175 mortes, com gastos que somaram R\$ 77,5 bilhões em cuidados de saúde (SBD, 2021).

As tendências regionais reforçam o caráter pandêmico do diabetes. Entre 2021 e 2045, espera-se aumento de 24 % nos casos na América do Norte e Caribe, 50 % na América Central e do Sul, 13 % na Europa, 68 % no Sudeste Asiático, 87 % no Médio Oriente e Norte da África, 134 % na África e 27 % no Pacífico Ocidental, enquanto o Brasil deve registrar elevação de 47 % no mesmo intervalo (IDF, 2021). Esses percentuais evidenciam desafios específicos a cada região e ressaltam a necessidade de políticas de prevenção e controle adaptadas às realidades socioeconômicas locais.

Figura 1: Epidemiologia do diabetes ao redor do mundo no ano de 2021 e percentual estimado de aumento até 2045: América do Norte e Caribe (24%), América do Sul e Central (50%), Europa (13%), Pacífico Ocidental (27%), Oriente Médio e Norte da África (87%), Sudeste Asiático (68%) e África (134%).



Fonte: adaptado de IDF (2021).

2.4. Fisiopatologia do diabetes

Há evidências robustas de que o eixo inflamação, obesidade, resistência insulínica é mediado por adipocitocinas, um conjunto de fatores imuno inflamatórios secretados pelo tecido adiposo que interferem na homeostase glicêmica e favorecem o desenvolvimento do diabetes mellitus. Esses mediadores atuam em diversos pontos da cascata de sinalização pós-receptor de insulina, comprometendo sua transdução e culminando em resistência insulínica, condição central para o aparecimento não apenas do diabetes, mas também da síndrome metabólica. Estudos clínicos experimentais demonstram que a exposição crônica a adipocitocinas pró-inflamatórias compromete a função das células β pancreáticas, precipitando a instalação do diabetes (GOMES; ACCARDO, 2019).

2.5. Tratamento

Antes de iniciar o tratamento medicamentoso do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), é imprescindível avaliar, em comum acordo com o paciente, a adoção de mudanças no estilo de vida. A terapia nutricional é parte essencial para a manutenção da saúde e a Terapia Nutricional Médica constitui requisito básico para o controle da síndrome metabólica, em especial do DM2 (ADA, 2012).

Segundo a *International Diabetes Federation* (IDF, 2017), pessoas com obesidade moderada devem perder, no mínimo, 10 kg (22 libras). Para atingir essa meta, recomenda-se uma dieta hipocalórica com ingestão diária de 800 – 1 200 kcal, visando à perda ponderal em até seis meses.

O tratamento do DM2 deve começar com monoterapia, sendo a metformina o fármaco de primeira linha. A titulação da dose pode variar de 500 mg a 2 000 mg/dia, administrada junto ou logo após as refeições; preparações de liberação prolongada (XR) costumam melhorar a tolerabilidade. Quando a função renal atinge o estágio 3A, a dose deve ser reduzida para 1 000 mg/dia; a metformina torna-se contraindicada a partir do estágio 3B de insuficiência renal (IDF, 2017).

As mesmas diretrizes recomendam terapia combinada com metformina e outro agente hipoglicemiante (GLD) quando a hemoglobina glicada (HbA1c) basal estiver entre 7,5 % e 9 %. A insulinoterapia deve ser iniciada isoladamente ou em associação sempre que o paciente apresentar instabilidade clínica, como descompensação aguda com desidratação,

perda de peso rápida, doença intercorrente, hiperglicemia severa ou presença de cetonas (IDF, 2017).

No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza diversas classes terapêuticas. Entre elas figuram as Biguanidas (metformina), que aumentam a sensibilidade hepática à insulina; os agonistas do receptor de GLP-1 (liraglutida), que estimulam a secreção de insulina dependente da glicose; os inibidores de SGLT2 (dapagliflozina), que reduzem a reabsorção de glicose e sódio no túbulo proximal renal; as Sulfonilureias (glibenclamida), que promovem a liberação de insulina ao se ligarem ao receptor SUR-1 nas células β , favorecendo o influxo de cálcio; além de múltiplas formulações de insulina e outros fármacos (SBD, 2023). Os dados pormenorizados desses medicamentos constam na tabela 1.

Tabela 1. Principais medicamentos regulamentados para o manejo do diabetes mellitus, distribuídos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e recomendados pela Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes (edição 2023)

Grupo	Medicamento	Mecanismo de ação
Biguanidas	Metformina	Aumenta a sensibilidade da insulina no fígado
Agonista do receptor GLP-1	Liraglutida	Aumentam a secreção de insulina dependente da glicose
Inibidores do SGLT2 (inibidores do co-transportador sódio-glicose 2)	Dapagliflozina	Inibe a absorção de glicose e sódio no túbulo proximal por meio da inibição do receptor SGLT2
Inibidores da DPP-IV	Sitagliptina	Aumento do nível do GLP-1, com aumento de síntese e secreção de insulina, além de redução do glucagon
Sulfonilureias	Glibenclamida	Estimula a secreção de insulina pelas células beta pancreáticas, por meio da ligação no receptor SUR-1 (aumenta influxo de Ca^{2+} → aumenta liberação de insulina)
Pioglitazona	Pioglitazona	Aumento da sensibilidade à insulina em músculo, adipócito e hepatócito
Glinidas	Repaglinida	Ligação ao receptor SUR na célula beta e provoca despolarização, levando à liberação de insulina

Fonte: Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023).

Alguns pacientes diabéticos necessitam da administração diária de insulina, sendo a via subcutânea a mais empregada para essa administração, a administração da insulina deve ser feita pelo paciente ou profissional de saúde habilitado com prescrição fornecida por profissional regulamentado para o manejo adequado dessa comorbidade, podendo a administração ser feita duas vezes ao dia ou conforme a glicemia capilar ou após a ingestão de altas taxas de glicídios. (NEVES et al., 2017). As principais insulinas utilizadas no Brasil para o manejo do diabetes estão listadas na Tabela 2.

Tabela 2. Tipos de Insulinas utilizadas no Brasil para o tratamento do Diabetes Mellitus, seu início de ação, pico de ação e duração da ação

Tipo de insulina	Início de ação	Pico de ação	Duração de ação
Lispro, Aspart, Glulisina	5 – 15 minutos	45 – 75 minutos	2 – 4 horas
Fiasp	2,5 – 10 minutos	40 – 70 minutos	< 2 – 4 horas
Regular	Cerca de 30 minutos	2 – 4 horas	5 – 8 horas
NPH	Cerca de 2 horas	4 – 12 horas	18 – 28 horas
Glargina	Cerca de 2 horas	Sem pico	20 – >24 horas
Detemir	Cerca de 2 horas	3 – 9 horas	6 – 24 horas
Degludec	Cerca de 2 horas	Sem pico	>40 horas
Awikli (Icodec)	Cerca de 2 horas	Sem pico	Ação prolongada (semanal)

Fonte: Neves et al., (2017)

2.6. Açaí: considerações gerais

A Amazônia, em razão de sua notável biodiversidade, elevada biomassa e vasto potencial terapêutico, tem despertado grande interesse da indústria farmacêutica nacional e internacional, sobretudo pelas essências e moléculas bioativas ali presentes. Entre as espécies de maior relevância encontra-se o açaí, cujos diversos fitoquímicos exercem efeitos biológicos como quelação de íons metálicos, melhoria da circulação sanguínea, ação antioxidante contra espécies reativas de oxigênio (ERO's) e regeneração do tocoferol (FELIN, 2021).

O açaí pertence à família Arecaceae e compreende duas espécies de ocorrência fitogeográfica na Amazônia: *Euterpe oleracea* Mart. e *Euterpe precatoria* Mart. Esta última inclui as variedades *E. precatoria* Mart. var. *precatoria* e *E. precatoria* var. *longevaginata*. O gênero *Euterpe* deriva do grego e significa “elegância na floresta”, enquanto o termo “açaí” provém do tupi e significa “fruto que chora” (ARAUJO et al., 2019).

A espécie *E. precatoria* Mart. figura entre as mais investigadas do gênero. Trata-se de palmeira que pode apresentar caule único (unicaule) ou múltiplo (multicaule),

alcançando entre 3 m e 23 m de altura e 2 cm a 23 cm de diâmetro. O palmito é fino e liso, com raízes expostas; as folhas são lisas, planas e horizontalizadas, medindo 1 cm a 3 cm de largura. Destacam-se as folhas estreitas e pendentes, a bainha verde com estrias amareladas, inflorescências volumosas de ráquulas espessas e frutos de 1 cm a 1,3 cm de diâmetro (CORADIN et al., 2022).

A frutificação inicia-se aproximadamente no terceiro ano após o plantio e ocorre quase o ano todo, com pico entre julho e outubro. Cada planta adulta produz, em média, quatro a oito cachos por ano, totalizando cerca de 24 kg de frutos maduros. O domínio fitogeográfico restringe-se à Amazônia, tanto em florestas de terra firme quanto em áreas de várzea, com registros nos estados do Acre, Amazonas, Pará e Rondônia, conforme a figura 2. (CORADIN et al., 2022).

Figura 2. Imagem dos cachos de *Euterpe* sp. começando a produzir no terceiro ano após o plantio, produzindo praticamente durante o ano todo, tendo o seu auge de produção nos meses de julho a outubro
Fonte: www.floraamazonia.com.br



A polpa é o principal produto consumido, e a Região Norte do Brasil lidera a produção desse recurso. Praticamente todas as partes da palmeira são aproveitadas: raízes, caule, folhas e frutos são usados na medicina popular ribeirinha para tratar malária, hepatite, febre amarela, dores estomacais, anemia e distúrbios neurodegenerativos (YAMAGUCHI et al., 2022).

Dados do IBGE indicam que, em 2021, foram extraídas cerca de 1.485.113 toneladas de frutos de açaí, sendo o produto extrativo não madeireiro de maior valor agregado no país, com valor estimado em R\$ 5.305.524.000,00 (IBGE, 2021).

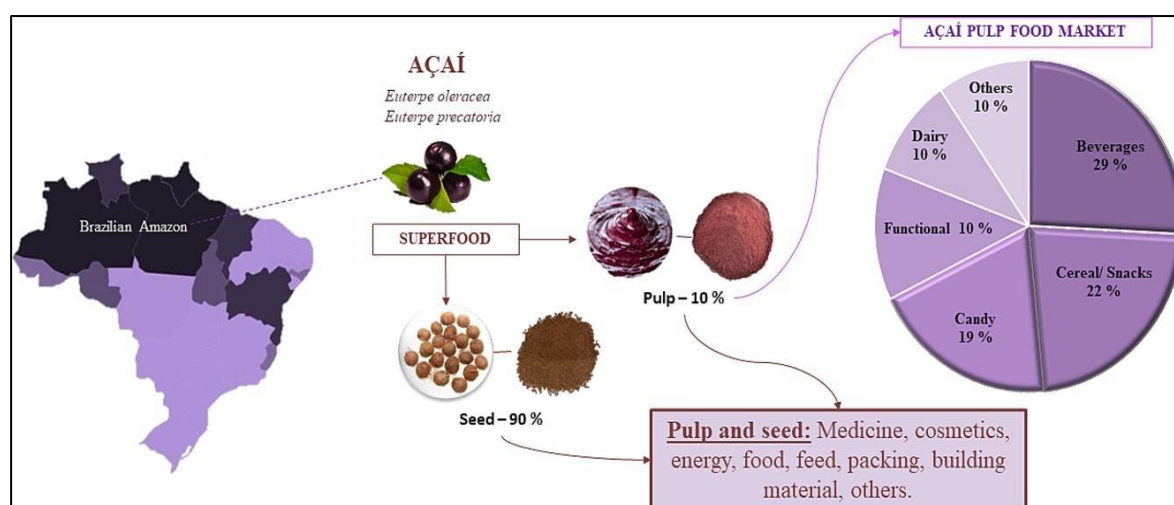
Além de propriedades fotoprotetoras, o açaí apresenta efeitos atribuídos a compostos fenólicos, terpenos, esteroides, carotenoides e flavonoides. O destaque para terpenos e esteroides confere elevada relevância biotecnológica, justificando o rótulo de “superfruta” (AZEVEDO, 2021).

Ensaio com extratos e óleos demonstraram atividades antiangiogênica, antimicrobiana, neuroprotetora, antinociceptivas, antioxidante, anticonvulsivante e antiproliferativa, relacionadas ainda à redução de risco cardiovascular, com ênfase nas ações cardioprotetoras e antioxidantes (PONTES et al., 2021).

No estado do Amazonas, observa-se um aumento expressivo no descarte de sementes provenientes da indústria de extração da polpa do açaí. A escassez de conscientização ambiental agrava o manejo inadequado desse resíduo. Nesse cenário, os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) — incorporados às práticas *Environmental, Social and Governance* (ESG) — enfatizam a produção e o consumo sustentáveis, recomendando, até 2030, reduzir pela metade as perdas na produção e comercialização de alimentos (MIRANDA et al., 2024).

As sementes de açaí são exploradas, sobretudo, em duas formas nos estudos científicos: farinha, aplicada em produtos alimentícios (p. ex., bolos), e extratos, empregados em ensaios laboratoriais, conforme a figura 3. Como a utilização científica ainda é limitada, torna-se necessário buscar novas alternativas para esse subproduto (MARTINS, 2023)

Figura 3. Fitogeografia do açaí e suas aplicações na medicina, na produção de cosméticos, na alimentação, na produção de energia e embalagens



Fonte: Adaptado (SILVEIRA et al, 2023)

Mais recentemente, o interesse comercial pelas sementes aumentou, no Brasil e no exterior, impulsionado pela bebida popularmente chamada de “café de açaí”, consumida como substituto do café tradicional e apontada pela medicina popular como hipoglicemiante (FERREIRA, 2019).

A semente corresponde a cerca de 83 % do peso do fruto e é rica em material orgânico como a celulose, hemicelulose e carbono. Diversos estudos propõem alternativas de aproveitamento: por exemplo, o resíduo já foi adicionado à compostagem de resíduos orgânicos, graças ao seu alto teor de nitrogênio, com desempenho semelhante ao de adubos convencionais (MAIA, 2020).

Embora escassas, pesquisas *in vitro* revelam resultados promissores. Ao avaliar trinta e sete espécies medicinais, Barros et al. (2015) observaram que sementes de *Euterpe oleracea* apresentaram uma das maiores atividades antioxidantes com base nos ensaios DPPH, sequestro de ânion superóxido e inibição da peroxidação lipídica. As sementes também mostraram ação relevante contra os radicais peroxinitrito, peroxil e hidroxila, desempenho atribuído às procianidinas detectadas.

Em cultura celular, o extrato aquoso da semente de açaí induziu parada do ciclo celular e morte de células de câncer de pulmão (SILVA, 2021). Já a farinha de semente foi capaz de reduzir a esteatose hepática em modelo de obesidade (FILHO et al., 2023). Assim, atribuem-se às sementes atividades antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral, provavelmente relacionadas a flavonoides e compostos polifenólicos, conforme figura 4.

Figura 4. *Euterpe* sp. no momento da coleta no município do Careiro – AM, situado as margens da BR 319,

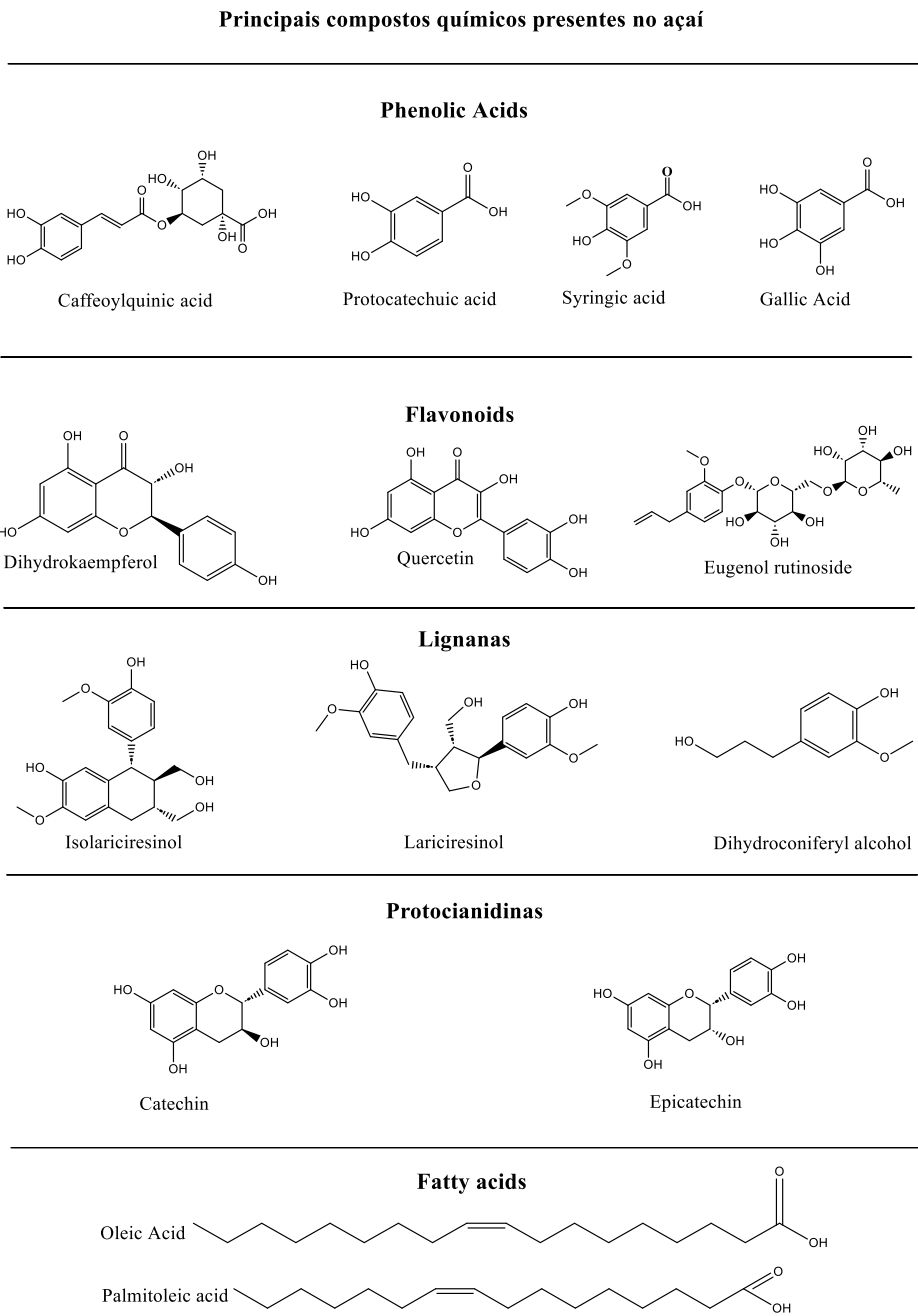


Fonte: Autoral (2024)

Diante da abundância de sementes geradas pelo despulpamento e de sua disposição inadequada, bem como da falta de evidências conclusivas sobre o efeito hipoglicemiante, delineia-se uma oportunidade promissora para estudos que avaliem, de modo sistemático, o potencial antidiabético da semente de açaí, sendo que até o momento, nenhuma pesquisa científica comprovou esse efeito de forma definitiva.

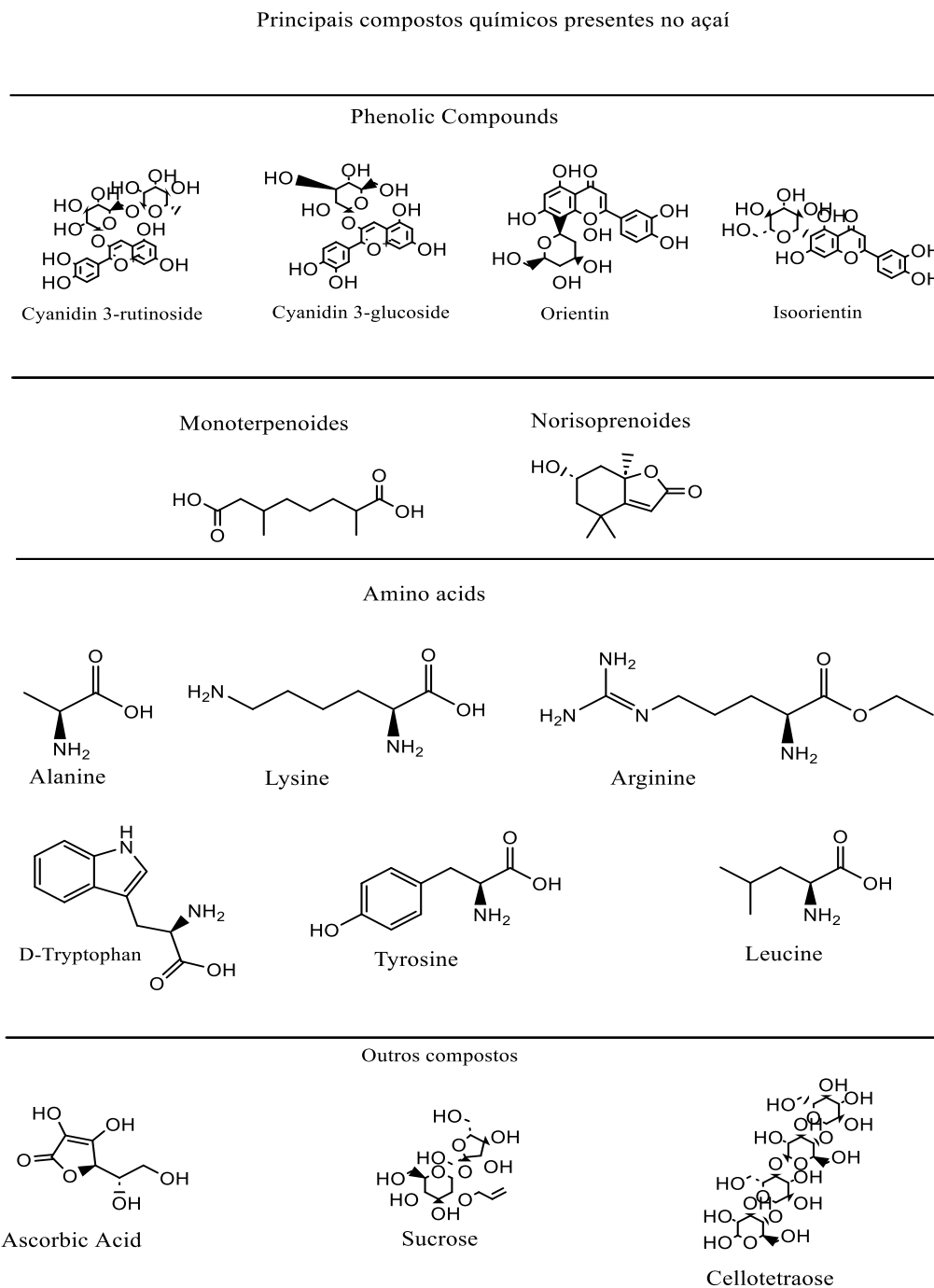
Conforme as figuras 5 e 6 os fitoquímicos predominantes nas sementes de açaí são as procianidinas (incluindo procianidina C1), ácido protocatecoico, ácido dihidroxibenzoico, epicatequina e epigallocatequina-3-galato (SOUSA, 2023). Pesquisas em andamento investigam potenciais efeitos antidiabético, anti-hipertensivo, anti-inflamatório, antitumoral e cardioprotetor,

Figura 5. Principais constituintes químicos presentes nas sementes e na polpa de *Euterpe* sp. que apresentam atividades biológicas.



Fonte: adaptado de Alnasser et al. (2022).

Figura 6. Principais constituintes químicos presentes nas sementes e na polpa de *Euterpe* sp. que apresentam atividades biológicas.



Fonte: adaptado de AlNasser et al. (2022).

2.7. Toxicidade do açaí

A avaliação da toxicidade em modelos *in vivo* é parte da identificação de possíveis efeitos nocivos que uma substância possa provocar quando administrada por diferentes vias no organismo. Esses ensaios em animais complementam os testes *in vitro* e, por isso, figuram entre os mais empregados na análise toxicológica, fornecendo dados relevantes para a futura aplicação de produtos naturais em humanos (BEDNARCZUK et al., 2010; CAZARIN; CORRÊA; ZAMBRONE, 2004).

Borges et al. (2024b) relataram que o extrato de açaí exerceu efeito antitumoral em modelo de câncer de próstata, além de prevenir tumores de Ehrlich em estudos pré-clínicos. Os resultados mais promissores em pesquisas oncológicas com açaí foram obtidos com extratos tanto da polpa quanto da semente.

Silva et al. (2023) demonstraram que o óleo e o extrato aquoso da semente apresentaram citotoxicidade contra linhagens de adenocarcinoma colorretal. Marques et al. (2019) observaram alterações hepáticas e tireoidianas em animais expostos a doses crescentes de óleo de açaí. Em investigação subsequente, Borges et al. (2024b) indicaram que o óleo da semente possui propriedades bioativas promissoras para o tratamento do câncer.

Quanto à segurança, Ribeiro et al. (2025) constataram baixo risco toxicológico para um bioproduto derivado da semente quando empregado em concentrações iguais ou inferiores a $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Resultados semelhantes foram obtidos por Lemos et al. (2025) em ensaios com *Lactuca sativa* e *Artemia salina*, confirmando a inocuidade da infusão de semente de açaí torrada e moída nas concentrações avaliadas.

2.8. Atividades biológicas do açaí

O interesse por terapias naturais tem impulsionado estudos sobre substâncias vegetais com potencial anticoagulante. Investigações envolvendo o açaí indicam que extratos em diferentes solventes apresentam na composição química de suas sementes, polifenóis, flavonoides e taninos condensados capazes de interferir na coagulação sanguínea (YAMAGUCHI et al., 2015).

O aumento da demanda por alimentos saudáveis, capazes de proporcionar benefícios funcionais, motivou a indústria a desenvolver novas linhas de produtos que ofereçam

vantagens exclusivas aos consumidores (SANTOS et al., 2019). Nesse contexto, o açaí desponta como produto em evidência, pois viabiliza a formulação de diversos alimentos funcionais.

Até o momento foram identificadas cerca de 90 substâncias no açaí, das quais 31 % correspondem a flavonoides, 23 % a compostos fenólicos, 11 % a lignoides e 9 % a antocianinas. Ensaio em modelos celulares demonstraram efeito antioxidante da polpa no córtex cerebral, hipocampo e cerebelo de ratos, além da inibição da produção de óxido nítrico por extratos do fruto (ARAUJO et al., 2020).

Além dessas propriedades, relatam-se efeitos nefro protetores, neuroprotetores contra malária cerebral e benefícios otológicos. Tais atividades são atribuídas, principalmente, ao elevado teor de polifenóis nas bagas, bem como ao aporte de minerais como potássio, cálcio, magnésio e manganês (A.M. et al., 2022).

