



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**RENAN PEREIRA DE LIMA**

**EFEITO DO ACETATO DE TARAXASTEROL ISOLADO DE *Eupatorium ballotaefolium* NA RESISTÊNCIA INSULÍNICA E NO DIABETES *MELLITUS* DO TIPO 2: UM ESTUDO *IN SILICO, IN VITRO* E *IN VIVO***

**FORTALEZA**

**2023**

**RENAN PEREIRA DE LIMA**

**EFEITO DO ACETATO DE TARAXASTEROL ISOLADO DE *Eupatorium  
ballotaefolium* NA RESISTÊNCIA INSULÍNICA E NO DIABETES *MELLITUS*  
DO TIPO 2: UM ESTUDO *IN SILICO*, *IN VITRO* E *IN VIVO***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Flávia Almeida Santos.

**FORTALEZA**

**2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- L71e Lima, Renan Pereira de.  
Efeito do acetato de taraxasterol isolado de *Eupatorium ballotaefolium* na resistência insulínica e no diabetes mellitus do tipo 2 : um estudo in silico, in vitro e in vivo / Renan Pereira de Lima. – 2023.  
233 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Profa. Dra. Flavia Almeida Santos.
1. Resistência à insulina. 2. Triterpenos. 3. 3T3-L1. 4. HepG2. 5. Dieta hiperlipídica. I. Título.  
CDD 615.1
-

RENAN PEREIRA DE LIMA

EFEITO DO ACETATO DE TARAXASTEROL ISOLADO DE *Eupatorium  
ballotaefolium* NA RESISTÊNCIA INSULÍNICA E NO DIABETES *MELLITUS* DO  
TIPO 2: UM ESTUDO *IN SILICO*, *IN VITRO* E *IN VIVO*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Área de Contratação: Farmacologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Flávia Almeida Santos.

Aprovada em: 10/03/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Flavia Almeida Santos  
Universidade Federal do Ceará  
(Orientadora)

---

Prof<sup>o</sup> Dr. Raquel Carvalho Montenegro  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>o</sup> Dr. Ariclécio Cunha de Oliveira  
Universidade Estadual do Ceará

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eveline Aparecida Isquierdo Fonseca de Queiroz  
Universidade Federal de Mato Grosso

---

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Emiliano de Oliveira Barreto  
Universidade Federal de Alagoas

## **EFEITO DO ACETATO DE TARAXASTEROL ISOLADO DE *Eupatorium ballotaefolium* NA RESISTÊNCIA INSULÍNICA E NO DIABETES MELLITUS DO TIPO 2: UM ESTUDO *INSILICO*, *IN VITRO* E *IN VIVO***

### **RESUMO**

O Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é um dos distúrbios metabólicos mais comuns no mundo, atingindo cerca de 400 milhões de pessoas em todo o globo. Atualmente, o tratamento para o DM2 é realizado com diversas classes de medicamentos, mas não isentas de efeitos adversos, o que limita suas aplicações clínicas. Na busca de novas opções terapêuticas para o tratamento do DM2, os triterpenos pentacíclicos têm se destacado como promissores na regulação da glicemia e do metabolismo lipídico. Este estudo teve como objetivo investigar o efeito do acetato de taraxasterol (ATX), um triterpeno pentacíclico, isolado da *Eupatorium ballotaefolium*, na resistência à insulina (RI) em células C2C12, 3T3-L1 e HepG2, sendo avaliado a captação de glicose, sinalização da insulina, acúmulo de triglicerídeos e lipídeos intracelulares, estresse oxidativo e acúmulo de glicogênio. Em conjunto, foi avaliado o efeito do ATX em modelo de DM2 induzido por uma combinação de dieta hiperlipídica (DH) e baixas doses de streptozotocina (STZ) em camundongos e seus possíveis mecanismos de ação na RI, produção de glicose e gliconeogênese hepáticos. Adicionalmente, realizou-se análise metabolômica baseada em ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-<sup>1</sup>H) no soro dos animais. Os resultados demonstram que o ATX (12,5 – 50 µM) aumentou a captação de glicose em células C2C12, 3T3-L1 e HepG2 resistentes à insulina, através do aumento da expressão do IRS1, PI3K, Akt, GLUT4m e AMPK. Além disso, o ATX (50 µM) preveniu o processo inflamatório, reduzindo a expressão proteica de JNK e NFκB, também prevenindo a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e marcadores do estresse oxidativo (DCF-DA, nitrato/nitrito, MDA, GSH, Catalase e SOD). Nas células 3T3-L1, o ATX (12,5 - 50 µM) preveniu a lipólise induzida pelo TNFα, preservando o acúmulo de lipídios e reduzindo as concentrações intracelulares de glicerol por meio da regulação basal da expressão do RNAm de PPARγ, HSL, ATGL e perilipina, e da concentração de leptina e adiponectina. No DM2 em camundongos, o tratamento de 4 semanas com ATX (10 e 20 mg/Kg) restaurou a glicemia sustentada observadas nos camundongos diabéticos, além de melhorar parâmetros sanguíneos (TTGI, TTII, glicemia de jejum, insulina, lipídeos, amilase e lipase) e hepáticos (peso, síntese de glicogênio, estresse oxidativo e alterações histopatológicas). O efeito do ATX sobre o DM2, em parte, foi atribuído a sua capacidade de modular vias hepáticas de sinalização da insulina (IRS, PI3K e Akt); produção de glicose (GCK, GyS2 e GSK3β) e gliconeogênese (PEPCK e G6Pase). Além disso, a análise metabolômica mostrou que o efeito do ATX em camundongos diabéticos, ocorre em parte por meio de uma via metabólica relacionada à glicose com redução da α e β glicose e aumento da concentração do ácido acético, podendo está relacionado a redução do apetite, ativação da AMPK e redução de genes gliconeogênicos e lipogênicos. Estes achados sugerem que o ATX possui um potencial antidiabético, modulando vias centrais de sinalização da insulina, metabolismo de carboidratos e lipídeos.

