



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

BRENO NUNES AGUILLAR

**INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe*
oleracea MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA ESTATINA
(SINVASTATINA) METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS**

Macapá
2024

BRENO NUNES AGUILLAR

INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lílian Grace da Silva Solon

Co-orientador: Prof. Dr. Gabriel Araújo da Silva

Macapá

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Cristina Fernandes – CRB-2 / 1569

A283i Aguillar, Breno Nunes.

INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS

Breno Nunes Aguillar. - Macapá, 2024.

1 recurso eletrônico. 105 folhas.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá. Coordenação do Curso do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Macapá, 2024.

Orientadora: Lílian Grace da Silva Solon.

Coorientador: Gabriel Araújo da Silva.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Hipercolesterolemia . 2. Metabolismo. 3. Açaí. I. Solon, Lílian Grace da Silva, orientadora. II. Silva, Gabriel Araújo da, coorientador. III. Universidade Federal do Amapá. IV. Título.

CDD 23. ed. – 615.10284

AGUILLAR, Breno Nunes. INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS . Orientadora: Lílian Grace da Silva Solon. Coorientador: Gabriel Araújo da Silva.2024. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Amapá. Macapá, 2024.

BRENO NUNES AGUILLAR

INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data de Aprovação: _____/_____/_____

Prof^a. Dr^a. Lílian Grace da Silva Solon (UNIFAP)

Prof. Dr. José Trinidad Perez Urizar (UALSP – México)

Prof. Dr. Franciscisco Fábio Oliveira de Sousa (PPGCF/UNIFAP)

A minha família, meus pais Julio e Izoneth, que sempre prezaram pelo o estudo dos filhos, meus irmãos Lucca e Iago pela convivência entre irmãos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a minha família que sempre me apoiou em todas as minhas decisões e nunca me deixaram desanimar.

À minha orientadora Prof. Dr^a Lílian Grace da Silva Solon por toda orientação desde a iniciação científica em 2017 até o mestrado, por todos os experimentos de bancada realizados juntos e por ser extremamente compreensiva com seus alunos.

Ao meu coorientador, Prof Dr. Gabriel da Silva Araújo, pelo profissionalismo, paciência e competência técnica para me auxiliar nas análises que foram fundamentais para o desfecho dessa dissertação.

Aos amigos, Natália Gabriely e Rodrigo Costa, que me ajudaram nas coletas e processamento das amostras mesmo em finais de semana.

A minha namorada, Fernanda Monteiro, que está comigo desde a graduação, me viu sendo aprovado no mestrado, me ajudou com as coletas, preparação e análises em outro estado ficado até de madrugada comigo no laboratório.

Aos meus amigos voluntários, que sem eles o trabalho não poderia ser realizado, por toparem participar da pesquisa mesmo sendo longa e difícil.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Universidade do Estado do Amapá (UEAP), Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) e Fundação de Amparo a Pesquisa do Amapá (FAPEAP).

Á todos aqueles que contribuíram e torceram direta ou indiretamente por essa conquista.

A hipercolesterolemia pode causar graves danos cardiovasculares. É uma doença que atinge pelo menos 10 milhões indivíduos no mundo. No Brasil, esse número pode variar entre 250 mil e 300 mil, sendo a maioria dos casos relacionada ao polimorfismo genético no contexto de fatores dietéticos e outros fatores ligados ao estilo de vida. Para o seu tratamento é utilizado medicamentos da classe de estatinas; dentre os quais a sinvastatina, atorvastatina e rosuvastatina que agem inibindo a biossíntese do colesterol. No processo de tratamento desses pacientes pode haver reações adversas por interações com medicamentos e alimentos, sendo que são raros os estudos envolvendo derivados de frutos da região amazônica, como por exemplo, a polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). Para garantir a segurança e efetividade dos tratamentos, novos estudos são necessários. O objetivo do presente trabalho foi investigar o efeito do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) na farmacocinética da sinvastatina metabolizada pelo CYP3A4, a partir estudos *in silico* e clínicos. Doze voluntários receberam sinvastatina no dia 1, na dose de 20 mg por via oral após jejum noturno de 10 horas. Nos dias 2 a 5, os participantes ingeriram 300 mL de polpa de *Euterpe oleracea*, duas vezes ao dia. No dia 6, uma dose de sinvastatina (20 mg) foi coadministrada com a polpa de açaí. As amostras biológicas foram preparadas pela precipitação de proteínas e detectadas por UHPLC-MS que proporcionou uma boa separação de sinvastatina, β , δ -hidroxiácido e o padrão interno atorvastatina em 10 min. Os dados farmacocinéticos indicam que a área sob as curvas concentração plasmática-tempo (AUC) da sinvastatina diminuiu 12,5%. Estudos *in silico* mostraram que os dois principais compostos encontrados no açaí (cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-rutinosídeo) apresentaram atividade indutiva para CYP3A4, o que corrobora os dados obtidos na quantificação plasmática. Provavelmente inibindo o metabolismo da sinvastatina em humanos. Com base na interação alimento-medicação, as pessoas que tomam diariamente polpa de açaí deve ser alertadas sobre esta possibilidade de interação, sendo em alguns casos necessário o ajuste de dose para alcançar os benefícios terapêuticos do tratamento.

