



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Perfil fitoquímico e potencial antidiabético de frutos da palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*)

Mestrando: Lucas Marques Pereira de
Rezende

Orientador: Carlos Alexandre Carollo

Dissertação de mestrado do programa
de pós-graduação em farmácia.

**Campo Grande-MS
2016**

RESUMO

A espécie *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. é popularmente conhecida como macaúba. Seu fruto é consumido *in natura*, na forma de farinha ou no preparo de diversos pratos. A espécie possui relatos de sua utilização na medicina tradicional para tratamento do Diabetes Mellitus. Neste contexto, o objetivo deste estudo é avaliar o perfil fitoquímico e o potencial antidiabético dos frutos da macaúba. Foram preparados dois extratos utilizando o extrator de fluido pressurizado, o extrato bruto contendo pectina (AACE), e o extrato sem pectina (AAFP), a fim de avaliar a influência deste composto ao potencial antidiabético. Para avaliação da atividade antidiabética foram realizados testes de tolerância oral à glicose em camundongos C57Bl/6 normoglicêmicos e hiperglicêmicos cronicamente, induzidos por aloxano. Os ácidos graxos foram analisados por CG-FID. Foram identificados 23 ácidos graxos, sendo os compostos majoritários o ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1) e o ácido linoleico (C18:2). A análise de flavonoides foi feita por HPLC-DAD-ESI-qTOF/MS/MS, foram identificados 9 flavonoides no extrato AACE: catequina, apigenina-6,8-di-C-hexosil, luteolina-6-C-pentosil-8-C-hexosil, 2 isômeros de apigenina-6-C-pentosil-8-C-hexosil, 2 isômeros de apigenina-6-C-hexosil-8-C-pentosil, apigenina-6,8-di-C-pentosil. Os extratos AACE e AAFP, apresentaram resultados semelhantes no teste de tolerância oral à glicose inicial. Nos testes de controle glicêmico, o extrato AACE da farinha de macaúba (400 mg/Kg de massa corporal) reduziu a hiperglicemia induzida pela sobrecarga de glicose no teste de tolerância oral a glicose em animais normoglicêmicos e, cronicamente, após 28 dias de tratamento, reduziu a glicemia e hemoglobina glicada dos animais diabéticos de forma semelhante aos tratados com metformina (100 mg/Kg de massa corporal), comparados aos controles. Esses resultados mostram o potencial antidiabético dos frutos de *A. aculeata* e, pelo menos em parte, os possíveis constituintes químicos responsáveis pela ação farmacológica observada.

Palavras-chave: Macaúba; Diabetes; Flavonoides.

SUMÁRIO

Revisão da Literatura	Pág.
Biodiversidade.....	01
Plantas medicinais.....	02
Diabetes Mellitus.....	04
Metabólitos secundários com atividade antidiabética	
Flavonoides.....	05
Ácidos graxos.....	07
Pectina.....	09
Modelo in vivo para estudo de Diabetes Mellitus.....	10
Macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>).....	11
Objetivos Gerais.....	14
Objetivos Específicos.....	14
Referência Bibliográficas.....	15

Artigo: Perfil fitoquímico e potencial antidiabético de frutos da palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*)

Resumo.....	01
Introdução.....	03
Materiais e Métodos.....	04
Resultados.....	07
Discussão.....	11
Conclusão.....	13
Referências Bibliográficas.....	14
Anexo: Figuras e tabelas	

REVISÃO DE LITERATURA

Biodiversidade

O Brasil encontra-se em uma posição de destaque em relação à biodiversidade, tanto animal quanto vegetal. Considerando-se apenas o restrito universo de espécies catalogadas no mundo (entre plantas superiores e animais vertebrados), o país detém a maior quantidade total (13%) e a segunda maior quantidade de espécies endêmicas em valores absolutos, com 19.288, somente atrás da Indonésia, com 19.348 espécies entre vertebrados e plantas (ALVAREZ; MOTA, 2010).

A flora brasileira é a uma das mais ricas do mundo com aproximadamente 60 mil espécies. O que significa algo em torno de 18% de toda a diversidade de plantas do mundo, que são distribuídas em seis principais biomas: Pantanal, Floresta Amazônica, Caatinga, Mata Atlântica e Cerrado. Isso representa um grande potencial de variabilidade genética a ser explorado. Diversas espécies nativas são importantes alimentos da dieta humana com importância regional e local, tais como a mandioca, o abacaxi, os amendoins, o cacau, o caju, o cupuaçu, o maracujá, a castanha-do-brasil, o guaraná, a jabuticaba e o açaí, entre outras (BRASIL, 1998).

A exploração da biodiversidade representa uma importante fonte de recursos econômicos. Cerca de 40% da toda economia mundial se baseia diretamente em produtos e processos relacionados à diversidade natural. Em particular, setores como alimentos, combustíveis, fibras, madeira, extratos, óleos, medicamentos e cosméticos utilizam matérias-primas originárias da biodiversidade (CNI, 2012; PIMENTEL et al., 2015).

Dentro dos biomas brasileiros se destaca o Pantanal, que constitui uma das maiores biodiversidades do planeta e uma grande fonte de recursos naturais em diversas áreas, seja na área econômica, medicinal, ecológica e cultural (BRASIL, 2010).

De acordo com o quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica do Ministério do Meio Ambiente, o bioma Pantanal ainda encontra-se em bom estado de preservação, mantendo 86,77% de sua cobertura vegetal nativa. A vegetação não-florestal (savana [cerrado], savana estépica [chaco], formações pioneiras e áreas de tensão ecológica ou contatos florísticos [ecótonos e encraves]) predomina em 81,70% do bioma (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2011).

A utilização da biodiversidade para a obtenção de substâncias com finalidade terapêutica é uma das aplicações mais tradicionais e antigas da humanidade. Alguns compostos, devido à alta complexidade estrutural de suas moléculas, são de difícil reprodução em laboratório, o que torna a natureza uma importante fonte de variedade química. Os compostos naturais vêm sendo utilizados tanto como princípios ativos, quanto como precursores para o desenvolvimento de novas moléculas. A diversidade biológica é constantemente referida como uma das possíveis fontes de vantagens competitivas para o Brasil, sendo a indústria farmacêutica um dos setores com maior potencial para seu aproveitamento (PIMENTEL et al., 2015).

Devido a sua grande biodiversidade e potencial genético, os biomas brasileiros se tornam uma atraente fonte para pesquisas de recursos biológicos com finalidade medicinal, na produção de fitoterápicos, fitofármacos, protótipos para desenvolvimento de novos fármacos, utilização como fonte de matéria-prima farmacêutica (produtos utilizados na formulação de medicamentos), obtenção de corantes e demais utilidades tanto na indústria farmacêutica quanto química (SCHENKE; GOSMANN; PETROVICK, 2003).

Plantas medicinais

Os produtos naturais, historicamente, têm desempenhado um importante papel no tratamento e prevenção de várias doenças, sendo uma fonte de destaque na descoberta de novas drogas. Nos relatos mais antigos, constam utilização de plantas medicinais em 2400 a.c. na Mesopotâmia (ATTINGER, 2008). Cerca de 95% da biodiversidade do planeta (estimada em 2 milhões de

espécies de plantas, animais, fungos e microrganismos) não tiveram a atividade biológica de seus metabólitos avaliada (COLEGATE; MOLYNEUX, 2007; DEWICK, 2002; MISHRA; TIWARI, 2011).

Um exemplo de medicamento desenvolvido a partir de produtos naturais é a metformina, medicamento utilizado no tratamento do diabetes mellitus, desenvolvido a partir da espécie *Galega officinalis* L., popularmente conhecida por galega. O composto responsável pela atividade hipoglicemiante, a galegina, serviu como precursor na descoberta de novos compostos com atividade antidiabética (OUBRE et al., 1997).

Existem cerca de 1200 espécies de plantas relatadas na literatura com atividade antidiabética. Dessas, um terço apresenta atividade cientificamente comprovada (CHANG et al., 2013). Espécies como o *Arctium minus* (bardana), *Allium sativum* (alho), *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) e *Anacardium occidentale* (caju), são exemplos de plantas com comprovação científica dos seus efeitos antidiabéticos (BORGES; BAUTISTA; GUILERA, 2008).

A pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), uma das espécies mais citadas na literatura, é usada na medicina popular para o tratamento de diabetes há muito tempo. Propriedades biológicas de espécies de *Bauhinia* têm sido atribuídas aos seus compostos fenólicos. Entre seus constituintes, estão presentes os flavonoides (especialmente derivados de quercetina e kaempferol) (SILVA, et al. 2002). Além dos flavonoides, há uma proteína semelhante à insulina, que reduz os níveis de glicose no sangue quando injetada em ratos diabéticos (AZEVEDO et al., 2006).

A bardana (*Arctium minus*) demonstrou atividade antidiabética, diminuindo os níveis plasmáticos de glicose, com potência semelhante ao medicamento glibenclamida (CAVALLI, et al. 2007).

O alho (*Allium sativum*), alimento comum, usado como tempero no mundo todo, possui relatos de sua atividade antidiabética (MASJEDI, et al. 2013). Os resultados demonstram que seu extrato metanólico possui um potencial efeito anti-hiperglicemiante, que pode ser útil na redução da glicose no sangue em pacientes diabéticos. Os testes de tolerância à glicose em ratos

apresentaram redução da glicose sérica maior que a glibenclamida (GHOSH, 2014).

O caju (*Anacardium occidentale*), uma espécie nativa do Brasil, principalmente na região nordeste, apresenta estudos em relação à sua atividade anti-inflamatória, no tratamento de câncer, dano oxidativo e obesidade (HEMSHEKHAR, et al 2012). Mais recentemente foi avaliada sua potencial atividade hipoglicêmica, com redução dos níveis séricos de glicose, que poderiam melhorar o estado do paciente diabético (DIONÍSIO, et al. 2015).

Diabetes Mellitus

O diabetes é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina, ou ambos. A hiperglicemia crônica de diabetes está associada a danos a longo prazo, à disfunção e à insuficiência de diferentes órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos. Vários processos patogênicos estão envolvidos no desenvolvimento da doença. Estas vão desde destruição autoimune das células- β do pâncreas, com consequente deficiência de produção de insulina, até anormalidades que resultam da resistência à ação da insulina. A base das anormalidades no metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, no diabetes, é a deficiência na ação da insulina nos tecidos-alvo. O comprometimento da secreção de insulina e defeitos na ação da insulina frequentemente coexistem no mesmo paciente (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; TA, 2014).

Os sintomas de hiperglicemia acentuada incluem poliúria, polidipsia, perda de peso, às vezes com polifagia, e visão turva. Prejuízo ao crescimento e susceptibilidade a certas infecções também podem acompanhar hiperglicemia crônica (TA, 2014).

O Diabetes Mellitus pode ser classificado em 4 tipos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012):

- Diabetes tipo 1: resultado de destruição das células β pancreáticas, geralmente levando à deficiência absoluta de insulina;
- Diabetes tipo 2: resultado de deficiência progressiva na secreção de insulina e na resistência à insulina;
- Diabetes Mellitus Gestacional (DMG): diabetes diagnosticada durante a gravidez, que se desenvolve geralmente perto do terceiro trimestre da gestação;
- Outros tipos específicos de diabetes devido a outras causas, por exemplo, defeitos genéticos no funcionamento das células- β , defeitos genéticos na ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino (tal como fibrose cística), medicamentos ou induzida por outros componentes químicos (tal como no tratamento do HIV/AIDS ou após transplante de órgãos);

O Diabetes mellitus é considerado uma epidemia mundial. Trata-se de um dos mais importantes distúrbios crônicos conhecidos, devido ao significativo número de portadores, acarretando índices elevados de morbidade e mortalidade (CRUZ et al., 2013).

Existem cerca de 415 milhões de diabéticos no mundo (IDF, 2015). A estimativa para 2040 é que esses números subam para 642 milhões. No Brasil existem 14,3 milhões (IDF, 2015). Segundo os dados da International Diabetes Federation, os custos relacionados a esta enfermidade no mundo inteiro são elevados. Estima-se que o gasto com o diabetes represente pelo menos 12% das despesas de saúde global (673 bilhões de dólares em 2015). No mundo todo o diabetes é responsável pela morte de 5 milhões de pessoas (IDF, 2015).