Palavras-chaves: Resistência à insulina. Triterpenos. 3T3-L1. HepG2. Dieta Hiperlipídica

# **EFFECT OF TARAXASTEROL ACETATE ISOLATED FROM *Eupatorium ballotaefolium* ON INSULIN RESISTANCE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS: AN IN SILICO, IN VITRO AND IN VIVO STUDY**

## **ABSTRACT**

Type 2 Diabetes *Mellitus* (T2DM) is one of the most common metabolic disorders in the world, affecting about 400 million people across the globe. Currently, treatment for T2DM is carried out with several classes of drugs, but they are not free of adverse effects, which limits their clinical applications. In the search for new therapeutic options for the treatment of T2DM, pentacyclic triterpenes have been highlighted as promising in the regulation of glycemia and lipid metabolism. This study aimed to investigate the effect of taraxasterol acetate (TXA), a pentacyclic triterpene, isolated from *Eupatorium ballotaefolium*, on insulin resistance (IR) in C2C12, 3T3-L1 and HepG2 cells, evaluating glucose uptake, signaling of insulin, accumulation of triglycerides and intracellular lipids, oxidative stress and accumulation of glycogen. Together, the effect of TXA in a model of T2DM induced by a combination of a high-fat diet (HFD) and low doses of streptozotocin (STZ) in mice and its possible mechanisms of action on IR, glucose production and hepatic gluconeogenesis was evaluated. Additionally, a metabolomics analysis based on hydrogen nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H-NMR) was carried out in the animals' serum. The results demonstrate that TXA (12.5 – 50 μM) increased glucose uptake in insulin resistant C2C12, 3T3-L1 and HepG2 cells by increasing the expression of IRS1, PI3K, Akt, mGLUT4 and AMPK. In addition, TXA (50 μM) prevented the inflammatory process, reducing the protein expression of JNK and NFκB, also preventing the formation of reactive oxygen species (ROS) and markers of oxidative stress (DCF-DA, nitrate/nitrite, MDA, GSH, catalase and SOD). In 3T3-L1 cells, TXA (12.5 - 50 μM) prevented TNFα-induced lipolysis, preserving lipid accumulation and reducing intracellular glycerol concentrations through basal regulation of PPARγ, HSL, ATGL and perilipin mRNA expression, and the concentration of leptin and adiponectin. In T2DM in mice, the 4-week treatment with TXA (10 and 20 mg/Kg) restored the sustained glycemia observed in diabetic mice, in addition to improving blood parameters (IGTT, IITT, fasting glycemia, insulin, lipids, amylase and lipase) and liver (weight, glycogen synthesis, oxidative stress and histopathological changes). The effect of TXA on T2DM has, in part, been attributed to its ability to modulate hepatic insulin signaling pathways (IRS, PI3K and Akt); glucose production (GCK, Gys2 and GSK3β) and gluconeogenesis (PEPCK and G6Pase). In addition, metabolomic analysis showed that the effect of TXA in diabetic mice occurs in part through a glucose-related metabolic pathway with reduced α and β glucose and increased acetic acid concentration, which may be related to reduced appetite, AMPK activation and reduction of gluconeogenic and lipogenic genes. These findings suggest that TXA has an antidiabetic potential, modulating central insulin signaling pathways, carbohydrate and lipid metabolism.

**Keywords:** Insulin resistance. Triterpenes. 3T3-L1. HepG2. High-Fat-Diet.

*A Deus, o Cristo ontem e hoje, princípio e fim. Aos meus pais, em especial minha mãe, pelo apoio, compreensão e por não ter medido esforços para proporcionar a melhor educação que podia oferecer.*

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, a fonte inesgotável de amor e água que brota da fonte da Vida, necessário para conclusão deste trabalho. À **Virgem Maria**, minha querida mãe, um sustentáculo grande para mim.

À minha orientadora, **Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Flavia Almeida Santos**, por ter me acolhido em seu laboratório, por ter contribuído para a minha formação durante esse doutorado e por todo apoio e dedicação para que eu tivesse acesso as melhores oportunidades.

Aos professores **Dr<sup>ª</sup> Raquel Carvalho Montenegro, Dr<sup>º</sup> Ariclécio Cunha de Oliveira, Dr<sup>ª</sup> Eveline Aparecida Isquierdo Fonseca de Queiroz e Dr. Emiliano de Oliveira Barreto** por terem aceitado participar da banca e por todas as considerações feitas que contribuíram para o engrandecimento do meu trabalho.

Aos meus pais **Raimundo Nonato e Maria Valdenisa** por sempre acreditarem nas minhas escolhas. As minhas conquistas também são de vocês! Agradeço também à minha irmã **Renata Lima**, pelo amor incondicional. Muito obrigado.

À **Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Diana Valesca Carvalho**, que sempre acreditou em mim, exemplo de serenidade, dedicação e profissionalismo.