Palavras-Chave: interação alimento-medicação, hipercolesterolemia, β , δ -hidroxiácido, sinvastatina, açaí, *Euterpe oleracea* Mart, metabolismo.

Agradecimentos: UNIFAP, UEAP, LCqB, UFERSA e FAPEAP (PPSUS)

ABSTRACT

Hypercholesterolemia can lead to serious cardiovascular damage and is a condition affecting at least 10 million individuals worldwide. In Brazil, this number can range from 250,000 to 300,000, with most cases being associated with genetic polymorphisms in the context of dietary factors and other lifestyle-related factors. For its treatment, medications from the statin class are used, primarily simvastatin, atorvastatin, and rosuvastatin, which act by inhibiting cholesterol biosynthesis. In the treatment process of these patients adverse reactions may occur due to interactions with medications and foods. Studies involving derivatives of fruits from the Amazon region, such as açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.), are rare. To ensure the safety and effectiveness of treatments, further research is needed. The aim of the present study was to investigate the effect of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) on the pharmacokinetics of simvastatin metabolized by CYP3A4 in clinical and in silico studies. 12 volunteers received simvastatin on day 1, with a dose of 20 mg orally after a 10-hour overnight fasting. On days 2 to 5, participants ingested 300 mL of *Euterpe oleracea* pulp, twice a day. On day 6, a dose of simvastatin (20 mg) was co-administered with the açai pulp. The biological samples were prepared by the protein precipitation and detected by UHPLC-MS which provided a good separation of simvastatin, β,δ -hydroxy acid and the internal standard atorvastatin within 10 min. The pharmacokinetic data indicate that the area under the plasma concentration–time curves (AUC) of simvastatin was decreased by 12,5%. In silico studies showed that the two main compounds found in açai (Cyanidin 3-glucoside, Cyanidin 3- rutinoside) showed inductive activity for CYP3A4, which corroborates the data obtained in the quantification of blood plasma. In conclusion, *Euterpe oleracea* was found to probably inhibit the metabolism of simvastatin in humans. Based on the food–drug interaction, persons taking daily açai pulp should be warned of this interaction possibility.

Keywords: food-drug interaction, hypercholesterolemia; UHPLC/MS, β,δ -hydroxy acid, simvastatin, açai, *Euterpe oleracea* Mart, pharmacokinetics.

Acknowledgements: UNIFAP, UEAP, LCqB and UFERSA

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

Imagem 1 – Representação da estrutura química da sinvastatina 40

CAPÍTULO 2 – INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea* MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS

Figura 1 – Rota metabólica da sinvastatina por CYP3A4 e CYP3A5 20

Figura 2 – Curva de concentração da sinvastatina antes e depois da ingestão de açaí 42

Figura 3 – Curva de concentração do β,δ -hidroxiácido antes e depois da ingestão do açaí 42

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe Oleracea* MART.) NA FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS

Tabela 1 – Componentes químicos identificados e descritos na literatura nas espécies <i>Euterpe oleracea</i> (Açaí)	35
Tabela 2 – Dados de protocolos usados para simulações de acoplamento molecular	37
Tabela 3 – Avaliação físico-química da polpa de açaí.....	38
Tabela 4 - Parâmetros farmacocinéticos da sinvastatina e do β,δ -hidroxiácido antes e após a ingestão do açaí.....	41
Tabela 5 - Resultados de afinidade de ligação e principais interações no receptor 3A4 do citocromo P450. BA-Afinidade de ligação (kcal/mol)	44
Tabela 6 - Valores de previsão da atividade biológica de potenciais ligantes selecionados. Pai _a -potencial para ser ativo; bPi-potencial para ficar inativo.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LDL	Lipoproteína de baixa densidade
CYP	Citocromo P
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
LDL-C	lipoproteína de baixa densidade circulante
t_{max}	Tempo para atingir a concentração máxima
C_{max}	Concentração máxima
t_{1/2}	Tempo de meia vida
mm	Milímetro
Mg	Miligrama
AUC	Área sob a curva
pH	Potencial hidrogeniônico
nm	Nanômetro
UV	Ultravioleta
CEP	Comitê de Ética em pesquisa
UNIFAP	Universidade federal do amapá
Kg	Quilograma
M²	Metro quadrado
mL	Mililitro
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
G	Gravidade
°C	Graus celcius
µm	Micrômetro
v/v	Volume/volume
µL	Microlitro
m/z	Relação massa carga
ng	Nanograma
PTFE	Politetrafluoretileno
Rpm	Rotações por minuto

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RDC	Resolução de diretoria colegiada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DPR	Desvio padrão relativo
AUC 0-t	área sob a curva concentração plasmática-tempo desde o momento zero até o momento do último quantificável concentração
Vd	Volume de distribuição
MRT 0-inf	tempo médio de residência de 0 ao infinito
CI	Depuração
GMR	razão média geométrica de mínimos quadrados
IC	Intervalo de confiança
MM+	Mecânica molecular
CHARMM	Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics
ΔG	Energia livre
Å	Angstrom
CE	Ceará
PA	Pará
μM	Micromolar
λ	Lambda
Ke	Constante de eliminação
MRT	Tempo médio de residencia
RMSD	Root Mean Square Deviation
C	Taxifolina desoxihexose
D	Escoparina
E	Eriodictiol
F	Crisoeriol
G	Taxifolina
Ser	Serina
Arg	Arginina
Ala	Alanina

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Thr	Tirosina
Pa a	potencial para estar ativo
bPi	potencial para ficar inativo
H	Hora
L	Litro
ALT	Alanina aminotransferase
CK	Creaquitina quinase
U	Unidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	Hipercolesterolemia	18
3.2	Estatinas	19
3.3	Farmacocinética da sinvastatina	21
3.4	Interação medicamentosa	22
3.4.1	Interação fármaco-alimento	23
3.5	Açaí e inibição enzimática	27
3.6	Screening virtual baseado em similaridade e docking molecular	26
4	CAPÍTULO 2 – INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (Euterpe oleracea Mart.) NA FARMACOCÍNÉTICA DA SINVASTATINA METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS	27
1	Introdução	29
2	Materiais e métodos	29
2.1	Materiais	29
2.2	Composição físico-química e quantificação de antocianinas totais na polpa de açaí	30
2.3	Estudos clínicos	30
2.4	Design experimental	31
2.5	Coleta de amostra de sangue	31
2.6	Condições cromatográficas, preparação e validação de amostras	31
2.7	Estatística	33
2.8	Estudos in silico.....	33
2.8.1	Ancoragem molecular	35

SUMÁRIO

2.8.2	Seleção da estrutura cristalina do alvo	35
2.8.3	Estudo de docking molecular	36
3	Resultados	37
3.1	Avaliação físico química da polpa de açaí	37
3.2	Efeitos da ingestão de açaí na farmacocinética da sinvastatina.....	38
4	Discussão	44
5	Referências	49
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	55
	LISTA DE ANEXOS	60

1 INTRODUÇÃO

A hipercolesterolemia é uma condição de risco para o desenvolvimento da aterosclerose e complicações cardiovasculares de modo precoce. Estima-se que no Brasil haja uma prevalência elevada de doenças relacionadas ao descontrole lipídico. Dentre as classes de fármacos utilizados para diminuir os níveis de colesterol no organismo estão as estatinas, que limitam a biossíntese do colesterol nos hepatócitos, aumentando a absorção de Lipoproteína de baixa densidade (LDL) e consequentemente diminuindo os níveis de colesterol no organismo.