Metabólitos secundários com atividade antidiabética

Flavonoides

Os flavonoides representam uma grande classe de, pelo menos, 6000 compostos fenólicos encontrados em frutas, legumes, nozes, sementes de cereais, cacau, chocolate, chá, soja, vinho tinto, ervas e produtos de bebida. Estruturalmente, flavonoides consistem em dois anéis aromáticos (A e B)

ligados por uma cadeia de três carbonos que forma um anel heterocíclico oxigenado (anel C).

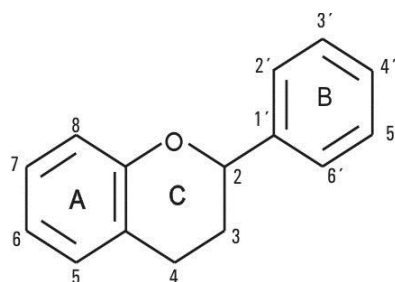


Figura 1– Estrutura básica de um flavonoide.

Existem seis subclasses de flavonoides, incluindo flavonas, flavanonas, flavonois, isoflavonas e antocianidinas, com base em diferenças na estrutura genérica do anel de C, nos grupos funcionais nos anéis e na posição em que o anel B está ligado ao anel C. Dentro de cada subclasse, os compostos individuais são caracterizados por padrões de hidroxilação e conjugação específica (VINAYAGAM;XU,2015).

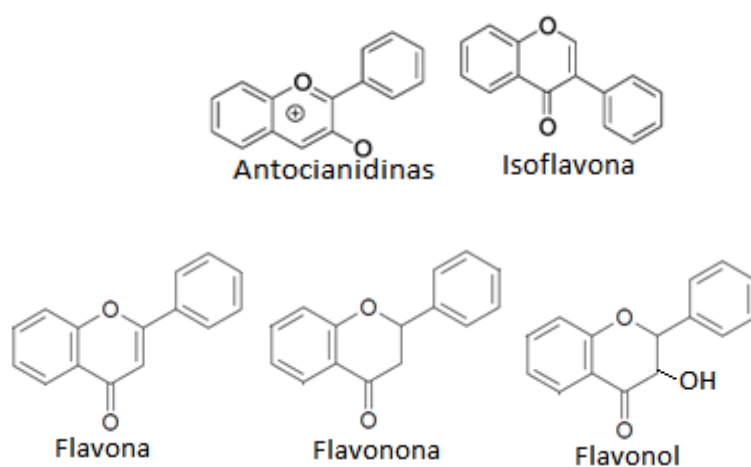


Figura 2– Estrutura de algumas classes de flavonoides.

As propriedades antidiabéticas dos flavonoides devem-se principalmente ao seu efeito sobre uma série de alvos moleculares e regulação de várias vias, como: a redução da apoptose, aumentando a proliferação de células β pancreáticas e promovendo a secreção de insulina; regulação do metabolismo da glicose em hepatócitos e subsequente melhoria da hiperglicemia; diminuição da resistência à insulina, inflamação e estresse oxidativo em adipócitos e fibras

esqueléticas; aumento da captação de glicose no tecido muscular e adiposo (HAJIAGHAALIPOUR; KHALILPOURFARSHBAFI; ARYA, 2015).

Tabela 1 - Mecanismo de ação de alguns flavonoides (CHEN, et al., 2015):

Flavonoides	Mecanismo de ação
Quercetina	Proteção das células β contra danos oxidativos; preservação da função de células β ; promoção da síntese de glicogênio; inibição da α -glicosidase.
Kaempferol	Proteção das células β contra danos oxidativos; inibição da sucrase, maltase e α -amilase.
Apigenina	Proteção das células β contra danos oxidativos.
Luteolina	Inibição da α -glicosidase, α -amilase.
Rutina	Ativação de sinalização em células β ; estimulação da captação de glicose; sinalização do receptor de insulina; redução da quebra do glicogênio; inibição da α -glicosidase.
Miricetina	Ativação de transporte de glicose; estimulação da captação de glicose; promoção da síntese de glicogênio; inibição da sucrase, maltase e α -amilase.

Ácidos Graxos

O primeiro papel dos ácidos graxos é como nutriente essencial. Os efeitos da deficiência dos ácidos graxos essenciais incluem pele escamosa, diarreia e, finalmente, a morte. A nível celular são uma parte essencial da

bicamada fosfolipídica de membranas. Também servem como precursores de moléculas de sinalização, tais como esteroides e prostaglandinas. Podem apresentar efeitos lipotóxico, todos os quais são exemplos de mecanismos em que os ácidos graxos podem influenciar o desenvolvimento de diabetes do tipo 2 (SAMPATH; NTAMBI, 2005).

Além destas funções estabelecidas para os ácidos graxos, os ácidos poli-insaturados podem especificamente e rapidamente efetuar alterações no metabolismo celular, diferenciação e crescimento, por meio de alterações nos padrões de expressão gênica (SAMPATH; NTAMBI, 2004).

Os ácidos linoléico (n-6) e linolênico (n-3) não podem ser sintetizados por mamíferos e são, portanto, essenciais na dieta. Os ácidos graxos n-3, especialmente ácido eicosapentaenóico (20:5) e o ácido docosa-hexaenóico (22: 6) podem ser obtidos a partir de peixes e de mamíferos marinhos, enquanto os ácidos graxos n-6 estão concentrados óleos vegetais (soja, milho e girassol). Ácidos n-3 e n-6 são conhecidos por conferir diferentes benefícios para a saúde, incluindo a sinalização aumentada de insulina (SURESH; DAS, 2003), melhor resposta imunológica (NTAMBI, et al. 2002), diminuição dos níveis plasmáticos de lipídios, diminuição da incidência de doença pulmonar e doença cardíaca coronária (SKERRETT; HENNEKENS, 2003).

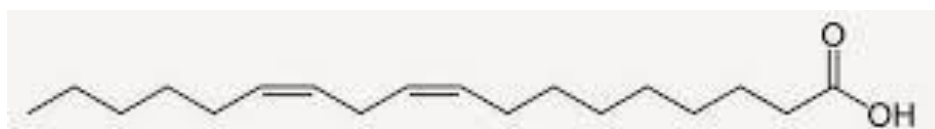


Figura 3 – Ácido linoléico, ácido graxo capaz de aumentar a produção de insulina.

Devido ao recente aumento nos distúrbios relacionados com lipídios, tais como obesidade e diabetes, a gordura dietética tem sido relegada. Apesar disso, com o aumento da compreensão dos mecanismos moleculares e vias bioquímicas, conclui-se que os ácidos graxos já não são apenas fontes de energia, mas também moduladores de sinalização celular e metabolismo (SAMPATH; NTAMBI, 2005).

Os ácidos graxos atuam sobre expressão de genes do metabolismo lipídico, aumentam a produção e a sensibilidade à insulina (VASSILIOU et al. 2009; LIU et al. 2015; TAKKUNEN et al. 2016). Eles são precursores dos eicosanoides, os quais desempenham um papel importante na saúde humana, especialmente na inflamação. O consumo de ácidos graxos insaturados é recomendável à saúde (EL-ADAWY; TAHA, 2001).

Pectina

A pectina é uma complexa molécula de polissacarídeo, sendo um dos principais componentes das paredes celulares dos vegetais, responsável pela adesão entre as células e pela resistência mecânica da parede celular. Seu esqueleto é constituído de inúmeras moléculas de ácido galacturônico ligado em 1→4, com grau variável de grupos carboxilas metil esterificados (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; VORAGEN et al., 2009).

As propriedades físico-químicas da pectina lhe proporcionam grande importância do ponto de vista econômico na indústria de alimentos, sendo utilizada para a formação de géis, devido a suas características físico-químicas de formação de uma dispersão coloidal quando dissolvidas na água, amplamente usados na produção de gomas, geleias, produtos lácteos, sorvetes, com a função de emulsificantes e espessantes (SATO et al., 2011).

Como a pectina é praticamente insolúvel em etanol, sua extração é simples e pode ser feita em escala industrial, sendo encontradas no comércio pectinas de diversas fontes naturais, como maracujá, maçã e goiaba. Essas substâncias podem ser encontradas na forma de pó, de coloração branca, amarela clara, acinzentada ou levemente escurecida (UENO et al. 2008).

Do ponto de vista fisiológico, por ser uma fibra solúvel, a pectina desempenha importante papel no organismo. Sendo empregada nas dietas devido ao seu poder de redução da absorção da glicose, diminuição dos níveis de colesterol, estimulando a glicólise e a glicogênese e aumento da excreção de ácidos biliares, podendo ser um importante aliado no combate de doenças relacionadas ao metabolismo de lipídios, açúcares e carboidratos, como o

diabetes (TERPSTRA et al. 1998; FIETZ; SALGADO, 1999; PIEDADE; CANNIATTI-BRAZACA, 2003;).

Estudos mostraram que os extratos de *Passiflora edulis* contendo pectina causaram a diminuição dos níveis de glicose em ratos, diminuição de edema, diminuição na infiltração de neutrófilos, indicando sua potencial atividade antidiabética e anti-inflamatória (SILVA et al., 2011). Estudos com a *Passiflora glandulosa* mostraram o controle dos níveis glicêmicos e a diminuição da absorção de carboidratos (SOUSA et al., 2015).

Modelo in vivo para estudo de Diabetes Mellitus

A principal característica do diabetes do tipo 1 é a destruição auto-imune das células β pancreáticas, conduzindo à falta de produção de insulina. Em modelos animais, esta deficiência na produção de insulina é conseguida por uma variedade de mecanismos como, a inativação química das células β de roedores, indução genética, indução por vírus e indução espontânea (KING, 2012).

Em modelos de diabetes tipo 1 quimicamente induzidos, uma elevada porcentagem de células β endógenas são destruídas, portanto, existe pouca produção endógena de insulina, levando à hiperglicemia e perda de peso. Diabetes quimicamente induzida não só fornece um modelo simples e relativamente barato de diabetes em roedores, como também, pode ser utilizado em animais superiores (KING, 2012; DUFRANE et al., 2006).

O diabetes é normalmente induzido cerca de 5-7 dias antes do início da experiência para assegurar hiperglicemia estável. Dois compostos principais são usadas para induzir diabetes: estreptozotocina (STZ) e aloxano. Por serem estruturalmente semelhantes à glicose, tanto aloxano quanto a STZ competem com a glicose, portanto, os animais em jejum tendem a ser mais susceptíveis. Ambos compostos são relativamente instáveis, por isso, as soluções devem ser feitas imediatamente antes da injeção (NERUP et al, 1994; KING, 2012).

Diabetes quimicamente induzida é apropriada para testar drogas ou terapias em que o principal mecanismo de ação é reduzir a glicose no sangue

de uma forma não-beta-celular dependente; por exemplo, para testar novas formulações de insulina (JEDERSTROM et al, 2005;. SHESHALA et al., 2009).

Uma desvantagem da indução química de diabetes é que os produtos químicos podem ser tóxicos para outros órgãos, principalmente fígado e rins (LEE et al., 2010).

O efeito diabético do aloxano (2,4,5,6- tetraoxipirimidine; 5,6-dioxiuracil) é atribuído principalmente à rápida absorção pelas células beta e a formação de radicais livres que levam à destruição das células β pancreáticas (NERUP et al, 1994). As doses em camundongos variam de 50 a 200 mg.kg-1 (SZKUDELSKI, 2001).

Os camundongos C57Bl/6 foram originalmente obtidos por Clarence Little em 1921. São usados em uma ampla variedade de áreas de pesquisa, como modelo in vivo nos estudos de biologia cardiovascular, biologia do desenvolvimento, diabetes e obesidade, pesquisas genéticas, imunológica, neurobiológica e sensorial, além de serem comumente utilizados no desenvolvimento de animais transgênicos (CECAL, 2016; ENGBER, 2011).

Suas principais características incluem: 1) uma alta susceptibilidade a obesidade induzida por dieta, diabetes tipo 2, e aterosclerose; 2) uma alta incidência de microftalmia e outras anormalidades associadas ao olho; 3) resistência às convulsões audiogênicas; 4) baixa densidade óssea 5) hidrocefalia hereditária (relatos iniciais indicam 1 - 4 %); 6) Perda de pêlos associado com over-grooming; 7) uma preferência por álcool e morfina; 8) perda auditiva de início tardio e 9) incidência aumentada de hidrocefalia e má-oclusão (CECAL, 2016; THE JACKSON LABORATORY, 2016).