As professoras **Dr<sup>ª</sup> Arlandia Cristina Lima Nobre de Moraes e Dr<sup>ª</sup> Maria Angelina da Silva Medeiros**, por serem pessoas tão maravilhosas, por terem me ajudado tanto na durante minha graduação e pelos aprendizados.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Produtos Naturais (LPN), levarei todos no coração. Muito obrigado à **Ana Virgínia, Benedito Yago Portela, Gabrielle de Paula, Maria Teresa, Paulo Iury Nunes, Rose Anny, Tuelly Bandeira e Vinicius Estevão** pessoas de coração enorme. Obrigado a todos pelo suporte e paciência nessa caminhada, por toda ajuda e por toda dedicação.

Aos amigos de graduação, que estiveram comigo me apoiando durante todo esse período e sempre acreditaram em mim. Muito obrigado à **Rosana Carneiro e Maria Clara Cavalcante**.

Aos amigos e familiares, em especial **Maria Ferreira** pela companhia cotidiana, amizade e pelos momentos de descontração e, sem vocês a caminhada teria se tornado muito mais difícil.

À **Prof<sup>ª</sup> Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa e Dra. Maria Rose Jane Ribeiro Albuquerque**, por fornecer o material de estudo.

Aos pesquisadores **Dr. Kirley Marques Canuto, Dr<sup>ª</sup>. Lorena Mara Alexandre e Silva e Dr. Elenilson de Godoy Alves Filho**, pela parceria e realização da análise da metabolômica.

A patologista **Dra. Ana Paula Negreiros**, pela parceria e conhecimentos compartilhados ao longo desta pesquisa.

Aos professores e demais funcionários do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Ceará.

Ao Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará pelo suporte técnico.

Aos órgãos de fomento à pesquisa **CNPq**, **CAPES** e **FUNCAP** pelo apoio financeiro.

Muito Obrigado!

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mecanismo de secreção da insulina.....	28
<b>Figura 2.</b> Sinalização da insulina no músculo esquelético.....	33
<b>Figura 3.</b> Visão integrada da resistência à insulina nos tecidos.....	46
<b>Figura 4.</b> Estruturas básicas dos três grupos de triterpenos pentacíclicos.....	52
<b>Figura 5.</b> Fotografia de <i>E. ballotaefolium</i> .....	55
<b>Figura 6.</b> Estrutura química do acetato de taraxasterol (ATX).....	63
<b>Figura 7.</b> Morfologia das células C2C12 diferenciadas em miotúbulos.....	65
<b>Figura 8.</b> Morfologia das células 3T3-L1 diferenciadas em adipócitos.....	65
<b>Figura 9.</b> Representação esquemática do desenho experimental.....	79
<b>Figura 10.</b> Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de células C2C12 pelo método do MTT.....	91
<b>Figura 11.</b> Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de células C2C12 pelo método de exclusão do azul de Tripán.....	92
<b>Figura 12.</b> Efeito do ATX sobre a captação de glicose em células C2C12.....	93
<b>Figura 13.</b> Efeito do ATX sobre a captação de glicose em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	94
<b>Figura 14.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de lipídeos em células C2C12 submetidas à coloração com <i>Oil Red O</i> .....	97
<b>Figura 15.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de triglicerídeos em células C2C12 resistentes à insulina.....	98
<b>Figura 16.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de glicogênio em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	99
<b>Figura 17.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de pIRS1 em células C2C12 resistentes à insulina.....	101
<b>Figura 18.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de PI3K em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	102
<b>Figura 19.</b> Efeito do ATX sobre a expressão da Akt em células C2C12 resistentes à insulina.....	103
<b>Figura 20.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do GLUT4 de membrana em células C2C12 resistentes à insulina.....	104
<b>Figura 21.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de AMPK em células C2C12 resistentes à insulina.....	105
<b>Figura 22.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de NF- $\kappa$ B (Ser536) em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	107
<b>Figura 23.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de SAPK/JNK em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	108
<b>Figura 24.</b> Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de células 3T3L1 pelo teste do MTT.....	109
<b>Figura 25.</b> Efeito do acetato de taxasterol (ATX) sobre a viabilidade de células 3T3L1 pelo ensaio de exclusão do azul de Tripán.....	110
<b>Figura 26.</b> Efeito do ATX sobre a captação de glicose em adipócitos 3T3L1...	111
<b>Figura 27.</b> Efeito do ATX sobre a captação de glicose em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	112
<b>Figura 28.</b> Efeito do ATX sobre os níveis de leptina e adiponectina em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	115
<b>Figura 29.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de pIRS1 em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	117
<b>Figura 30.</b>	