Muniz Filho et al. (2023) registraram que o extrato das sementes em diferentes solventes é rico em catequinas e polifenóis, exerceu atividade antitumoral sobre células de câncer de próstata em modelos *in vitro* e *in vivo*. Complementarmente, Silva et al. (2023) verificaram que o óleo das sementes apresenta citotoxicidade contra células de câncer colorretal, modulando a expressão de anexina A2 e induzindo morte celular.

As sementes de *E. precatoria* e *E. oleracea* contêm concentrações significativas de potássio (1,98 % e 2,15 %, respectivamente) e níveis elevados de magnésio e fósforo. A presença desses antioxidantes inorgânicos agrega valor cultural e econômico aos frutos (LAMARÃO et al., 2020). Várias matérias-primas vegetais podem atuar como indicadores ácido-base naturais; entre elas, destacam-se *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*, cujas antocianinas mudam de cor conforme o pH (ALMEIDA; YAMAGUCHI, 2024).

Estudos recentes mostram que a composição química e os efeitos biológicos do açaí variam de acordo com período de colheita, local geográfico e tipo de processamento, fatores que influenciam tanto a caracterização fitoquímica quanto os potenciais bioativos (A.M. et al., 2022).

Na literatura, os principais efeitos biológicos atribuídos ao açaí incluem: atividades anti-inflamatória, antioxidante, antiangiogênica, cardioprotetora, hepato protetora, moduladora do metabolismo energético, antitumoral, neuroprotetora, ansiolítica, cardiometabólica, antidepressiva, Antiplasmodial, antifúngica, protetora ocular e preventiva da neurotoxicidade por metilmercúrio (A.M. et al., 2022).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a toxicidade e efeitos antidiabéticos de um extrato aquoso das sementes torradas de açaí.

3.2. Objetivos específicos

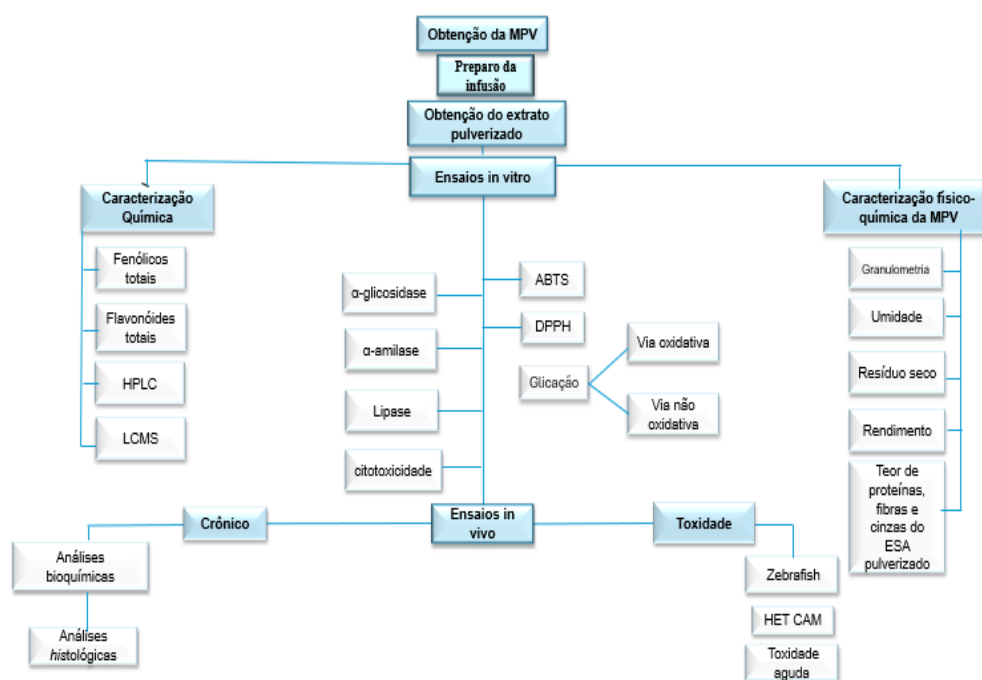
- Obter e caracterizar um extrato seco a partir de um infuso das sementes torradas de açaí;
- Avaliar por testes *in vitro* o potencial antioxidante, antiglicante e de inibição das enzimas digestivas das sementes torradas de açaí;
- Avaliar a toxicidade do extrato pulverizado das sementes torradas de açaí;
- Analisar o efeito hipoglicemiante do extrato pulverizado das sementes torradas de açaí em camundongos diabéticos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Delineamento experimental

A obtenção do extrato seco pulverizado, a caracterização físico-química, a caracterização química, a atividade antioxidante, antiglicante, bem como a inibição das enzimas digestivas foram realizadas nas dependências da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da UFAM; os testes de hipoglicemiantes *in vivo* foram realizados nas dependências do biotério Central da UFAM. O HET CAM foi realizado nas dependências da FCF, o teste de toxicidade *in vivo* Zebra Fish foi realizado em colaboração com o Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho, no Laboratório de Pesquisa em Fármacos do Departamento de Ciências Biológicas da Saúde da Universidade Federal do Amapá - UFAP conforme demonstrado na **Figura 7**.

Figura 7. Delineamento experimental, obtenção da matéria prima vegetal, obtenção do extrato bruto, obtenção do extrato pulverizado, ensaios *in vitro* (caracterização físico-química e citotoxicidade), ensaios *in vivo* (toxicidade em modelo Zebrafish, HET CAM, toxicidade aguda e teste hipoglicemiante crônico)



4.2. Obtenção da matéria prima vegetal

As sementes de açaí foram obtidas no município de Careiro, Amazonas, situado a 107 km de Manaus, como subproduto do despulpamento do fruto. Inicialmente, as sementes foram lavadas em água corrente em abundância e, em seguida, desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio. Posteriormente, foram secas em estufa com circulação de ar de 60°C por dois dias. Após a secagem, as sementes foram submetidas à torrefação a 160°C por duas horas e, por fim, moídas em moinho de facas.

4.3. Obtenção do extrato aquoso

O extrato aquoso foi obtido por percolação na proporção de 10% (p/v), onde pesou-se 100g MPV torrada e moída, em seguida foi fervido 1000 mL de água a uma temperatura aproximada de 100°C, sendo filtrado, após o resfriamento e sob homogeneização constante, foi adicionado o adjuvante dióxido de silício coloidal (aerosil) na concentração de 0,5% em relação a massa total do extrato a ser submetido ao processo de secagem

4.4. Obtenção do extrato seco

O extrato seco da semente de açaí foi obtido a partir da secagem do extrato aquoso em *Spray Dryer* (modelo MSD 1.0 da Labmaq), onde foi empregada a metodologia desenvolvida por Marinho (2016) com adaptações, utilizando-se os parâmetros de secagem demonstrado da Tabela 3.

Figura 3. Parâmetros de secagem *Spray Dryer* durante o processo de pulverização das sementes torradas de *Euterpe* sp., para a realização dos testes *in vivo* e *in vitro*

Parâmetros	Valores
Temperatura de entrada	120°C
Fluxo de alimentação	7,2 mL/min
Diâmetro do buco aspersor	1,0 mm

4.5. Caracterização Físico-Química da Matéria Prima Vegetal

4.5.1. Granulometria

Para determinar a granulometria a MPV foi pesada em triplicata, utilizando-se 50g em um béquer de 50 mL, em seguida cada amostra foi dispensada sobre os tamises com abertura de: 1000µm, 850µm, 710µm, 600µm, 500µm, 425µm, 355µm, 250µm e o coletor, com ABNT/ASTM de 18 a 50 e TYLER MESH de 16 a 50. Em seguida os tamises foram levados ao agitador de peneiras da marca ACS GOLD e referência AG-SS por 15 minutos (900s), sendo em seguida pesado e o conteúdo de cada tamiz foi pesado em uma balança de precisão da marca Shimadzu com referência AY220, sendo feito a média das três pesagens para em seguida determinar o tamanho da partícula através da quantificação do percentual de retenção, sendo calculado a frequência relativa e a frequência acumulada. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

4.5.2. Umidade

A determinação da umidade foi realizada conforme a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (2019). As análises foram efetuadas em triplicata, utilizando-se 500 mg do extrato seco cada. As replicatas foram submetidas à secagem em balança de infravermelho (Shimadzu, modelo MOC-120H) a 105°C, para quantificação do percentual de umidade. Posteriormente, foi calculada a média dos resultados obtidos, a fim de determinar o teor de umidade de cada amostra.

4.5.3. Determinação do resíduo seco

Os ensaios foram realizados conforme a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (2019), em triplicata. Inicialmente, foram preparadas uma infusão e uma decocção do extrato bruto, nas proporções de 5% (12,5 g de extrato bruto para 250 mL de água destilada a 100°C). Após o preparo, as soluções foram filtradas em papel de filtro e, posteriormente submetidas à filtração a vácuo, utilizando filtrador da marca AIRMED-BRASIL, modelo 400AMPRO, com vácuo de 757 mmHg e vazão de 139 L/min. O filtrado foi transferido para balão volumétrico de 250 mL e o volume completado com água destilada.

Em seguida, foi realizada a tara dos pesa-filtros vazios. Aproximadamente 20 g (p/v) da amostra foram adicionados a cada pesa-filtro, que, posteriormente, foram levados ao

banho-maria a 100°C para evaporação inicial. Após essa etapa, os pesa-filtros foram transferidos para a estufa de secagem, mantida entre 100 e 105°C, por três horas. Decorrido esse tempo, os recipientes foram resfriados em dessecador contendo gel de sílica por 30 minutos e, em seguida, pesados novamente. O processo de secagem e pesagem foi repetido a cada uma hora, até que se obtivesse peso constante das amostras.

4.6. Determinação de Proteínas no Extrato Seco Pulverizado

Foram pesados aproximadamente 0,2 g do extrato da semente de açaí (ESA) e 1 g da mistura catalisadora em papel vegetal, os quais foram transferidos para tubos de digestão. Em seguida, adicionaram-se 5 mL de ácido sulfúrico, observando-se a formação de coloração preta. Os tubos foram então levados ao bloco digestor, com aquecimento inicial a 50°C, aumentando-se a temperatura em incrementos de 50°C a cada 15 minutos, até atingir 400°C, momento em que a solução adquiriu coloração azul-esverdeada. O aquecimento foi mantido por mais 30 minutos, seguido de resfriamento dos tubos. Posteriormente, foram adicionados 10 mL de água destilada a cada tubo, que, em seguida, foram levados ao destilador. A solução foi neutralizada com 20 mL de solução de hidróxido de sódio a 50%. O destilado foi coletado em Erlenmeyer contendo 10 mL de ácido bórico e indicador misto. Por fim, realizou-se a titulação com solução de ácido clorídrico 0,1 N, até que o indicador mudasse de cor azul para lilás (adaptado de Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7. Determinação de Fibras no Extrato Seco Pulverizado

Foram pesados aproximadamente 1 g de sementes moídas de açaí, transferidas para Becker de 400 mL e adicionado 100 mL de ácido sulfúrico a 1,25%. O Becker foi adaptado a placa de aquecimento, deixando-se o conteúdo em ebulição por 30 minutos. Em seguida, realizou-se filtração à vácuo da solução realizando a lavagem do resíduo com água fervente por 3 vezes. O resíduo foi transferido para Becker contendo 100 mL de solução de hidróxido de sódio a 1,25%, acoplando-se novamente ao condensador e à placa de aquecimento, deixando-se em ebulição por 30 minutos. Logo após foi realizada a filtração da solução com auxílio de cadinho de Gooch previamente pesado, lavando-se o resíduo com água destilada quente por 3 vezes. Os cadinhos foram levados para estufa a 105 °C por 3 horas, deixados no dessecador por 30 minutos e pesados. Em seguida, os cadinhos foram transferidos para mufla a 550 °C por 1 hora e pesados novamente. Os resultados foram calculados para 100

g de material seco e para 100 g do material integral (adaptado de Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.8. Determinação do Teor de Cinzas do Extrato Seco Pulverizado

Foram pesados aproximadamente 3 g de sementes moídas do extrato da semente de açaí (ESA) em cadinhos devidamente calibrados. Em seguida, a amostra foi incinerada até completa combustão (desaparecimento da fumaça) e colocadas na mufla a 550 °C durante 3 horas. Transcorrido esse período os cadinhos contendo a amostra incinerada foram levados ao dessecador por 30 minutos e pesados. Após pesagem, foram novamente colocados na mufla a 550 °C, levados ao dessecador e pesados novamente. Esse procedimento se repetiu até peso constante (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

4.9. Caracterização Química do Extrato Seco Pulverizado

4.9.1. Teor de fenólicos totais

Para a determinação do teor de fenólicos utilizamos o método de Folin-Ciocalteu, com modificações, descrito por (BONOLI et al., 2004), sendo utilizado 10 mg da amostra do extrato seco com dióxido de silício sendo ela em seguida diluída em etanol na concentração de 1 mg/mL, em seguida foi adicionado 30µL do extrato em cada cavidade da microplaca de 96 poços, o padrão utilizado nesse ensaio foi o ácido gálico. Após, foi adicionado 50 µL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% em cada poço da microplaca, então a placa foi incubada por 8min em temperatura ambiente. A determinação da absorbância foi efetuada em comprimento de onda de 620 nm, em leitor de microplacas da marca BECKMAN COULTER e modelo DTX 800, sendo o ensaio realizado em quadruplicata.

4.9.2. Teor de flavonoides totais

A determinação dos flavonoides totais foi realizada conforme a metodologia descrita por Chang et al. (2002), com modificações. Inicialmente, foram pesados 10 mg do extrato seco com dióxido de sílico, os quais foram diluídos em 1 mL de etanol. Para o plaqueamento, utilizou-se uma concentração final de 1 mg/mL, obtida pela pipetagem de 100 µL da solução diluída e adição de 900 µL de etanol. Em seguida, foram adicionados 30 µL do extrato e do padrão quercetina (diluído em etanol a 80%, na concentração de 0,1 mg/mL) e 90 µL de etanol a 95%. Posteriormente, adicionaram-se 6 µL de cloreto de alumínio a 10% e 6 µL de acetato de potássio 1M, ambos previamente diluídos em água destilada. Para finalizar, foi acrescentado mais 168 µL de água destilada e para o branco,

foi utilizado 30 µL de extrato e/ou padrão quercetina e 270 µL de etanol. Após o plaqueamento a placa foi então incubada por 30min em temperatura ambiente, sendo em seguida realizado a determinação da absorbância em leitor de microplacas BECKMAN COULTER e modelo DTX 800 sendo a leitura realizada em comprimento de onda de 405 nm.

4.9.3. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC

A separação dos compostos fenólicos e flavonoidicos foi realizada conforme método descrito por Leão (2001), com as devidas modificações. Para a análise, utilizou-se uma coluna Synergi Hidro C18 (4 µm, 150 mm x 4,6 mm, Phenomenex), com fluxo de 0,7 mL/min e temperatura da coluna mantida a 29°C. Como fase móvel, empregou-se um gradiente linear de água: ácido fórmico (99,5:0,5, v/v) (solvente A) e acetonitrila: ácido fórmico (99,5:0,5, v/v) (solvente B), variando de A:B 99:1 para 50:50 em 30 minutos, seguido de 50:50 para 1:99 em 15 minutos. A razão final de 1:99 (A:B) foi mantida por mais 5 minutos, conforme a tabela 4. A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada por comparação com padrões externos, utilizando seis curvas analíticas pontuais, preparadas em triplicada.

Tabela 4. Concentração dos solventes A e B empregados no HPLC em relação ao tempo separados em uma coluna Synergi Hidro C18 (4 mm, 150 cm x 4,6 mm, Phenomenex) em 0,7 mL/min de fluxo, com temperatura da coluna de 29°C, utilizando um gradiente linear de água: ácido fórmico (99,5: 0,5, v/v) (solvente A) e acetonitrila: ácido fórmico (99,5:0,5, v/v) (solvente B), como a fase móvel em gradiente de A: B de 99:1 a 50:50 em 30 min, depois de 50:50 a 1:99, em 15 min.

Tempo (min)	Concentração A:B
0	90:10
2	70:30
19	40:60
25	70:30
28	90:10
30	100:0

A quantificação do composto fenólico epicatequina foi realizada por meio da comparação com um padrão de referência, utilizando sete curvas analíticas pontuais que correspondam ao pico do extrato da semente de açaí.

4.9.4. Análise por Espectrometria de Massas – MS/MS

As análises foram realizadas utilizando a metodologia adotada por Lopes (2023), sendo o extrato seco da semente de açaí solubilizado em metanol HPLC, gerando soluções estoque de 1000 ppm. Alíquotas (10 µL) dessas soluções foram transferidas para vials contendo 1 mL de MeOH. Em seguida, 5 µL das soluções diluídas foram analisadas por inserção direta no espectrômetro de massas do tipo *ion trap*, modelo LCQ Fleet, equipado com fonte *APCI* operando nos modos positivo e negativo. Os parâmetros analíticos utilizados foram os seguintes: *discharge current*: 5 µA; *vaporizer temperature*: 320 °C; *capillary temperature*: 220 °C; *sheath gas*: 30 psi; *aux gas*: 10 arb, *mass range*, *m/z* 100-1000. Os espectros de *MS/MS* foram obtidos utilizando hélio como gás de colisão e energia variando entre 20-30%. O programa MestReNova será empregado para a identificação dos espectros *m/z* e para o processamento dos dados.

4.10. Atividades Biológicas *in vitro*

4.10.1. Atividade Sequestrante do Radical DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada por meio da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH, sendo empregada a metodologia utilizada por (MOLYNEUX, 2004), com modificações. Após o preparado da solução do DPPH padrão, foi adicionado 30 µL do extrato seco da semente do açaí em concentração seriada a partir de 500 µg. mL⁻¹. Em seguida foi acrescentado 270 µL de solução de DPPH (0,3 mM) em cada poço de uma placa contendo 96 poços. Após 30 minutos de incubação em ambiente escuro, a absorbância foi lida em um leitor de microplacas (Bio-Rad, modelo 3550 UV) a 517 nm. O teste foi realizado em triplicata, e os dados obtidos foram utilizados para calcular a porcentagem inibitória de DPPH (Alvez et al. 2010). A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi calculada pela fórmula:

$$\%AA = 100 - (Abs\ amostra \div Abs\ controle \times 10)$$

4.10.2. Atividade sequestrante do radical ABTS

A atividade sequestrante do radical ABTS foi realizada através da descoloração da solução de ABTS, utilizando o método descrito por (R.E. et al., 1999). A capacidade antioxidante foi quantificada em uma microplaca de 96 poços. Para isso, o radical ABTS foi diluído em água Milli-Q e oxidado previamente com uma solução de persulfato de potássio a 5 mM, incubada por 5 minutos sob agitação. Após isso, foi adicionada em cada poço 30 µL da amostra do extrato seco da semente do açaí nas concentrações de 7,8 a 500 µg/mL, e sendo adicionado 270 µL da solução de ABTS⁺. Após 15 minutos de reação, a absorbância foi mensurada em um leitor de microplacas a 630 nm. Os experimentos foram realizados em triplicata, e a partir dos dados obtidos foi calculado a porcentagem de ABTS⁺ remanescente na solução reacional. A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi calculada pela fórmula:

$$\%AA = 100 - (\text{Abs amostra} \div \text{Abs controle} \times 10)$$

4.10.3. Atividade antiglicante

Para determinarmos atividade antiglicante do extrato, a metodologia empregada foi realizada de acordo com (KIHIO et al., 2004) com modificações. Inicialmente, foi pesado 10mg da amostra: extrato seco com dióxido de silício (aerosil), em seguida elas foram diluídas em 1 mL de etanol. Para o preparo do tampão 200mM de pH 7,4 foi utilizado o fosfato de sódio monobásico 0,52 g; fosfato de sódio dibásico e 2,4 g de azida sódica 19,5 mg sendo completado o volume com água destilada até 100ml. O tampão foi ajustado com HCL (ácido clorídrico) para o PH 7,4. A reação foi efetuada em quadruplicata com as concentrações de: Albumina (BSA) 64 mg/mL diluída em 8 mL de tampão, Glioxal para a (via oxidativa), 30 mM em 10 µL diluído em 3 mL de tampão, Frutose (via não oxidativa) 58 mg diluída em 3 mL de tampão e 1 mg/mL do extrato. Para a via oxidativa, na microplaca, foi utilizado 30 µL das amostras, 135 µL de Albumina, e 135 µL de Glioxal em cada poço da microplaca. Para a via não oxidativa foi utilizado 30 µL das amostras, 135 µL de Albumina, e 135 µL de Frutose em cada poço da microplaca. Como branco foi utilizado a frutose + tampão. A quercetina foi utilizado como padrão e o DMSO como controle negativo. As amostras foram analisadas no leitor de microplaca de 96 poços da marca BECKMAN COULTER e modelo DTX 800, observando-se a intensidade da fluorescência. Os resultados foram expressos em percentual de inibição.

4.10.4. Atividade Inibidora α -Glicosidase

Esta atividade enzimática foi determinada de acordo com a metodologia adotada por Andrade-Cetto et al. (2008), com modificações. Primeiramente, a amostra: extrato seco dióxido de silício (aerosil) foi pesada em 10 mg, sendo depois solubilizada em 1 mL de etanol, para o plaqueamento a concentração utilizada foi 1 mg/mL, onde foi retirado 100 μ L das amostras solubilizadas e foi acrescentado 900 μ L do solvente etanol. A concentração utilizada da enzima para o teste foi de 5mg diluída em 5 mL do tampão fosfato de potássio em pH 6,9. No preparo do tampão foi pesado 0,27218g de fosfato de potássio e ele foi solubilizado em 100 mL de água destilada. Este ensaio mede a liberação de 4-nitrofenol a partir de 4-Nitrofenil-D-glucopiranosídeo (4-NPGP) pela enzima α -glicosidase. Depois, para a efetuação do plaqueamento foram pipetados 30 μ L das amostras na concentração de 1 mg/mL nos diferentes poços da microplaca de 96 poços em triplicata, 170 μ L da enzima (0,08 μ g/mL), e houve incubação por 5 minutos a 37 °C no escuro, depois foi adicionado 100 μ L do 4-NPGP (5 mg/mL), em seguida determinação da absorbância foi realizada no leitor de microplacas da marca BECKMAN COULTER e modelo DTX 800. Os resultados foram expressos em porcentual de inibição através do programa estatístico GraphPad Prism 6.0. O padrão utilizado foi a Acarbose, sendo que o percentual de inibição foi calculado pela fórmula:

$$\% \text{inibição} = 100 - (\text{Abs final} - \text{Abs inicial da amostra} \div \text{Abs final} - \text{Abs inicial do controle})$$

4.10.5. Atividade inibidora de lipase

A atividade enzimática da lipase foi determinada de acordo a metodologia adotada por (SLANC et al., 2009) com modificações. Primeiramente, o extrato seco com o adjuvante dióxido de silício (aerosil), foram pesados em 10 mg e diluídos em 1 mL de etanol, e, para o plaqueamento as concentrações das amostras foram 1 mg/mL, onde foi retirado 100 μ L das amostras solubilizadas e acrescentado mais 900 μ L do solvente etanol. A lipase pancreática tipo II de porcino da SIGMA foi pesada em 5mg e diluída em 1 mL do tampão TRISMA-HCL 75mM pH 8,5. Para o preparo do tampão TRISMA foi pesado 0,90855 g e diluído em 100 mL de água destilada e houve ajuste de pH com à adição de HCL. Para o preparo do substrato palmitato de p-Nitrofenila (PNP) foram pesados 0,000376 g e foi diluído primeiro em 1 mL de acetonitrila e depois em 3 mL de etanol ficando na proporção de 1:3. Para o plaqueamento foi utilizado 30 μ L da amostra; 230 μ L da enzima e 40 μ L do

substrato. Na primeira leitura, foi adicionado a amostra mais a enzima sendo incubado por 5 minutos na temperatura de 37 °C, em seguida, foi adicionado o substrato e a reação foi incubada por 40 minutos para a posterior leitura no leitor de microplaca da marca BECKMAN COULTER e modelo DTX 800, sendo a leitura efetuada em comprimento de onda de 450 nm. O padrão usado para o teste da inibição da enzima Lipase foi o Orlistat. Após a leitura, foi realizado os cálculos do percentual de inibição através da fórmula:

$$\% \text{inibição} = 100 - (\text{Abs final} - \text{Abs inicial da amostra} \div \text{Abs final} - \text{Abs inicial do controle})$$

4.10.6. Atividade inibidora da α -Amilase

Primeiramente, o extrato seco adicionado de dióxido de silício (aerosil) foi pesado em 10 mg e diluídos em 1 mL de etanol, a seguir para o plaqueamento as concentrações das amostras foram de 1 mg/mL, onde foi retirado 100 μ L das amostras solubilizadas e acrescentado mais 900 μ L do solvente etanol. Para o preparo do tampão fosfato de potássio 20 Mm, PM (136,09) foi pesado 0,27218 g e dissolvido em 100mL de água destilada, o HCL foi usado para o ajuste do pH em 6,9. Para o preparo da solução da amilase CNPG LIQUIFROM (ACL) foi utilizado 0,5 mL da solução mais 4,5 mL do tampão. Depois, para o plaqueamento foi adicionado 30 μ L das amostras nos poços da microplaca de 96 poços, sendo o ensaio realizado em triplicata. 30 μ L do padrão orlistat e 30 μ L de DMSO que foi utilizado como controle negativo, depois foi adicionado em cada poço da microplaca 100 μ L da solução da enzima, sendo incubado por 5min a 37 °C. Em seguida, foi adicionado 170 μ L de HCL diluído e a leitura foi realizada em leitor de ELISA BECKMAN COULTER e modelo DTX 800 e comprimento de onda de 405nm para a determinação da absorbância. O cálculo da inibição foi realizado utilizando a seguinte fórmula.

$$\% \text{inibição} = 100 - (\text{Abs final} - \text{Abs inicial da amostra} \div \text{Abs final} - \text{Abs inicial do controle})$$

4.10.7. Citotoxicidade

O ensaio de viabilidade celular foi realizado empregando o método Alamar Blue, onde a resazurina atua como um indicador fluorescente/colorimétrico com propriedades redox, que se reduz em células em proliferação. A forma oxidada apresenta a cor azul (não fluorescente/célula não viável) e a forma reduzida é rósea (fluorescente/célula viável).

O ensaio foi realizado segundo metodologia adotada por (AHMED et al., 1994), com o objetivo de analisar a viabilidade celular em células da linhagem MRC-5

(fibroblastos humanos), após a exposição com o ESA, pois estas apresentam uma diversidade de aplicações, mais também pela propriedade dessa estirpe celular se manter por longos períodos em cultura, sem apresentar sinais de degeneração, após exposição com o ESA.