Macaúba – *Acrocomia aculeata*

A macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart., sinonímia *A. mexicana*) pertence à família Arecaceae, popularmente conhecida como bocaiuva, coquinho-de-catarro, macaiba e chiclete-de-baiano. É uma palmeira nativa e abundante na região do pantanal, com grande importância para

população, sendo consumidas *in natura*, na forma de farinha ou no preparo de diversos pratos como bolos, pudins, sorvete e geléias (LORENZI, 2006).



Figura 4 – *Acrocomia aculeata* - palmeira nativa das florestas tropicais cujo estipe atinge de 10 a 15 m de altura e 20 a 30 cm de diâmetro.
Fonte: <http://belezadacaatinga.blogspot.com.br/2012/07/macaua-acrocomia-aculeata.html>

O óleo da polpa da *A. aculeata* é composto em maior parte por ácidos graxos saturados, sendo o ácido oléico o predominante (aproximadamente 70%), enquanto no óleo de sua semente o composto predominante é o ácido láurico (aproximadamente 40%) (JOSÉ et al., 2016). Apresenta também vitamina C, vitamina A e β -carotenos entre os constituintes químicos da polpa.

Os óleos da polpa e da semente da *A. aculeata* possuem diferenças em relação à sua composição nutricional. A polpa apresenta cerca de 78% de triglicerídeos, enquanto as sementes apresentam quase sua totalidade, 98% (OLIVEIRA; CLEMENTE; DA COSTA, 2014).

O óleo da polpa da *A. aculeata* foi avaliado em relação à sua toxicidade aguda e subaguda em ratos Wistar. Os parâmetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos não apresentaram alteração significativa, demonstrando ausência de toxicidade por via oral (TRAESSEL et al. 2014). Em outro estudo, também utilizando o óleo da polpa da *A. aculeata*, não foram observados efeitos mutagênicos, citotóxicos e genotóxicos em ratos Wistar (TRAESSEL et al. 2015).

Existem estudos de avaliação do valor nutricional de polpa de *Acrocomia aculeata* contendo elevada quantidade de cálcio, fibra alimentar, lipídios e carboidratos (SILVA et al. 2008), composição de ácidos graxos (com predomínio de ácidos saturados) e fenóis totais (COIMBRA; JORGE, 2011). Existem também estudos a respeito da presença de carotenoides e biodisponibilidade destes para a produção de vitamina A (RAMOS et al. 2007) e utilização da *A. aculeata* para produção de biodiesel. O óleo de polpa da macaúba apresentou características que permitem seu uso como matéria-prima, de baixo custo, na produção de biodiesel (VIEIRA et al. 2012, Souza, G. K., 2016).

Também foi verificada a atividade diurética e anti-inflamatória do óleo da polpa in natura e microencapsulado. Ambos apresentaram ação antiedematogênica, inibindo a migração de leucócitos e extravasamento plasmático, e atividade diurética, com significativo aumento da excreção urinária de líquidos, semelhantes à furosemida (LESCANO, et al. 2015).

Existem estudos da espécie *A. aculeata* com relação à atividade hipoglicemiante, a partir de extratos de sua raiz, onde foi isolado um composto derivado di-hexosídeo, coyolosa, com atividade hipoglicemiante (PÉREZ; PÉREZ; VARGAS, 1997). As raízes e frutos da *A. aculeata* têm sido utilizadas por um longo tempo pelos povos indígenas nos estados de Yucatán e

Tamaulipas, no México para o tratamento de diabetes (ANDRADE-CETTO; HEINRICH, 2005).

Neste contexto, o trabalho tem como objetivo a análise do perfil fitoquímico e avaliação do potencial antidiabético dos extratos da farinha dos frutos da macaúba, correlacionando-os à presença dos seus constituintes químicos.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a presença e o perfil de flavonoides, ácidos graxos e pectina nos frutos da macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd), bem como avaliar o seu potencial antidiabético em camundongos C57Bl/6.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antidiabético dos extratos com e sem pectina dos frutos de *Acrocomia aculeata*;
- Analisar os ácidos graxos presentes nos extratos;
- Analisar o perfil de flavonoides dos extratos.
- Correlacionar a presença da pectina em relação ao potencial antidiabético;

Referências Bibliográficas

- ALVAREZ, A.; MOTA, J. Sustentabilidade ambiental no Brasil: biodiversidade, economia e bem-estar humano. *Projeto Perspectivas do Desenvolvimento Brasileiro. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Brasília: Ipea*, 2010.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes-2012. *Diabetes care*, 35, S11, 2012.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes-2014. *Diabetes care*, 37, S14, 2014.
- ANDRADE-CETTO, A.; HEINRICH, M. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, v. 99, n. 3, p. 325-348, 2005
- AZEVEDO, C. R.; MACIEL, F. M.; SILVA, L. B.; FERREIRA, A. T. S.; DA CUNHA, M.; MACHADO, O. L. T.; XAVIER-FILHO, J. Isolation and intracellular localization of insulin-like proteins from leaves of *Bauhinia variegata*. *Brazilian journal of medical and biological research*, v. 39, n. 11, p. 1435-1444, 2006.
- ATTINGER, P. La médecine mésopotamienne. *Israel Antiquities Authority*, 2008.
- BABU, P. V. A.; LIU, D.; GILBERT, E. R. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. 24, n. 11, p. 1777-1789, 2013.
- BRASIL. Primeiro Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica. *Ministério do Meio Ambiente, Recursos Hídricos e Amazônia Legal*, p. 283, 1998.
- BRASIL. Quarto Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica. *Ministério do Meio Ambiente, Recursos Hídricos e Amazônia Legal*, p. 39, 2010.
- BORGES, K. B.; BAUTISTA, B. H.; GUILERA, S. Diabetes—utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 5, n. 2, 2008
- CAVALLI, V. L. L. O.; SORDI, C.; TONINI, K.; GRANDO, A.; MUNERON, T.; GUIGI, A.; ROMAN JÚNIOR, W. A. Avaliação in vivo do efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folha de bardana *Arctium minus* (Hill.) Bernh. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, p. 64-70, 2007.
- CECAL- Centro de criação de animais de laboratório. FIOCRUZ. Em: <http://www.cecal.fiocruz.br/content/c57bl6j-inbred>. Acesso: 27 de julho de 2016.
- CHANG, C. L. T.; LIN, Y.; BARTOLOME, A. P.; CHEN, Y. C.; CHIU, S. C.; YANG, W. C. Herbal therapies for type 2 diabetes mellitus: chemistry, biology, and potential application of selected plants and compounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, 2013.
- CHEN, J.; MANGELINCKX, S.; ADAMS, A.; WANG, Z. T.; LI, W. L.; DE KIMPE, N. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications. *Natural product communications*, v. 10, n. 1, p. 187-200, 2015.
- CNI – Confederação Nacional da Indústria. *Biodiversidade e indústria. Informações para uma gestão sustentável*. Brasília: CNI, 2012.

- COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Characterization of the pulp and kernel oils from *Syagrus oleracea*, *Syagrus romanzoffiana*, and *Acrocomia aculeata*. *Journal of food science*, v. 76, n. 8, p. C1156-C1161, 2011.
- COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Fatty acids and bioactive compounds of the pulps and kernels of Brazilian palm species, guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 92, n. 3, p. 679-684, 2012.
- COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. J. Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination. *CRC press*, 2007.
- DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. *John Wiley & Sons*, 2002.
- DIONÍSIO, A. P.; DE CARVALHO-SILVA, L. B.; VIEIRA, N. M.; DE SOUZA GOES, T.; WURLITZER, N. J.; DE FATIMA BORGES, M.; DE FIGUEIREDO, R. W. Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacon (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. *Food Research International*, v. 77, p. 171-176, 2015.
- DUFRANE, D.; VAN STEENBERGHE, M.; GUIOT, Y.; GOEBBELS, R. M.; SALIEZ, A.; GIANELLO, P. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and β -cell plasticity. *Transplantation*, v. 81, n. 1, p. 36-45, 2006.
- ENGBER, D. The trouble With Black-6: A tiny alcoholic takes over the lab. *Slate Magazine*, 2011.
- EL-ADAWY, T. A.; TAHA, K. M. Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Foodchemistry*, v. 74, n. 1, p. 47-54, 2001.
- FIETZ, V. R.; SALGADO, J. M. Efeito da pectina e da celulose nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos hiperlipidêmicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 3, p. 318-321, 1999.
- CRUZ, N. G.; SOUSA, L. P.; SOUSA, M. O.; PIETRANI, N. T., FERNANDES, A. P.; GOMES, K. B. The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, v. 99, n. 2, 85-92, 2013.
- GHOSH, D.; MANDAL, I.; RUMI, J. F.; TRISHA, U. K.; JANNAT, H.; AHMED, M.; RAHMATULLAH, M. Effect of *Allium sativum* leaf extracts on glucose tolerance in glucose-induced hyperglycemic mice. *Advances in Natural and Applied Sciences*, v. 8, n. 8, p. 66-70, 2014.
- HAJIAGHAALIPOUR, F.; KHALILPOURFARSHBAFI, M.; ARYA, A. Modulation of glucose transporter protein by dietary flavonoids in type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Biological Sciences*, v. 11, n. 5, p. 508-524, 2015.
- HEMSHEKHAR, M.; SEBASTIN SANTHOSH, M.; KEMPARAJU, K.; GIRISH, K. S. Emerging roles of anacardic acid and its derivatives: a pharmacological overview. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, v. 110, n. 2, p. 122-132, 2012.
- IDF - International diabetes federation: IDF diabetes atlas 7th- Edition 2015. Em <<http://www.diabetesatlas.org/>>. Acesso: 26 de junho de 2016.
- JEDERSTRÖM, G.; NORDIN, A.; SJÖHOLM, I.; ANDERSSON, A. Blood glucose-lowering activity of a hyaluronan-insulin complex after oral administration to rats with diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*, v. 7, n. 6, p. 948-957, 2005.

- JOSÉ, C.; EVARISTO, A. B.; MARQUES, G.; MARTÍN-RAMOS, P.; MARTÍN-GIL, J.; GUTIÉRREZ, A. Chemical composition and thermal behavior of the pulp and kernel oils from macauba palm (*Acrocomia aculeata*) fruit. *Industrial Crops and Products*, v. 84, p. 294-304, 2016.
- KING, A. J. The use of animal models in diabetes research. *British journal of pharmacology*, v. 166, n. 3, p. 877-894, 2012.
- LEE, J. H.; YANG, S. H.; OH, J. M.; LEE, M. G. Pharmacokinetics of drugs in rats with diabetes mellitus induced by alloxan or streptozocin: comparison with those in patients with type I diabetes mellitus. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 62, n. 1, p. 1-23, 2010.
- LESCANO, C. H.; IWAMOTO, R. D.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; KASSUYA, C. A. L. Diuretic and anti-inflammatory activities of the microencapsulated *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) oil on Wistar rats. *Journal of medicinal food*, v. 18, n. 6, p. 656-662, 2015.
- LIU, Q.; WANG, R.; ZHOU, H.; ZHANG, L.; CAO, Y.; WANG, X.; HAO, Y. SHIP2 on p13K/Akt pathway in palmitic acid stimulated islet β cell. *International journal of clinical and experimental medicine*, v. 8, n. 3, p. 3210, 2015.
- LORENZI, G. M. A. C. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.-Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável. *Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná*, 2006.
- MASJEDI, F.; GOL, A.; DABIRI, S. Preventive effect of garlic (*Allium sativum* L.) on serum biochemical factors and histopathology of pancreas and liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 12, n. 3, p. 325-338, 2013.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica: Brasil. *Brasília: Ministério do Meio Ambiente*, p. 248, 2011.
- MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. *European journal of medicinal chemistry*, v. 46, n. 10, p. 4769-4807, 2011.
- NERUP, J.; MANDRUP-POULSEN, T.; HELQVIST, S.; ANDERSON, H. U.; POCOIT, F.; REIMERS, J. I.; LORENZEN, T. *Diabetologia* 37 (Suppl.2). S82-S89, 1994.
- NTAMBI, J. M.; CHOI, Y.; PARK, Y.; PETERS, J. M.; PARIZA, M. W. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) on immune responses, body composition and stearoyl-CoA desaturase. *Canadian journal of applied physiology*, v. 27, n. 6, p. 617-627, 2002.
- OLIVEIRA, D. M.; CLEMENTE, E.; DA COSTA, J. M. C. Bioactive compounds and physicochemical parameters of grugru palm (*Acrocomia aculeata*) from Brazil: Pulp and powder. *Food Science and Technology Research*, v. 20, n. 1, p. 7-12, 2014.
- OUBRE, A. Y.; CARLSON, T. J.; KING, S. R.; REAVEN, G. M. From plant to patient: an ethno medical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetologia*, v. 40, n. 5, p. 614-617, 1997.
- PÉREZ, S.; PÉREZ, C.; VARGAS, R. Coyoiosa, a new hypoglycemic from *Acrocomia mexicana*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 72, n. 2, p. 105-111, 1997.
- PIEDEDE, J.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Comparação entre o efeito do resíduo do abacaxizeiro (caules e folhas) e da pectina cítrica de alta