	118
<b>Figura 31.</b> Efeito do ATX sobre a expressão da Akt em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	119
<b>Figura 32.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do GLUT4 de membrana em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	120
<b>Figura 33.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de AMPK $\alpha$ em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	121
<b>Figura 34.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de NK- $\kappa$ B em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	123
<b>Figura 35.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de JNK em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	124
<b>Figura 36.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de lipídeos em células 3T3L1 resistentes à insulina submetidas à coloração com <i>Oil Red O</i> .....	126
<b>Figura 37</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de triglicerídeos em células 3T3-L1 resistentes à insulina.....	127
<b>Figura 38.</b> Efeito do ATX sobre a concentração de glicerol em adipócitos 3T3L1 resistentes à insulina.....	128
<b>Figura 39.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do RNAm de PPAR $\gamma$ , HSLM ATGL e Perilipina em células 3T3L1 resistentes à insulina.....	129
<b>Figura 40.</b> Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de células HepG2 pelo ensaio do MTT.....	130
<b>Figura 41.</b> Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de células HepG2 pelo ensaio de exclusão do azul de Tripan.....	131
<b>Figura 42.</b> Efeito do ATX sobre a captação de glicose em células HepG2.....	132
<b>Figura 43.</b> Efeito do ATX sobre a captação de glicose em células HepG2 resistentes à insulina.....	133
<b>Figura 44.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de lipídeos em células HepG2 resistentes à insulina à coloração com <i>Oil Red O</i> .....	136
<b>Figura 45.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de triglicerídeos em células HepG2 resistentes à insulina.....	137
<b>Figura 46.</b> Efeito do ATX sobre o acúmulo de glicogênio em células HepG2 resistentes à insulina.....	138
<b>Figura 47.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de pIRS1 em células HepG2 resistentes à insulina.....	140
<b>Figura 48.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do PI3K em células HepG2 resistentes à insulina.....	141
<b>Figura 49.</b> Efeito do ATX sobre a expressão da Akt em células HepG2 resistentes à insulina.....	142
<b>Figura 50.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do GLUT4 da membrana em células HepG2 resistentes à insulina.....	143
<b>Figura 51.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de AMPK $\alpha$ em células HepG2 resistentes à insulina.....	144
<b>Figura 52.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de NF- $\kappa$ B em células HepG2 resistentes à insulina.....	146
<b>Figura 53.</b> Efeito do ATX sobre a expressão de SAPK/JNK em células HepG2 resistentes à insulina.....	147
<b>Figura 54.</b> Efeito do ATX sobre a evolução do peso corporal no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	150
<b>Figura 55.</b> Efeito do ATX sobre o consumo de ração e água no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	153

<b>Figura 56.</b> Teste de tolerância à glicose e à insulina no dia 31 do experimento.....	155
<b>Figura 57.</b> Efeito do ATX sobre a tolerância à glicose em camundongos com DM2 no dia 60 do experimento.....	156
<b>Figura 58.</b> Efeito do ATX sobre a tolerância à insulina em camundongos com DM2 no dia 60 do experimento.....	157
<b>Figura 59.</b> Efeito do ATX sobre a atividade exploratória/ locomotora no teste de campo aberto em camundongos.....	159
<b>Figura 60.</b> Efeito do ATX sobre a avaliação do desempenho motor no teste de <i>Rotarod</i> .....	160
<b>Figura 61.</b> Efeito do ATX sobre os níveis hepáticos de triglicérides e colesterol total no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	164
<b>Figura 62.</b> Efeito do ATX sobre os níveis hepáticos e musculares de glicogênio no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	167
<b>Figura 63.</b> Fotomicrografias dos fígados dos animais tratados com ATX ou MET no modelo de DM2.....	169
<b>Figura 64.</b> Fotomicrografias dos rins dos animais tratados com ATX ou MET no modelo de DM2.....	170
<b>Figura 65.</b> Fotomicrografias do pâncreas dos animais tratados com ATX ou MET no modelo de DM2.....	171
<b>Figura 66.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do IRS1 (Ser307) no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	172
<b>Figura 67.</b> Efeito do ATX sobre a expressão da PI3K no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	173
<b>Figura 68.</b> Efeito do ATX sobre a expressão da AKT no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	174
<b>Figura 69.</b> Efeito do ATX sobre a expressão da AMPK no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	175
<b>Figura 70.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do RNAm de GCK, Gys2 e GSK3 no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	177
<b>Figura 71.</b> Efeito do ATX sobre a expressão do RNAm de PEPCK, G6Pase e PGC1 $\alpha$ no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	179
<b>Figura 72.</b> <sup>1</sup> H RMN do soro de um camundongo saudável.....	180
<b>Figura 73.</b> Sistema de coordenadas de componentes principais PC1 x PC2.....	181
<b>Figura 74.</b> Sistema de coordenadas LV1 x LV2 para o soro de camundongos saudáveis e diabéticos.....	182
<b>Figura 75.</b> Sistema de coordenadas LV1 x LV2 para o soro de camundongos diabéticos e diabéticos tratados com metformina.....	183
<b>Figura 76.</b> Sistema de coordenadas LV1 x LV2 para soro de camundongos diabéticos e diabéticos tratados com ATX (10 mg/Kg) .....	184
<b>Figura 77.</b> Sistema de coordenadas LV1 x LV2 para soro de camundongos diabéticos e diabéticos tratados com ATX (20 mg/Kg) .....	185
<b>Figura 78.</b> Complexo de interação do receptor DPP4 com os ligantes alogliptina, sitagliptina e ATX.....	189
<b>Figura 79.</b> Complexo de interação do receptor DPP4 com os ligantes F20 e ATX.....	191
<b>Figura 80.</b> Esquema representativo dos possíveis mecanismos de ação do ATX sob a resistência à insulina e o DM2.....	208