Na microplaca de 96 poços, as células de MRC-5 foram plaqueadas na concentração de $0,5 \times 10^4$ células por poço. Após 24 horas de incubação e aderência das células, as mesmas foram tratadas com o extrato (em uma curva de concentrações 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL) pelo período 72 horas.

Após 24 horas de incubação e aderência das células, elas foram tratadas com o extrato na concentração de 100 µg/mL por 72 horas. Passados os tempos de tratamento, foram adicionados 10 µL da solução de uso de Alamar Blue (solução estoque 0,4% 1:20 em meio de cultura). Após o tempo de metabolização da resazurina (3h), foi realizada a leitura da fluorescência em um leitor de microplacas (espectrofotômetro) da marca BECKMAN COULTER e modelo DTX 800 para a quantificação das células viáveis.

4.11. Atividades Biológicas *in vivo*

4.11.1. Toxicidade Aguda em Modelo ZebraFish

4.11.1.1. Avaliação Comportamental

A avaliação do comportamento, seguiu a metodologia descrita por (SOUZA et al., 2016). Após a administração (toxicidade aguda em *D. rerio* adulto) foram observados por 48 horas. Nas primeiras 4 horas observou-se os animais com intervalos de 30 minutos e posteriormente a esse período em intervalos de 12/12 horas (seguindo recomendação da OECD 425. Os parâmetros comportamentais avaliados foram classificados em estágios 1, 2 e 3, estes estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Classificação de Alterações comportamentais de acordo com estágios observados, onde nas primeiras 4 horas observou-se os animais com intervalos de 30 minutos e posterior a esse período em intervalos de 12/12 horas (seguindo recomendação da OECD 425. Os parâmetros comportamentais avaliados foram classificados em estágios 1, 2 e 3

ESTÁGIOS	ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS
I	- Aumento da atividade do nado; - Espasmos; - Tremores no eixo da cauda.
II	- Nado circular; - Perda da postura
III	- Perda da motilidade; - Deposição no fundo do aquário; - Morte.

Fonte: Souza et al., (2016)

4.11.1.2. Análise Histopatológica

Para análise histopatológica do fígado, intestino e rins, estes foram fixados em solução de Bouin por 24 horas, descalcificados em solução de EDTA (Ácido etilenodiamina tetraacético, Sigma Co., São Paulo, Brasil) por 48 horas. As amostras foram desidratadas em séries de álcoois (70, 80, 90 e 100%). Posteriormente, foram diafanizadas por impregnação com xilol e incluídos em parafina. As amostras foram seccionadas a 5µm usando um micrótomo (Brand Rotary Microtome Cut 6062, Slee Medical, Alemanha) e a análise histopatológica foi realizada após as seções de tecido serem coradas com hematoxilina e eosina, conforme descrito por (SOUZA et al., 2016). As imagens foram analisadas em Microscópio Olympus BX41-Micronal e fotografadas com câmera MDCE-5C USB 2.0 (digital).

4.11.1.3. Avaliação das Alterações Histológicas

O Índice de Alterações Histopatológicas (IAH) foi calculado a partir dos graus de alterações teciduais observadas no fígado, intestino e rins dos espécimes analisados. As alterações foram classificadas em grau I, II e III, e o valor do IAH indica se o órgão está saudável (0 a 10), com alterações de leves a moderadas (11 a 20), com alterações moderadas a graves (21 e 50), ou contendo alterações irreversíveis (> 100) (SOUZA et al., 2019; CARVALHO et al., 2018; POLEKSIC, MITROVIC-TUTUNDZIC., 1994). Assim, os índices foram calculados de acordo com a seguinte equação:

$$I = \frac{\sum_{i=1}^{na} ai + 10 \sum_{i=1}^{nb} bi + 10^2 \sum_{i=1}^{nc} ci}{N}$$

Onde:

A: Alterações de grau I.

b: Alterações de grau II.

c: Alterações de grau III.

na: número de alterações consideradas na primeira etapa.

nb: número de alterações consideradas na segunda etapa.

nc: número de alterações consideradas na terceira etapa.

N: número de animais analisados por tratamento.

4.11.1.4. Análise Estatística

Os resultados obtidos foram expressos em média $\pm$ Desvio Padrão (SD) da média de cada grupo experimental. Foi aplicado o teste ANOVA, seguido do teste de Tukey. O nível de significância considerado será de 5% ($p < 0.05$). O software empregado será o Graph Pad Prisma® (versão 5.03).

As análises foram realizadas nas dependências da Universidade Federal do Amapá, em colaboração com o Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho, no Laboratório de Pesquisa em Fármacos do Departamento de Ciências Biológicas da Saúde da Universidade Federal do Amapá, sendo ele membro da Zebrafish Disease Models Society (ZDMS) e membro da International Society for Ethnopharmacology (ISE).

Os animais foram provenientes da Piscicultura *Power Fish*, localizado em Itaguaí-RJ, Brasil. Foram utilizados peixes de ambos os sexos, com idade entre 8 meses e 2 anos, de linhagem AB selvagem. Foram acondicionados em aquários na Plataforma Zebrafish do Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), e passaram por um período de adaptação (40 dias). A temperatura foi controlada ($23 \pm 2^\circ \text{C}$), além de obedecer a um ciclo claro/escuro de 12 horas (período claro das 7:00 h da manhã às 19:00 h da noite) recebendo ração comercial em flocos Alcon Colors (Santa Catarina, Brasil) três vezes por dia.

A avaliação da toxicidade aguda do extrato seco de semente de açaí em zebrafish adulto foi realizada a partir de uma adaptação das diretrizes descritas pela OECD 425, considerando não apenas a mortalidade, mas também o comportamento dos animais durante 48 horas. Para o

experimento, foi preparada uma solução do extrato seco na dose de 2 g/kg, diluída em água do sistema e submetida à agitação vigorosa em agitador do tipo vórtex por dois minutos. O teste de toxicidade aguda, conforme a OECD 425, pode ser realizado em duas etapas (teste limite e teste principal), porém, neste estudo, foi utilizado apenas o teste limite. Inicialmente, a dose-teste de 2 g/kg foi administrada por via oral (gavagem) e, após 48 horas de observação, caso não fosse verificada a morte dos animais, o protocolo permitiria a progressão para o teste principal; caso contrário, o procedimento seria mantido no teste limite. Além da mortalidade, foram monitoradas alterações comportamentais, como resposta a estímulos, coloração, flutuação e outros sinais indicativos de toxicidade aguda.

4.12. HET CAM

O estabelecimento do perfil de segurança *in vitro* de polifenóis, particularmente dos presentes no extrato seco da semente de açaí, foi significativo como um ensaio preliminar para uma futura aplicação de ingredientes ativos em um produto encapsulado ou seja, preservando a segurança dos participantes e consumidores. O método *in vitro* foi escolhido devido à sua condução conveniente, disponibilidade e geração de resultados comparáveis ao Teste de Draize, que é realizado em coelhos e atualmente não é aceitável para testar matérias-primas ou produtos cosméticos (ALLTOX, 2016). Além disso, o ensaio é menos dispendioso e requer infraestrutura menos complexa (WANG et al., 2011).

Por fim as alterações foram interpretadas em função do seu tempo de aparecimento, observando os três pontos finais: hemorragia (sangramento dos vasos), lise (desintegração dos vasos sanguíneos) e a coagulação (desnaturação proteica intra e extravascular) (ICCVAM, 2010). Conforme demonstrado na tabela 6, 7 e 8.

Tabela 6. Esquema de pontuação para testes de irritação, onde as alterações foram interpretadas em função do seu tempo de aparecimento, observando os três pontos finais: Hemorragia (sangramento dos vasos), lise (desintegração dos vasos sanguíneos) e a coagulação (desnaturação proteica intra e extravascular).

Efeitos	Pontuação		
	0,5min	2min	5min
Lise	5	3	1
Hemorragia	7	5	3
Coagulação	9	7	5

Fonte: ICCVAM (2010); Derouchi et al., 2017 (adaptado)

Tabela 7. Graduação das alterações observadas na membrana corio-alantóide do ovo embrionado de galinha após a exposição ao extrato pulverizado das sementes torradas de açaí.

Fenômenos	Tempo		
	≤ 30 segundos	30 segundos < t ≤ 2 minutos	2 minutos < t ≤ 5 minutos
Hiperemia	5	3	1
Hemorragia	7	5	3
Coagulação	9	7	5

Tabela 8. Classificação final do extrato pulverizado das sementes torradas de quanto ao seu potencial de irritabilidade na membrana cório alantóide do ovo de galinha embrionado.

Faixa (graduação das lesões)	Classificação
0,0 a 0,9	Não irritante (NI)
1,0 a 4,9	Irritante leve (IL)
5,0 a 8,9	Irritante moderada (IM)
9,0 a 21	Irritante severo (IS)

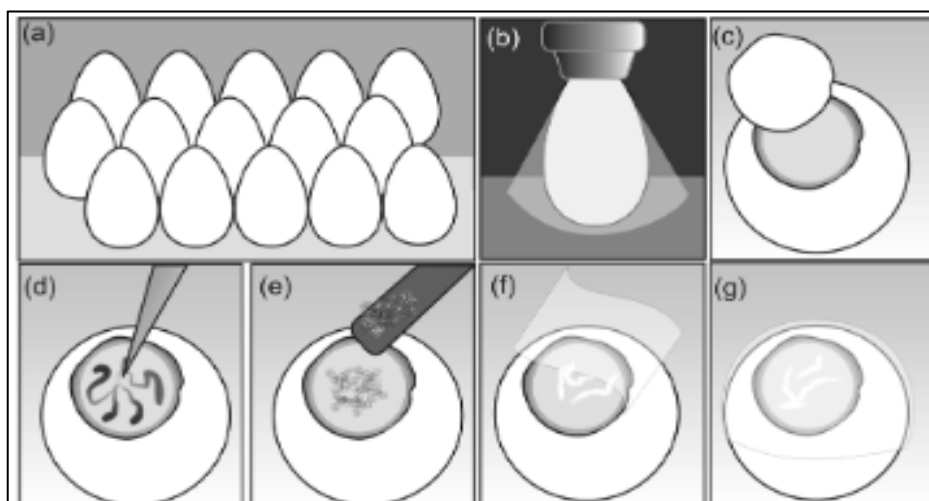
Fonte: Journal Officiel de la Republique Française

O Comitê Coordenador de Validação de Métodos Alternativos da Interagência, 2010, defende que os resultados do ensaio HET-CAM só podem ser aceitos se o controle positivo, 1,0% p/v SDS, exibir um IS que o classifique como fortemente irritante. O controle positivo apresentou resultado aceitável, com hemorragia e lise observadas em poucos segundos (tempo médio = 2 s). O controle negativo FS (0,9% p/v NaCl) não desencadeou processos de alteração vascular, como hemorragia (sangramento dos vasos), lise (desintegração dos vasos sanguíneos) e a coagulação (desnaturação proteica intra e extravascular). (ICCVAM, 2010).

O ensaio HET-CAM é um método alternativo à experimentação animal, baseado na semelhança entre a membrana corioalantóica de um ovo de galinha em desenvolvimento e a mucosa do olho humano ou de coelho, devido ao tecido vascularizado semelhante (KALWEIT et al., 1990; STEILING et al., 1999).

Para a realização desse ensaio foram utilizados três ovos embrionados com oito dias de incubação. A casca do ovo foi retirada ao redor da câmara de ar evidenciando a membrana interna. Esta foi removida cuidadosamente para a exposição da membrana corio-alantóide (CAM). Foram administrados 300µl da amostra sobre a CAM e esta foi observada e fotografada nos tempos de 0, 30, 120 e 300 segundos, a fim de identificar as alterações fisiológicas decorrentes dessa exposição, conforme demonstrado na Tabela 7. Como controle positivo foi utilizado o hidróxido de sódio 0,1 mol/L e como controle negativo o soro fisiológico.

Figura 8. Esquema do procedimento do teste HET-CAM, no qual (a) indica o recebimento dos ovos, sua verificação e armazenamento em incubadora; (b) exame dos ovos no quarto dia para verificar a existência e posição do embrião; (c) abertura da casca dos ovos e umedecimento; (d) adição do líquido da substância teste; (e) adição da substância de teste sólida; (f) fechamento da abertura com fita transparente; (g) avaliação dentro do anel quanto a danos vasculares.



Fonte: adaptado de Cazedey et al. (2009)

4.13. Toxicidade Aguda

Para esse teste foi utilizado a metodologia recomendada pela OECD 423 (2001), onde foram utilizados 03 camundongos machos, os quais receberam uma dose de 2000mg/kg em 05 doses fracionadas do extrato pulverizado das sementes de açaí (ESA), sendo após essa administração observado um intervalo de 10 minutos. Nas primeiras 12 horas os animais ficaram em observação constante, em seguida essa observação continuou por 14 dias. Esse ensaio avaliou apenas o óbito dos animais.

4.14. Teste Hipoglicemiante

Este teste foi empregado o método descrito por (SUN et al., 2015) com adaptações. Os camundongos machos foram divididos em cinco grupos de cinco animais (Grupo controle não diabético S.F.0,9% (NG), Grupo padrão metformina 200 mg/kg (MET200), Grupo diabético não tratado (CTL), Grupo (ESA200mg/kg), e Grupo ESA 400mg/kg. Após 1 semana de pré-tratamento com uma bebida hipercalórica composta com 25% de sacarose, os camundongos deverão estar em jejum de 12 horas (durante o período noturno) para realizar a coleta capilar de sangue da cauda de todos os grupos para o doseamento basal da glicose. Em seguida foram

administrada uma dose intraperitoneal de Nicotinamida (30mg/kg; diluído em salina) e após 20 minutos foi administrado a estreptozotocina (10mg/kg em 3 dias consecutivo; diluído em tampão citrato 0,1M-pH4,5). Durante a primeira semana os camundongos ficaram somente com a bebida hipercalórica, após esse período os animais tiveram acesso à ração e água “ad libidum”. Após esse foram mensuradas as glicemias e os camundongos com concentração de glicose plasmática de jejum maior ou igual a 200 mg/dl, foram considerados diabéticos e selecionados para o estudo. A partir da confirmação do diabetes o tratamento diário por gavagem foi iniciado em todos os animais durante um período de 28 dias. A cada 7 dias foi realizado a medição das glicemias. Ao final do tratamento os camundongos foram eutanasiados com Cetamina e Xilazina (2:1) 100/50 mg/kg e o sangue foi coletado por punção cardíaca para a realização das análises bioquímicas. Em seguida foram retirados o fígado e os rins para a análise histopatológica.

4.15. Análises Bioquímicas

Amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca no final do tratamento, antes de realizar a eutanásia para determinação das análises bioquímicas, glicemia, ALT, AST, Ácido úrico, Creatinina e Ureia). As análises foram realizadas utilizando um analisador bioquímico automático Chem WellModel 2910; AWARENESS TECHNOLOGY, INC e Kits Comerciais disponíveis.

4.16. Análises Histopatológicas

Amostras de tecido hepático e renal de cada camundongo foram tratadas e fixadas em lâminas e foram avaliadas quando aos aspectos inflamatórios e necróticos do tecido em busca de sinais de toxicidade pelo uso do extrato pulverizado das sementes torradas de açai. (JIAO et al., 2017).

4.17. Aspectos Éticos e legais

4.17.1. CEUA

Como essa pesquisa envolve a utilização de animais de laboratório, mais especificamente camundongos c57bL/6 isogênico, foi solicitado junto a CEUA/UFAM a sua aprovação, sendo aprovado sob o processo SEI nº 23105.035865/2023-19

4.17.2. SISGEN

O Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio e do Conhecimento Tradicional Associado – SISGEN, é uma plataforma eletrônica na qual é obrigatório o cadastramento de pesquisas (experimentais ou teóricas) na qual estejam sendo empregados componentes da biodiversidade brasileira ou que envolva o conhecimento tradicional associado. Portanto, a pesquisa foi cadastrada nessa plataforma sob o nº A9B0E76 onde consta as coordenadas geográficas (Latitude 3° 46'S, Longitude 60° 22'0, Altitude 27) do local de coleta das sementes de açaí, conforme determina a Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

4.18. Análise dos dados

Os dados obtidos foram analisados utilizando o software GraphPad versão 6.0 e expressos como média $\pm$ E.P.M. (Erro Padrão da Média). As diferenças estatisticamente significativas entre os grupos serão calculadas pela aplicação de uma análise de variância (ANOVA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização Físico-Química da Matéria Prima Vegetal

5.1.1. Perda por Dessecação e Granulometria

A determinação do tamanho das partículas da matéria prima vegetal é um fator importante, pois quanto maior o tamanho da partícula, menor será sua absorção, podendo influenciar na digestibilidade, diminuindo assim seu efeito aos animais que a utilizarem (ZANOTTO e BELLAYER, 1996).

A produção dos derivados vegetais depende dos constituintes da matéria prima vegetal (MPV), portanto, diversos parâmetros como os aspectos físico-químicos, umidade, armazenamento e a granulometria precisam ser bem definidos para que os produtos elaborados a partir da MPV estejam de acordo com as determinações da Farmacopeia Brasileira.

Tabela 9. Análises realizadas na matéria prima vegetal e sua classificação segundo a Farmacopeia Brasileira (2019)

Análises	Resultados $X \pm s$ (CV%)	Referência
Perda por dessecação (%)	8,40% $\pm$ 0,05	8 a 14% (BRASIL, 2019)
Granulometria	Pó moderadamente fino	FARMACOPEIA BRASILEIRA (2019)
	462,5 μ m	200 μ m < x < 800 μ m (VOIGT; BORNSCHEIN, 1982).

A umidade pode influenciar diretamente nas propriedades físicas, químicas e térmicas de um composto, além de interferir nas respostas mecânicas, isso ocorre devido a quantidade de vazios existentes nas partículas e de sua área de contato, ou seja, o seu comportamento de adesão e interação com a matriz.

Após o devido processo de limpeza da matéria prima vegetal, ela foi levada a estufa de ar circulante a 45°C para a realização da secagem até que fosse estabilizado a umidade residual, sendo essa etapa crítica, pois a umidade elevada pode permitir o crescimento bacteriano, além de degradar os princípios ativos, acelerando assim a degradação da matéria prima vegetal. Após esse processo foi determinado o teor de umidade tendo ela um percentual de 8,4% $\pm$ 0,05 sendo esse percentual menor que 14%, que é a faixa de recomendação para drogas vegetais no Brasil (8 a 14%) (BRASIL, 2019).

O ensaio para determinar o percentual de umidade foi realizado em triplicata em uma balança de infravermelho, a uma temperatura de 105°C, tendo como peso da amostra, 0,500mg e tempo de 5 minutos, apresentando um teor médio de umidade de 8,40% $\pm$ 0,05 conforme demonstrado na tabela 9, indicando que a matéria prima vegetal é viável do ponto de vista da sua estabilidade e qualidade, haja visto que um alto teor de umidade pode afetar o tempo de uso desse produto bem como a proliferação de microrganismos, inviabilizando assim o seu uso.

A determinação do teor de umidade é uma variável importante para o armazenamento e conservação de um produto, pois níveis elevados de umidade podem proporcionar o crescimento de fungos e micotoxinas. Portanto a secagem adequada de produtos de origem vegetal é de extrema relevância na caracterização físico-química (HADARUGA et al., 2016).

Segundo Alves et al. (2010) a quantificação do teor de água residual em drogas vegetais é um indicador da qualidade de sua preparação e conservação. As farmacopeias estabelecem um limite de 8% a 14%, sinalizando uma boa conservação e secagem eficiente da matéria-prima vegetal. Esta determinação é relevante para o controle de qualidade microbiológico, pois um excesso de água na droga vegetal pode promover o crescimento de fungos e bactérias, além de resultar na hidrólise de seus constituintes (SHARAPIN, 2000).

5.1.2. Granulometria

Para determinação da granulometria, as sementes de açaí foram levadas ao moinho de facas com o objetivo de reduzir mecanicamente a matéria prima vegetal. As sementes de *Euterpe* sp. foram submetidas a tamisação em agitador mecânico afim de se determinar a distribuição granulométrica, conforme os resultados apresentados no histograma na Figura 9, que mostra como as partículas se distribuíram. Foi possível observar que as partículas com diâmetro médio de 0,5 μ m apresentaram alta fração de retenção e baixa fração de passagem, enquanto as partículas de 0,8 e 0,9 μ m ficaram menos retidas e apresentaram uma alta fração de passagem. Sendo assim conforme os resultados apresentados podemos caracterizar o ESA como um pó fino (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

Pode-se observar no histograma mostrado na Figura 9, o tamanho das partículas nas variadas faixas de abertura das malhas dos tamises, na abertura de 250 μ m houve maior concentração de partículas de 22,4g representando 20% da frequência retida, na faixa de 600-500 μ m atingiu-se a segunda a maior concentração de retenção, sendo 19,96g e na faixa de abertura 1000-850 μ m obteve a menor concentração de retenção de partículas representando 3,04g, portanto, sendo considerada uma partícula fina segundo a Farmacopeia Brasileira (2019).

Figura 9. Distribuição granulométrica das sementes torradas de *Euterpe* sp., visando a caracterização da matéria prima vegetal, podendo ela influenciar na digestibilidade dos nutrientes, tendo como principal consequência a maximização da absorção dos nutrientes pelo organismo do animal.

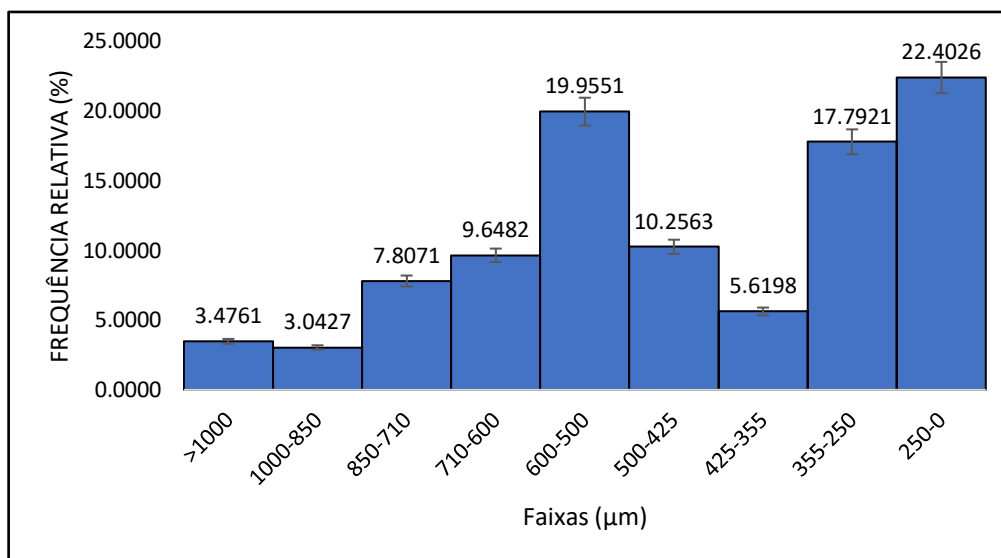
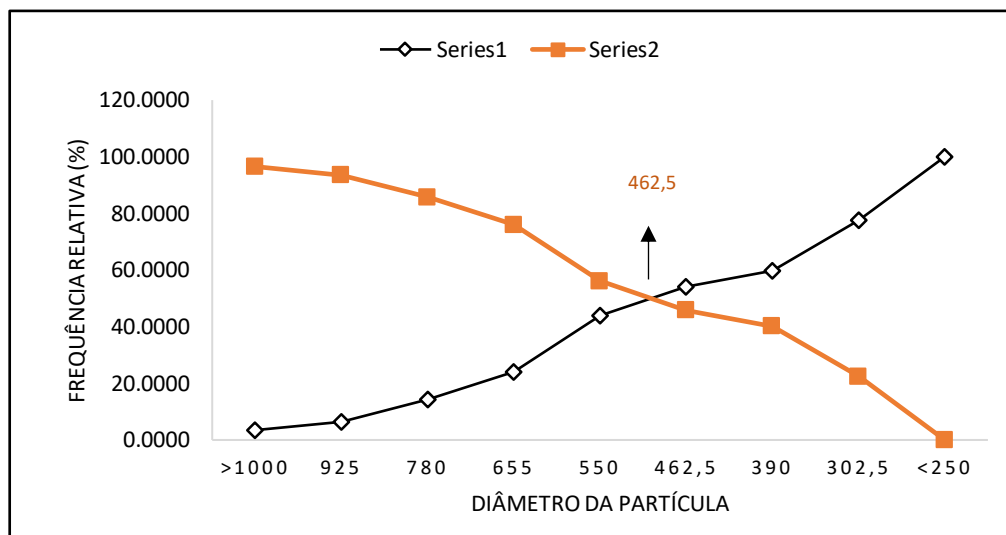


Figura 10. Curva de retenção e passagem da MPV, cuja finalidade é assegurar a reprodutibilidade do processo extrativo, pois a superfície de contato entre o líquido extrator e a droga vegetal tem impacto significativo na eficiência do processo de extração.



O diâmetro médio das partículas das sementes de *Euterpe* sp. foi estabelecido como 462,4μm por meio da análise das curvas de retenção e passagem. Esta determinação é essencial para assegurar a reprodutibilidade do processo extrativo, dado que a superfície de contato entre o líquido extrator e a droga vegetal tem um impacto significativo na eficiência da extração.

A determinação da distribuição granulométrica tem efetiva participação como uma das análises realizadas na caracterização da matéria prima vegetal, sendo necessário estar dentro das especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (ALVES et. al., 2010), haja visto

que ela pode influenciar na digestibilidade dos nutrientes, e portanto, tem como principal consequência a maximização da absorção dos nutrientes pelo organismo do animal (ZANOTTO e BELLAVER, 1996).

Ao se determinar o tamanho partícula podemos validar a reprodutibilidade do processo extrativo, pois a superfície de contato entre o líquido extrator e a droga vegetal influencia diretamente no processo extrativo (LIST e SCHMIDT, 1989). Voigt e Bornschein (1982) afirmam que partículas vegetais menores que 200 μ podem prejudicar a filtração e o conteúdo ativo. Quando ocorre o contrário, ou seja, quando o tamanho das partículas é muito grande (superior a 800 μ m), pode haver comprometimento do processo de extração. Isso se deve ao fato de que o líquido extrator não consegue penetrar em todas as células do tecido vegetal.

5.1.3. Determinação do Resíduo Seco

Através da realização do resíduo seco de uma substância vegetal, é possível inferir no rendimento da operação de secagem, efetuando o cálculo em relação à massa teórica de sólidos totais presentes na amostra. Portanto, o resultado da amostra analisada demonstrou um percentual de resíduo seco de $0,1179 \pm 0,04$ g%, definindo que em 100g da solução extrativa de origem há uma solução com 0,1179g de sólidos solúveis.