- metoxilação no nível de colesterol sanguíneo em ratos. *Ciência e Tecnologia de alimentos*, v. 23, n. 2, p. 149-156, 2003.
- PIMENTEL, V. P. VIEIRA, V. A. M.; MITIDIERI, T. L.; OLIVEIRA, F. F. S.; PIERONI, J. P. Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?. *Revista do BNDES, Rio de Janeiro*, n. 43, p. 41-89, 2015.
- RAMOS, M. I. L.; SIQUEIRA, E. M.; ISOMURA, C. C.; BARBOSA, A. M.; ARRUDA, S. F. Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd) improved vitamin A status in rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 55, n. 8, p. 3186-3190, 2007.
- SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Nutrition reviews*, v. 62, n. 9, p. 333-339, 2004.
- SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Nutrition reviews*, v. 25, p. 317-340, 2005.
- SATO, M. F. RIGONI, D. C.; CANTERI, M. H. G.; PETKOWICZ, C. L. D. O.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 33, n. 3, p. 383-389, 2011.
- SHESHALA, R.; PEH, K. K.; DARWIS, Y. Preparation, characterization, and in vivo evaluation of insulin-loaded PLA-PEG microspheres for controlled parenteral drug delivery. *Drug development and industrial pharmacy*, v. 35, n. 11, p. 1364-1374, 2009.
- SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. *et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento*, v. 5, p. 371-400, 2003.
- SILVA, F. R. M. B.; SZPOGANICZ, B.; PIZZOLATTI, M. G.; WILLRICH, M. A. V.; DE SOUSA, E. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 83, n. 1, p. 33-37, 2002.
- SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; DE OLIVEIRA MARTINS, D. M. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. *Ciência Rural*, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, 2008.
- SILVA, D. C.; FREITAS, A. L.; PESSOA, C. D.; PAULA, R. C.; MESQUITA, J. X.; LEAL, L. K.; VIANA, G. S. Pectin from *Passiflora edulis* shows anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypotriglyceridemic properties in diabetic rats. *Journal of medicinal food*, v. 14, n. 10, p. 1118-1126, 2011.
- SKERRETT, P. J.; HENNEKENS, C. H. Consumption of fish oils and decreased risk of stroke. *Preventive cardiology*, v. 6, n. 1, p. 38-41, 2003.
- SOUSA, R. V. R. B.; GUEDES, M. I. F.; MARQUES, M. M. M.; VIANA, D. A.; SILVA, I. N. G.; RODRIGUES, P. A. S.; VIEIRA, I. G. P. Hypoglycemic effect of new pectin isolated from *Passiflora glandulosa* in alloxan induced diabetic mice. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 4, n. 1, p. 1571-1586, 2015.
- SOUZA, G. K.; SCHEUFELE, F. B.; PASA, T. L. B.; ARROYO, P. A.; PEREIRA, N. C. Synthesis of ethyl esters from crude macauba oil (*Acrocomia aculeata*) for biodiesel production. *Fuel*, v. 165, p. 360-366, 2016.

- SURESH, Y.; DAS, U. N. Long-chain in polyunsaturated fatty acids and chemically induced diabetes mellitus: effect of ω -3 fatty acids. *Nutrition*, v. 19, n. 3, p. 213-228, 2003.
- SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, v. 50, n. 6, p. 537-546, 2001.
- TA, S. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, v. 37, p. S81, 2014.
- TAKKUNEN, M. J.; SCHWAB, U. S.; DE MELLO, V. D.; ERIKSSON, J. G.; LINDSTRÖM, J.; TUOMILEHTO, J.; DPS STUDY GROUP. Longitudinal associations of serum fatty acid composition with type 2 diabetes risk and markers of insulin secretion and sensitivity in the Finnish Diabetes Prevention Study. *European journal of nutrition*, v. 55, n. 3, p. 967-979, 2016.
- TEIXEIRA, E. *Acrocomia aculeata*. In: TASSARO, H. Frutas no Brasil. São Paulo: Empresa das Artes, p.15, 1996.
- TERPSTRA, A. H. M.; LAPRE, J. A.; DE VRIES, H. T.; BEYNEN, A. C. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein activity in hamsters. *The Journal of nutrition*, v. 128, n. 11, p. 1944-1949, 1998.
- THE JACKSON LABORATORY. Em: <<https://www.jax.org/Strain/UrlAsPDF/000664>>. Acesso: 27 de julho de 2016.
- TRAESEL, G. K.; DE SOUZA, J. C.; DE BARROS, A. L.; SOUZA, M. A.; SCHMITZ, W. O.; MUZZI, R. M.; ARENA, A. C. Acute and subacute (28 days) oral toxicity assessment of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v. 74, p. 320-325, 2014.
- TRAESEL, G. K.; CASTRO, L. H. A.; SILVA, P. V. B.; MUZZI, R. M.; KASSUYA, C. A. L.; ARENA, A. C.; OESTERREICH, S. A. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and mutagenic potential of *Acrocomia aculeata* in rats. *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n. 1, p. 585-596, 2015.
- UENO, H.; TANAKA, M.; HOSINO, M.; SASAKI, M.; GOTO, M. Extraction of valuable compounds from the flavedo of *Citrus junos* using subcritical water. *Separation and Purification Technology*, v. 62, n. 3, p. 513-516, 2008.
- VASSILIOU, E. K.; GONZALEZ, A.; GARCIA, C.; TADROS, J. H.; CHAKRABORTY, G.; TONEY, J. H. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of insulin production of the inflammatory cytokine TNF- α both in vitro and in vivo systems. *Lipids in Health and Disease*, v. 8, n. 1, p. 1, 2009.
- VIEIRA, S. S.; MAGRIOTIS, Z. M.; SANTOS, N. A.; DAS GRACAS CARDOSO, M.; SACZK, A. A. Macauba palm (*Acrocomia aculeata*) cake from biodiesel processing: an efficient and low cost substrate for the adsorption dyes. *Chemical Engineering Journal*, v. 183, p. 152-161, 2012.
- VINAYAGAM, R.; XU, B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & metabolism*, v. 12, n. 1, p. 1, 2015.
- VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G. J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, v. 20, n. 2, p. 263-275, 2009.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights in to an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, v. 17, n. 3, p. 97-104, 2006.

**Dissertação de mestrado do programa
de pós-graduação em farmácia.
Apresentado na forma de artigo.**

Antidiabetic activity and phytochemical profile of *Acrocomia aculeata* fruits

Lucas Marques Pereira de Rezende¹, Tamaeh Monteiro Alfredo³, Paola dos Santos da Rocha³, Geraldo Alves Damasceno Junior², Denise Brentan da Silva¹, Edson Lucas dos Santos³, Kely de Picoli Souza³, Carlos Alexandre Carollo^{*1}

¹Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas - LaPNEM, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; Campo Grande, MS, Brasil

²Laboratório de Ecologia Vegetal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil

³Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais; Universidade Federal da Grande Dourados; Dourados, MS, Brasil

Abstract

Headings Ethnopharmacological relevance

Acrocomia aculeata, popularly known as macauba, is a native and abundant palm from the Americas, traditionally used as a hypoglycemic agent.

Aim of the study

This study aimed to evaluate the phytochemical profile and hypoglycemic activity of *A. aculeata* fruit extracts and identify the active compounds.

Materials and Methods

Crude and pectin free extracts of *A. aculeata* were prepared from dry fruit pulp and analyzed for fatty acid content using GC-FID and secondary metabolites composition

26 through HPLC-DAD-ESI-qTOF/MS/MS. We also evaluated the antidiabetic activity
27 of the extracts through oral glucose tolerance tests in normoglycemic and chronically
28 hyperglycemic animals.

29 **Results**

30 Twenty three fatty acids were identified, with main compounds being palmitic, oleic,
31 and linoleic acids. Nine flavonoids were also identified, including catechin,
32 epicatechin, apigenin-6,8-di-*C*-hexoside, luteolin-6-*C*-pentosyl-8-*C*-hexoside, two
33 isomers of apigenin-6-*C*-pentosyl-8-*C*-hexoside, two isomers of apigenin-6-*C*-
34 hexosyl-8-*C*-pentoside and apigenin-6,8-di-*C*-pentoside. The crude and a pectin free
35 extracts exhibited similar results in the initial oral glucose tolerance test, showing
36 that pectin is not fundamental for the activity. Based on these results, only the *A.*
37 *aculeata* crude fruit pulp extract was selected for the rest of the evaluations,
38 showing reduction of orally induced hyperglycemia in normoglycemic and
39 chronically hyperglycemic animals (400 mg/kg body weight (BW) - after 28 days),
40 as well as, reductions in the blood glucose and glycated hemoglobin levels, similar
41 to mice treated with metformin (100 mg/kg BW).

42 **Conclusions**

43 This data scientifically supports the traditional antidiabetic use of this plant and
44 shows that the presence of fatty acids and flavonoids in fruits should be directly
45 related to this activity.

46

47 **Keywords:** CG-FID, HPLC-DAD-MS/MS, Macaúba, diabetes; antihyperglycemic
48 activity

49

50

51 1 INTRODUCTION

52 Diabetes mellitus is characterized as one of the greatest public health problems,
53 leading to numerous complications, especially cardiovascular comorbidities ([Chen et](#)
54 [al., 2012](#)). According to the International Diabetes Federation, there are currently 415
55 million diabetics in the world between 20 to 79 years old, and this number increases
56 every year. Among them, 14.3 million of these people are in Brazil, which
57 corresponds to 10.2% of the Brazilian population within that same age group, ranked
58 fourth amongst the countries with the highest incidence of this disease ([IDF, 2015](#)).

59 *A. aculeata*, synonyms of *A. mexicana*, is a native palm that occurs in the Americas,
60 mainly in the Brazilian savanna. Its fruit is consumed raw, mostly by children, or
61 dried in the form of flour for preparing cakes, ice cream, and bread ([Oliveira et al.,](#)
62 [2013](#)). In addition, fruits and roots are popularly used as adjuvants in the treatment of
63 diabetes ([Andrade-Cetto and Heinrich, 2005](#); [Pérez et al., 1997](#)). Pérez et al. (1997)
64 demonstrated the hypoglycemic activity of the roots of this species and characterized
65 the di-hexoside coyolosa as responsible for this action. However, thus far, no studies
66 confirm this activity for the fruit.

67 The fruit of *A. aculeata* has fatty acids and pectins among the described metabolites
68 ([da Silva et al., 2009](#); [Hiane et al., 2005](#)) and several fruits have the capacity to
69 control the blood glucose levels attributed to the presence of such compounds
70 ([Prabhakar and Doble, 2008](#)). Pectin can decrease the absorption of glucose from the
71 intestine and control the rate of glycolysis and gluconeogenesis ([Silva et al., 2011](#)).
72 Besides, it is known that fatty acids act on the expression of lipid metabolism genes,
73 increasing production and sensitivity to insulin ([Liu et al., 2015](#); [Vassiliou et al.,](#)
74 [2009](#)). Despite the extensive use of the fruits in traditional medicine and

75 consumption, no studies have been found about the composition of secondary
76 metabolites and biological activities.

77 For that reason, this study intends to elucidate the antidiabetic activity of *A. aculeata*
78 fruits to evaluate if the scientific data will corroborate with the traditional use of this
79 species, as well as, the role of pectin has, in the activity.