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Critérios laboratoriais para diagnósticos do pré-diabetes e DM2.....	27
<b>Tabela 2.</b> Sequências de primers usadas para RT-qPCR.....	76
<b>Tabela 3.</b> Composição em percentual da dieta padrão (DP) e da dieta hiperlipídica (DH).....	77
<b>Tabela 4.</b> Sequência de primers usadas para RT-qPCR.....	84
<b>Tabela 5.</b> Efeitos do ATX nos níveis de DCF-DA, MDA, GSH, SOD, CAT e nitrato/nitrito em miotúbulos resistentes à insulina induzidas por palmitato.....	96
<b>Tabela 6.</b> Efeitos do ATX nos níveis de DCF-DA, MDA, GSH, CAT e nitrato/nitrito em células 3T3L1 resistentes à insulina induzidas por TNF- $\alpha$ (TNF $\alpha$ -RI) .....	114
<b>Tabela 7.</b> Efeitos do ATX nos níveis de DCF-DA, MDA, GSH, CAT em células HepG2 resistentes à insulina induzida por palmitato.....	135
<b>Tabela 8.</b> Resumo dos resultados em células C2C12, 3T3-L1 e HepG2 em relação ao grupo resistente à insulina.....	148
<b>Tabela 9.</b> Efeitos do acetato de taraxasterol (ATX) no peso corporal e dos órgãos no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	151
<b>Tabela 10.</b> Efeitos do acetato de taraxasterol (ATX) sob parâmetros plasmáticos no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	162
<b>Tabela 11.</b> Efeitos do acetato de taraxasterol (ATX) sob parâmetros plasmáticos no diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2) em camundongos.....	166
<b>Tabela 12.</b> Principais alvos para o acetato de taraxasterol.....	186
<b>Tabela 13.</b> Valores de energia de afinidade e RMSD dos complexos formados após simulações de docking frente às enzimas DDP4 e PTP1B.....	187
<b>Tabela 14.</b> Interações entre ATX, Sitagliptin e Alogliptin com a DPP4.....	188
<b>Tabela 15.</b> Interações entre o ATX e F20 com PT1B.....	190

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>μM</b>	Micromolar
<b>μM/μg</b>	Micromolar por micrograma
<b><sup>13</sup>C RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
<b>2D NMR</b>	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear bidimensional
<b>2-NBDG</b>	(2-(N-(7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) Amino) -2-Deoxyglucose)
<b>3T3-L1</b>	Adipócitos maduros murinos
<b>Å</b>	Angstrom
<b>ACC1</b>	Acetil-CoA carboxilase 1
<b>Acetil-CoA</b>	Acetil-coenzima-A
<b>AcOH</b>	Ácido acético
<b>ADP</b>	Adenosina difosfato
<b>AG</b>	Ácidos graxos
<b>AGCC</b>	Ácido graxo de cadeia curta
<b>AGL</b>	Ácidos graxos livres
<b>AGNE</b>	Ácidos graxos não esterificados
<b>AICAR</b>	Ribonucleotídeo 5-aminoimidazole-4-carboxamida
<b>AKT</b>	Proteína quinase B
<b>ALT</b>	Alanina transaminase pirúvica
<b>AMP</b>	Monofosfato de adenosina
<b>AMPc</b>	Monofosfato cíclico de adenosina
<b>AMPK</b>	Proteína quinase ativada por AMP
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>AQ</b>	Tempo de aquisição
<b>ASCII</b>	<i>American Standard Code for Information Interchange</i>
<b>AST</b>	Transaminase oxalacética
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>ATGL</b>	Lipase de triacilglicerol de adipócitos
<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>ATX</b>	Acetato de taraxasterol
<b>BCRJ</b>	Banco de Células do Rio de Janeiro
<b>BSA</b>	Albumina bovina sérica
<b>C2C12</b>	Miotúbulos diferenciados

<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Cálcio
<b>CAT</b>	Catalase
<b>cDNA</b>	DNA complementar
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COSY</b>	Espectroscopia de correlação
<b>COW</b>	<i>Correlation Optimized Warping</i>
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>DCF-DA</b>	Diacetato de 2',7'-diclorofluorescina
<b>DH</b>	Dieta hiperlipídica
<b>DM</b>	Diabetes <i>Mellitus</i>
<b>DM1</b>	Diabetes <i>Mellitus</i> do tipo 1
<b>DM2</b>	Diabetes <i>Mellitus</i> do tipo 2
<b>DMEM</b>	<i>Dulbecco's modified Eagle's médium</i>
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>Domínio PH</b>	Domínios de Homologia Pleckstrina
<b>Domínios PTB</b>	Domínios de Ligação à Fosfotirosina
<b>DP</b>	Dieta padrão
<b>DPP4</b>	Dipeptidil peptidase 4
<b>DTNB</b>	Ácido 5,5-ditiobis (2-nitrobenzóico)
<b>E.P.M</b>	Erro padrão da média
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>eNOS</b>	Óxido nítrico sintase
<b>EROS</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>FAS</b>	Sintase de ácido graxo
<b>FBP1</b>	Frutose-1,6-biofosfatase-1
<b>FoxO1</b>	Proteína <i>forkhead box O1</i>
<b>FT-IR</b>	Infravermelho Transformado de Fourier
<b>G6P</b>	Glicose-6-fosfato
<b>G6Pase</b>	Glicose-6-fosfatase
<b>GCK</b>	Glicoquinase
<b>GIP</b>	Polipeptídeo inibidor gástrico