Tabela 10. Determinação do Resíduo seco nas sementes torradas de *Euterpe* sp., após a perda por dessecação

Análise	Resultado	Referência
Resíduo seco (%)	$0,1179\% \pm 0,04$	RDC 263 DE SETEMBRO DE 2005 (BRASIL, 2005)

Avaliar o percentual de resíduo seco em amostras de produtos naturais é de suma importância para se determinar a qualidade e a conservação desses produtos. Isso porque a quantidade de água presente nos vegetais afeta diretamente a durabilidade, o sabor e a textura dos produtos. Ao determinar o percentual o resíduo seco, é possível identificar a concentração de nutrientes e compostos bioativos, garantindo que o consumidor final obtenha um produto de alta qualidade e com maior valor nutricional.

Em um estudo realizado por Barakat (2016) com vagens de jucá, foi detectado resultado de resíduo seco com um percentual de 2,32g% a 2,77g% de sólidos solúveis nas amostras avaliadas. Para que uma farinha esteja dentro dos padrões recomendados a RDC 263 de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005) estabelece que o resíduo seco deve apresentar um teor máximo de umidade de 15%. (BARROS et al., 2021).

5.1.4. Rendimento do Extrato Pulverizado em Spray Dryer

O rendimento do extrato foi obtido através da pesagem do material obtido no final do processo de secagem no Spray Dryer e comparado com o teor de sólidos contidos na solução extrativa antes da secagem, onde também foi incluído o percentual de adjuvante adicionado, apresentando um rendimento de 0,4%, conforme o cálculo obtido pela fórmula.

$$\text{Rendimento (\%)} = \text{RT}/\text{Msd} \times 100$$

onde: RT = rendimento teórico; Msd = massa obtida no coletor do Spray Dryer

Tabela 11. Percentual de rendimento do extrato seco das sementes de açaí adicionado de Dióxido de Silício Coloidal após a pulverização em *Spray Dryer*

Extrato	Gramas	Percentual de rendimento
Extrato da semente de açaí + Dióxido de silício coloidal	4,36	0,4%

5.1.5. Determinação de Proteínas no Extrato Pulverizado

As proteínas são determinadas avaliando-se o nitrogênio total da amostra pelo método Khjedal. O termo proteína bruto (ou total) envolve muitas substâncias com estruturas semelhantes, porém com funções fisiológicas diferentes. Baseado no fato de as proteínas terem porcentagem de nitrogênio quase constante, em torno de 16%, o que se faz é determinar o nitrogênio por meio de um fator de conversão (fator geral = 6,25), calculado tomando-se como base o valor médio de 16% de teor de nitrogênio contido na maioria das substâncias para transformar o resultado em proteína bruta. No método Khjedal determina-se o nitrogênio contido na matéria orgânica, incluindo o nitrogênio proteico propriamente dito e outros compostos nitrogenados não proteicos, tais como aminas, amidas, lecitina, nitrilas, aminoácidos. Então após a determinação da proteína foi obtido um total de 4,32% de proteína bruta nas sementes torradas e pulverizadas de *Euterpe* sp.

Em estudo realizado por Barros et al. (2021) onde avaliou-se o teor de proteínas na farinha do caroço de açaí, teve como resultado 6,65^(g 100g⁻¹), portanto, esse resultado difere do resultado apresentado pelo nosso estudo que foi de 4,32^(g 100g⁻¹). Segundo Brasil (2012), para que uma farinha seja considerada rica em proteína, ela deve conter no mínimo 6g/100g.

5.2. Determinação do Teor de Fibras no Extrato Pulverizado

As sementes de açaí apresentaram um teor de fibras totais de 5,42g/100g conforme apresentado na tabela abaixo. De acordo com o Instituto de Medicina (2010), um estudo realizado com farinha de açaí identificou que as recomendações diárias de fibras para homens e mulheres com idades entre 19 e 50 anos variam de 25 a 38g/dia. Portanto, 100g da farinha da semente de açaí fornecem 88% dessa recomendação. Nota-se que as fibras insolúveis predominam em todas as frações estudadas. Portanto, os resultados obtidos estão abaixo das recomendações diárias.

O comportamento das fibras foi verificado em um estudo sobre a polpa de açaí, conduzido por Maria do Socorro et al. (2011). A presença de fibra insolúvel (64,49 g/100g) foi significativamente maior em comparação com a fibra solúvel (2,75 g/100g). Os resíduos dessas digestões representam a fibra bruta. O resíduo da incineração desse material fornece os subsídios para o cálculo da fração fibra. O teor de fibra em alimentos varia de acordo com sua origem, com teores médios entre 0,5% a 1,5% em alimentos de origem vegetal e em teores praticamente inexistentes em alimentos de origem animal.

5.3. Determinação do Teor de Cinzas Totais no Extrato Pulverizado

As cinzas são compostas principalmente por resíduos inorgânicos que são resultantes do processo de queima da matéria orgânica, e são constituídas principalmente por elementos como potássio, sódio, cálcio, silício e magnésio, apresenta ainda em menor proporção elementos como alumínio, cobre, ferro, manganês e zinco. Através do teor de cinzas podemos avaliar o potencial energético de uma matéria prima vegetal (MPV), podendo inferir que quanto maior o teor de cinzas menor é o potencial energético, devido a menor quantidade de matéria orgânica.

Para se determinar o teor de cinzas as análises foram realizadas em triplicata e o resultado obtido foi de $5,2\% \pm 0,7$, conforme demonstrado nas tabelas 12 e 13. À análise de cinzas tem por finalidade determinar o percentual de substâncias inorgânicas provenientes de impurezas, entre estas as cinzas fisiológicas oriundas do tecido vegetal, e as não fisiológicas como areia, pedras ou terra aderidas a superfície da MPV.

Tabela 12. Determinação do teor de cinzas realizado em triplicata no extrato pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp.

ESA				
Nº cadinho	Peso cadinho (g)	Peso da amostra (g)	Cadinho + cinza (g)	% de cinzas
1	25,988	3,074	26,12	4,29
2	27,488	3,043	27,58	5,65
3	30,129	3,025	30,301	5,685
Média				5,21
Desvio padrão				0,79

Tabela 13. Determinação do teor de proteínas, Fibras e Cinzas presentes nas sementes torradas de *Euterpe* sp

Parâmetro	Semente de açaí
Proteínas (g 100g ⁻¹)	4,32
Fibra (g 100g ⁻¹)	5,25
Cinzas (g 100g ⁻¹)	5,2%

Os resultados obtidos diferem dos resultados apresentados por Barros et al. (2021), cujo estudo demonstrou um teor de cinzas de 1,31^(g 100g⁻¹). Em um estudo realizado por Alves (2020) foi avaliado o teor de cinzas da farinha da semente de açaí, onde o resultado apresentado foi de 1,52^(g 100g⁻¹), valor inferior ao resultado apresentado pelo nosso estudo que foi de 5,2^(g 100g⁻¹), demonstrando que o ESA apresenta um teor de cinzas superior ao encontrado na farinha da semente de açaí. O teor de cinzas recomendado pela legislação brasileira é de no máximo 4^(g 100g⁻¹) (BRASIL, 2005).

5.4. Caracterização Química do Extrato Seco

5.4.1. Determinação do Teor de Fenólicos e Flavonoides Totais

O extrato de açaí foi submetido à análise de teor de fenóis e flavonoides totais conforme demonstrado na tabela 14, evidenciando que o extrato aquoso de açaí apresentou maior teor de fenóis maior do que o de flavonoides.

Tabela 14. Quantificação do total de fenóis e flavonoides do extrato aquoso da semente de *E. precatoria*. Os resultados são expressos em porcentual (%), em mg eq Ac Gálico/ga e mg eq Quercetina/g. Cada dado representa à média e o desvio padrão (DP) do extrato em triplicata.

Amostra	% de fenóis meq Ac. Gálico/g	Fenóis totais	Flavonoides Totais % flavonoides	Meq Quercetina
ESA	6,21 ± 0,29	218,95±3,59	5,15 ± 3,9	275 ± 0,05

5.4.2. Fenólicos

Extratos de frutos ricos em polifenóis demonstraram que são capazes de melhorar a performance física em ratos, tendo como principal mecanismo a melhora na perfusão sanguínea e o efeito antioxidante (R.E et al., 2020). Em um estudo realizado por Trindade et al. (2019) com camundongos *in vivo* avaliando os efeitos antiadipogênicos da semente de açaí, foi detectada a presença de compostos fenólicos que exercem atividades biológicas importantes, incluindo a propriedade antiobesidade.

O açaí apresenta uma composição química diversa, onde substâncias como os compostos fenólicos e as antocianinas se destacam. Os principais polifenóis presentes na semente de açaí são a proantocianidinas e a epicatequina, as quais pertencem a classe dos taninos (VIEIRA et al., 2024). Em outro estudo realizado por Barros et al. (2015) avaliando a bioatividade *in vitro* do extrato aquoso da semente de açaí, as proantocianidinas também foram detectadas como principal antioxidante, sendo o tetrâmero de catequina do tipo B o mais abundante (BARROS et al., 2015).

Essa assertiva também corrobora com outro estudo realizado por De Moura et al. (2012), onde foi demonstrado que a semente de açaí é rica em catequinas e protocianidinas revelando potenciais atividades biológicas contra a inalação crônica de fumaça de cigarros em vários modelos experimentais *in vivo* e *in vitro*. Outra propriedade detectada, através da análise do

óleo da semente de açaí da espécie *Euterpe oleracea* foi a eficácia inibitória contra cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, que são causadoras de várias patologias em humanos (FILHO et al., 2012).

5.4.3. Flavonoides

Um estudo *in vivo* realizado com camundongos machos (C57BL/6), ficou comprovado que nos animais que foram tratados com o extrato da semente de açaí houve a redução da dislipidemia da adiposidade e obesidade, isso em virtude de o extrato apresentar em sua composição flavonoides (BARCELLOS et al., 2020). As antocianinas são responsáveis pelo poder antioxidante conferido ao açaí, sendo atribuído ao açaí a denominação de alimento funcional (PORTINHO et al., 2012).

Comprovadamente os flavonoides possuem uma grande quantidade de propriedades farmacológicas que tem ação sobre os diversos sistemas biológicos, tendo como principal consequência à atuação de forma benéfica na saúde humana (ALVES e MENDONÇA, 2011). As antocianinas apresentam propriedades anticarcinogênica, anti-inflamatória e antimicrobiana, que atuam sobre oxidação das proteínas prevenindo a ocorrência de eventos cardiovasculares e o desenvolvimento de doenças neurológicas (MENEZES, 2008; PÉREZ-TORRES et al., 2021).

Em estudo realizado por Ribeiro et al. (2018) utilizando o endocarpo do fruto do açaí, comprovou-se que o mesmo apresenta uma grande quantidade de antocianinas e que podem ser grande utilidade na indústria farmacêutica, haja visto que a região norte apresenta uma grande quantidade desse resíduo agroindustrial.

5.4.4. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC

O extrato seco das sementes de açaí pulverizadas sob condições otimizadas apresentara um conteúdo considerável de compostos fenólicos, principalmente da epicatequina, conforme o cromatograma apresentado na figura 18, onde o pico característico da epicatequina apresentou um tempo de retenção 11,80 minutos, semelhante ao apresentado pelo padrão da epicatequina que foi de 11,00 minutos, apresentando uma concentração de 12mg/g.

Figura 11. Cromatograma do extrato das sementes de açaí torradas e pulverizadas realizado em HPLC-DAD com identificação e quantificação de compostos fenólicos, empregando o método adotado por Leão (2001) com as devidas modificações sendo os compostos químicos separados em uma coluna Synergi Hidro C18 (4 mm, 150 cm x 4,6 mm, Phenomenex) em 0,7 mL/min de fluxo, com temperatura da coluna de 29°C, utilizando um gradiente linear de água: ácido fórmico (99,5: 0,5, v/v) (solvente A) e acetonitrila: ácido fórmico (99,5:0,5, v/v) (solvente B), como a fase móvel em gradiente de A: B de 99:1 a 50:50 em 30 min, depois de 50:50 a 1:99, em 15 min.

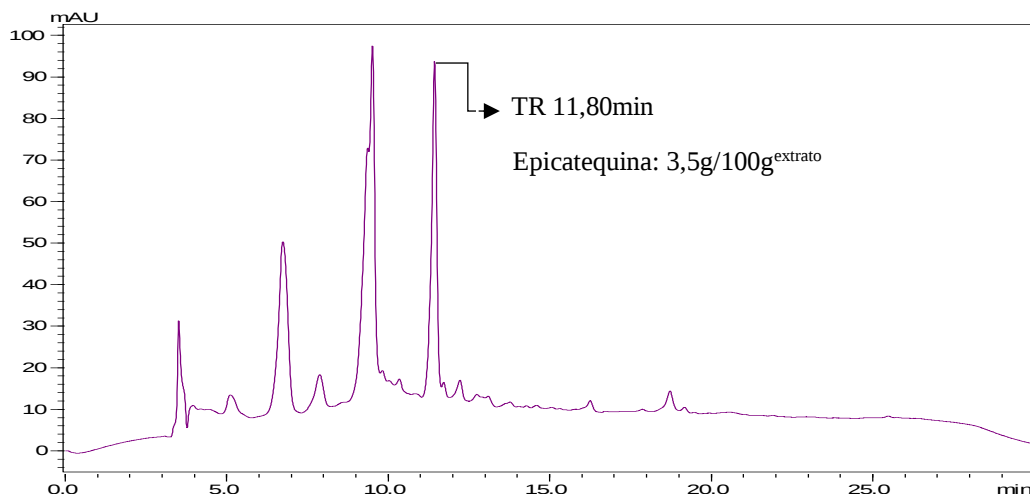
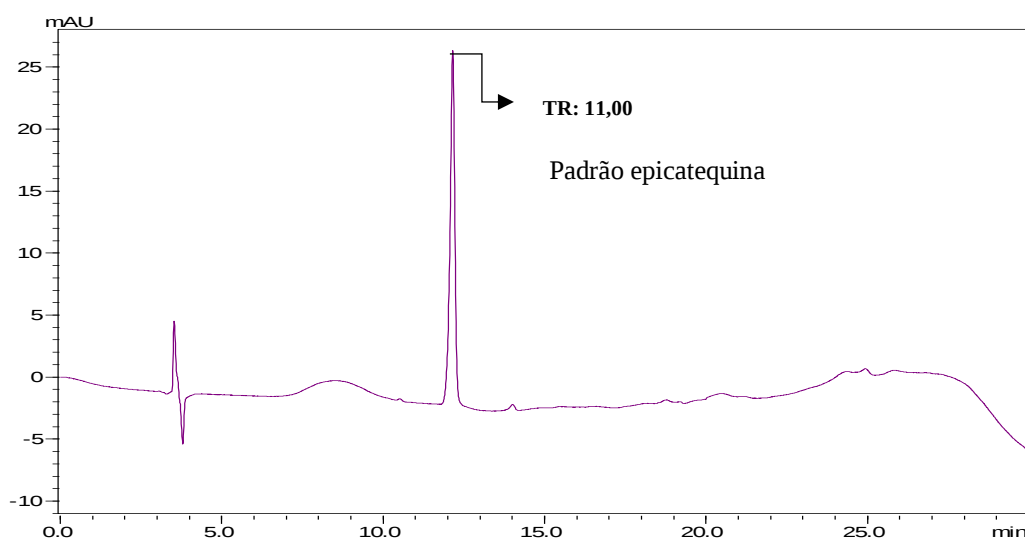


Figura 12. Cromatograma da substância de referência epicatequina (padrão), sendo a quantificação realizada pela comparação entre o padrão externo, empregando seis curvas analíticas, sendo o procedimento realizado em triplicata.

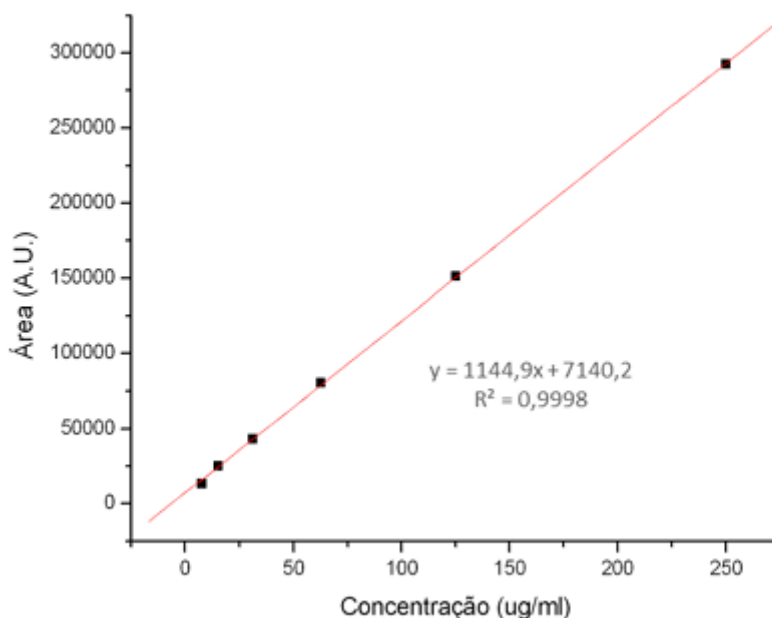


A Figura 13 mostra a curva de calibração do padrão de epicatequina em metanol grau HPLC, baseada nas medidas de absorbância em 254 nm para diluições com concentrações de 250, 125, 62,5, 31,25, 15,125 e 7,6125 µg/ml. A equação da reta obtida foi $Y = 1145920,59X + 6963,08$, com um coeficiente de correlação de $R^2 = 0,9998$, indicando correlação linear positiva entre a concentração e a absorbância.

A partir da curva de calibração (equação farmacopeica) conforme demonstrado na figura 13, foi possível determinar o percentual de epicatequina, demonstrando que a semente de açaí é uma matéria prima vegetal rica nesse composto, com comprovada atividade antioxidante tendo como consequência dessa atividade vários efeitos biológicos importantes atribuídos a ela.

Através do cálculo da reta, e levando em consideração à área do pico do extrato pulverizado das sementes torradas de açaí, sendo de (46576 a 1000 µg/ml), podemos inferir que o percentual de epicatequina no extrato seco da semente é de aproximadamente 3,5%, logo podemos deduzir que a cada 100g de extrato obtivemos 3,5g de epicatequina.

Figura 13. Curva de calibração do padrão da epicatequina realizado em uma coluna Synergi Hidro C18 (4 mm, 150 cm x 4,6 mm, Phenomenex) em comprimento de onda de 254nm.



A variabilidade das condições de extração, o local de coleta da matéria prima vegetal e a estação do ano na qual se coleta a matéria prima, pode influenciar diretamente no conteúdo de compostos fenólicos. Segundo Melo et al. (2021), o alto teor de compostos fenólicos está associado a diversos efeitos biológicos benéficos, que podem atuar na proteção das células contra o estresse oxidativo, redução da produção de substâncias inflamatórias, atividade antimicrobiana e até mesmo atividade antitumoral. Os principais compostos fenólicos presentes na semente de açaí são as procianidinas B1 (16,08mg/g), em seguida a catequina com (15,66mg/g), epicatequina (5,32mg/g) e a procianidina B2 com (1,49mg/g) (DI MATTIA et al., 2014).

Em uma pesquisa realizada por Pedralli et al. (2020) o teor de compostos fenólicos das sementes de uva foi comparado com os das sementes de açaí, e os resultados demonstraram que as sementes de açaí apresentaram um teor de compostos fenólicos maior do que os encontrados nas sementes de uva, resultados estes semelhantes aos achados de Rochemback et al. (2021), onde os compostos fenólicos das sementes de uvas Pinnot noir foram menos significativos do que os das sementes de açaí.

Quando comparado o teor de compostos fenólicos das sementes de açaí com os encontrados nas sementes de guaraná, comprovou-se que, com exceção da procianidina B1, outros compostos fenólicos como a catequina e a epicatequina apresentaram maior teor nas sementes de açaí (MENDES et al., 2019), contrastando com os resultados obtidos por Luo et al. (2020) onde o teor catequina e epicatequina foi maior no chá verde do que o detectado nas sementes de açaí. A epicatequina, a catequina e as procianidinas são os principais compostos fenólicos presentes na semente de açaí, além do ácido gálico (SOARES et al., 2017), e além de ações antioxidantes e anti-inflamatória, esses compostos também estão associados a atividade cardioprotetora, neuroprotetora e antimicrobiana (VIDAL et al., 2004; AEDÍN et al., 2016).

5.4.5. Análise por Espectrometria de Massa MS/MS

A epicatequina e a catequina são considerados isômeros, pois apresentam a mesma massa molar (m/z 289), diferindo uma da outra apenas em relação a luz polarizada da hidroxila no sentido anti-horário (levogiro) e no sentido horário (dextrogiro). Sendo assim esses isômeros apresentam os mesmos fragmentos.

Ao analisar os espectros de massa no modo negativo foi possível observar a presença de compostos fenólicos, em especial da catequina e epicatequina, onde os picos correspondentes foram observados em m/z 289,977 e 289,096 o qual possivelmente correspondem aos picos desses compostos, um importante antioxidante com propriedades biológicas. A identificação foi realizada comparando os espectros no programa MestReNova x64, onde observou-se os espectros 289,977 e 289,086 como sendo possivelmente da epicatequina, pois a mesma quando analisada no modo negativo perde um H^+ .

Figura 14. Espectros completos do extrato pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp. foram obtidos utilizando a metodologia adotada por Lopes (2023). O extrato pulverizado das sementes de açaí foi solubilizado em metanol HPLC, gerando soluções estoque de 1000 ppm. Aliquotas (10 µL) dessas soluções foram transferidas para vials contendo 1 mL de MeOH.

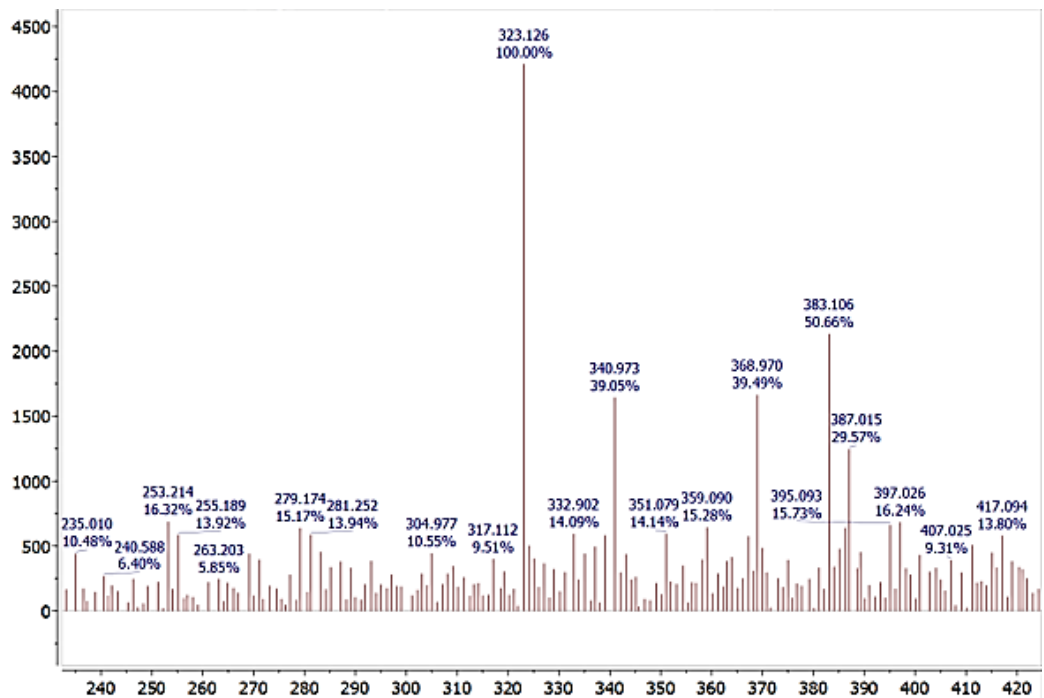


Figura 15. Espectros fragmentados e avaliados tendo como amostra o extrato pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp., analisadas por inserção direta no espectrômetro de massas do tipo *ion trap*, modelo LCQ Fleet, equipado com fonte APCI operando nos modos positivo e negativo.

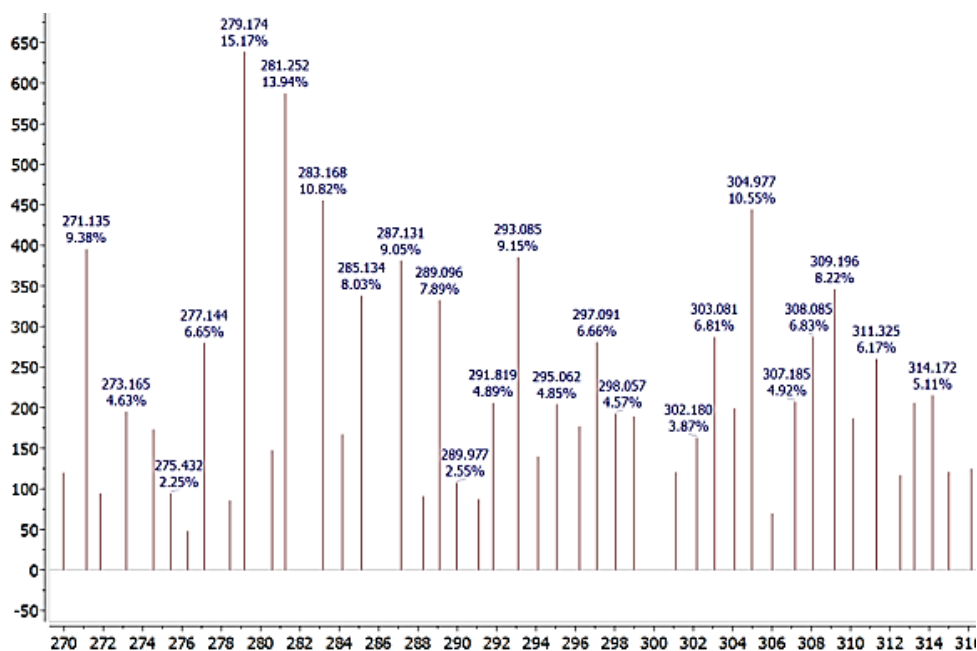
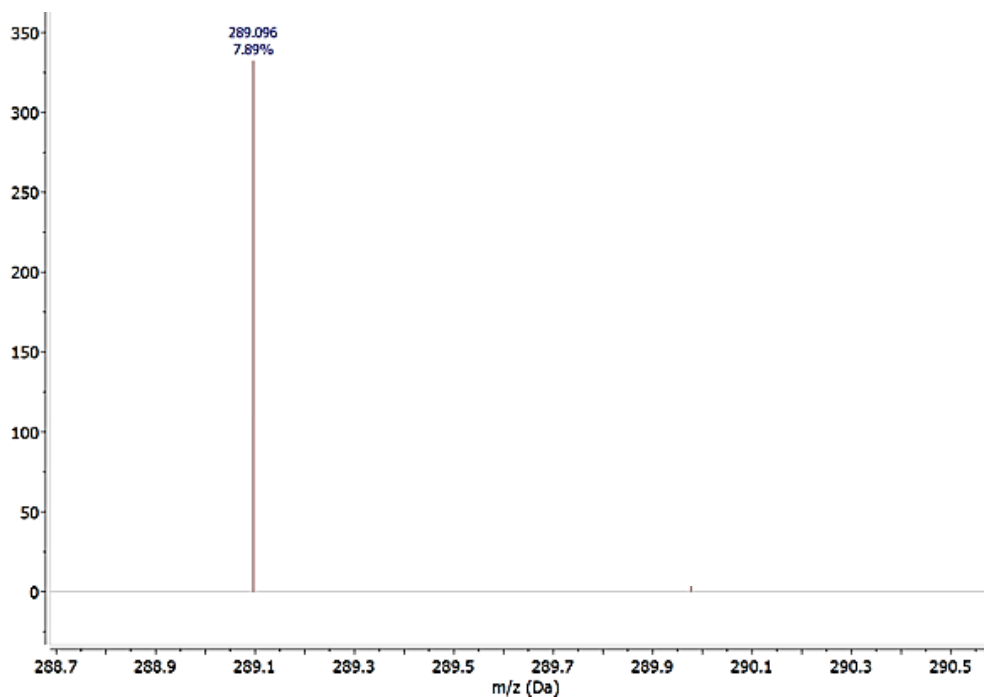


Figura 16. Espectros isolados das sementes torradas de *Euterpe* sp. sendo a amostra analisada por inserção direta em espectrômetro de massas do tipo *ion trap*, modelo LCQ Fleet, equipado com fonte APCI operando nos modos positivo e negativo.