80

81 **2 MATERIAL AND METHODS**

82 **2.1 Equipment and reagents**

83 Ethanol (AR), hexane (AR), acetone (AR), acetonitrile (HPLC), acetic acid (HPLC),
84 silica gel 60, UFLC, LC-20AD model (Shimadzu) coupled with online DAD and
85 ESI-QTOF micrOTOF-Q III (BrukerDaltonics)detectors, rotary evaporator (BUCHI
86 R3), analytical balance (Bioprecisa), ultrasound (Cristofoli), pressurized liquid
87 extractor ASE 150 (Dionex) and diatomaceous earth (ThermoScientific), glucometer
88 Accu-check Active (Roche™), reagent strips for glucose (Accu-CheckActive,
89 Roche™), equipment for biochemical analysis - Integra 400 Plus (Roche™), gas
90 chromatograph (Varian Star 3400 model) equipped with flame ionization detector,
91 and capillary column (DBwax, 30mx0.25 mm, J & W Scientific).

92 **2.2 Plant material**

93 Ripe *A. aculeate* fruits were collected in the city of Corumbá, MS, Brazil and
94 identified by Dr. Geraldo Alves Damasceno Junior. A voucher sample (number
95 28966) was deposited in the GCMS Herbarium (Campo Grande, MS). The pulp was
96 removed and dried at room temperature.

97 **2.3 Preparation of extracts in a pressurized liquid extractor**

98 Crude and pectin free extracts were used for biological and chemical evaluations.
99 The crude extract (AACE) was prepared in a pressurized liquid extractor: 18g of *A.*

100 *aculeate* dry fruit pulp and the same proportion of diatomaceous earth was extracted
101 with ethanol: water (7: 3) in a 100 ml extraction cell, using three cycles of 5 min. at
102 100 °C. To prepare pectin-free extract (AAPF) we used 100% ethanol, 30g of *A.*
103 *aculeate* dry fruit pulp, three cycles of 5 min. at 100 °C, and to remove pectins we
104 precipitated the material under low temperature (0 °C). Both extracts were concentrated
105 in a rotary evaporator and subsequently lyophilized.

106 **2.4 Fatty acids analysis**

107 The fatty acids of the extracts were transesterified with sodium hydroxide and
108 methanol in a molar ratio of alcohol:extract 6:1 and 1.0% alkali catalyzer. The
109 analysis of methyl esters of fatty acids was carried out by gas chromatography under
110 the following chromatographic conditions: injector temperature 250 °C; temperature
111 of 180 °C for 20 minutes column programmed at 2 °C per minute to reach 220 °C;
112 temperature of detector 260 °C; Hydrogen as carrier gas had a flow rate of 1.1
113 ml/min; Nitrogen make-up gas 22 ml/min; and injection volume of 1 µl. Fatty acids
114 were identified by comparison with standards of methyl esters of fatty acids (Sigma-
115 Aldrich).

116 **2.5 Analysis of the extracts by HPLC-DAD-ESI-qTOF/MS/MS**

117 The extracts were solubilized in MeOH:H₂O 1:1 (1mg/ml) and 1 µl was injected. The
118 UV/VIS was monitored at 240-800 nm, and the mass spectrum was acquired in
119 positive and negative ionization mode (120-1200 Da). AC-18 analytical column
120 (Kinetex, 150 x 2.2 mm i.d., 2.6 µm) and a pre-column of the same material were
121 used. The mobile phase was ultrapure water (A) and acetonitrile (B) both with 0.1%
122 formic acid, a flow of 0.3 ml/min, and a gradient system of 0-2 min. 3% (B), 2-25
123 min. 3-25% (B), 25-40 min. 25-80% (B), followed by washing and reconditioning
124 the column (8 min). The other micrOTOF-Q III parameters were: temperature: 200

125 °C; Drying N₂ flow: 9 l/min Nebulizer: 4.0 bar; capillary voltage: -3500 V (negative),
126 +4500 V (positive), MS/MS collision energy ranging from 25-50 eV. The internal
127 calibration TFA-NA was injected at the end of the chromatographic analysis. The
128 data were processed using the Data Analysis software version 4.2 (Bruker Daltonics).
129 Comparison to authentic standards identified catechin and epicatechin.

130 **2.6 Animals**

131 All procedures with animals were performed in accordance to the ethical principles of
132 animal experimentation adopted by the National Council of Animal Experimentation
133 Control (CONCEA) and were approved by the Ethics Committee on Animal Use
134 (CEUA) of the Federal University of Grande Dourados (UFGD) under the number
135 027/2013. The C57Bl/6 adult mice (weighing between 25 and 30 g), were maintained
136 during all experimental procedures in a temperature controlled room ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) with
137 a 12 h light–dark cycle (lights on at 07:00 h), with free access to food and water. The
138 mice were randomly grouped into groups of seven (5 groups). Their food
139 consumption, water ingestion, and body weight were monitored during all
140 experimental procedures.

141 **2.7 Induction of diabetes by alloxan injection**

142 Normoglycemic adult male mice were induced with diabetes using a single
143 intraperitoneal injection of alloxan (180 mg/kg BW), creating a model of diabetes
144 type I.

145 **2.7 Oral Glucose tolerance test (OGTT)**

146 Normoglycemic subjects underwent 12 h of fasting (with free access to water) were
147 treated by gavage with water, metformin (100 mg/kg BW) and Glibenclamide (2
148 mg/kg BW), and the extracts AACE and AAPF (200 and 400 mg/kg BW) 30 minutes
149 before the glucose load (2 g/kg BW). Diabetes-induced mice were subjected to oral

150 glucose tolerance test at the end of 28 days of treatment(by gavage)with water
151 (control), metformin (100 mg/kg BW),and the extract AACE (200 and 400 mg/kg
152 BW).

153 Blood glucose of animals was measured at 0, 30, 60, 90, 120, and 180 min. The total
154 area under the blood glucose curve was calculated to compare the results of OGTT
155 among the groups, and the average glycemic values were analyzed at different times.

156 **2.9 Organs, Tissues, and Biochemical Analysis**

157 After euthanasia, the liver, heart, and kidney of the mice were weighed seperatley.
158 Blood samples were collected to determine glycaemia, total cholesterol, HDL-
159 cholesterol, triglycerides aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase
160 (ALT), urea, and creatinine levels using the COBAS equipment (Roche).

161 **2.10 Statistical analysis**

162 Data were expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). The comparison
163 among experimental groups is based on the ANOVA analysis of variance with
164 Student-Newman–Keuls Post-test. The level of significance was set at $p < 0.05$.

165

166 **3. RESULTS**

167 **3.1 Preparation of extracts**

168 Absolute ethanol was used for the preparation of the pectin-free extract (AAPF) due
169 to insolubility of pectin in this solvent ([Garna et al., 2007](#)) and ethanol:water (7:3)
170 for the crude extract (AACE) due to good extraction capacity of this mixture in a
171 pressurized liquid extraction system ([Mustafa and Turner, 2011](#)). After the
172 extractions and lyophilization, we obtained a yield of 21% for AAPF and 28% for
173 AACE.

174 **3.2 Characterization of chemical constituents**

175 Fatty acid profile showed the presence of 23 fatty acids; the main compounds were
176 palmitic (C16:0), oleic (C18:1), and linoleic acid (C18:2), the sum of the relative
177 area of these compounds corresponded to 81.8% (AACE) and 86.4% (AAPF) of
178 observed compounds in GC-FID (Table 1).

179

180 **Table 1**

181

182 HPLC-DAD-MS/MS analysis showed nine flavonoids: catechin (1), epicatechin (3),
183 apigenin-6,8-di-*C*-hexoside (5), luteolin-6-*C*-pentoside-8-*C*-hexoside (6), two
184 isomers of apigenin-6-*C*-pentosyl-8-*C*-hexoside (7 and 9), two isomers of apigenin-
185 6-*C*-hexosyl-8-*C*-pentoside (8 and 10) and apigenin-6,8-di-*C*-pentoside (11) (Table 2,
186 Figure 1). The flavonoid C-glycosides had its di-sugars preferably cleaved at the C-6
187 position instead of the C-8 position ([Ferrerres et al., 2003](#); [Vukics and Guttman, 2010](#)). This preferential cleavage produces ions with a different relative intensity in
188 isomeric pairs. For example, a flavonoid with C-6-pentosyl-C-8-hexoside has a
189 greater abundance of the fragment [M-H-90]⁻ than [M-H-120]⁻. Also, the ions [M-H-
190 60]⁻ and [M-H-120]⁻ are characteristic of C-pentosyl and C-hexosyl cleavage,
191 respectively ([Ferrerres et al., 2003](#); [Singh et al., 2015](#); [Vukics and Guttman, 2010](#)).

193 The flavonoids C-heterosides **7**, **8**, **9** and **10** at *m/z* 563 (C₂₆H₂₇O₁₄)⁻ produce the same
194 fragments. The compound **7** showed a lower abundance of *m/z* 443 [M-H-120]⁻ than
195 *m/z* 473 [M-H-90]⁻, confirming the presence of apigenin-6-*C*-pentosyl-8-*C*-hexoside.
196 The ions *m/z* 383 [M-H-90-90]⁻ and *m/z* 353 [M-H-90-120]⁻ corroborated with this
197 putative identification. The compound **8** (15.9 min) presented a greater relative
198 abundance of *m/z* 443 [M-H-120]⁻ than *m/z* 473 [M-H-90]⁻, which indicates the
199 presence of a 6-*C*-hexosyl-8-*C*-pentoside pattern. As well, the ions *m/z* 383 [M-H-

200 120-60]⁻ and m/z 353 [M-H-90-120]⁻confirm the compound **8** as apigenin-6-*C*-
201 hexosyl-8-*C*-pentoside. Compounds **9** and **10** are isomeric structures of **7** and **8**,
202 respectively.

203 The compound **6** m/z 579.1346 has the fragment ion at m/z 489 [M-H-90]⁻as the most
204 intense ion, suggesting the presence of a 6-*C*-pentosyl unit. The analysis of other
205 fragments (Table 2) of this compound identified it as luteolin-6-*C*-pentosyl-8-*C*-
206 hexoside. For compound **11**, the ion at m/z 533.1302 (relative to the molecular
207 formula C₂₅H₂₆O₁₃- Table 2) and fragmentation pattern allowed us to identify this
208 compounds as the di-pentosyl flavone apigenin-6,8-di-*C*-pentoside([Ferrerres et al.,](#)
209 [2003](#); [Vukics and Guttman, 2010](#)).

210 The compound **2** was identified as aspartic acid, N-[(1-β-D-glucopyranosyl-1H-
211 indol-3-yl) acetyl] due to its characteristic UV spectrum of indole acetic acid and
212 comparison of observed fragments with the literature([Kai et al., 2007](#)). The
213 compound **4** (m/z 381.1766, relative to C₁₆H₃₀O₁₀) did not exhibit UV absorption and
214 showed the fragments m/z 235 (C₁₀H₁₉O₆)⁻ and m/z 161 (C₆H₉O₅)⁻. This fragmentation
215 pattern was compatible with a compound with two hexoses and a butyl alcohol.
216 Based on this information, this compound was putatively identified as *O*-butyl-di-*O*-
217 hexoside. The literature showed that some fruits have the capacity of accumulating
218 sugar derivatives conjugated with aliphatic alcohols ([Hu et al., 2012](#); [Schwab and](#)
219 [Schreier, 1990](#)).

220 Figure 1

222 Table 2

223 3.3 Oral glucose tolerance test (OGTT)

224 After 180 min mice, treated with AACE and AAPF extracts, showed
225 antihyperglycemic activity compared to the control group (normoglycemic) in the
226 initial test of oral glucose tolerance, with similar activity of glibenclamide and lower
227 than metformin (Figure 2). Due to no statistical difference between the extracts ($P >$
228 0.05), we decided to carry out further tests only with AACE.

229 Diabetes was induced with an intraperitoneal injection of alloxan, and the rats were
230 submitted to oral glucose tolerance test (OGTT). In dose-dependent results, AACE
231 showed antihyperglycemic activity only at 400 mg/kg BW (Figure 3).

232 After 28 days of treatment, the AACE at 400 mg/kg BW showed anti-diabetic
233 activity, reducing blood sugar and glycated hemoglobin at the same level as the
234 normoglycemic mice and diabetic mice treated with metformin (Figure 4 A and B).

235 Diabetic mice lost weight compared to control and increased water ingestion
236 (diabetes symptoms), which was reversed or minimized in animals treated for 28
237 days with AACE extract (400 mg/kg BW). The results were statically similar ($P >$
238 0.05) to those observed in the normoglycemic and diabetic animals treated with
239 metformin (Table 3).

240 Biochemical analysis revealed that only the enzymes ALT and AST were altered
241 between diabetic, control, and treated group.