<b>Glicose-G6P</b>	Glicose 6 fosfatase
<b>GLP-1</b>	Peptídeo 1 semelhante ao glucagon
<b>GLUT 2</b>	Transportador de glicose 2
<b>GLUT 4</b>	Transportador de glicose 4
<b>GPAT</b>	Glicerol-3fosfato 1-O-aciltransfere
<b>GS</b>	Glicogênio sintase
<b>GSH</b>	Glutathiona reduzida
<b>GSK3</b>	Glicogênio sintase quinase 3
<b>GSK3β</b>	Glicogênio sintase quinase 3 beta
<b>GyS2</b>	Glicogênio sintase 2
<b>H2SO4</b>	Ácido sulfúrico
<b>HbA1C</b>	Hemoglobina A1C
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidade
<b>HepG2</b>	Hepatorcacinoma humano
<b>HMBC</b>	Correlação de ligações múltiplas heteronucleares
<b>HSL</b>	Lipase hormônio-sensível
<b>HSQC</b>	Coerência quântica simples heteronuclear
<b>IBMX</b>	3-isobutil-1-metilxantina
<b>ICAM-1</b>	Molécula de adesão intercelular-1
<b>IKK</b>	Complexo IκB quinase
<b>IL-1</b>	Interleucina 1
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IL-1β</b>	Interleucina 1 beta
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal
<b>IRS</b>	Substrato do Receptor de Insulina
<b>JAK-STAT</b>	Janus quinase/transdutor de sinal e ativador da transcrição
<b>JNK</b>	c-Jun N-terminal quinase
<b>K<sup>+</sup></b>	Potássio
<b>KJ</b>	Quilojoules
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>KRP</b>	Tampão de fosfato de ringer de Krebs
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LV</b>	Variáveis latentes

<b>MAG</b>	Monoacilglicerol
<b>MAPK</b>	Proteína quinase ativada por mitógeno
<b>MBI</b>	Meio basal I
<b>MBII</b>	Meio basal II
<b>MCP-1</b>	Proteína quimiotática de monócitos-1
<b>MDA</b>	Malondialdeído
<b>MET</b>	Metformina
<b>MGL</b>	Monoacilglicerol lipase
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>MPC-1</b>	Proteína quimioatraente de monócitos 1
<b>MS</b>	Espectrometria de Massa
<b>mTORC1</b>	Alvo mamífero do complexo rapamicina 1
<b>MTT</b>	Brometo de tetrazólio
<b>NaCL</b>	Cloreto de sódio
<b>NAD<sub>+</sub></b>	Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
<b>NADH</b>	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
<b>NaSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de sódio
<b>NBCS</b>	Soro de bezerro recém-nascido
<b>NBT</b>	Azul de nitrotetrazólio
<b>NF-kB</b>	Fator nuclear kappa B
<b>nM</b>	Nanomolar
<b>NO</b>	Ácido nítrico
<b>N-WASP</b>	Síndrome de Wiskot-Aldrich
<b>ORO</b>	<i>Oil Red O</i>
<b>Ox-LDL</b>	LDL oxidada
<b>PAI</b>	Polipeptídeos amiloides das ilhotas
<b>PAK1</b>	Quinase 1 ativada por p21
<b>PAL</b>	Palmitato de sódio
<b>PAL/BSA</b>	Palmitato conjugado com BSA
<b>PBS</b>	Salina tamponada com fosfato
<b>PC</b>	Piruvato carboxilase
<b>PCA</b>	Análise por componentes principais
<b>PCR</b>	Reação de cadeia da polimerase
<b>PDB</b>	<i>Protein data bank</i>
<b>PDE-3B</b>	Fosfodiesterase-3B

<b>PDK1</b>	Proteína quinase 1 dependente de 3-fosfoinosítídeos
<b>PEPCK</b>	Fosfoenolpiruvato carboxiquinase
<b>PGC1<math>\alpha</math></b>	Coativador transcricional peroxissoma proliferato ativado receptor- $\gamma$ coativador 1- $\alpha$
<b>PI3K</b>	Fosfoinosítide-3-quinase
<b>PIP<sub>3</sub></b>	Trifosfato de Inositol
<b>PKA</b>	Proteína quinase A
<b>PKB</b>	Proteína quinase B
<b>PKC</b>	Proteína quinase C
<b>PKC</b>	Proteína da quinase C
<b>PLS-DA</b>	<i>Partial Least Squares Discriminant Analysis</i>
<b>PMSF</b>	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
<b>PP1</b>	Proteína fosfatase 1
<b>PP1c</b>	Proteína fosfatase 1 catalítica
<b>PPAR<math>\alpha</math></b>	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma alfa
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama
<b>PPAR<math>\delta</math></b>	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma delta
<b>PTP1B</b>	Proteína tirosina fosfatase 1-B
<b>PVDF</b>	Membrana de fluoreto de polivinilideno
<b>R</b>	Constante do gás
<b>r<sup>2</sup>cal</b>	Coefficientes de correlação na calibração
<b>r<sup>2</sup>CV</b>	Validação cruzada
<b>RE</b>	Retículo endoplasmático
<b>RGZ</b>	Rosiglitazona
<b>RI</b>	Resistência à insulina
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RMSEC</b>	<i>Root Mean Square Error of Calibration</i>
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>RNA<sub>m</sub></b>	RNA mensageiro
<b>Rpm</b>	Rotação por minuto
<b>S6K</b>	Quinase S6
<b>SCI</b>	Soro de cavalo inativado
<b>Ser</b>	Serina
<b>SFB</b>	Soro fetal bovino
<b>SGLT2</b>	Cotransportador sódio-glicose 2