A caracterização do extrato da semente de *Euterpe* sp. e suas frações foi realizada por meio de análises de MS/MS. Os compostos foram identificados pela similaridade dos íons moleculares com dados da literatura e pelo programa MestReNova x64.

Segundo Santana (2017) a fragmentação quando realizada no modo positivo apresenta como pico característico da epicatequina 291m/z, corroborando com o nosso estudo, onde identificou-se no modo negativo os íons característicos 289,096 e 289,977m/z indicando a perda de grupos hidroxila e rearranjos estruturais, sugerindo a presença da epicatequina na semente de açaí, além disso indica que os padrões de fragmentação são consistentes com estudos anteriores sobre a identificação de compostos fenólicos.

Os resultados indicam que a epicatequina é um dos principais compostos fenólicos das sementes de açaí, reforçando seu potencial bioativo. Estudos anteriores já demonstraram que esse flavonoide pode ter efeitos benéficos na saúde cardiovascular e na modulação da resposta inflamatória. A presença desse composto nas sementes sugere que esse subproduto do processamento do açaí pode ser aproveitado na formulação de suplementos funcionais.

Diante da composição química, futuras pesquisas podem explorar métodos de extração e purificação da epicatequina para aplicações industriais. A espectrometria de massa se mostrou uma ferramenta essencial para caracterizar esse composto com alta precisão. Esses achados contribuem para o entendimento da química das sementes de açaí e incentivam seu aproveitamento em produtos de alto valor agregado.

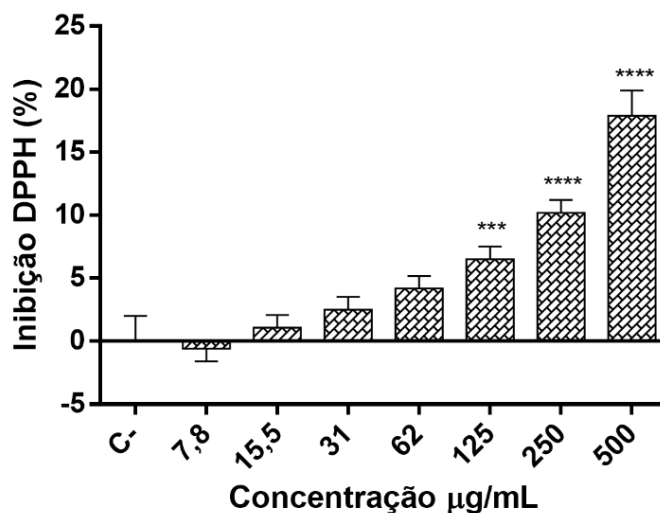
5.5. Atividades Biológicas in vitro

5.5.1. Atividade Sequestrante do Radical DPPH

O extrato pulverizado das sementes torradas de açaí fora submetido aos testes antioxidantes DPPH e ABTS. Os resultados da atividade antioxidante do ESA foram expressos em percentual de inibição da oxidação e a concentração do extrato em mg/ml, necessária para atingir 50% de atividade sequestrante dos radicais DPPH e ABTS (IC_{50}) sendo calculada em seguida. A figura 17 mostra a atividade antioxidante do ESA conforme sua concentração.

O teste do DPPH mostrou que a atividade antioxidante do ESA é dose-dependente, indicando que quanto maior a concentração do extrato, maior inibição dos radicais DPPH. Porém, sugere-se uma concentração inibitória 50% (CI_{50}) $>500 \mu\text{g/mL}$, indicando que o potencial antioxidante do ESA é reduzido, pois, segundo Kedare e Singh (2011) para que uma substância apresente um potencial antioxidante significativo a IC_{50} deverá ser $<10\mu\text{g/ml}$.

Figura 17. Efeito antioxidante do extrato seco da semente do açaí nas concentrações de 7,8 a 500 $\mu\text{g/mL}$. Usou-se o método DPPH no teste. Cada valor é a média $\pm$ D.P.M. de três experimentos independentes. A análise estatística foi realizada usando o teste de comparações múltiplas Two way e teste Tukey – $p < 0,05$, quando comparados com negativo.



O DPPH avalia a habilidade que as substâncias têm de sequestrar o radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e está baseado no descolorimento de uma solução composta pelo radical estável DPPH, de cor violeta, quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio, segundo Brand-Williams et al. (1995).

O DPPH e o ABTS são métodos baseados em transferência de elétrons, que têm sido frequentemente empregados para avaliar a atividade antioxidante em extratos vegetais, principalmente devido à sua simplicidade, disponibilidade e reprodutibilidade, o que explica sua popularidade e amplo emprego na pesquisa por antioxidantes de origem natural. O DPPH é utilizado na busca por substâncias lipofílicas, já o ABTS por substâncias hidrofílicas. No entanto, os protocolos mais utilizados para esses ensaios apresentam limitações, principalmente no que diz respeito à cinética da reação (excesso de radical, concentração de antioxidante, tempos de incubação e solventes de reação), o que pode afetar quantitativa e qualitativamente a determinação da atividade antioxidante. (MARTINS et al, 2022).

Poucos estudos estão disponíveis na investigação científica das sementes de açaí. No entanto, em estudo prospectivo com 37 plantas orientais e tropicais empregadas na medicina popular, foi demonstrado que a semente de *E. oleracea* estava entre as que apresentavam os maiores percentuais de antioxidantes quando avaliadas pelo método DPPH (BARROS et al, 2015).

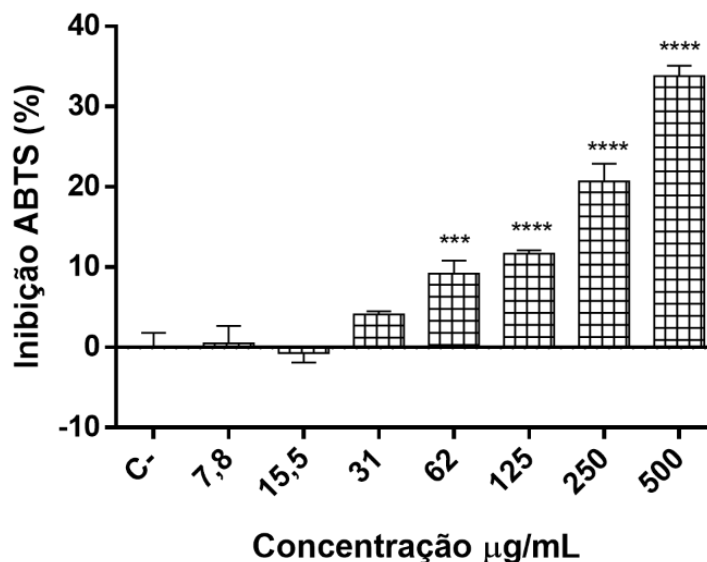
O mesmo estudo avaliou a capacidade antioxidante de sementes de *E. oleracea* e relatara a presença de ácido protocatecuico, epicatequina e cinco procianidinas oligoméricas de dímero a pentâmero. Eles descobriram que os extratos de sementes possuíam atividade eliminadora relevante contra radicais peroxil, peroxinitrito e hidroxila semelhante ou superior à polpa, que associaram às procianidinas detectadas (BARROS et al., 2015).

5.5.2. Atividade Sequestrante do Radical ABTS⁺

A capacidade antioxidante foi quantificada em uma microplaca de 96 poços. Para isso, o radical ABTS foi diluído em água Milli-Q e oxidado previamente com uma solução de persulfato de potássio a 5 mM, incubada por 5 minutos sob agitação. Após isso, foi adicionada em cada poço 30 µL da amostra do extrato seco da semente do açaí nas concentrações de 7,8 a 500 µg/mL, e foram adicionados 270 µL da solução de ABTS⁺. Após 15 minutos de reação, a absorbância foi mensurada em um leitor de microplacas a 630 nm. Os experimentos foram realizados em triplicata, e a partir dos dados obtidos foi calculado a porcentagem de ABTS⁺ remanescente na solução reacional.

Foi observado que o ESA inibiu as moléculas oxidativas do ABTS nas maiores concentrações quando comparadas com o controle negativo (C-), sugerindo assim, uma CI₅₀ >500 µg/mL, demonstrando que o ESA apresenta uma atividade antioxidante dose dependente sobre o radical ABTS, ou seja, quanto maior a concentração maior será o percentual de inibição.

Figura 18. Efeito antioxidante do extrato seco da semente do açaí nas concentrações de 7,8 a 500 µg/mL. Cada valor é a média ± D.P.M. de três experimentos independentes. A análise estatística foi realizada usando o teste de comparações múltiplas ANOVA Two-way seguido do pós-hoc de Tukey – $p < 0,05$, quando comparados com negativo.



O ABTS (2,2-azino-bis (ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) baseia-se na habilidade que os antioxidantes têm de capturar o cátion $ABTS^{\bullet+}$. E, em virtude dessa captura ocorre o decréscimo da absorbância, a partir da mistura do radical com o antioxidante, apresentando cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do $ABTS^{\bullet+}$ a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional. Esse método é mais vantajoso em relação aos demais, pois pode ser usado em substâncias hidrossolúveis como lipossolúveis, e tem sido utilizado na avaliação antioxidante de frutos como açaí, goiaba, camu-camu, maracujá, pitanga e entre outros (SUCUPIRA et al, 2012).

A capacidade antioxidante encontrada nos alimentos é composta por vários bioativos que apresentam diferentes mecanismos de ação e interações sinérgicas, sendo necessário combinar vários testes antioxidantes. Em um estudo realizado por Martinez et al. (2018) empregando extrato da semente de açaí (100 µg/mL), foi mostrada uma redução acentuada no radical DPPH ($92,05 \pm 2,56\%$) e no método ABTS ($566,01 \pm 43,24 \mu\text{M TEAC}/\mu\text{g}$). Segundo Kedare e Singh (2011), quanto maior a atividade antioxidante, menor é o valor de CI50.

5.5.3. Atividade Antiglicante da Via Oxidativa e não Oxidativa

O extrato de açaí foi submetido ao teste de atividade antiglicante das vias oxidativa e não oxidativa, utilizando como padrão da via oxidativa a quercetina, e da via não oxidativa à aminoguanidina. Os resultados estão apresentados na tabela abaixo, onde constatou-se que o extrato seco da semente de açaí não apresentou atividade antiglicante em ambas as vias avaliadas.

Tabela 15. Avaliação da atividade antiglicante do extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí sobre as vias oxidativa e não oxidativa, dados expressos em percentual de inibição
– $p < 0,05$, quando comparados com negativo.

AMOSTRAS	GLICAÇÃO OXIDATIVA (%)	GLICAÇÃO NÃO-OXIDATIVA (%)
ESA	4,1 ± 0,6	9,5 ± 1,8
Quercetina	89,1 ± 1,5	
Aminoguanidina		86,3 ± 1,7

A quercetina apresentou 89% de inibição na via oxidativa e 86% na via não oxidativa, enquanto os extratos apresentaram os seguintes percentuais de inibição: ESA – 4,1% e 9,5%, relativos à via oxidativa e via não oxidativa, Estudos relatam que para ser considerado um anti-AGE a substância deverá apresentar 50% de inibição (BRASIL, 2012; JHAUMEER-LAULLO et al., 2012; ZHANG et al., 2015).

Esse teste baseia-se na capacidade de inibição que uma amostra possui quando submetida a reação de glicação da proteína albumina (BSA) com o Metilglioxal (MGO), uma espécie reativa de carbonila com potente ação de glicação. Esta inibição é medida por fluorescência 31 (FRAIGE et al., 2018; LUNCEFORD e GUGLIUCCI, 2005).

Ademais, segundo Gugliucci et al. (2009) e Beaulieu et al. (2010) há uma correlação da alta capacidade antioxidante com a antiglicação, sendo possível associar a baixa capacidade antiglicante das amostras com sua baixa atividade antioxidante, corroborando com os resultados aqui apresentados.

O processo de glicação é irreversível e ocorre de forma muito comum em pacientes que desenvolvem o Diabetes Mellitus (DM), ocasionando as complicações relativas a doença, afetando e modificando as atividades das proteínas. Quando ocorre o acúmulo dos produtos da glicação avançada AGE's em organismos vivos, isso ocasiona modificações estruturais e funcionais das proteínas. Portanto, os antiglicantes podem contribuir de maneira significativa para o tratamento do DM (KHALIFAH et al., 1999).

5.5.4. Atividade Inibidora das Enzimas, α -Glicosidase, Lipase e α -Amilase

O extrato aquoso da semente de açaí foi submetido aos testes de inibição das enzimas α -Glicosidase, Lipase e α -Amilase, os quais estão demonstrados na tabela 11, onde o padrão empregado para a enzima α -Glicosidase foi a Acarbose e para a Lipase o Orlistat.

O potencial do extrato em inibir as enzimas α -glicosidase, lipase e α -amilase foram expressos em percentual de inibição (%). Ambas as enzimas digestivas apresentaram diferença estatística significativa quando comparados com os controles, positivo (acarbose para a enzima α -glicosidase e o Orlistat para a enzima lipase). Conforme demonstrado na tabela 16, podemos observar que o padrão positivo Acarbose atingiu como valor de média 65,2 % de inibição para a enzima α -glicosidase, enquanto o ESA apresentou maior percentual, 11,6 % de média de inibição para essa enzima. Para o teste de inibição da lipase, o padrão Orlistat atingiu 92,7% de inibição, enquanto o ESA inibiu respectivamente 17,5 % da atividade da enzima. Para o teste de inibição da α -amilase, o padrão positivo Acarbose atingiu o valor de média 59,8 % de inibição para a enzima, enquanto o ESA obteve 23,6 % de média da inibição.

A partir dos resultados observados e em comparação com os controles, a Acarbose e o Orlistat que apresentaram inibição acima de 50% para ambas as enzimas, demonstrando que o ESA não obteve potencial inibitório significativo, conforme demonstrado na tabela 16.

Tabela 16. Atividade inibidora das enzimas digestivas, α -Glicosidase, Lipase e α -Amilase, quando tratadas com o extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí

AMOSTRAS	α -GLICOSIDASE	LIPASE	α -AMILASE
ESA	11,6 $\pm$ 1,9	17,5 $\pm$ 0,6	23,6 $\pm$ 2,3
ORLISTAT	-	92,7 $\pm$ 1,5	
ACARBOSE	65,2 $\pm$ 0,6		59,8 $\pm$ 1,2

Estudos que avaliaram a inibição da lipase em outras espécies vegetais demonstraram um percentual de inibição bem mais significativo, como exemplo o estudo realizado por Oliveira et al. (2017) avaliando extratos de *Endopleura uchi*, que também relataram o efeito inibitório dessa enzima.

Existem evidências que relatam uma relação entre a inibição *in vitro* da lipase pancreática e os níveis dos derivados fenólicos e flavonoides. Segundo estudo realizado por Moreno et al. (2006), o conteúdo de polifenol presente nos extratos etanólicos de *Mangifera indica*, teve acentuada relação com a inibição da atividade da lipase pancreática em 75%.

Assim como observado por Zhang et al. (2008), o extrato de *Taraxacum officinale*, também apresentou alto teor de flavonoides e inibiu a lipase pancreática em 86,3%. Já Mendoza et al. (2015) reportaram que compostos fenólicos e flavonoides são capazes de inibir não só a lipase pancreática como também a α -amilase.

5.5.5. Citotoxicidade

Inicialmente o ESA foi avaliado nas concentrações de 0, 1,56, 3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 μ g/ml em linhagem celular MRC-5, com o objetivo de avaliar se o extrato apresenta a capacidade de interferir na viabilidade celular, ou se ele apresenta potencial citotóxico, empregando o método Alamar Blue.

Os resultados apresentados na figura 19 e 20, demonstram que o ESA não interfere na viabilidade celular após exposição destas ao ESA, ou seja, o extrato adicionado de dióxido de silício coloidal apresentou-se biocompatível em células MRC-5.

Figura 19. Viabilidade celular testada em diferentes concentrações e em triplicata do extrato da semente de açaí (ESA), no período de 24 a 72h em linhagem celular HEPG2, empregando o método Alamar Blue, onde os resultados foram expressos em MÉDIA $\pm$ SEM, demonstrando o percentual de células viáveis.

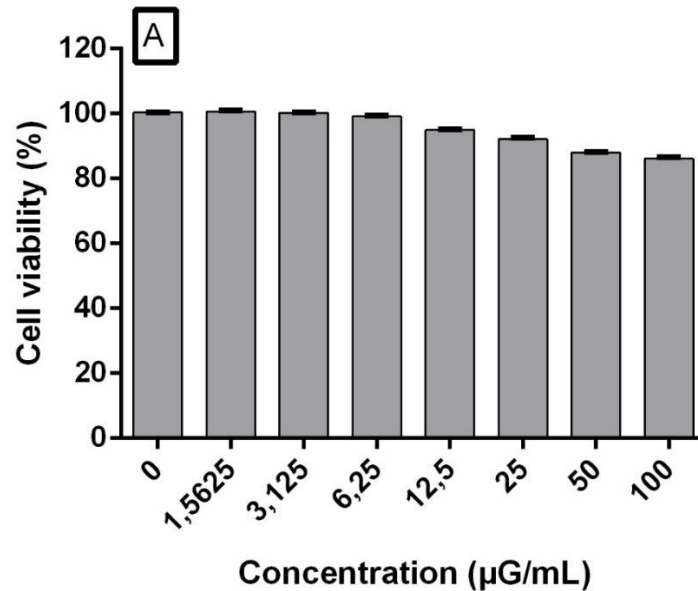
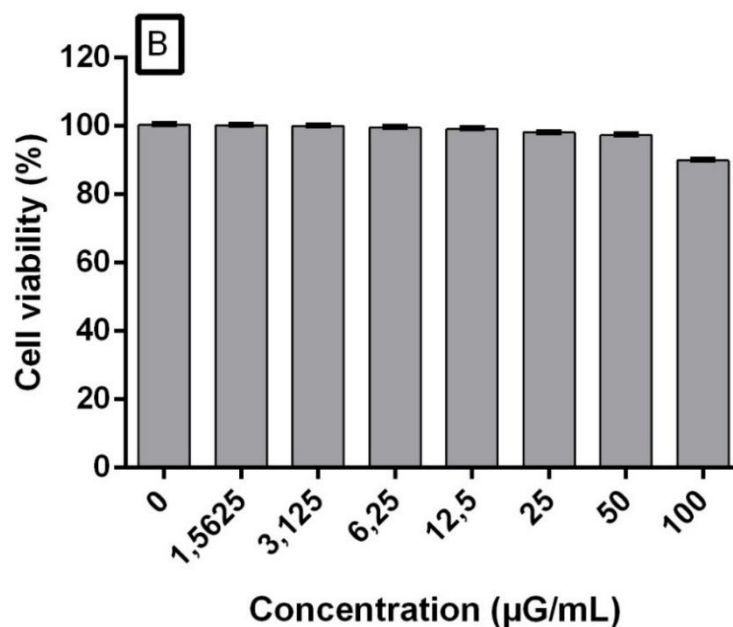


Figura 20. Viabilidade celular testada em diferentes concentrações e em triplicata do extrato da semente de açaí (ESA), no período de 24 a 72h em linhagem celular MRC-5, empregando o método Alamar Blue, onde os resultados foram expressos em MÉDIA $\pm$ SEM, demonstrando o percentual de células viáveis.



O ESA se apresentou biocompatível *in vitro* sobre os fibroblastos, não alterando a sua viabilidade. Após a realização da citotoxicidade pelo método Alamar BlueTM em cultura de células, podemos comprovar que nenhuma das replicatas testadas foi capaz de induzir um efeito citotóxico quando em contato com os fibroblastos.

Atualmente há um grande interesse por compostos derivados de espécies vegetais, principalmente os que apresentam características moduladoras e sejam capazes de agir na proliferação celular, ou que elas atuem como agentes citotóxicos (DENG et al., 2020). Um dos principais requisitos para o uso seguro de um fármaco ou candidato a fármaco, e, para a sua aplicação na prática clínica é não ser tóxico (XIANG et al., 2020).

Em estudo realizado por Martinez et al. (2018) após 48h de tratamento com o ESA, as células de câncer de pulmão da linhagem A549 apresentaram redução considerável da sua viabilidade, através do ensaio MTT, porém, esse efeito foi dose-dependente. Já em outro estudo realizado por Barros et al. (2015) os resultados apresentados foram semelhantes, onde, o extrato da semente de açaí apresentou efeito inibitório sobre diferentes linhagens celulares tumorais humanas.

Em estudo realizado por Pozo-Insfran et al. (2006) foi demonstrado que o açaí atuou na redução da proliferação de células leucêmicas HL-60, sendo essa redução dependente da dose e do tempo. Em outro estudo realizado por Choi et al. (2017), ficou comprovado que o açaí foi capaz de proteger contra a carcinogênese do cólon em ratos, sendo esse resultado associado a redução da expressão da COX-2, TNF- α , IL-1 β e IL-6 nos macrófagos e no cólon dos camundongos. Outro estudo realizado por Trindade et al. (2019) demonstrou que não houve alteração na viabilidade dos fibroblastos, os mesmos permanecendo 100% viáveis.

A presença de compostos fenólicos nas sementes de açaí sugere que ela pode ser utilizada tanto na indústria farmacêutica como na alimentícia. Quando comparamos nossos resultados com estudos anteriores que avaliaram outros frutos tropicais, podemos observar a presença de compostos fenólicos, principalmente das procianidinas, da catequina e epicatequina.

5.7. Atividades Biológicas in vivo

5.7.1. Toxicidade Aguda em Modelo Zebrafish

A toxicidade aguda realizada em *Danio rerio* adultos não apresentou alterações relacionadas ao comportamento em um período de 48 horas e em nenhum dos estágios observados (estágio I - aumento da atividade do nado, espasmos e tremores no eixo da cauda; estágio II - nado circular, perda da postura e estágio III - perda da motilidade; deposição no fundo do aquário e morte) tanto nos peixes que receberam tratamento por via oral com a semente de açaí na dose de 2000mg/kg, como nos peixes que receberam água como controle.

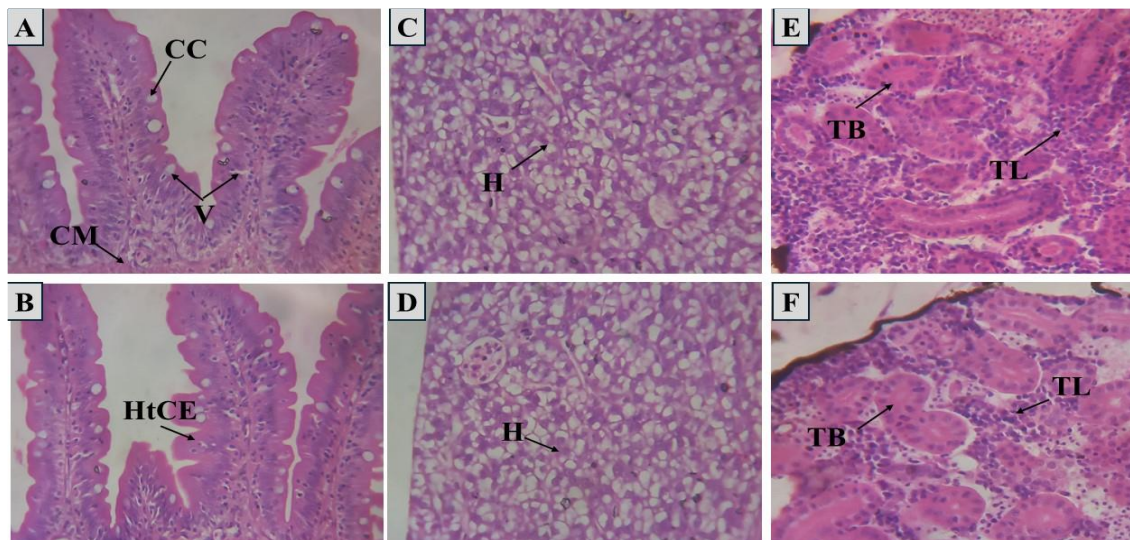
O tratamento por via oral do zebrafish com o ESA produziu poucas alterações histológicas no intestino e nenhuma alteração no fígado e rins. A partir da sistematização dessas alterações, foi possível calcular o Índice de Alterações Histológicas (IAH) conforme representado na tabela 17 e figura 21.

Tabela 17. Média do Índice de Alteração Histológica em intestino, fígado e rins de Zebrafish tratados com 2000mg/kg do extrato pulverizado das sementes torradas de açaí (*Euterpe* sp.).

ORGÃO	CONTROLE	2000 mg/kg ESA
Intestino	0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.57
Fígado	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Rins	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

O intestino do zebrafish é organizado em quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A camada mucosa contém as vilosidades, que são projeções digitiformes voltadas para o lúmen, revestidas por células epiteliais especializadas em absorção e células caliciformes, responsáveis pela produção de mucos, substâncias que atuam como uma eficiente barreira nesse órgão (CARVALHO et al., 2018). Neste estudo, todas as alterações observadas em *Danio rerio* foram de grau I, todas restritas a mucosa, como dilatação de vasos sanguíneos presentes nas vilosidades e hipertrofia das células epiteliais (Figura 24). Assim, os resultados obtidos com o uso do Índice de Alteração Histológica (IAH) (Tabela 17) tiveram baixos valores, indicando que as alterações detectadas não são capazes de prejudicar o funcionamento normal do órgão, ou seja o ESA não apresentou toxicidade significativa sobre o *Danio rerio*.