242

243 **Figure 2**

244 **Figure 3**

245 **Figure 4**

246 **Table 3**

247

248 **4. DISCUSSION**

249 *A. aculeata* fruit has received a lot of attention in the past years due to its high
250 medicinal potential ([Andrade-Cetto and Heinrich, 2005](#); [da Silva et al., 2009](#);
251 [Lescano et al., 2015](#)) and its possible use as a new renewable source of energy ([Cesar](#)
252 [et al., 2015](#)). Lescano et al. (2015) showed the antidiuretic and anti-inflammatory
253 activity of the pulp fruit and Silva et al. (2009) isolated a galactoglucomannan with
254 immune adjuvant propriety. In addition, the fruit extract did not exhibit cytotoxicity,
255 genotoxicity, and mutagenicity in rats ([Traesel et al., 2015](#); [Traesel et al., 2014](#)). In
256 the present work, we characterized for the first time the polar compounds of the fruit
257 and proved the hypoglycemic and antidiabetic activity reported in the traditional
258 medicine ([Andrade-Cetto and Heinrich, 2005](#)).

259 For biological and chemical analysis we prepared two extracts from the *A. aculeata*
260 dry fruit, a crude one and a pectin free extract, to evaluate if the hypoglycemic
261 activity was directly related to the presence of pectin as suggested in the literature
262 ([Kumar et al., 1993](#); [Silva et al., 2011](#)). The similar results obtained in the initial oral
263 glucose tolerance test for both extracts (Figure 2), showed us that the hypoglycemic
264 activity is probably due to other compounds than pectin, such as flavonoids and fatty
265 acids present in both extracts.

266 The unsaturated fatty acids and the presence of omega-6 (linoleic acid C18:2) and
267 omega-3 acids (alpha-linolenic acid C18:3n3) make these extracts important from the
268 nutritional point of view. The oil from *A. aculeata* fruit is quite similar to olive oil,
269 consisting primarily of palmitic acid (7.5-25%) and oleic acid (55-83%) ([Boskou et](#)
270 [al., 2006](#); [Hiane et al., 2005](#)). These unsaturated fatty acids are precursors of
271 eicosanoids, which play a fundamental role in human health, especially in
272 inflammation([Yan et al., 2013](#)).

273 Palmitic acid was found in AACE and AAPF extracts (corresponding to 24.9% and
274 21.8% of fat acids, respectively). This compound stimulates β cells of pancreatic
275 islets to release insulin([Liu et al., 2015](#)). Oleic acid (corresponding to 52.1% of fat
276 acids in AACE and 60.1% of fat acids in AAPF) can increase production of insulin in
277 INS-1 cells and reverse the effects of insulin production inhibitor caused by
278 inflammatory cytokines TNF- α ([Vassiliou et al., 2009](#)). A diet rich in oleic acid may
279 be beneficial for Type II diabetes and reverse the negative effects of inflammatory
280 cytokines observed in obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus ([Vassiliou](#)
281 [et al., 2009](#)). Also, studies indicate that the consumption of unsaturated fatty acids
282 ameliorated diabetes and associated comorbidities by increasing the insulin
283 sensitivity ([Takkunen et al., 2016](#)).

284 The other primary compounds observed in the AACE were the C-glycosyl flavonoid
285 derivatives, such as apigenin-6,8-di-C-hexoside and apigenin-6-C-hexosyl-8-C-
286 pentoside. Compounds of this class are also present in the extracts of the antidiabetic
287 plants *Marrubium vulgare*, *Spergularia rubra*, *Artemisia herba-alba*, and *Ajuga iva*
288 ([Boudjelal et al., 2012](#); [Boudjelal et al., 2015](#); [Vinholes et al., 2011](#)). Recently, Islam
289 et al. ([2014](#)) showed that the C-heteroside flavone vicenin-2 has a potent inhibitory
290 activity against α -glucosidase, PTP1B, and RLAR, three key enzymes and important
291 therapeutic targets for the treatment of diabetes. Apigenin reduces hyperglycemia and
292 liver glucose-6-phosphatase (fundamental in the regulation of glucose levels in the
293 blood) and hypercholesterolemia([Babu et al., 2013](#)). It also increases the
294 phosphorylation of the monophosphate-activated protein kinase adenosine, an
295 important regulator of energy homeostasis and may have beneficial effects on
296 dyslipidemia and diabetes([Babu et al., 2013](#)).

297 The glycated hemoglobin results extended the action time of the AACE in the
298 glucose reduction capacity, previously observed in OGTT, since it expresses the
299 average amount of glucose in the blood throughout the lifetime of the erythrocytes.
300 Additionally, the reduction of levels of glycated hemoglobin is one of the main
301 parameters of the efficiency of managing of diabetic patients ([Driskell et al., 2014](#)).
302 The treatment with AACE also attenuated food and water intake by the diabetic
303 animals. The recovery of these standard parameters reflects the improvement of
304 glycemic control and reduces the risk factors to other diseases in subjects with pre-
305 diabetes and diabetes([Li et al., 2007](#)).
306 Biochemical analysis, except ALT and AST enzymes, revealed no significant changes
307 in other parameters between diabetic, control, and treated group. Similar results have
308 been observed in patients that use drugs for glycemic control ([Niafar et al., 2016](#)).
309 Changes in ALT and AST enzymes could be correlated to the action of alloxan. This
310 observation is consistent with data previously reported in the literature ([Allagui et al.,](#)
311 [2014](#); [Mansour et al., 2002](#)).

312

313 **5. CONCLUSION**

314 The results of this study showed the phytochemical profile of *A. aculeate* fruit and its
315 anti-hyperglycemic and antidiabetic activities, which may be attributed to the
316 identified compounds, especially fatty acids, and flavonoids. These results
317 substantiate the traditional antidiabetic use of the fruits and open novel perspectives
318 for the development of products for the prevention and treatment of diabetes based
319 on this plant.

320

321 **ACKNOWLEDGMENT**

322 The authors thank the Instituto Nacional de Areas Úmidas (INAU), Fundação de
323 Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato
324 Grosso do Sul (FUNDECT), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
325 Tecnológico (CNPQ) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
326 Superior (CAPES) for financial support.

327

328 5. REFERENCES

- 329 Allagui, M.S., Feriani, A., Bouoni, Z., Alimi, H., Murat, J.C., El Feki, A., 2014.
330 Protective effects of vitamins (C and E) and melatonin co-administration on
331 hematological and hepatic functions and oxidative stress in alloxan-induced diabetic
332 rats. *Journal of physiology and biochemistry* 70, 713-723.
- 333 Andrade-Cetto, A., Heinrich, M., 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect
334 used in the treatment of diabetes. *Journal of ethnopharmacology* 99, 325-348.
- 335 Babu, P.V.A., Liu, D., Gilbert, E.R., 2013. Recent advances in understanding the
336 anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *The Journal of nutritional biochemistry*
337 24, 1777-1789.
- 338 Boskou, D., Blekas, G., Tsimidou, M., 2006. Olive oil composition. *AOCS Monogr.*
339 *Ser. Oilseeds* 1, 41-72.
- 340 Boudjelal, A., Henchiri, C., Siracusa, L., Sari, M., Ruberto, G., 2012. Compositional
341 analysis and in vivo anti-diabetic activity of wild Algerian *Marrubium vulgare* L.
342 infusion. *Fitoterapia* 83, 286-292.
- 343 Boudjelal, A., Siracusa, L., Henchiri, C., Sarri, M., Abderrahim, B., Baali, F.,
344 Ruberto, G., 2015. Antidiabetic Effects of Aqueous Infusions of *Artemisia herba-alba*
345 and *Ajuga reptans* in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Planta medica* 81, 696-704.
- 346 Cesar, A.d.S., Almeida, F.d.A., Pereira de Souza, R., Silva, G.C., Atabani, A.E.,
347 2015. The prospects of using *Acrocomia aculeata* (macauba) a non-edible biodiesel
348 feedstock in Brazil. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 49, 1213-1220.
- 349 Chen, L., Magliano, D.J., Zimmet, P.Z., 2012. The worldwide epidemiology of type
350 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nature Reviews Endocrinology*
351 8, 228-236.
- 352 da Silva, B.P., Silva, G.d.M., Parente, J.P., 2009. Chemical properties and adjuvant
353 activity of a galactoglucomannan from *Acrocomia aculeata*. *Carbohydr. Polym.* 75,
354 380-384.
- 355 Driskell, O.J., Holland, D., Waldron, J.L., Ford, C., Scargill, J.J., Heald, A., Tran, M.,
356 Hanna, F.W., Jones, P.W., Pemberton, R.J., 2014. Reduced testing frequency for
357 glycated hemoglobin, HbA1c, is associated with deteriorating diabetes control.
358 *Diabetes care* 37, 2731-2737.
- 359 Ferreres, F., Silva, B.M., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Ferreira, M.A., 2003.
360 Approach to the study of C-glycosyl flavones by ion trap HPLC-PAD-ESI/MS/MS:
361 application to seeds of quince (*Cydonia oblonga*). *Phytochemical Analysis* 14, 352-
362 359.
- 363 Garna, H., Mabon, N., Robert, C., Cornet, C., Nott, K., Legros, H., Wathelet, B.,
364 Paquot, M., 2007. Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple

365 pomace pectin precipitated but not washed by alcohol. Journal of Food Science 72,
 366 C001-C009.
 367 Hiane, P.A., Ramos Filho, M.M., Ramos, M.I.L., Macedo, M.L.R., 2005.
 368 Characterization and fatty acid composition of bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.)
 369 Lodd.) pulp and kernel oils. Braz. J. Food Technol. 8, 256-259.
 370 Hu, M.-X., Zhang, H.-C., Wang, Y., Liu, S.-M., Liu, L., 2012. Two new glycosides
 371 from the fruits of *Morinda citrifolia* L. Molecules 17, 12651-12656.
 372 IDF, 2015. International Diabetes Federation, 7^a ed, Brussels, Belgium.
 373 Islam, M.N., Ishita, I.J., Jung, H.A., Choi, J.S., 2014. Vicenin 2 isolated from
 374 *Artemisia capillaris* exhibited potent anti-glycation properties. Food and Chemical
 375 Toxicology 69, 55-62.
 376 Kai, K., Wakasa, K., Miyagawa, H., 2007. Metabolism of indole-3-acetic acid in rice:
 377 identification and characterization of N- β -d-glucopyranosyl indole-3-acetic acid and
 378 its conjugates. Phytochemistry 68, 2512-2522.
 379 Kumar, G.P., Sudheesh, S., Vijayalakshmi, N., 1993. Hypoglycaemic effect of
 380 *Coccinia indica*: mechanism of action. Planta medica 59, 330-332.
 381 Lescano, C.H., Iwamoto, R.D., Sanjinez-Argandona, E.J., Kassuya, C.A.L., 2015.
 382 Diuretic and Anti-Inflammatory Activities of the Microencapsulated *Acrocomia*
 383 *aculeata* (Arecaceae) Oil on Wistar Rats. J. Med. Food 18, 656-662.
 384 Li, W., Dai, R.-J., Yu, Y.-H., Li, L., Wu, C.-M., Luan, W.-W., Meng, W.-W., Zhang,
 385 X.-S., Deng, Y.-L., 2007. Antihyperglycemic effect of *Cephalotaxus sinensis* leaves
 386 and GLUT-4 translocation facilitating activity of its flavonoid constituents.
 387 Biological and Pharmaceutical Bulletin 30, 1123-1129.
 388 Liu, Q., Wang, R., Zhou, H., Zhang, L., Cao, Y., Wang, X., Hao, Y., 2015. SHIP2 on
 389 p13K/Akt pathway in palmitic acid stimulated islet β cell. International journal of
 390 clinical and experimental medicine 8, 3210.
 391 Mansour, H.A., Newairy, A.-S.A., Yousef, M., Sheweita, S., 2002. Biochemical study
 392 on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats. Toxicology
 393 170, 221-228.
 394 Mustafa, A., Turner, C., 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in
 395 food and herbal plants extraction: A review. Analytica chimica acta 703, 8-18.
 396 Niafar, M., Pourafkari, L., Shahsavarinia, K., Milanchian, N., Niafar, F., Nader, N.D.,
 397 2016. Effects of bromocriptine mesylate on homocysteine and high-sensitivity C-
 398 reactive protein levels in patients with type-2 diabetes mellitus. Journal of
 399 cardiovascular and thoracic research 8, 8.
 400 Oliveira, D.M., de Paula da Costa, J., Clemente, E., Correia da Costa, J.M., 2013.
 401 Characterization of grugru palm pulp for food applications. J. Food Sci. Eng. 3, 107-
 402 112.
 403 Pérez, S., Pérez, C., Vargas, R., 1997. Coyołosa, a new hypoglycemic from
 404 *Acrocomia mexicana*. Pharmaceutica Acta Helvetiae 72, 105-111.
 405 Prabhakar, P.K., Doble, M., 2008. A target based therapeutic approach towards
 406 diabetes mellitus using medicinal plants. Current diabetes reviews 4, 291-308.
 407 Schwab, W., Schreier, P., 1990. Glycosidic conjugates of aliphatic alcohols from
 408 apple fruit (*Malus sylvestris* Mill cult. Jonathan). Journal of Agricultural and Food
 409 Chemistry 38, 757-763.
 410 Silva, D.C., Freitas, A.L., Pessoa, C.D., Paula, R.C., Mesquita, J.X., Leal, L.K.,
 411 Brito, G.A., Gonçalves, D.O., Viana, G.S., 2011. Pectin from *Passiflora edulis* shows
 412 anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypotriglyceridemic
 413 properties in diabetic rats. Journal of medicinal food 14, 1118-1126.