<b>SH2</b>	Domínios de homologia Src 2
<b>SIMPLS</b>	<i>Simplified PLS</i>
<b>SisGen</b>	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SOD</b>	Superóxido dismutase
<b>SREBP-1c</b>	Proteína 1c de ligação ao elemento regulador de esterol
<b>STZ</b>	Streptozotocina
<b>SUR1</b>	Receptor de sulfoniluréia
<b>SVD</b>	<i>Singular Value Decomposition</i>
<b>SYNIP</b>	Sintaxina regulada por insulina
<b>T</b>	Temperatura absoluta
<b>TA</b>	Tecido adiposo
<b>TAB</b>	Tecido adiposo branco
<b>TAG</b>	Síntese de triacilglicerol
<b>TBST</b>	Solução salina tamponada com tris
<b>TG</b>	Triglicerídeos totais
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>TOTG</b>	Teste oral de tolerância à glicose
<b>Trh</b>	Treonina
<b>TSC2</b>	Complexo de esclerose tuberosa 2
<b>TTGI</b>	Teste de tolerância à glicose intraperitoneal
<b>TTII</b>	Teste de tolerância à insulina intraperitoneal
<b>Tyr</b>	Tirosina
<b>TZD</b>	Tiazolidinedionas
<b>U/mL</b>	Unidade por mililitro
<b>UCP-1</b>	Proteína desacopladora 1
<b>VLDL</b>	Lipoproteína de muita baixa densidade
<b><math>\Delta G</math></b>	Energia de afinidade

# SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	25
1.1.	Sinalização da Insulina .....	27
1.1.1.	<b>Sinalização da insulina no tecido muscular esquelético</b> .....	30
1.1.2.	<b>Sinalização da insulina no tecido adiposo branco</b> .....	33
1.1.3.	<b>Sinalização da insulina no tecido hepático</b> .....	36
1.2.	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 (DM2) .....	38
1.2.1.	<b>Fisiopatologia do Diabetes <i>mellitus</i> do tipo 2 (DM2)</b> .....	39
1.2.2.	<b>Resistência à insulina no músculo esquelético</b> .....	40
1.2.3.	<b>Resistência à insulina no tecido adiposo branco</b> .....	42
1.2.4.	<b>Resistência à insulina no tecido hepático</b> .....	44
1.3.	Tratamento do DM2 .....	46
1.4.	Produtos naturais e DM2: Triterpenos .....	50
1.5.	<i>Eupatorium ballotaefolium</i> e acetato de taraxasterol (ATX) .....	53
2.	JUSTIFICATIVA .....	57
3.	OBJETIVOS .....	58
3.1.	OBJETIVO GERAL .....	58
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	58
4.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	60
4.1.	Drogas e Reagentes .....	60
4.2.	Material vegetal .....	63
4.3.	Estudo <i>in vitro</i> .....	64
4.3.1.	<b>Linhagens celulares</b> .....	64
4.3.2.	<b>Diferenciação de células C2C12</b> .....	64
4.3.3.	<b>Diferenciação de células 3T3-L1</b> .....	65
4.3.4.	<b>Ensaio de viabilidade celular em C2C12, 3T3-L1 e HepG2</b> .....	66
4.3.5.	<b>Captação de glicose em células C2C12</b> .....	66
4.3.6.	<b>Captação de glicose em células 3T3-L1</b> .....	67
4.3.7.	<b>Captação de glicose em células HepG2</b> .....	68
4.3.8.	<b>Indução da resistência à insulina em células C2C12 por palmitato</b> .....	68
4.3.9.	<b>Indução da resistência à insulina em células 3T3-L1 por TNF-<math>\alpha</math></b> .....	69
4.3.10.	<b>Indução da resistência à insulina em células HepG2 por palmitato</b> .....	69
4.3.11.	<b>Avaliação dos níveis de espécies reativas de oxigênio intracelular</b> .....	70
4.3.12.	<b>Determinação da atividade antioxidante</b> .....	70

4.3.13.	Coloração com <i>Oil Red O</i> .....	72
4.3.14.	Quantificação de triglicerídeos intracelulares .....	72
4.3.15.	Quantificação de glicogênio em células C2C12 e HepG2.....	72
4.3.16.	Determinação da lipólise em células 3T3-L1 .....	73
4.3.17.	Determinação de leptina e adiponectina em células 3T3-L1 .....	73
4.3.18.	Avaliação proteica da sinalização insulínica e inflamação .....	73
4.3.19.	Expressão do RNAm de PPAR $\gamma$ , HSL, ATGL e Perilipina nas células 3T3-L1 .....	75
4.4.	Estudo <i>in vivo</i> .....	76
4.4.1.	Animais.....	76
4.4.2.	Composição da dieta hiperlipídica (DH).....	77
4.4.3.	Indução do diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 (DM2) em camundongos .....	77
4.4.4.	Teste comportamental do campo aberto .....	80
4.4.5.	Teste Rotarod.....	80
4.4.6.	Teste de Tolerância à Glicose Intraperitoneal (TTGI) e Teste de Tolerância à Insulina Intraperitoneal (TTII) .....	80
4.4.7.	Análises séricas .....	81
4.4.8.	Avaliação do perfil lipídico do fígado.....	81
4.4.9.	Determinação da atividade antioxidante .....	81
4.4.10.	Determinação de glicogênio hepático e muscular .....	82
4.4.11.	Análises histológicas .....	82
4.4.12.	Avaliação proteica da sinalização insulínica.....	82
4.4.13.	Expressão do RNAm de GCK, Gys2, GSK3 $\beta$ , PGC1 $\alpha$ , PEPCCK e G6Pase no tecido hepático .....	83
4.5.	RMN e Metabolômica do soro .....	84
4.5.1.	Obtenção dos espectros de RMN .....	85
4.5.2.	Análises quimiométricas .....	85
4.6.	Docking molecular .....	87
4.6.1.	Avaliação <i>in silico</i> do perfil farmacodinâmico.....	87
4.6.2.	Procedimentos computacionais.....	87
4.7.	Análises estatística .....	89
5.	RESULTADOS .....	91
5.1.	Miotúbulos C2C12 .....	91
5.1.1.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de miotúbulos C2C12.....	91
5.1.2.	Efeito do ATX sobre a captação de glicose em miotúbulos C2C12 .....	93