Figura 21. Alterações histológicas no intestino, fígado e rins de *Danio rerio* zebrafish. A e B - intestino de zebrafish, onde observa-se a transição da camada mucosa para a submucosa (CM), vilosidades (V), células caliciformes (CC) e hipertrofia das células epiteliais (HtCE); C e D - fígado de zebrafish, onde observam-se hepatócitos (H) normais; E e F - rins de zebrafish, com túbulos (Tb) e tecido linfóide (TL) visíveis. Aumento em 40X, coloração em Hematoxilina e Eosina.



O zebrafish é um pequeno peixe teleósteo usado como organismo modelo em diversas áreas das ciências, por apresentar bases moleculares da neurobiologia e o genoma similar ao dos humanos, fatores esses que permitem o seu uso em diversos tipos de estudos com abordagens toxicológicas, genéticas e patológicas (BARBAZUK et al., 2000). Além disso, o zebrafish também destaca-se por ser bastante usado em testes de toxicidade *in vivo* de produtos naturais, e por apresentarem vantagem com relação a incubação dos embriões e manutenção de adultos devido a diversos fatores como: (I) facilidade de criação, pouco espaço necessário e baixo custo de manutenção; (II) ciclo de crescimento curto e avaliação rápida; (III) transparência e fácil observação; (IV) administração dos medicamentos, que pode ser feita diretamente na água (ou meio de cultura) para absorção; e (V) fácil manipulação e menor demanda pelos tipos de drogas. Essas vantagens tornam os embriões de peixe-zebra uma ferramenta poderosa para testes de toxicidade (SHEN et al., 2023).

Estudos afirmam que a avaliação histopatológica dos órgãos internos do zebrafish, como fígado, intestino e rins, é importante e justificável para correlacionar os possíveis resultados toxicológicos de extratos vegetais que são administrados por via oral (MADUREIRA et al. 2012; FERREIRA et al. 2019; KOGA et al. 2024), pois são órgãos considerados como vias primárias de contato em peixes e atuam em funções importantes como metabolização de nutrientes, desintoxicação, absorção de água e sais minerais, filtração e produção hormonal (ROSS e PAWLINA, 2016).

Em um estudo realizado por Farooq et al. (2020) avaliando toxicidade *in vivo* de extratos brutos de *Rumex vesicarius* também foi avaliada usando zebrafish como modelo experimental. Os autores trataram os embriões com os extratos (0,001-300 µg / mL) e os observaram em 24, 48 e 72 horas. Os resultados demonstraram que os extratos obtidos de folhas, caules, raízes e flores de *R. vesicarius* apresentou leve toxicidade no desenvolvimento de embriões de zebrafish e nenhuma toxicidade em células endoteliais da veia umbilical humana.

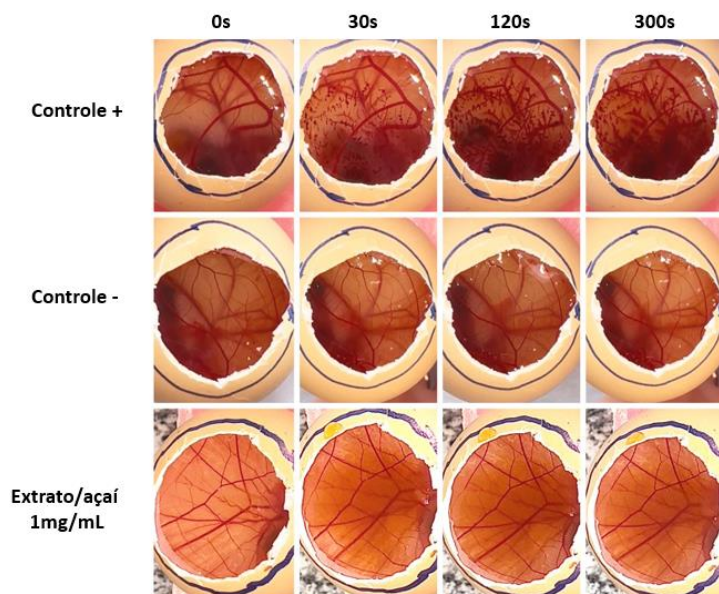
Outro estudo também realizado por Farooq et al. (2020) foi avaliado a toxicidade *in vivo* de extratos bruto de *M. sinaica*, e como resultado, os zebrafish tratados com extrato de folhas e caule apresentaram alterações como edema cardíaco leve, enquanto o extrato obtido das raízes e parte aérea não causou alterações severas aos animais, indicando que os extratos de raízes e brotos de *M. sinaica* tiveram menos toxicidade e foram mais passíveis de serem usados como medicamentos.

O zebrafish também foi utilizado em outra pesquisa que buscou avaliar a toxicidade da folha de *Thuja orientalis* L. *in vitro*, os resultados revelaram que a toxicidade do extrato da folha aumentou significativamente dependente de fatores como o tempo e a dose (BREETA et al., 2018). Além disso, Ma et al. (2022) também utilizando o mesmo modelo animal para testar a toxicidade, porém *in vivo* do extrato da folha de baga milagrosa *S. dulcificum*, apontaram que os espécimes de zebrafish não morreram quando a concentração do extrato estava abaixo de 25 µg/mL, enquanto a CL₅₀ do extrato para a espécie em específico foi de 100 µg/mL.

5.6.2. HET CAM

Considerando que os controles confirmaram a adequação dos ensaios, os resultados para a avaliação da toxicidade *in vivo* pelo método HET CAM da semente de açaí torrada não desencadeou alterações como, hemorragia (rompimento de vasos), lise (desintegração dos vasos sanguíneos) e a coagulação (desnaturação proteica intra e extravascular) quando avaliados por esse método, sinalizando que o extrato pulverizado da semente de açaí não apresentara toxicidade quando em contato com a membrana cório alantóide do ovo de galinha embrionado, conforme demonstrado na figura 22.

Figura 22. Imagem da CAM, fotografada nos tempos de 0, 30, 120 e 300 segundos demonstrando os efeitos do controle positivo hidróxido de sódio 0,1 mol/L, controle negativo, soro fisiológico e do extrato seco pulverizado das sementes torradas de *Euterpe* sp., sobre a membrana còrio-alantóide (CAM) de ovos de galinha.



O método *in vitro* foi selecionado devido à sua condução conveniente, disponibilidade e geração de resultados comparáveis ao Teste de Draize, que é realizado em coelhos e atualmente é aceitável para testar matérias-primas ou produtos cosméticos (ALLTOX, 2016). Além disso, o ensaio é menos dispendioso, e requer infraestrutura menos complexa (WANG et al., 2011).

Segundo Baptista (2018) determinar a toxicidade de uma substância, tem por finalidade avaliar os possíveis danos que ela poderá vir a causar quando um organismo vivo for exposto a sua formulação, haja visto que os modelos *in vivo* são os mais empregados na avaliação toxicológica de espécies vegetais. Alguns estudos já investigaram a possível toxicidade do açaí, demonstrando que após a administração de doxorrubicina, o açaí reduziu os danos ao DNA nas células de sangue periférico quando avaliados pelo método de ensaio do cometa (BARCELLOS et al., 2010).

Em um estudo realizado por Wilson e Steck (2020) foi avaliada à administração de extratos aquosos de produtos vegetais a membrana corioalantóide de ovo de galinha, onde os autores não observaram irritação, embora os extratos variassem de cor, viscosidade e composição química. O pH dos extratos vegetais também variou um pouco de espécie para espécie, em torno de 4,5 a 6,0. O tampão ácido láctico é sensível ao pH, porém o poder tamponante dos extratos vegetais com 1% de sólidos deve ser considerado insignificante.

Diferentes autores corroboram com os resultados aqui apresentados, pois segundo Barcellos et al. (2010) em estudo de toxicidade *in vivo* realizado com o extrato aquoso de açaí, ficou comprovado que camundongos tratados com diferentes doses não apresentaram sinais de toxicidade e nem evoluíram para óbito. Outro estudo realizado por Marques (2016) através do teste do cometa e micronúcleo, em um período de 14 dias, mostrou que as doses empregadas no estudo não foram capazes de desenvolver toxicidade nas células testiculares, no fígado e nem na medula dos ratos estudados, demonstrando que o açaí não promove efeitos genotóxicos nas células.

Outro estudo *in vivo* realizado por Borges et al. (2024b) demonstrou que o óleo da semente de açaí também não apresentou toxicidade, confirmando que os resultados aqui apresentados quanto a toxicidade, usando produtos à base da semente de açaí, são seguros. Em estudo realizado por Pérez-Torres et al. (2021) foi comprovado que a segurança e eficácia atribuída aos produtos vegetais os tornam alternativas eficazes ao tratamento da obesidade, e as consequências do diabetes.

Um estudo realizado por Augusti et al. (2016) em células SH-SY5Y demonstrou que com exceção da linhagem LP04P16, todas as outras linhagens celulares não apresentaram toxicidade a seis diferentes genótipos de *Euterpe oleracea*. Outro estudo usou a espécie de Nematóide *Caenorhabditis elegans* como modelo *in vivo*, e foi demonstrado que o extrato aquoso do açaí foi capaz de reduzir os danos por toxicidade aguda induzida causada pela Acrilamida, um composto tóxico presente em alimentos ricos em carboidratos que foram submetidos a tratamentos térmicos a altas temperaturas (CANESCHI, 2014). Em concordância com essa assertiva, o estudo de Gallota (2005) comprovou que partes do açaizeiro e talo da folha de *Artemia salina* L. não apresentaram atividade citotóxica em modelos *in vivo*.

A genotoxicidade do óleo do açaí também foi analisada em um estudo realizado por Ramos (2014) utilizando Nano emulsão do óleo, e foi demonstrado que ela não apresentou toxicidade nas diferentes concentrações empregadas. Outro estudo realizado para avaliar a redução da genotoxicidade do açaí em células hepáticas, renais, sangue periférico e medula óssea, empregando o teste de micronúcleo e ensaio do cometa demonstraram que o açaí também apresentou genotoxicidade reduzida (RIBEIRO, 2010).

5.6.3. Toxicidade aguda

Para esse teste utilizou-se a recomendação OECD 423 (2001), onde foram empregados três camundongos machos, os quais receberam uma dose de 2000mg/kg em 05 doses fracionadas do extrato da semente de açaí (ESA), sendo os animais observados em um intervalo de 10 minutos pós-administração. Nas primeiras 12 horas os animais ficaram em observação constante, em seguida essa observação foi contínua por 14 dias. Os três camundongos observados apresentaram uma taxa de sobrevivência de 100%, indicando que o extrato seco pulverizado não apresentou toxicidade quando administrado em uma dose de 2000mg/kg.

5.6.4. Teste hipoglicemiante

No dia zero foi mensurado as glicemias dos grupos normoglicêmicos (NG), (120,4mg/dl), controle de tratamento diabético não tratado (CTL) (304,4mg/dl), MET200mg/kg (304,4mg/dl), Grupo ESA 200mg/kg (332,6 e Grupo ESA 400mg/kg (463mg/dl).

No sétimo dia de tratamento o grupo NG apresentou um discreto aumento na glicemia (de 120,4mg/dl para 162,2mg/dl), assim como o grupo CTL, apresentou um aumento considerável em sua glicemia (304,4 para 444,4mg/dl). O grupo MET 200mg/kg apresentou uma redução significativa na sua glicemia de jejum (304,4mg/dl para 169,2mg/dl), o grupo ESA 200mg/kg apresentou uma redução discreta em sua glicemia (332,6mg/dl para 307,3) e o grupo ESA 400mg também apresentou discreta redução em sua glicemia de jejum (463mg/dl para 444,4mg/dl).

No décimo quarto dia de tratamento o grupo NG apresentou moderada redução da glicemia quando comparado com o sétimo dia, variando de (169,2mg/dl para 119,4mg/dl). O grupo CTL apresentou discreta redução da glicemia de (444,4mg/dl para 409,6mg/dl), o grupo MET 200mg/kg apresentou discreto aumento da glicemia de (169,2 para 195mg/dl), o grupo ESA 200mg/dl apresentou um leve aumento da glicemia variando de (307,3mg/dl para 342mg/dl), e o grupo ESA 400mg/kg apresentou acentuada redução da glicemia, variando de 444,4mg/dl para 342mg/dl.

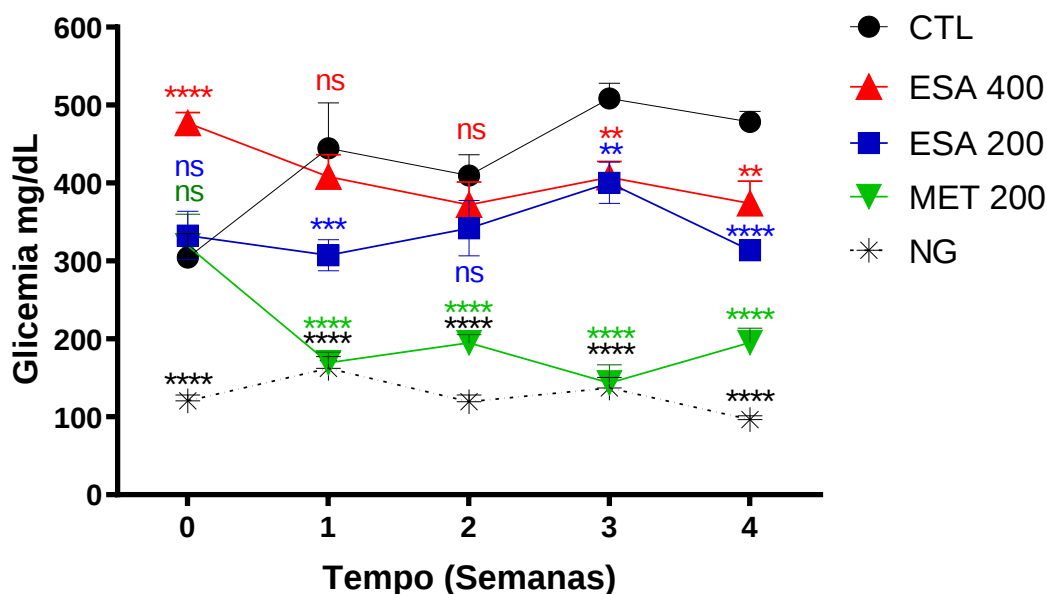
No vigésimo primeiro dia de tratamento os grupos aumentaram ou diminuíram suas glicemias quando comparados com o décimo quarto dia de tratamento. O grupo NG apresentou um discreto aumento na glicemia variando de (119,4mg/dl para 143,4mg/dl), o grupo CTL apresentou acentuado aumento da glicemia, variando de (409,6mg/dl – 508,4mg/dl); o grupo

MET 200mg/kg apresentou redução da glicemia, variando de (195mg/dl – 143,4mg/dl), e o grupo ESA 200mg/kg apresentou um discreto aumento nos valores das glicemias, variando de (342mg/dl – 400,3mg/dl).

No vigésimo oitavo dia de tratamento o grupo NG apresentou uma acentuada redução na sua glicemia de jejum, variando de (137,3mg/dl para 96,3mg/dl); o grupo ctl apresentou uma redução de (508,4mg/dl para 436,6mg/dl), o grupo MET200mg/kg apresentou um discreto aumento que variou de (143,4mg/dl para 195,2mg/dl), o grupo ESA200mg/kg apresentou uma acentuada redução na sua glicemia, variando de (400,3mg/dl para 313,6mg/dl), e o grupo ESA 400mg/kg apresentou um discreto aumento da sua glicemia de jejum, variando de (357mg/dl para 400mg/dl).

Após os 28 dias de tratamento com o ESA podemos observar que o grupo MET 200mg/kg manteve os níveis glicêmicos baixos, conforme o esperado (120 ± 16 mg/dl), o grupo ESA 200mg/kg também manteve os níveis de glicemia estáveis ($313 \text{mg/dl} \pm 66$), o grupo ESA 400mg /kg também foi capaz de reduzir os níveis glicêmicos (350mg/dl).

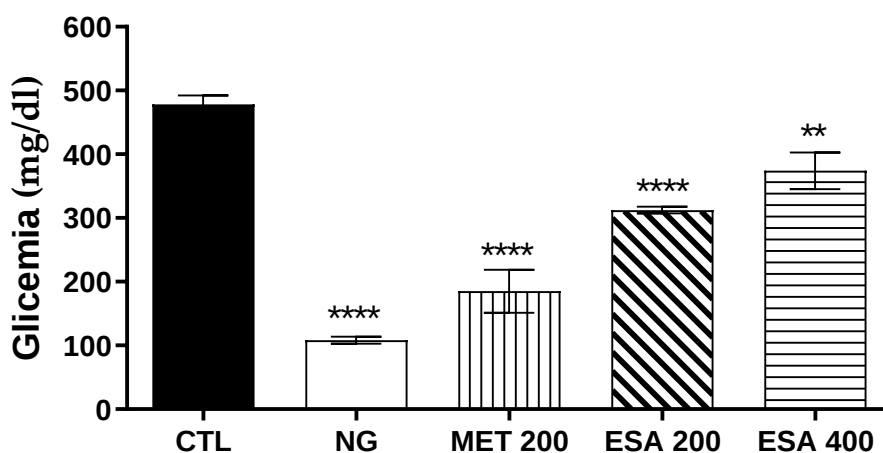
Figura 23. Efeito do extrato seco da semente de açaí na glicemia de camundongos diabéticos tratados em um período de 28 dias, onde houve a indução do diabetes através da administração oral de uma bebida hipercalórica, seguida da administração intraperitoneal de Nicotinamida e Estreptozotocina por três dias consecutivos. Os camundongos com glicemia superior a 200mg/dl foram considerados diabéticos e separados em grupos: Grupo normoglicêmico (NG), Controle (CTL), MET (200mg/kg), ESA (200mg/kg) e ESA (400mg/kg). O grupo NG fora tratado com 200µl de soro fisiológico 0,9%. Os valores foram expressos em média $\pm$ SEM para (n = 5). ANOVA Two-way com teste Dunn aplicado.



Nas análises bioquímicas do 28º dia de tratamento podemos comprovar que a ureia e a creatinina nos animais diabéticos não tratados se apresentaram aumentadas, demonstrando que nesse grupo os animais manifestaram alguma injúria renal. O ácido úrico, outro analito que avalia a função renal, manteve-se semelhante ao grupo não diabético, assim como ocorreu com TGO e o TGP que avalia a função hepática, mantendo-se dentro dos parâmetros de referência, ou seja, o ESA não causou nenhum dano hepático aos camundongos tratados, conforme demonstrado na Figura 25.

Após o período de tratamento de 28 dias podemos comprovar que no grupo ESA 200mg/kg a glicemia permaneceu estável e, a partir da segunda semana verificamos que ela se apresentou estatisticamente diferente do grupo CTL. No grupo ESA 400mg/kg podemos comprovar que essa dose conseguiu reduzir a glicemia até a terceira semana de tratamento, isso quando comparamos com o grupo CTL (diabético não tratado) conforme demonstrado na figura 24. Como esperado, o grupo padrão MET 200mg/kg conseguiu reduzir a glicemia assemelhando-se ao grupo NG, ressaltando que a metformina é uma molécula pura e apresenta melhores resultados, e o ESA é uma matéria prima vegetal (um extrato).

Figura 24. Comparação das glicemias do 28º dia de tratamento com grupo controle não tratado CTL, onde os camundongos com glicemia superior a 200mg/dl foram considerados diabéticos e separados em grupos: Grupo normoglicêmico (NG), Controle (CTL), MET (200mg/kg), ESA (200mg/kg) e ESA (400mg/kg). O grupo NG foi tratado com 200µl de soro fisiológico 0,9%.



Entre os metabólitos secundários das plantas estão os polifenóis que estão envolvidos principalmente no processo de defesa antioxidante e na proteção ultravioleta. Em virtude disso pode-se inferir seu uso em humanos no tratamento de diversas doenças, entre elas a obesidade e uma de suas principais comorbidades, o diabetes. (RODRIGUEZ-RAMIRO et al., 2016).

Em um estudo realizado por Pala et al. (2018) foi demonstrado que o açaí apresenta em sua composição química, polifenóis, ácidos graxos insaturados, fito esteróis e fibras alimentares, sugerindo que ele pode participar das defesas antioxidantes por diversos mecanismos. Portanto o açaí pode ser empregado como alimento funcional para proteger o organismo humano contra doenças relacionadas ao estresse oxidativo e em doenças metabólicas. Outro estudo realizado por Méndez e Medina (2021) detectou que o açaí é eficaz na redução da obesidade, podendo assim melhorar as comorbidades dessa doença, principalmente do diabetes, através da ação dos polifenóis.

Em outro estudo realizado por Udani et al. (2011), foi demonstrado que a ingestão de açaí reduziu os níveis de glicemia e insulina sérica, e, além disso apresentou redução nos níveis do colesterol HDL, porém com níveis do colesterol HDL e triglicerídeos sem alterações. Outros estudos realizados por De Oliveira et al. (2010) e De Oliveira et al. (2015) em um modelo experimental de síndrome metabólica, comprovou que de fato o ESA promoveu melhora na obesidade, hiperglicemia e na resistência insulínica.

Em um estudo realizado por Pala et al. (2018), avaliando se a ingestão alimentar de açaí afeta os lipídeos plasmáticos demonstrou que o ox-LDL, um fator de risco de doença cardiovascular, foi reduzido pela ingestão alimentar de açaí. A alta ingestão de produtos naturais com alto poder antioxidante, principalmente as contidas no açaí reforçam as defesas antioxidantes do organismo, sendo importante ressaltar que a melhora das defesas antioxidantes protege o organismo contra várias lesões relacionadas ao estado pró-oxidativo.

Outro estudo realizado por Xavier et al. (2021) contribui ainda mais com os resultados apresentados neste estudo, já que foi demonstrado que o extrato da semente de açaí foi capaz de proteger contra a esteatose e fibrose hepática associadas a obesidade. Já outro estudo realizado por Udani et al. (2011) foi evidenciado que a ingestão da polpa de açaí apresentou atividade redutora nos níveis de marcadores de risco de doença metabólica em pacientes adultos com excesso de peso, contribuindo assim com os resultados aqui apresentados.

Esse é o primeiro estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa que avalia o efeito hipoglicemiante do extrato seco da semente de açaí (ESA) em um modelo *in vivo*, utilizando camundongos c57bl/6 alimentados com uma bebida hipercalórica, e induzidos ao diabetes com Nicotinamida e Streptozotocin, o qual demonstrou poder hipoglicemiante mesmo que discreto nas duas doses empregadas. Portanto, nosso estudo demonstra que o uso das sementes torradas de açaí pelas populações tradicionais tem comprovação científica e que o ESA pode ser empregado como tratamento auxiliar no diabetes.

O efeito hipoglicemiante discreto atribuído ao ESA pode ser atribuído a concentração das doses administradas aos camundongos, forma farmacêutica administrada e ao tempo de tratamento (quatro semanas), podendo no futuro embasar novos estudos com doses maiores ou menores, tempo de tratamento e forma farmacêutica, como por exemplo a administração direta do infuso, sem passar pelo processo de secagem. Assim como os resultados apresentados aqui, diversos estudos têm avaliado a capacidade de extratos e de origem vegetal quanto a sua capacidade de atuar contra a obesidade e manter o controle normoglicêmico. Portanto nossos resultados corroboram para a comprovação de que o ESA pode e deve ser empregado no tratamento auxiliar do diabetes.

5.7. Análises Bioquímicas

Tabela 18. Resultados das análises bioquímicas dos grupos normoglicêmicos (GND), Grupo diabético não tratado (GDN), Metformina 200 mg/kg), Grupo ESA 200mg/kg e Grupo ESA 400mg/kg, coleta realizada no 28º dia de tratamento

Grupos	Ureia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	Ácido Úrico (mg/dl)	TGO (UI)	TGP (UI)
NG	47,0±7,0 ^a	0,32±0,04 ^a	4,00±3,0 ^a	143±67 ^a	18±17 ^a
CTL	69,3±15,3 ^b	1,08±0,27 ^b	2,11±0,7 ^a	90±31 ^a	19±8 ^a
MET 200	41,8±19,0 ^a	0,38±0,62 ^a	2,11±0,7 ^a	100±46 ^a	12±6 ^a
ESA 200	42,6±6,0 ^a	0,30±0,01 ^a	1,76±0,4 ^a	87±41 ^a	7±7 ^a
ESA 400	40,0±5,0 ^a	0,40±0,20 ^a	2,80±1,5 ^a	77±58 ^a	12±5 ^a

CTL = Grupo diabético não tratado

NG = Grupo não diabético

Os resultados das análises bioquímicas indicam que o grupo tratado com extrato seco das sementes torradas de açaí na dosagem de 200mg/kg apresentou os melhores resultados nas medições de glicemia, creatinina, TGO e TGP. Já o grupo ESA 400mg/kg apresentou os melhores resultados nas medições de ureia e ácido úrico.

Na glicemia observou-se que o grupo ESA 200mg/kg quando comparado com o grupo CTL apresentou redução (com variação de 332,6g/dl a 307,3mg/dl), e o grupo ESA 400mg/kg quando comparado com o grupo CTL também apresentou redução nos valores glicêmicos (463mg/dl – 444,4mg/dl).

No perfil renal, a ureia apresentou redução nos valores desse analito quando comparado com o grupo CTL, onde o grupo ESA 200mg/kg variou de 43mg/dl a 42,6mg/dl, e o grupo ESA 400mg/kg também apresentou redução desse analito (43mg/dl a 38mg/dl). A creatinina, outro analito que avalia a função renal, também apresentou redução nos seus valores quando comparados com o grupo CTL, onde o grupo ESA 200mg/kg variou de 1,0mg/dl a 0,3mg/dl e

o grupo ESA 400mg/kg variou de 1,0mg/dl a 0,9mg/dl. O ácido úrico quando comparado com o grupo DNT manteve-se inalterado no grupo ESA 200mg/kg, porém, no grupo ESA 400mg/kg uma redução discreta nos valores foi observada, variando de 1,7mg/dl a 1,5mg/dl.

As enzimas TGO e TGP apresentaram redução nos seus valores quando comparadas com o grupo CTL, onde o TGO no grupo ESA 200mg/kg variou de 142 UI a 87 UI, e o grupo ESA 400mg/kg variou de 142 UI a 107 UI. A enzima TGP também apresentou redução no grupo ESA 400mg/kg (18 UI a 9UI).

Por se tratar de um estudo inédito cuja avaliação dos parâmetros bioquímicos das sementes de açaí nunca havia sido realizada, observamos que as análises empregadas não apresentaram alterações significativas.