414 Singh, A., Kumar, S., Bajpai, V., Reddy, T.J., Rameshkumar, K., Kumar, B., 2015.
 415 Structural characterization of flavonoid C-and O-glycosides in an extract of
 416 *Adhatoda vasica* leaves by liquid chromatography with quadrupole time-of-flight
 417 mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 29, 1095-1106.
 418 Takkunen, M.J., Schwab, U.S., de Mello, V.D., Eriksson, J.G., Lindström, J.,
 419 Tuomilehto, J., Uusitupa, M.I., Group, D.S., 2016. Longitudinal associations of
 420 serum fatty acid composition with type 2 diabetes risk and markers of insulin
 421 secretion and sensitivity in the Finnish Diabetes Prevention Study. *European journal*
 422 *of nutrition* 55, 967-979.
 423 Traesel, G.K., Castro, L.H.A., Silva, P.V.B., Muzzi, R.M., Kassuya, C.A.L., Arena,
 424 A.C., Oesterreich, S.A., 2015. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and
 425 mutagenic potential of *Acrocomia aculeata* in rats. *GMR, Genet. Mol. Res.* 14, 585-
 426 596, 512 pp.
 427 Traesel, G.K., de Souza, J.C., de Barros, A.L., Souza, M.A., Schmitz, W.O., Muzzi,
 428 R.M., Oesterreich, S.A., Arena, A.C., 2014. Acute and subacute (28 days) oral
 429 toxicity assessment of the oil extracted from *Acrocomia aculeata* pulp in rats. *Food*
 430 *Chem. Toxicol.* 74, 320-325.
 431 Vassiliou, E.K., Gonzalez, A., Garcia, C., Tadros, J.H., Chakraborty, G., Toney, J.H.,
 432 2009. Oleic acid and peanut oil high in oleic acid reverse the inhibitory effect of
 433 insulin production of the inflammatory cytokine TNF- α both in vitro and in vivo
 434 systems. *Lipids in Health and Disease* 8, 1.
 435 Vinholes, J., Grosso, C., Andrade, P.B., Gil-Izquierdo, A., Valentão, P., de Pinho,
 436 P.G., Ferreres, F., 2011. In vitro studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase
 437 and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. *Food Chemistry* 129, 454-462.
 438 Vukics, V., Guttman, A., 2010. Structural characterization of flavonoid glycosides by
 439 multi-stage mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 29, 1-16.
 440 Yan, Y., Jiang, W., Spinetti, T., Tardivel, A., Castillo, R., Bourquin, C., Guarda, G.,
 441 Tian, Z., Tschopp, J., Zhou, R., 2013. Omega-3 fatty acids prevent inflammation and
 442 metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Immunity*
 443 38, 1154-1163.
 444
 445
 446

Table 1 - Profile of fatty acids (%) of crude (AACE) and pectin free extract (AAPF) from *Acrocomia aculeata* fruits.

Saturated	AACE	AAPF	Unsaturated	AACE	AAPF
fatty acids	(%)	(%)	fatty acids	(%)	(%)
C12:0	0.77	0.56	C16:1	2.83	3.32
C14:0	0.73	0.41	C17:1	0.07	0.12
C15:0	0.13	-	C18:1	52.15	60.09
C16:0	24.92	21.77	C18:2	4.72	4.58
C17:0	0.15	0.11	C18:3n3	0.74	0.98
C18:0	2.70	2.30	C18:3n6	0.17	-
C20:0	0.35	0.22	C20:1	0.36	0.17
C22:0	0.29	0.09	C20:4	0.22	0.12
C23:0	0.12	-	C22:1	0.09	0.06
C24:0	0.31	0.13			
Total					
identified	30.47	25.59		61.37	69.45

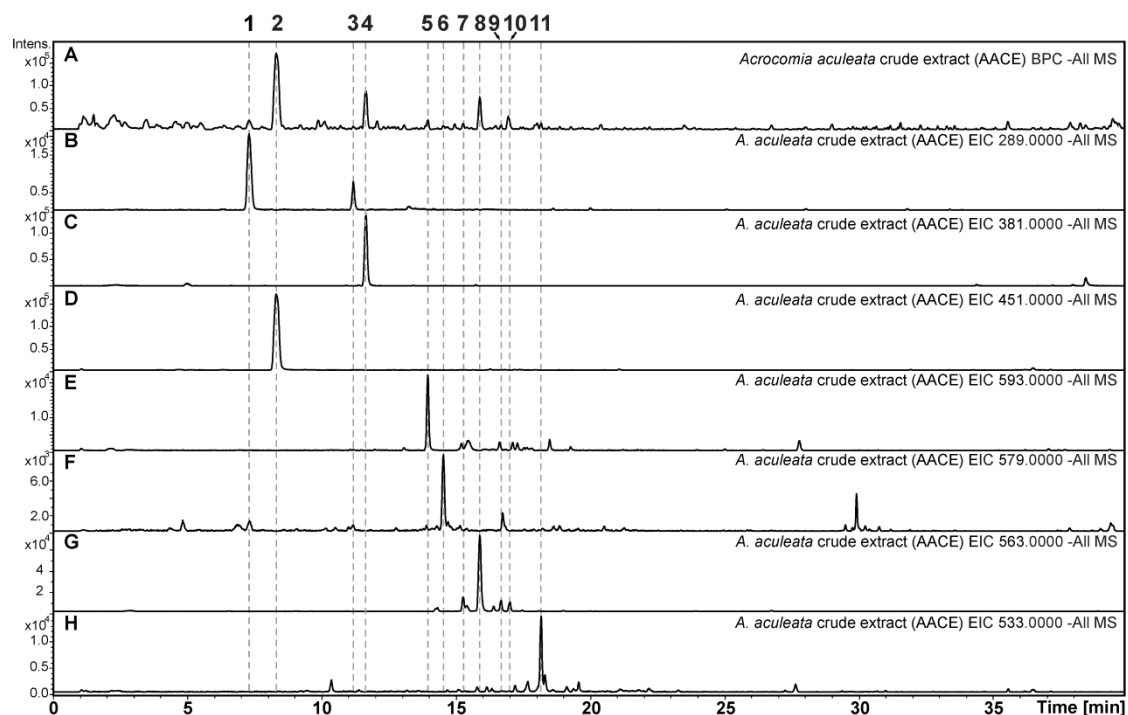


Figure 1: HPLC-MS chromatography profile in negative ionization mode of the *Acrocomia aculeata* crude extract (AACE). **A** = Base Peak Chromatogram of AACE; **B** = Extract Ion Chromatogram (EIC) of m/z 289; **C** = EIC of m/z 381; **D** = EIC of m/z 451; **E** = EIC of m/z 593; **F** = EIC of m/z 579; **G** = EIC of m/z 563; **H** = EIC of m/z 533. **1**= catechin; **2**= aspartic acid, n-[(1-β-d-glucopyranosyl-1h-indol-3-yl) acetyl]; **3**= epicatechin; **4**= di-hexosyl-O-C₄H₉; **5**= apigenin-6,8-di-C-hexosyl; **6**= luteolin-6-C-pentosyl-8-C-hexosyl; **7**= apigenin-6-C-pentosyl-8-C-hexosyl; **8**= apigenin-6-C-hexosyl-8-C-pentosyl; **9**= apigenin-6-C-pentosyl-8-C-hexosyl; **10**= apigenin-6-C-hexosyl-8-C-pentosyl; **11**= apigenin-6,8-di-C-pentosyl.

Table 2: Secondary metabolites identified by HPLC-DAD-MS/MS from the *Acrocomia aculeata* crude extract (AACE).

Peak	RT (min)	Compound	Molecular Formula	MS (m/z) [M-H] ⁻	Error (ppm)	MS/MS (m/z) [M-H] ⁻	UV (nm)
1	7.3	catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0704	4.8	---	279
2	8.3	aspartic acid, n-[(1-β-d-glucopyranosyl-1h-indol-3-yl) acetyl]	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₁₀	451.1337	4.7	333.1056; 291.1004; 172.9892	271
3	11.1	epicatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0719	0.3	---	279
4	11.6	O-butyl-di-O-hexoside	C ₁₆ H ₃₀ O ₁₀	381.1766	2.3	235.1195; 161.0446	---
5	13.9	apigenin-6,8-di-C-hexoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593.1479	2.5	503.1142; 473.1058; 455.0895; 413.0881; 395.0740; 383.0760; 365.0711; 353.0655; 325.0751; 297.0783	271; 334
6	14.5	luteolin-6-C-pentosyl-8-C-hexoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	579.1346	1.1	489.1066; 471.0904; 459.0977; 429.0896; 411.0717; 399.0732; 381.0640; 3669.0649; 341.0118	275; 334
7	15.2	apigenin-6-C-pentosyl-8-C-hexoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.1393	2.4	503.1149; 473.1031; 443.0930; 425.0898; 413.0846; 395.0700; 383.0789; 365.0648; 353.0654; 325.0718; 297.0708	267; 335
8	15.9	apigenin-6-C-hexosyl-8-C-pentoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.1394	2.3	545.1228; 503.1168; 473.1089; 455.0990; 443.0972; 425.0857; 413.0888; 395.0771; 383.0760; 365.0671; 353.0649; 325.0704; 297.0748	271; 334
9	16.6	apigenin-6-C-pentosyl-8-C-hexoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.1392	2.5	473.1080; 443.0955; 425.0853; 413.0881; 395.0711; 383.0740; 365.0683; 325.0733; 297.0745	279; 335
10	17.0	apigenin-6-C-hexosyl-8-C-pentoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	563.1403	0.8	473.1036; 443.0971; 413.0892; 395.0802; 383.0768; 365.0643; 353.0652; 325.0677; 297.0795	280; 332
11	18.1	apigenin-6,8-di-C-pentoside	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₃	533.1302	0.2	515.1148; 473.1116; 455.0914; 443.0946; 425.0889; 413.0868; 395.0787; 383.0778; 365.0650; 353.0678; 325.0685; 311.0567; 297.0791	277; 333

RT: retention time.