5.1.3.	Efeito do ATX sobre a captação de glicose em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina .....	94
5.1.4.	Efeito do ATX sobre a capacidade antioxidante em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	95
5.1.5.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de lipídeos em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina .....	95
5.1.6.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de triglicerídeos em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	98
5.1.7.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de glicogênio em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	99
5.1.8.	Efeito do ATX sobre sobre a sinalização da insulina em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina.....	100
5.1.9.	Efeito do ATX sobre sobre a expressão de NF- $\kappa$ B e SAPK/JNK em miotúbulos C2C12 resistentes à insulina .....	106
5.2.	Adipócitos 3T3-L1 .....	109
5.2.1.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a viabilidade de adipócitos 3T3-L1 diferenciadas .....	109
5.2.2.	Efeito do ATX sobre a captação de glicose em adipócitos 3T3-L1.....	111
5.2.3.	Efeito do ATX sobre a captação de glicose em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina .....	112
5.2.4.	Efeito do ATX sobre a capacidade antioxidante em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina.....	113
5.2.5.	Efeito do ATX sobre os níveis de leptina e adiponectina em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina .....	113
5.2.6.	Efeito do ATX sobre sobre a sinalização da insulina em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina.....	116
5.2.7.	Efeito do ATX sobre sobre a expressão de NF- $\kappa$ B e SAPK/JNK em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina .....	122
5.2.8.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de lipídeos em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina .....	125
5.2.9.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de triglicerídeos em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina.....	127
5.2.10.	Efeito do ATX sobre a lipólise em adipócitos 3T3-L1 resistentes à insulina.....	128
5.3.	Hepatócitos HepG2.....	130
5.3.1.	Efeito do ATX sobre a viabilidade dos hepatócitos HepG2.....	130
5.3.2.	feito do ATX sobre a captação de glicose em hepatócitos HepG2.....	132
5.3.3.	Efeito do ATX sobre a captação de glicose em hepatócitos HepG2 resistentes à insulina .....	133
5.3.4.	Efeito do ATX sobre a capacidade antioxidante em hepatócitos HepG2 resistentes à insulina.....	134

5.3.5.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de lipídeos em células HepG2 resistentes à insulina.....	134
5.3.6.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de triglicerídeos em hepatócitos HepG2 resistentes à insulina.....	137
5.3.7.	Efeito do ATX sobre o acúmulo de glicogênio em hepatócitos HepG2 resistentes à insulina.....	138
5.3.8.	Efeito do ATX sobre sobre a sinalização da insulina em hepatócitos HepG2 resistentes à insulina.....	139
5.3.9.	Efeito do ATX sobre sobre a expressão de NF-κB e SAPK/JNK em hepatócitos HepG2 resistentes à insulina.....	145
5.4.	Estudo <i>in vivo</i> .....	149
5.4.1.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre o peso corporal e dos órgãos de camundongos.....	149
5.4.2.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sob o consumo de água e ração em camundongos com DM2.....	152
5.4.3.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a tolerância à glicose e à insulina em camundongos com DM2.....	154
5.4.3.	Efeitos da administração crônica do acetato de taraxasterol (ATX) na atividade locomotora e exploratória nos testes de Campo Aberto e Rotarod. ....	158
5.4.4.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) nos parâmetros bioquímicos plasmáticos em camundongos com DM2.....	161
5.4.5.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) nos parâmetros bioquímicos hepáticos em camundongos com DM2.....	163
5.4.6.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre marcadores do estresse oxidativo no fígado de camundongos com DM2.....	165
5.4.7.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre os níveis de glicogênio hepático e muscular em camundongos com DM2.....	167
5.4.8.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre alterações histológicas no fígado, pâncreas e rins em camundongos com DM2.....	168
5.4.9.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a sinalização da insulina no fígado.....	172
5.4.10.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a síntese de glicogênio hepático em camundongos com DM2.....	176
5.4.11.	Efeito do acetato de taraxasterol (ATX) sobre a gliconeogênese em camundongos com DM2.....	178
5.5.	RMN e Metabolômica de soro de camundongos tratados com acetato de taraxasterol (ATX) em modelo de DM2.....	180
5.6.	Estudo <i>in silico</i> .....	186
5.6.1.	Predição das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas.....	186
5.6.2.	Docking DDP4.....	186
5.6.3.	Docking PT1B.....	189

6. DISCUSSÃO.....	192
CONCLUSÃO .....	210
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	211