O grupo tratado que apresentou os melhores resultados quanto aos parâmetros bioquímicos foi o grupo ESA 200mg/kg, onde parâmetros como glicemia, creatinina, TGO, TGP obtiveram os melhores resultados. No perfil renal, a ureia e o ácido úrico do grupo ESA 200mg/kg apresentou um resultado superior ao do grupo ESA 400mg/kg, porém dentro do valor de referência.

Xavier et al. (2021) demonstrou que o extrato da semente de açaí apresenta a capacidade de proteção hepática, corroborando assim com os resultados das enzimas TGO e TGP aqui apresentados. Portanto, segundo Rodriguez-Ramiro et al. (2016) pode-se inferir que o uso do extrato de açaí em humanos auxilia no tratamento do diabetes, corroborando assim com os resultados das glicemias aqui apresentados.

5.8. Análises histopatológicas

5.8.1. Macroscopia

Os fragmentos analisados apresentaram-se como um tecido mole de consistência firme com forma e superfície arredondada de cor acastanhada tendo como média de tamanho 1,0x0,2x0,2cm para os fragmentos renais e 1,5x1,5x0,3cm para fragmentos de lóbulos (lado direito) do fígado.

5.8.2. Microscopia

A leitura das lâminas foi realizada de modo qualitativo com o auxílio de um microscópio óptico Leica modelo DM500 com câmera acoplada. De cada amostra, foram registradas as frequências de ocorrência das alterações observadas considerando a seguinte classificação: (0*) para ocorrência rara, (*) para ocorrência baixa, (**) para ocorrência moderada e (***) para

ocorrência acentuada das alterações no tecido. O software LAS EZ LEICA foi utilizado para aquisição das imagens com escalas de tamanho padronizadas.

Figura 25. Alterações histológicas no rim de camundongo c57bl6 após o tratamento de 28 dias com o extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí. A – Parênquima renal cortical normal. B - Atrofia glomerular (0* a *), nota-se um glomérulo adjacente de diâmetro normal. C – Dilatação e congestão vascular (*), observa-se o acúmulo de hemácias no vaso sanguíneo. D – Vacuolização nuclear evidente (0*). E – Necrose focal pequena (0*), onde ficam evidenciadas degeneração citoplasmática e nuclear e F – Necrose do parênquima renal (região cortical) com degeneração citoplasmática acentuada (***).

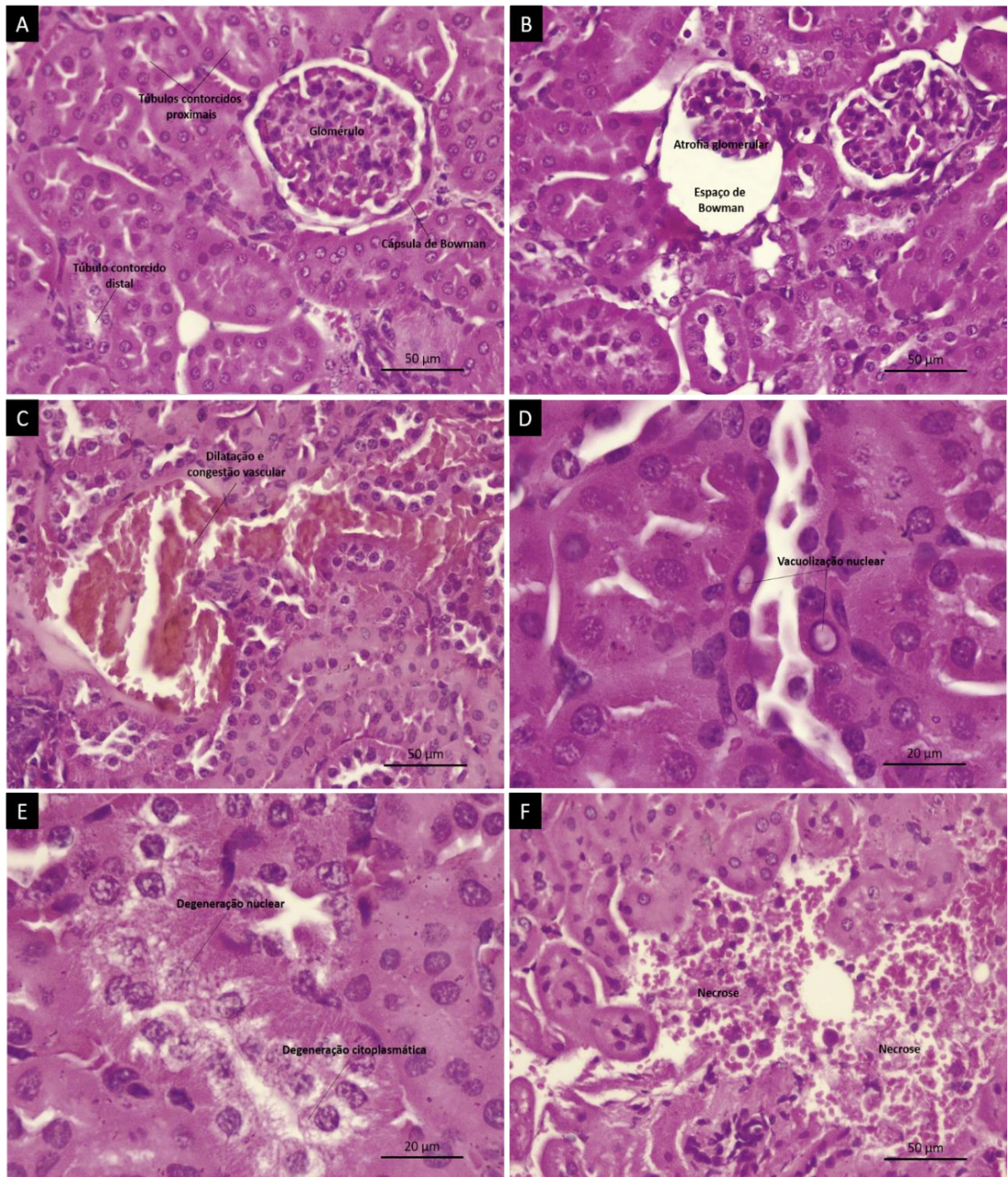


Tabela 19. Frequência de ocorrência das alterações teciduais observadas em rim e fígado de camundongos c57bl6, coleta realizada após a eutanásia.

glomérulo	
Infiltrado leucocitário	17,7
Dilatação de vasos sanguíneos	13,3
Congestão vascular	22,2
Estreitamento da luz tubular	0
Perda dos microvilos tubulares	0
Vacuolização nuclear	20
Degeneração tubular	8,88
Necrose	4,44

Alterações histológicas hepáticas	Frequência de ocorrência (%)
Hipertrofia nuclear	25
Hipertrofia celular	9,6
Núcleos na periferia da célula	2,8
Vacuolização citoplasmática	12,5
Infiltração leucocitária	7,6
Dilatação dos sinusóides	9,6
Deformação do contorno celular	4,8
Desarranjo dos cordões hepáticos	0,0
Congestão	0,0
Vacuolização nuclear	0,0
Degeneração nuclear	7,6
Degeneração citoplasmática	2,8
Núcleos picnóticos	9,6
Rompimento Celular	5,7
Necrose focal	1,9

As alterações teciduais observadas no parênquima renal e hepático de camundongos c57bl6 foram variáveis com relação a frequência de ocorrência dos danos e a gravidade das alterações (Tabela 19). Nas amostras de rim, a principal alteração observada foi a congestão vascular, sinalizando aumento da pressão venosa, resultante do acúmulo de hemácias nos vasos sanguíneos. Como consequência, disfunções renais importantes podem ser manifestadas, como por exemplo, diminuição da atividade de filtração realizada pelos glomérulos, e caso haja progressão dessas condições pode haver a evolução dos danos para uma necrose tubular (MULLENS et al., 2009). A congestão renal também está diretamente relacionada com quadros de insuficiência cardíaca descompensada aguda, e tem sido identificada como importante

preditor da evolução da doença (NATOV et al., 2023). Apesar da gravidade associada a ocorrência da lesão, neste trabalho a congestão vascular foi registrada em baixa frequência nos camundongos analisados.

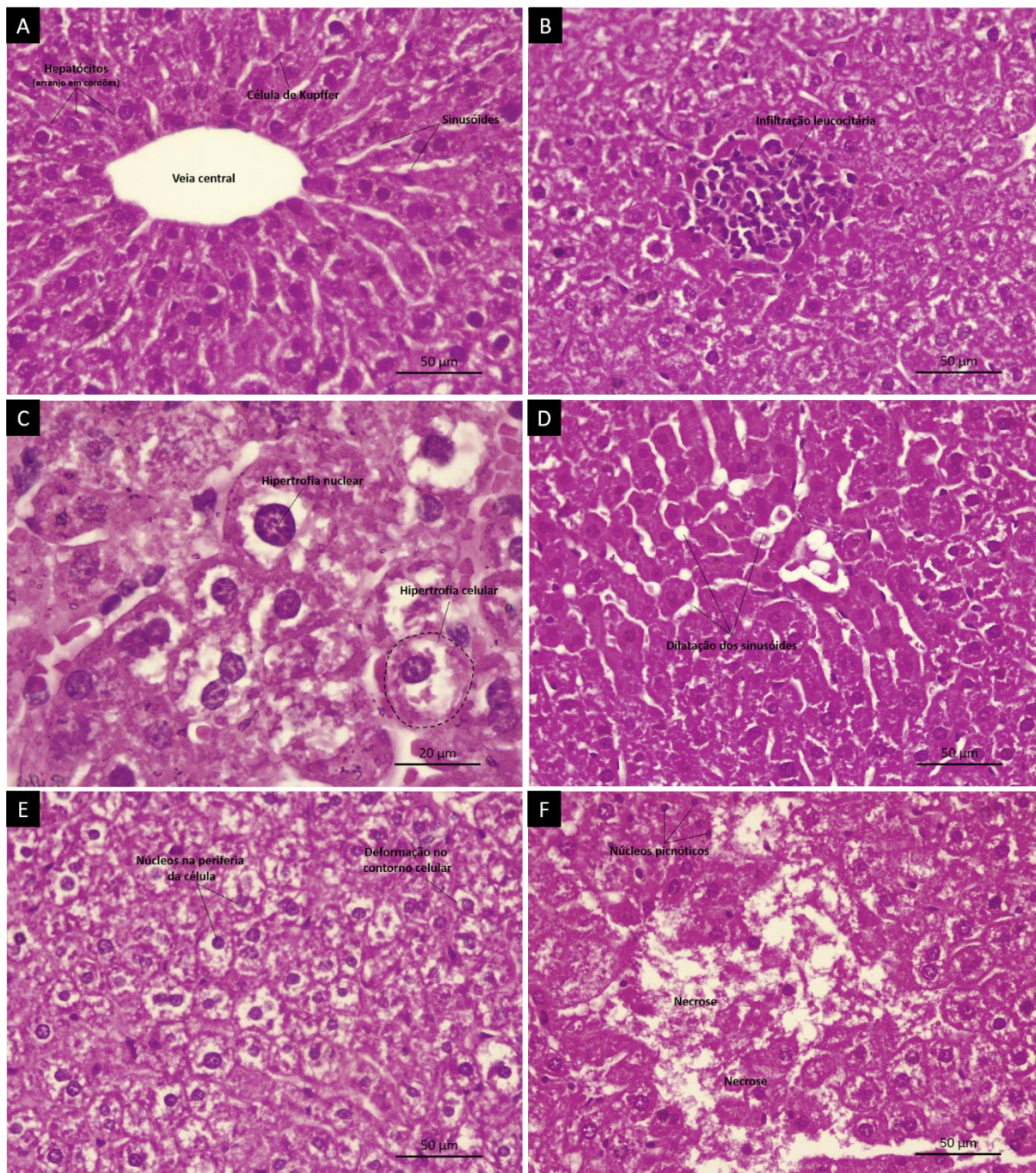
Outras alterações renais foram observadas como, infiltrado leucocitário, dilatação dos vasos sanguíneos e atrofia glomerular, todos ocorrendo em baixa frequência. Segundo Linke et al. (2022) a infiltração leucocitária ocorre quando células polinucleares e mononucleares como neutrófilos, linfócitos e macrófagos migram para o parênquima renal indicando haver resposta inflamatória a algum processo.

Nos fígados tratados com o ESA 200mg/kg o parênquima hepático foi observado em condições normais, com hepatócitos grandes de formato poligonal (alguns binucleados), organizados em cordões interconectados e irradiados em direção a veias centrais. Sinusóides hepáticos um pouco dilatados e infiltrados leucocitários bem pequenos também foram observados. Em todas as outras amostras, foram visualizadas células de Kupffer entremeadas no endotélio sinusoidal, que são tipos celulares comuns associados a remoção de eritrócitos e reciclagem de moléculas de ferro.

A hipertrofia nuclear foi a principal alteração tecidual observada nos fígados analisados, com frequência de ocorrência a 25%. De acordo com Poleksic e Mitrovic-Tuntuduzic (1994) a hipertrofia nuclear é uma alteração considerada de grau leve e reversível, onde ocorre um aumento do volume do núcleo dos hepatócitos indicando aumento da atividade metabólica e/ou poliploidia (fenômeno natural em fígado de mamíferos) como resposta adaptativa a diferentes estímulos.

No geral, outras alterações teciduais com diferentes gravidades foram observadas no fígado dos camundongos, porém em frequências de ocorrência muito baixas, sendo um bom indicativo para a segurança e o uso do extrato seco pulverizado das sementes do açaí em organismos vivos, como os mamíferos.

Figura 26. Alterações histológicas no fígado de camundongo c57bl6 após o tratamento de 28 dias com o extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí. A – Parênquima hepático normal. B – Infiltração leucocitária (0*). C – Hipertrofia nuclear e celular, resultantes do aumento da atividade metabólica celular. D – Dilatação dos sinusóides. E – Parênquima hepático com ocorrência de núcleos na periferia da célula e deformação no contorno celular. F – Necrose focal evidenciada pela presença de degeneração citoplasmática e núcleos picnóticos.



6. CONCLUSÃO

Foi possível obter o extrato seco das sementes torradas de açaí por meio da torrefação, moagem, extração aquosa e secagem por Spray drier, sendo caracterizado como um pó moderadamente fino, com teor de umidade dentro das recomendações brasileiras para alimento.

Foi identificado e quantificado por HPLC e MS/MS o composto fenólico epicatequina com teor aproximado de 3,5%.

O extrato pulverizado das sementes torradas de açaí demonstrou possuir atividade antioxidante quando avaliado pelos métodos DPPH e ABTS, contudo não apresentou capacidade antiglicante tanto pela via oxidativa quanto pela não oxidativa. Também não foi capaz de inibir as enzimas digestivas α -glicosidase, lipase e α -amilase.

Quanto a avaliação da toxicidade o extrato seco pulverizado das sementes torradas de açaí não demonstrou sinais de toxicidade nos ensaios de citotoxicidade em fibroblastos, no ensaio de toxicidade aguda em modelo Zebrafish, no ensaio HET CAM e no ensaio de toxicidade aguda em camundongos.

Na avaliação da atividade hipoglicemiante in vivo o extrato pulverizado das sementes torradas de açaí foi capaz de reduzir o valor das glicemias nas doses de 200mg/kg e 400mg/kg, quando comparado com o grupo diabético não tratado e não demonstrou toxicidade adicional em tecido hepático. A atividade hipoglicemiante do extrato de açaí provavelmente está relacionada a efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e moduladores metabólicos, em vez de uma inibição direta das enzimas digestivas. Isso indica que substâncias com efeito antidiabético podem atuar por outros mecanismos além da inibição enzimática clássica.

Com base nos resultados aqui apresentados podemos concluir que o extrato pulverizado das sementes torradas de açaí apresenta propriedades antidiabéticas e demonstra ser um alimento seguro. Sendo assim, pela atividade antidiabética aqui demonstrada, essa pesquisa pode servir de base para estudos futuros explorarem de forma mais aprofundada os mecanismos envolvidos na atividade antidiabética ou para o desenvolvimento de formulações fitoterápicas utilizando esse resíduo, podendo ainda servir de base para o entendimento da segurança do alimento “café de açaí”, que é amplamente utilizado pelas populações tradicionais do norte do país.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLQVIST, E. et al.** Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes & Endocrinology*, v. 6, n. 5, p. 361–369, 2018.
- AHMED, S. A.; GOGAL Jr., R. M.; WALSH, J. E.** A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [³H] thymidine incorporation assay. *Journal of Immunological Methods*, v. 170, n. 2, p. 211–224, 1994.
- ALLTOX.** Non-animal Methods for Toxicity Testing. Table of validated and accepted alternative methods. Validation and regulatory acceptance status of alternative test methods and testing strategies, 2016. Disponível em: <http://www.alltox.org/ttrc/validation-ra/validated-ra-methods.html>. Acesso em: 04 out. 2024.
- ALMEIDA, C. S.; YAMAGUCHI, K. K. L.** Indicadores naturais amazônicos de ácido-base: metodologias e possibilidades. *Scientia Naturalis*, v. 6, n. 1, 31 jul. 2024.
- ALVES, V. M.** Caracterização física, química, antinutricional e tecnológica de coprodutos de frutos da Amazônia Legal. [S.l.: s.n.], [s.d.].
- ALVES, Y. F. M.; MENDONÇA, X. M. F. D.** Elaboração e caracterização sensorial e funcional de um licor típico amazônico à base de açaí (*Euterpe oleracea*). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 5, n. 2, 30 dez. 2011.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION.** Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, v. 35, supl. 1, p. S11–S63, 2012.
- ANDRADE-CETTO, A.; BECERRA-JIMÉNEZ, J.; CÁRDENAS-VÁZQUEZ, R.** Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 116, n. 1, p. 27–32, 2008.
- ANTAR, S. A. et al.** Diabetes mellitus: classification, mediators, and complications; a gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 168, p. 115734, 2023.
- ANTUNES, Y. R. et al.** Diabetes mellitus tipo 2: the importance of early diabetes diagnosis. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 12, p. 116526–116551, 2021.
- ARAÚJO, M. R.; et al.** Potencial probiótico de microrganismos isolados de frutos amazônicos. In: *Frutos amazônicos: biotecnologia e sustentabilidade*. [S.l.: s.n.], p. 64.
- ARAÚJO, R. O. et al.** Low temperature sulfonation of açaí stone biomass derived carbons as acid catalysts for esterification reactions. *Energy Conversion and Management*, v. 196, p. 821–830, 2019.
- AUGUSTI, P. R. et al.** Avaliação da citotoxicidade de extratos hidroetanólicos de genótipos de açaí (*Euterpe oleracea*) em células SH-SY5Y, 2016.

AZEVEDO, C. B. S. Avaliação do potencial fotoprotetor e antioxidante de extratos dos resíduos de açaí (*Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*) por métodos *in vitro*. 2021. Dissertação (Mestrado em Medicamentos e Cosméticos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

AZEVEDO, M. C. A. et al. Relação fisiopatológica entre Covid-19 e diabetes mellitus tipo 2: uma revisão narrativa. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 15, n. 4, p. e10154, 2022.

BAPTISTA, K. C. R. Avaliação do efeito do açaí (*Euterpe oleracea*) em modelo de endometriose, e descrição dos dados de toxicidade e do efeito anticancerígeno do açaí em modelos experimentais. 2018. 126 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

BARBAZUK, W. B.; KORF, I.; KADAVI, C.; HEYEN, J.; TATE, S.; WUN, E.; BEDELL, J. A.; MCPHERSON, J. D.; JOHNSON, S. L. Thesyntenic relationship of the zebrafish and human genomes. *Genome Research*, v. 10, p. 1351–1358, 2000.

BARCELLOS, P. S. et al. Avaliação bioquímica e toxicológica do extrato dos frutos de *Euterpe oleracea* Martius (açaí). *Revista de Ciências da Saúde*, p. 91, 2010.

BARROS, L. et al. The powerful *in vitro* bioactivity of *Euterpe oleracea* Mart. seeds and related phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, v. 76, p. 318–322, 2015.

BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; QUEIROZ, M. J. R. P.; SANTOS-BUELGA, C.; SANTOS, E. A.; RÉGIS, W. C. B.; FERREIRA, I. C. F. R. A poderosa bioatividade *in vitro* de *Euterpe oleracea* Mart. sementes e compostos fenólicos relacionados. *Industrial Crops and Products*, v. 76, p. 318–322, 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.05.086.

BARROS, S. K. A.; et al. Obtenção e caracterização de farinhas de caroço de açaí (*Euterpe oleracea*) e de casca de bacaba (*Oenocarpus bacaba*). *Research, Society and Development*, v. 10, n. 4, p. e2710413724–e2710413724, 29 mar. 2021.

BEM, G. F. et al. Efeito antidiabético do extrato de *Euterpe oleracea* Mart. (açaí) e treinamento físico em dieta rica em gordura e ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina: uma interação positiva. *PLoS One*, v. 13, n. 6, p. e0199207, 2018.

BERTUCI, M. L. Potencial antimicrobiano do extrato de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS – SLACA, 14., 2021, Campinas. *Anais...* Campinas: UNICAMP, 2021.

BONOLI, M. et al. Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 16, p. 5195–5200, 2004.

BORGES, K. R. A.; et al. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed oil and its nanoemulsion: chemical characterisation, toxicity evaluation, antioxidant and anticancer activities. *Current Issues in Molecular Biology*, v. 46, n. 5, p. 3763–3793, 23 abr. 2024a.

BORGES, K. R. A.; et al. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed oil and its nanoemulsion: chemical characterisation, toxicity evaluation, antioxidant and anticancer activities. *Current Issues in Molecular Biology*, v. 46, n. 5, p. 3763–3793, 23 abr. 2024b.

BORGES, K. R. A.; et al. *Euterpe oleracea* Mart. inhibits virulence factors of *Aspergillus fumigatus*. *Future Microbiology*, v. 14, n. 8, p. 717–728, 2019.

CAMARGOS, A. R. et al. A eficácia das técnicas da cirurgia bariátrica na remissão da diabetes mellitus tipo 2. *Revista Eletrônica Acervo Científico*, v. 26, p. e7541, 2021.

CANESCHI, W. L. O tratamento com extrato aquoso de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) protege o *Caenorhabditis elegans* contra exposição aguda à acrilamida. 2014. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2014.

CARVALHO, J. C. T.; KEITA, H.; SANTANA, G. R.; SOUZA, G. C.; SANTOS, I. V. F.; AMADO, J. R. R.; KOUROUMA, A.; PRADA, A. L.; CARVALHO, H. O.; SILVA, M. L. Effects of *Bothrops alternatus* venom in zebrafish: a histopathological study. *Inflammopharmacology*, v. 26, n. 1, p. 273–284, 2018. DOI: 10.1007/s10787-017-0362-z.

CARVALHO, T. S.; et al. Açaí (*Euterpe oleracea*) pulp-enriched diet induces anxiolytic-like effects and improves memory retention. *Food & Nutrition Research*, v. 66, 11 fev. 2022.

CASSIDY, A. et al. Habitual intake of anthocyanins and flavanones and risk of cardiovascular disease in men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 104, n. 3, p. 587-594, 2016. DOI: 10.3945/ajcn.116.133132.

CAZEDEY, E. C. L.; et al. Corrositex®, BCOP and HET-CAM as alternative methods to animal experimentation. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, p. 759–766, dez. 2009.

CHANG, C.; et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 10, n. 3, p. 178–182, 2002.

CHOI, Y. J.; CHOI, Y. J.; KIM, N. K.; NAM, R. H.; LEE, S.; LEE, H. S.; LEE, H. N.; SURH, Y. J.; LEE, D. H. Açaí berries inibem tumorigênese do cólon em ratos tratados com azoximetano/dextrano sulfato de sódio. *Gut and Liver*, v. 11, p. 243–252, 2017. DOI: 10.5009/gnl16068.

COBAS, R. et al. Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. *Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes*, 2023. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/diagnostico-e-rastreamento-do-diabetes-tipo-2/>.

COLE, J. B.; FLOREZ, J. C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nature Reviews Nephrology*, v. 16, n. 7, p. 377–390, 2020.

CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Norte. Brasília, DF: *Ministério do Meio Ambiente*, 2022. 1452 p.

CRASTO, W. et al. Prevention of microvascular complications of diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, v. 50, n. 3, p. 431–455, 2021.

D'AMICO, R.; et al. Açai berry mitigates Parkinson's disease progression showing dopaminergic neuroprotection via Nrf2-HO1 pathways. *Molecular Neurobiology*, v. 59, n. 10, p. 6519–6533, out. 2022.

DE BOER, I. H. et al. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA*, v. 305, n. 24, p. 2532–2539, 2011.

DE MOURA, R. S. et al. Addition of açai (*Euterpe oleracea*) to cigarettes has a protective effect against emphysema in mice. *Food and Chemical Toxicology*, v. 49, p. 855–863, 2011.

DE OLIVEIRA, E. D. F.; et al. Neuroprotective effects of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) against diabetic retinopathy. *Frontiers in Pharmacology*, v. 14, 2023.

DE OLIVEIRA, P. R.; DA COSTA, C. A.; DE BEM, G. F. et al. Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v. 56, p. 619–626, 2010.

DEL POZO-INSFRAN, D.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T. *Euterpe oleracea* Mart. polifenólicos em suas formas glicosídica e aglicona induzem a apoptose de células leucêmicas HL-60. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, p. 1222–1229, 2006. DOI: 10.1021/jf052132n.

DEMIR, S. et al. Emerging targets in type 2 diabetes and diabetic complications. *Advanced Science* (Weinheim), v. 8, n. 18, p. e2100275, 2021.

DENG, L.; et al. Natural products and their derivatives: promising modulators of tumor immunotherapy. *Leukocyte Biology*, p. 493–508, 2020.

DI MATTIA, C. et al. Effect of different conching processes on procyanidin content and antioxidant properties of chocolate. *Food Research International*, v. 63, p. 367–372, 2014.

DIAS, T. S.; ANDRADE, L. G. Diabetes mellitus tipo II. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, v. 9, n. 4, p. 1669–1682, 2023.

ELAFROS, M. A. et al. Towards prevention of diabetic peripheral neuropathy: clinical presentation, pathogenesis, and new treatments. *The Lancet Neurology*, v. 21, n. 10, p. 922–936, 2022.

ELSAYED, N. A. et al. Facilitating positive health behaviors and well-being to improve health outcomes: Standards of care in diabetes – 2023. *Diabetes Care*, v. 46, p. 68–96, 2023.

FAROOQ, M. et al. The phytochemical screening and antiangiogenic activity of audthan al himar (*Moricandia sinaica* Boiss.) extracts in zebrafish embryos and human umbilical vein endothelial cells. *Journal of King Saud University – Science*, v. 32, n. 4, p. 2370–2376, 2020. DOI: 10.1016/j.jksus.2020.03.017.