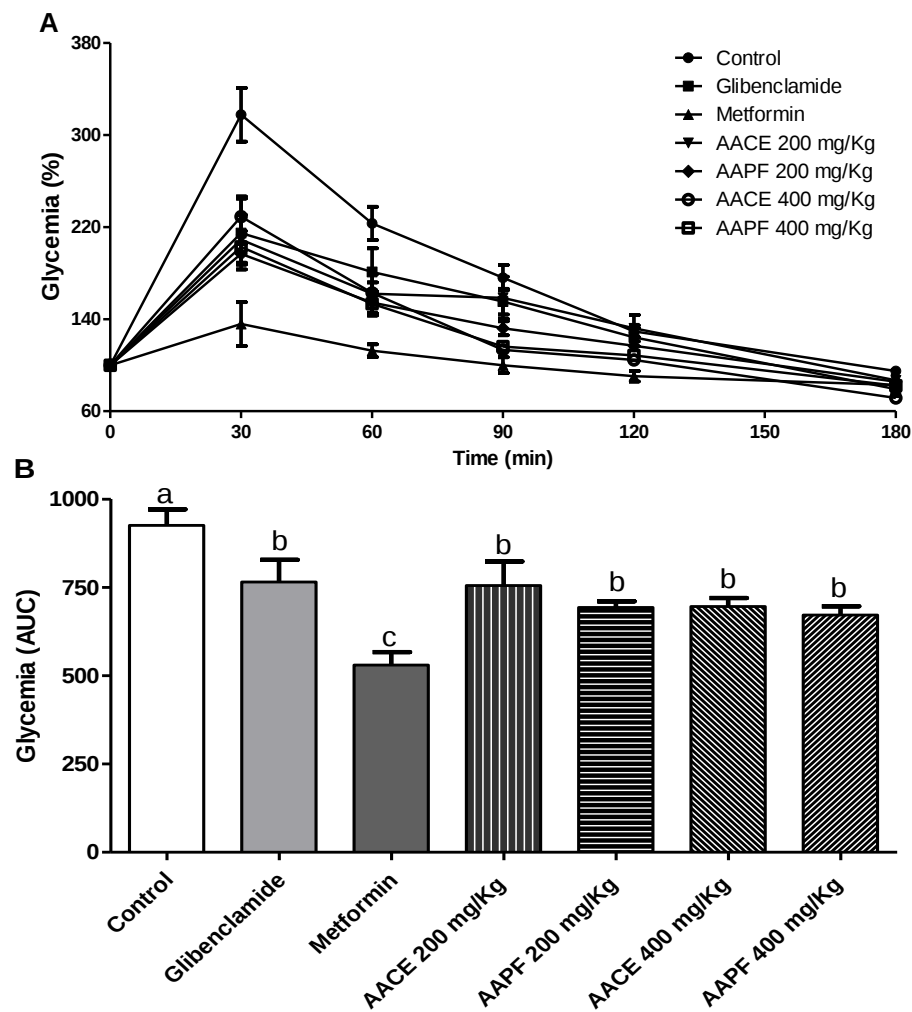


Figure 2: (A) Blood glucose and (B) area under the curve obtained from the oral glucose tolerance test in normoglycemic male mice treated with water, glibenclamide (10 mg/kg BW), metformin (100 mg/kg BW) and *Acrocomia aculeata* extracts AACE and AAPF (200 e 400 mg/kg BW), by gavage 30 minutes before the test. $n = 7$. Values are expressed as mean $\pm$ SEM. Mean values followed by different superscript letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

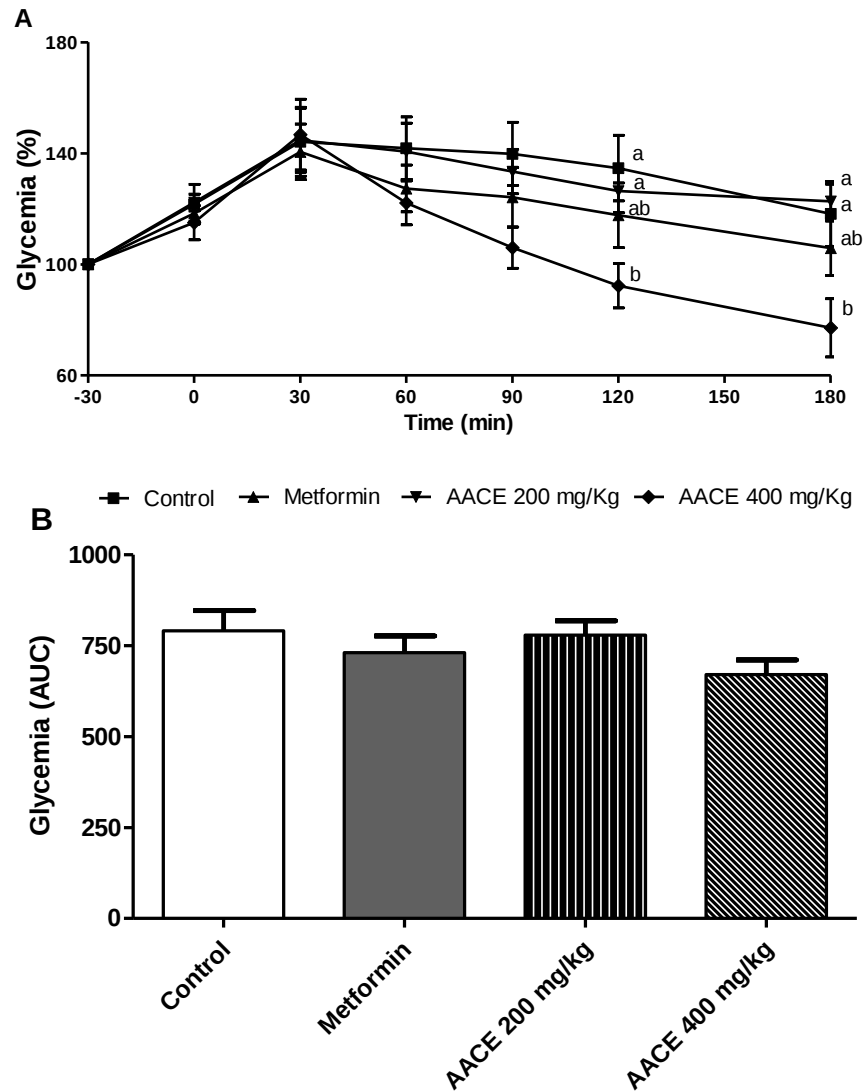


Figure 3: (A) Blood glucose and (B) area under the curve obtained from the oral glucose tolerance test in diabetics adult male C57BL/6 mice treated with water, metformin (100 mg/kg BW) and *Acrocomia aculeata* extract AACE (400 mg/kg BW), by gavage 30 minutes before beginning the test. n= 7. Values are expressed as mean $\pm$ SEM. Mean values followed by different superscript letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

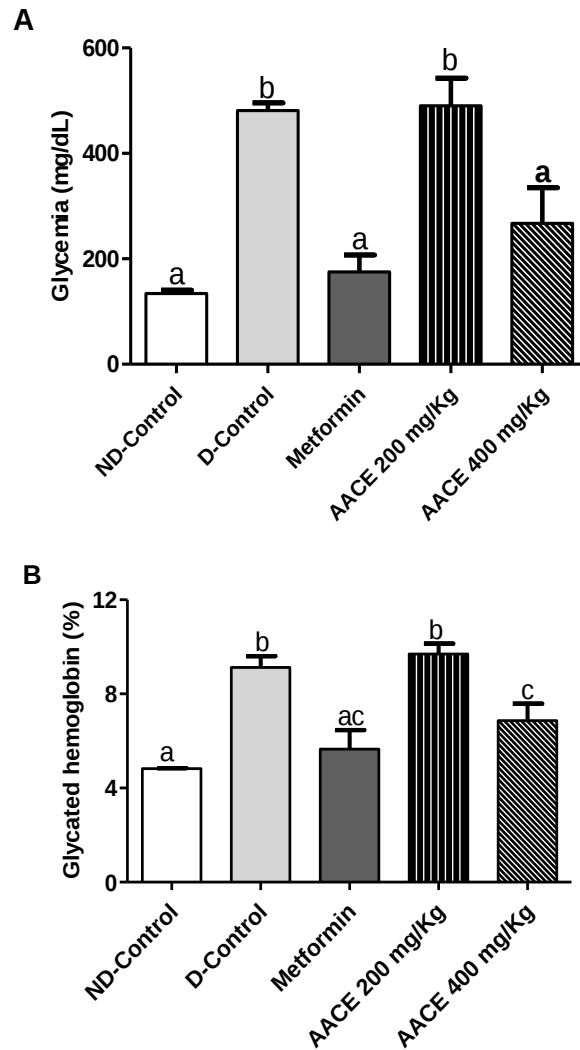


Figure 4:(A) Blood glucose and (B) Glycated hemoglobin of diabetics adult male C57BL/6 mice treated with water, metformin (100 mg/kg BW) and *Acrocomia aculeata* extract AACE (200 and 400 mg/kg BW), by gavage for 28 days. N= 7. Values are expressed as mean $\pm$ SEM. Mean values followed by different superscript letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

Table3: Body weight (Δ BW), food and water intake and organ weights, biochemical and hematological parameters of adult male C57BL/6 of normoglycemic mice (ND-Control) and alloxan-induced diabetic treated for 28 days with water (D-Control), metformin (D-Met, 100 mg/kg BW) and *Acrocomia aculeata* extract AACE (200 e 400 mg/kg BW).

Parameters	ND-Contro	D-Control	D-Met	D-AACE 20	D-AACE 40
Δ BW (%)	6 $\pm$ 3 ^{ab}	0.4 $\pm$ 4 ^{ab}	8 $\pm$ 3 ^a	-7.6 $\pm$ 4 ^b	11.9 $\pm$ 4.2 ^{ac}
Food intake (g.day ⁻¹)	4.6 $\pm$ 0.2 ^a	6.8 $\pm$ 0.5 ^b	6.5 $\pm$ 0.2 ^b	7.5 $\pm$ 0.4 ^b	5.3 $\pm$ 0.1 ^a
Water ingestion (mL.day ⁻¹)	7.5 $\pm$ 0.4 ^a	30.4 $\pm$ 1.4 ^b	23.3 $\pm$ 0.9 ^c	29.1 $\pm$ 2 ^b	16.6 $\pm$ 0.9 ^d
Liver (g.100 g ⁻¹ of BW)	4.1 $\pm$ 0.2 ^a	5.2 $\pm$ 0.2 ^{bc}	4.7 $\pm$ 0.2 ^b	5.6 $\pm$ 0.3 ^c	4.6 $\pm$ 0.3 ^{ab}
Heart (g.100 g ⁻¹ of BW)	0.45 $\pm$ 0.01 ^a	0.46 $\pm$ 0.01 ^a	0.45 $\pm$ 0.01 ^a	0.51 $\pm$ 0.02 ^b	0.44 $\pm$ 0.01 ^a
Kidney (g.100 g ⁻¹ of BW)	1.08 $\pm$ 0.03 ^a	1.48 $\pm$ 0.05 ^b	1.12 $\pm$ 0.09 ^a	1.52 $\pm$ 0.09 ^b	1.07 $\pm$ 0.12 ^a
Total cholesterol (mg.dL ⁻¹)	100 $\pm$ 7 ^{ns}	105 $\pm$ 8 ^{ns}	96 $\pm$ 5 ^{ns}	99 $\pm$ 10 ^{ns}	100 $\pm$ 6 ^{ns}
HDL-cholesterol (mg.dL ⁻¹)	103 $\pm$ 8 ^{ns}	108 $\pm$ 8 ^{ns}	90 $\pm$ 5 ^{ns}	99 $\pm$ 11 ^{ns}	99 $\pm$ 6 ^{ns}
Triglyceride (mg.dL ⁻¹)	51 $\pm$ 4 ^{ns}	49 $\pm$ 5 ^{ns}	70 $\pm$ 14 ^{ns}	59 $\pm$ 7 ^{ns}	77 $\pm$ 11 ^{ns}
ALT (U.L ⁻¹)	26 $\pm$ 3 ^e	72 $\pm$ 15 ^f	58 $\pm$ 23 ^{ef}	125 $\pm$ 29 ^f	60 $\pm$ 17 ^{ef}
AST (U.L ⁻¹)	63 $\pm$ 6 ^e	163 $\pm$ 20 ^f	131 $\pm$ 54 ^{ef}	250 $\pm$ 56 ^f	133 $\pm$ 45 ^{ef}
Ureia (mg.dL ⁻¹)	106 $\pm$ 9 ^{ns}	143 $\pm$ 20 ^{ns}	110 $\pm$ 11 ^{ns}	128 $\pm$ 14 ^{ns}	107 $\pm$ 10 ^{ns}
Creatinine (mg.dL ⁻¹)	0.23 $\pm$ 0.02 ^{ns}	0.27 $\pm$ 0.02 ^{ns}	0.26 $\pm$ 0.01 ^{ns}	0.27 $\pm$ 0.02 ^{ns}	0.22 $\pm$ 0.01 ^{ns}

Δ BW (%) change between the initial and final body weight. AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase. BW: body weight. Values are presented as mean $\pm$ SEM. N= 7 mice per group. Values are expressed as mean $\pm$ SEM. Mean values followed by different superscript letters (a,b,c and d) indicate statistically significant differences (P <0.05). Mean values followed by different superscript letters (e and f) indicate statistically significant difference (P <0.001).