FEDERAÇÃO INTERNACIONAL DE DIABETES (IFD). 2021. Disponível em: <https://www.idf.org/>. Acesso em: 03/06/2025.

FELDMAN, E. L.; CALLAGHAN, B. C.; POP-BUSUI, R.; ZOCHODNE, D. W.; WRIGHT, D. E.; BENNETT, D. L.; BRIL, V.; RUSSELL, J. W.; VISWANATHAN, V. Diabetic neuropathy. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 5, n. 1, p. 42, 2019.

FELIN, F. D. Efeito de um formulado desenvolvido com guaraná e semente de açaí em modelos experimentais pós-cirúrgicos: estudo da reparação *in vitro* e *in vivo*. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2021.

FERREIRA, D. Q.; FERRAZ, T. O.; ARAÚJO, R. S.; CRUZ, R. A. S.; FERNANDES, C. P.; SOUZA, G. C.; ORTIZ, B. L. S.; SARQUIS, R. S. F. R.; MIRANDA, J. C. M. M.; GARRETT, R. et al. *Libidibia ferrea* (jucá), a traditional anti-inflammatory: a study of acute toxicity in adult and embryos zebrafish (*Danio rerio*). *Pharmaceuticals (Basel)*, v. 12, n. 4, p. 175, 2019. DOI: 10.3390/ph12040175.

FERREIRA, L. T.; et al. Chemical genomic profiling unveils the *in vitro* and *in vivo* antiplasmodial mechanism of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenols. *ACS Omega*, v. 4, n. 13, p. 15628–15635, 24 set. 2019.

FIGUEIREDO, A. M.; et al. Açaí supplementation (*Euterpe oleracea* Mart.) attenuates cardiac remodeling after myocardial infarction in rats through different mechanistic pathways. *PloS One*, v. 17, n. 3, 3 abr. 2022.

FILHO, A. L. M.; PEREIRA, M. R. R. Antimicrobial activity of açaí and pupunha oils on the development of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Bioscience Journal*, v. 28, p. 598–603, 2012.

FILHO, W. E. M.; et al. Antitumor effect of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract in LNCaP cells and in the solid Ehrlich carcinoma model. *Cancers*, v. 15, n. 9, 2023.

FONSECA, K. P.; RACHED, C. D. A. Complicações do diabetes mellitus. *International Journal of Health Management Review*, v. 5, n. 1, 2019.

GALOTTA, A. L. Q. de A.; BOAVENTURA, M. A. D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açaí (*Euterpe precatoria* Mart., Arecaceae). *Química Nova*, v. 28, p. 610–613, 2005.

GOMES, B. F.; ACCARDO, C. M. Mediadores imunoinflamatórios na patogênese do diabetes mellitus. *Einstein (São Paulo)*, v. 17, n. 1, p. eRB4596, 2019.

GONZÁLEZ-MORALES, D. L. et al. Preditores de qualidade de vida e diabetes mellitus tipo 1 na América Latina: revisão sistemática. *Revista Médica do Instituto Mexicano de Seguridad Social*, v. 58, n. 5, p. 603–611, 2020.

GUERREIRO, V.; et al. Oral glucose tolerance testing at 1 h and 2 h: relationship with glucose and cardiometabolic parameters and agreement for pre-diabetes diagnosis in patients with morbid obesity. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, v. 14, n. 1, p. 91, 2022.

HADARUGA, D. I.; COSTESCU, C. I.; CORPAŞ, L.; HADARUGA, N. G.; ISENGARD, H. D. Diferenciação da farinha de centeio e trigo, bem como misturas, usando a cinética da titulação da água por Karl Fischer. *Food Chemistry*, v. 195, p. 49–55, 2016.

HUDSON, B. I.; et al. Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *FASEB Journal*, v. 22, n. 5, p. 1572–1580, 2008.

JACOMINI, C. P.; et al. Prevalência de internações hospitalares por diabetes mellitus no Brasil entre 2020 e 2023. *Revista Foco*, v. 16, n. 9, p. e2615, 2023.

JESUBATHAM, P. D.; et al. Non-toxic and non-teratogenic extract of *Thuja orientalis* L. inhibited angiogenesis in zebra fish and suppressed the growth of human lung cancer cell line. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 106, p. 699–706, 2018.

JIAO, Y.; et al. Improved maize reference genome with single-molecule technologies. *Nature*, v. 546, p. 524–527, 2017.

KALWEIT, S.; BESOK, R.; SPIELMANN, G. H. A national validation project of alternative methods to Draize rabbit eye. *Toxicology in Vitro*, v. 4/5, p. 702–706, 1990. DOI: 10.1016/0887-2333(90)90147-1.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, v. 48, n. 4, p. 412–422, 2011.

KHALIFAH, R. G.; BAYNES, J. W.; HUDSON, B. G. Amadorins: novel post-Amadori inhibitors of advanced glycation reactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 257, n. 2, p. 251–258, 1999.

KIHO, T.; et al. Tomato paste fraction inhibiting the formation of advanced glycation end-products. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 68, n. 1, p. 200–205, 2004.

KINKEL, M. D.; et al. Intraperitoneal injection into adult zebrafish. *Journal of Visualized Experiments*, v. 42, p. e2126, 2010.

KOGA, R. C. R.; SOUZA, G. C.; TEIXEIRA, A. V. T. L.; FERREIRA, A. M.; SÁNCHEZ-ORTIZ, B. L.; ABREU, L. S.; TAVARES, J. F.; CARVALHO, J. C. T. Hydroethanolic extracts from *Bauhinia guianensis*: a study on acute toxicity in zebrafish embryos and adults. *Pharmaceutical Biology*, v. 62, n. 1, p. 577–591, 2024. DOI: 10.1080/13880209.2024.2374806.

LAMARÃO, C. V.; et al. Antioxidantes inorgânicos em frutos amazônicos / Inorganic antioxidants in Amazonian fruits. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 3, p. 12237–12253, 13 mar. 2020.

LEITÃO FILHO, A. S.; et al. Diabetes Mellitus type 1: the impact on quality of life. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 3, p. e21512340680, 2023.

LEMOS, F. M. F. do C.; et al. Avaliação da toxicidade de uma bebida elaborada a partir de sementes de açaí por meio de bioensaios. *Aracê*, v. 7, n. 4, p. 16866–16876, 1 abr. 2025.

LINKE, A.; TIEGS, G.; NEUMANN, K. Pathogenic T-cell responses in immune-mediated glomerulonephritis. *Cells*, v. 11, art. 1625, 2022. DOI: 10.3390/cells11101625.

LUO, Q.; et al. Green extraction of antioxidant polyphenols from green tea (*Camellia sinensis*). *Antioxidants*, v. 9, n. 9, p. 785, 2020.

MA, F.-Y.; et al. Identification of phenolics from miracle berry (*Synsepalum dulcificum*) leaf extract and its antiangiogenesis and anticancer activities. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, p. 970019, 2022.

- MADUREIRA, T. V.; ROCHA, M. J.; CRUZEIRO, C.; RODRIGUES, I.; MONTEIRO, R. A. F.; ROCHA, E.** The toxicity potential of pharmaceuticals found in the Douro River estuary (Portugal): evaluation of impacts on fish liver, by histopathology, stereology, vitellogenin and CYP1A immunohistochemistry, after sub-acute exposures of the zebrafish model. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 34, n. 1, p. 34–45, 2012. DOI: 10.1016/j.etap.2012.02.007.
- MAGALHÃES, A. L. G.; et al.** Epidemiology of traumatic brain injury in Brazil. *Revista Brasileira de Neurologia*, v. 53, n. 2, p. 15–22, 2017.
- MAGALHÃES, T. A. F. M.; et al.** Açaí (*Euterpe oleracea* Martius) promotes jejunal tissue regeneration by enhancing antioxidant response in 5-fluorouracil-induced mucositis. *Nutrition and Cancer*, v. 73, n. 3, p. 523–533, 2021.
- MAIA, E. S.** Composição química e benefícios nutricionais dos caroços de açaí (*Euterpe precatoria*), guaraná (*Paullinia cupana*) e tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) na alimentação animal. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura Plena em Ciências – Biologia e Química) – Universidade Federal do Amazonas, Amazonas, 2020.
- MARTINEZ, R. M.; GUIMARÃES, D. A. B.; BERNIZ, C. R.; ABREU, J. P.; ROCHA, A. P. M. D.; MOURA, R. S.; RESENDE, A. C.; TEODORO, A. J.** Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma cells. *Foods*, v. 7, n. 11, p. 178, 2018. DOI: 10.3390/foods7110178.
- MARTINEZ, R. M.; GUIMARÃES, D. A. B.; BERNIZ, C. R.; et al.** Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma cells. *Foods*, v. 7, n. 11, p. 178, 26 out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods7110178>.
- MARTINS, G. R.; MATTOS, M. M. G.; NASCIMENTO, F. M.; BRUM, F. L.; MOHANA-BORGES, R.; FIGUEIREDO, N. G.; NETO, D. F. M.; DOMONT, G. B.; NOGUEIRA, F. C. S.; DE PAIVA CAMPOS, F. A.; SANT'ANA DA SILVA, A.** Phenolic profile and antioxidant properties in extracts of developing açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 70, n. 51, p. 16218–16228, 28 dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c07028>.
- MARTINS, L. S.** Prospecção do caroço do açaí e seus subprodutos na área de nutrição e farmacologia: uma revisão bibliométrica. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2023.
- MELO, P. S.; et al.** Açaí seeds: an unexplored agro-industrial residue as a potential source of lipids, fibers, and antioxidant phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, v. 161, p. 113204, 1 mar. 2021.
- MELO, P. S.; et al.** Antioxidative and prooxidative effects in food lipids and synergism with α -tocopherol of açaí seed extracts and grape rachis extracts. *Food Chemistry*, v. 213, p. 440–449, 2016.
- MENDES, T. M. N.; et al.** Guaraná (*Paullinia cupana*) catechins and procyanidins: gastrointestinal/colonic bioaccessibility, Caco-2 cell permeability and the impact of macronutrients. *Journal of Functional Foods*, v. 55, p. 352–361, 2019.

MÉNDEZ, L.; MEDINA, I. Polyphenols and fish oils for improving metabolic health: a revision of the recent evidence for their combined nutraceutical effects. *Molecules*, v. 26, n. 9, p. 2438, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26092438>.

MENDOZA MEZA, D. L.; MEDINA VALDÉS, R. Inhibición *in vitro* de las enzimas alfa-amilasa y lipasa pancreática por fracciones fenólicas de extractos etanólicos de hojas de Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl). *Avances en Química*, v. 10, n. 1, p. 33–40, 2015.

MENEZES NETO, M. A. Caracterização anatômica e degradação de reservas em sementes e plântulas de açaizeiro *Euterpe oleracea* Mart. (açaí) durante a anaerobiose. 2004. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2004.

MIRANDA, D. P. A.; et al. The importance of a waste policy in the agroindustry of the Açaí do Amazonas (*Euterpe precatoria* Mart.). *Research, Society and Development*, vol. 11, n. 13, p. e77111335171, 2022.

MOLYNEUX, P. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, v. 26, p. 211–219, 2004.

MORENO, D. A.; et al. Inhibition of lipid metabolic enzymes using *Mangifera indica* extracts. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, v. 4, n. 1, p. 21–26, 2006.

MOTA, G. A. F.; et al. Diabetes mellitus, exercício físico e variabilidade da frequência cardíaca. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 120, n. 1, p. e20220902, 2023

MULLENS, W. et al. Importance of venous congestion for worsening of renal function in advanced decompensated heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 53, n. 7, p. 589–596, 2009.

MUNIZ FILHO, W. E.; ALMEIDA-SOUZA, F.; VALE, A. A. M.; VICTOR, E. C.; ROCHA, M. C. B.; SILVA, G. X. et al. Antitumor effect of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract in LNCaP cells and in the solid Ehrlich carcinoma model. *Cancers*, v. 15, n. 9, p. 2544, 2023.

NATOV, P. S. et al. Improvement in renal function during the treatment of acute decompensated heart failure: relationship with markers of renal tubular injury and prognostic importance. *Circulation: Heart Failure*, v. 16, n. 3, e009776, 2023. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.122.009776. biolincc.nhlbi.nih.gov

OLIVEIRA, G. R. B. de; et al. Stem bark extracts of *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec: inhibition of pancreatic lipase and antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 11, n. 30, p. 472–479, 2017a.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. 2021. Disponível em: <https://www.who.int>. Acesso em: 05/02/2025.

ONG, K. L.; et al. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, v. 402, n. 10397, p. 203–234, 2023.

- PALA, D.; et al.** A ingestão alimentar de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) afeta os lipídios plasmáticos, as apolipoproteínas, a transferência de ésteres de colesterol para lipoproteínas de alta densidade e o metabolismo redox: um estudo prospectivo em mulheres. *Clinical Nutrition*, v. 37, n. 2, p. 618–623, 1 abr. 2018.
- PARK, J. J.** Epidemiology, pathophysiology, diagnosis and treatment of heart failure in diabetes. *Diabetes & Metabolism Journal*, v. 45, n. 2, p. 146–157, 2021.
- PEDRALI, D.; BARBARITO, S.; LAVELLI, V.** Encapsulation of grape seed phenolics from winemaking byproducts in hydrogel microbeads – impact of food matrix and processing on the inhibitory activity towards α -glucosidase. *LWT*, v. 133, p. 109952, 2020.
- PÉREZ-TORRES, I.; CASTREJÓN-TÉLLEZ, V.; SOTO, M. E.; RUBIO-RUIZ, M. E.; MANZANO-PECH, L.; GUARNER-LANS, V.** Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 4, p. 1786, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22041786>.
- PERINI, Jéssica Alessandra; et al.** Estudo do efeito farmacológico e da toxicidade do extrato de *Euterpe oleracea* em modelo experimental de câncer de mama. 2017.
- POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDZIC, V.** Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R.; LLOYD, R. (org.). *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish*. Cambridge: Blackwell Science, 1994. p. 339-352.
- PONTES, V. C. B.; et al.** Increased acute blood flow induced by the aqueous extract of *Euterpe oleracea* Mart. fruit pulp in rats *in vivo* is not related to the direct activation of endothelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 271, p. 113885, 2021.
- PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R.** Efeitos benéficos do açaí. *International Journal of Nutrology*, v. 5, n. 1, p. 15–20, 2012.
- RAMALHO, D.; et al.** Glycemic control during the COVID-19 pandemic: a catastrophe or a sign of hope for the person with type 1 Diabetes Mellitus? *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, v. 69, n. 7, p. 476–482, 2022.
- RAMOS, Khellida Loiane Vieira.** Avaliação da citotoxicidade da terapia fotodinâmica mediada por nanoemulsão à base de óleo de açaí contra câncer de pele não-melanoma. 2014.
- RE, R.; et al.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 26, p. 1231–1237, 1999.
- RIBEIRO, G. P.; et al.** Extração e quantificação de flavonoides de *Euterpe oleracea* Mart. por espectrofotometria no UV-VIS. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. Blucher Chemical Engineering Proceedings, São Paulo, SP: Editora Blucher, set. 2018. Disponível em: <http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/29264>. Acesso em: 6 jan. 2025.
- RIBEIRO, J. C.; ANTUNES, L. M.; et al.** Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açaí pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. *Mutation Research*, v. 695, n. 1–2, p. 22–28, jan. 2010.

RIBEIRO, M. S.; et al. Avaliação da atividade terapêutica e da toxicidade de bioproduto derivado das sementes da espécie *Euterpe oleracea* Mart. *Caderno Pedagógico*, v. 22, n. 2, p. e13393–e13393, 17 jan. 2025.

ROBERTSON, R. P. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *Journal of Biological Chemistry*, v. 279, p. 42351–42354, 2004.

ROCKENBACH, I. I. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos de sementes e cascas de bagaço de uva vermelha (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*) da vinificação brasileira. *Food Research International*, v. 44, n. 4, p. 897–901, 2011.

RODACKI, M.; et al. Classificação do diabetes. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES (SBD). *Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes*. [S. l.: s. n.], 2021.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. *Histologia: texto e atlas em correlação com a biologia celular e molecular*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

SANTOS, I. B.; et al. Açaí seed extract prevents the renin-angiotensin system activation, oxidative stress and inflammation in white adipose tissue of high-fat diet–fed mice. *Nutrition Research*, v. 79, p. 35–49, 2020.

SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes* 2019–2020. São Paulo: [s. n.], 2019. 491 p.

SHARAPIN, N. Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos. *Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello*, 2000.

SHEN, Y.; et al. Application of zebrafish as a model for anti-cancer activity evaluation and toxicity testing of natural products. *Pharmaceuticals (Basel)*, v. 16, n. 6, p. 827, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph16060827>.

SILVA, D. C. Efeitos de um programa de treinamento aeróbico sobre o balanço redox e os produtos de glicação avançada em diabéticos tipo 2. 2019. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

SILVA, M. A. C. N. D.; COSTA, J. H.; PACHECO-FILL, T.; RUIZ, A. L. T. G.; VIDAL, F. C. B.; BORGES, K. R. A. et al. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract induces ROS production and cell death in MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules*, v. 26, n. 12, p. 3546, 2021b.

SILVA, M. A. C. N. D.; COSTA, J. H.; PACHECO-FILL, T.; RUIZ, A. L. T. G.; VIDAL, F. C. B.; BORGES, K. R. A.; GUIMARÃES, S. J. A.; AZEVEDO-SANTOS, A. P. S.; BUGLIO, K. E.; FOGLIO, M. A.; BARBOSA, M. D. C. L.; NASCIMENTO, M. D. D. S. B.; DE CARVALHO, J. E. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract induces ROS production and cell death in MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules*, v. 26, n. 12, p. 3546, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26123546>.

SIMÕES, A. B.; et al. Diabetes gestacional nos anos 2000 e 2010: retrato de uma sociedade? *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo*, v. 8, n. 1, p. 21–24, 2013.

SLANC, P.; et al. Screening of selected food and medicinal plant extracts for pancreatic lipase inhibition. *Phytotherapy Research*, v. 23, p. 874–877, 2009.

SOARES, E. R. et al. Up-regulation of Nrf2-antioxidant signaling by açai (*Euterpe oleracea* Mart.) extract prevents oxidative stress in human endothelial cells. *Journal of Functional Foods*, v. 37, p. 107–115, 2017.

SOARES, E. R. et al. Up-regulation of Nrf2-antioxidant signaling by açai (*Euterpe oleracea* Mart.) extract prevents oxidative stress in human endothelial cells. *Journal of Functional Foods*, v. 37, p. 107–115, 2017.

SOARES, R. de A.; et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract improves aerobic exercise performance in rats. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, v. 136, out. 2020.

SOUSA, N. C. F. Potencial modulador dos metabólitos da semente e polpa de *Euterpe oleracea* Mart. sobre a via Orai1/STIM1/NFAT de linfócitos T: uma abordagem in silico. 2023. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2023.

SOUZA, C. L.; OLIVEIRA, M. V. Fatores associados ao descontrole glicêmico de diabetes mellitus em pacientes atendidos no Sistema Único de Saúde no Sudoeste da Bahia. *Cadernos de Saúde Coletiva*, v. 28, n. 1, p. 153–164, 2020.

SOUZA, G.; DUARTE, J.; FERNANDES, C.; MOYADO, J.; NAVARRETE, A.; CARVALHO, J. Obtainment and study of the toxicity of perillyl alcohol nanoemulsion on zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Nanomedicine Research*, v. 4, n. 4, p. 00093, 2016. DOI: 10.15406/jnmr.2016.04.00093.

SOUZA, G.; SILVA, I. D. R.; VIANA, M. D.; COSTA DE MELO, N.; SÁNCHEZ-ORTIZ, B.; OLIVEIRA, M. M. B.; BARBOSA, W. R.; FERREIRA, I. M.; CARVALHO, J. C. T. Acute toxicity of the hydroethanolic extract of the flowers of *Acmella oleracea* L. in zebrafish (*Danio rerio*): behavioral and histopathological studies. *Pharmaceuticals*, v. 12, n. 4, p. 173, 2019. DOI: 10.3390/ph12040173.

SOUZA-MONTEIRO, J. R.; et al. Antidepressant and antiaging effects of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) in mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, 2019.

STEILING, W.; BRACHER, M.; COURTELLEMONT, P.; SILVA, O. The HET-CAM, A useful *in vitro* assay for assessing the eye irritation properties of cosmetic formulations and ingredients. *Toxicology in Vitro*, v. 13, p. 375–384, 1999. DOI: 10.1016/S0887-2333(98)00091-5.

SUCUPIRA, N. R.; DA SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; DA COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *Journal of Health Sciences*, v. 14, n. 4, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2012v14n4p%p>. Acesso em: 14 abr. 2024.

SUN, J.; et al. Hypoglycemic effect and mechanism of honokiol on type 2 diabetic mice. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 9, p. 6327–6342, 2015.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. *An atlas of fish histology – normal and pathological features*. Tóquio: Kodansha Ltda., 1995.

TRINDADE, P. L.; et al. Antiadipogenic effects of açai seed extract on high fat diet-fed mice and 3T3-L1 adipocytes: a potential mechanism of action. *Life Sciences*, v. 228, p. 316–322, 2019.

UDANI, J. K.; et al. Effects of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. *Nutrition Journal*, v. 10, n. 1, p. 45, 12 maio 2011.

VALMADRID, C. T.; et al. The risk of cardiovascular disease mortality associated with microalbuminuria and gross proteinuria in persons with older-onset diabetes mellitus. *Archives of Internal Medicine*, v. 160, n. 8, p. 1093–1100, 2000.

VELASQUE, L. F. L.; LOBO, A. C. M. Revisão de literatura sobre os efeitos terapêuticos do açai e sua importância na alimentação. *Biosaúde*, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 97–106, 2017. Disponível em: <https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/biosaude/article/view/27624>. Acesso em: 6 mar. 2024.

VIDAL, R. et al. Apple procyanidins decrease cholesterol esterification and lipoprotein secretion in Caco-2/TC7 enterocytes. *Journal of Lipid Research*, v. 46, p. 258–268, 2005. DOI: 10.1194/jlr.M400209-JLR200.

VIEIRA, D. D. S.; et al. Obtenção e caracterização físico-química do óleo da semente de *Euterpe oleracea*. *Observatório de la Economía Latinoamericana*, v. 22, n. 7, p. e5564–e5564, 1 jul. 2024.

VILHENA, L. S.; et al. Desenvolvimento e validação de metodologia bioanalítica por LC-MS. 2019.

WANG, S.; YU, H.; WICKLIFFE, J. K. Limitation of the MTT and XTT assays for measuring cell viability due to superoxide formation induced by nano-scale TiO₂. *Toxicology in Vitro*, v. 25, p. 2147–2151, 2011. DOI: 10.1016/j.tiv.2011.07.007.

WILSON, T. D.; STECK, W. F. A modified HET–CAM assay approach to the assessment of anti-irritant properties of plant extracts. *Food and Chemical Toxicology*, v. 38, n. 10, p. 867–872, 1 out. 2000.

XAVIER, G. S.; et al. Inhibitory effect of catechin-rich açai seed extract on LPS-stimulated RAW 264.7 cells and carrageenan-induced paw edema. *Foods*, v. 10, n. 5, p. 1014, 6 maio 2021.

XIANG, S.; et al. Bergenin exerts hepatoprotective effects by inhibiting the release of inflammatory factors, apoptosis and autophagy via the PPAR-γ pathway. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 14, p. 129–143, 2020.

YAMAGUCHI, K.; PEREIRA, L.; LAMARÃO, C.; LIMA, E.; VEIGA-JUNIOR, V. da. Amazon açai: chemistry and biological activities: a review. *Food Chemistry*, v. 15, p. 137–151, 2015.

YAMAGUCHI, S. T.; TOMITA, J.; KUME, K. Insulin signaling in clock neurons regulates sleep in *Drosophila*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 591, p. 44–49, 2022.

YILDIRIM, C. et al. Effects of *Euterpe oleracea* to enhance learning and memory in a conditioned nicotinic and muscarinic receptor response paradigm by modulation of cholinergic mechanisms in rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 23, n. 4, p. 388–394, 2020.

YILDIRIM, C.; et al. Effects of *Euterpe oleracea* to enhance learning and memory in a conditioned nicotinic and muscarinic receptor response paradigm by modulation of cholinergic mechanisms in rats. *Journal of Medicinal Food*, v. 23, n. 4, p. 388–394, 2020.

ZANOTTO, D. L.; BELLAVER, C. *Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves*. [S.l.], 1996.

ZHANG, J.; et al. Pancreatic lipase inhibitory activity of *Taraxacum officinale* *in vitro* and *in vivo*. *Nutrition Research and Practice*, v. 2, n. 4, p. 200, 2008.

ANEXOS:





Ministério da Educação Universidade Federal do Amazonas
Comitê de Ética em Experimentação Animal

CERTIFICADO CEUA/UFAM

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação de parâmetros de toxicidade e de efeitos antidiabéticos de um extrato aquoso das sementes de açaí (*Euterpe precatoria* Mart.)", registrada com o nº 23105.035865/2023-19, sob a responsabilidade de Emersom Silva Lima - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em reunião de 30 de abril de 2024.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	até dezembro de 2027
Espécie/linhagem/raça	Camundongos - C57BL/6J
Nº de animais	100
Peso/Idade	20 - 25 gramas/ 8 a 12 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFAM

PROCESSO:

APROVADO/DATA: 30 de abril de 2024

TÍTULO: Avaliação de parâmetros de toxicidade e de efeitos antidiabéticos de um extrato aquoso das sementes de açaí (*Euterpe precatoria* Mart.)

16/05/2024, 10:04 SEI/UFAM - 2044911 - Certificado CEUA

AUTORES: Emersom Silva Lima

DEPARTAMENTO/UFAM: Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Manaus, 10 de maio de 2024.



Documento assinado eletronicamente por Marcus Vinícius Alves da Silva, Médico Veterinário, em 10/05/2024, às 15:23, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufam.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2044911 e o código CRC 6EC5102F.

Av. Rodrigo Otávio, 6200 - Bairro Coroado Campus Universitário Senador Arthur Virgílio Filho, Setor Sul, Bloco D, ao lado do Biotério Central - Telefone:

CEP 69077-000, Manaus/AM, ceuamaneus@ufam.edu.br



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A9B0E76

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A9B0E76**
Usuário: **Universidade Federal do Amazonas**
CPF/CNPJ: **04.378.626/0001-97**
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Euterpe precatoria
Myrciaria dubia
Caryocar villosum
Dioscorea trifida
Siparuna guianensis
Solanum sessiliflorum

Título da Atividade: **Bioativos Amazônicos Aplicados ao Desenvolvimento de Produtos para a Saúde Humana**

Equipe

EMERSON SILVA LIMA **Universidade Federal do Amazonas**

Data do Cadastro: **07/05/2024 17:52:17**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **17:53** de **07/05/2024**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**