A sinvastatina e a atorvastatina estão entre as estatinas mais prescritas. São fármacos hipolipemiantes, muito presentes no cotidiano de pacientes portadores de doenças crônicas, mostrando, portanto, a necessidade de ampliar o estudo sobre a sua farmacocinética. No tratamento desses pacientes, a polifarmácia é muito praticada. Porém, tal fato pode desencadear interações medicamentosas, comprometendo a segurança e eficácia de um ou mais fármacos.

Além da interação fármaco-fármaco, os parâmetros farmacológicos também podem ser alterados por hábitos sociais como consumo de alguns alimentos e bebidas. As interações com alimentos estão comumente associadas a alterações na farmacocinética do fármaco devido a mudanças no esvaziamento e pH gástricos ou outras alterações fisiológicas resultando em alteração na absorção.

Além dos efeitos na absorção de fármacos, os alimentos também podem influenciar na sua biotransformação. No fígado e intestino existe a família de isoenzimas chamada citocromo P450 (CYP), que metabolizam a maioria dos fármacos, dentre os quais a sinvastatina, que é metabolizada em específico pela CYP3A4. Deste modo, a inibição desta enzima pode ocasionar a alteração da concentração sérica desses fármacos. Atualmente, alguns estudos apontam que derivados de frutas são capazes de inibir essas enzimas, principalmente a CYP3A4, como por exemplo, o sumo de toranja e o açaí. Portanto, é possível que o consumo do açaí cause alterações na farmacocinética das estatinas. Contudo, não existem dados na literatura de ensaios seja de pré-clínicos ou clínicos da interação do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) com medicamentos.

A compreensão das interações moleculares que ocorrem entre os alvos terapêuticos (receptor) e os fármacos (ligante) através de métodos computacionais

1 INTRODUÇÃO

baseados nas estruturas tridimensionais das moléculas envolvidas pode ser uma alternativa, relativamente menos onerosa, quando comparada com metodologias tradicionais. Visualização molecular, screening virtual, modelagem por homologia, modelagem por mecânica ou dinâmica molecular, construção de ligantes a partir da troca de fragmentos moleculares menores (bioisosterismo) ou pela reunião de características estruturais de dois compostos bioativos (hibridação molecular), e metodologias de docking são algumas ferramentas utilizadas no planejamento, descoberta, melhoria e investigação de interações medicamentosas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre a farmacocinética da sinvastatina através da metodologia de estudos *in silico* e clínico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar *in silico* a previsão de atividade biológica das antocianinas majoritárias do açaí frente a CYP3A4;
- b) Realizar ensaio clínico randomizado para avaliar a farmacocinética da sinvastatina e β,δ -hidroxiácido em consumidores de açaí;
- c) Validar metodologia analítica por UHPLC-MS/MS;
- d) Determinar os níveis plasmáticos de sinvastatina e β,δ -hidroxiácido por UHPLC-MS/MS;
- e) Avaliar o efeito do consumo de açaí nos níveis plasmáticos da sinvastatina para investigar possível interação farmacocinética.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 HIPERCOLESTEROLEMIA

A catalisação da síntese do mevalonato é responsável pela enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA), uma reação que dá origem aos esteróis como o colesterol e outros derivados. Esse produto final tem um importante papel de conservar a integridade de membranas celulares, além de ser necessário também na síntese de hormônios esteroides. Essa produção de colesterol constante é necessária para manter as funções celulares, contudo, a acumulação deve ser precavida, pois pode haver formação de placas sólidas podendo dar origem a aterosclerose, um importante fator de risco para doença arterial coronariana (JOHNSON; DEBOSEBOYD, 2018).

Entre as doenças causadas devido à anormalidade no metabolismo lipídico tem-se a hipercolesterolemia, extremamente ligada ao desenvolvimento de doença coronariana, excesso de peso e doenças hepáticas gordurosas, já nos eventos de infarto do miocárdio a lipoproteína de baixa densidade circulante, o LDL-C, é a principal associada por se apresentar em elevadas concentrações (SHI et al., 2019).

A classificação da hipercolesterolemia é dividida em primária e secundária, sendo que a primária não está ligada a saúde e estilo de vida, trata-se de uma deficiência genética em que o gene responsável pela função dos receptores de LDL sofreu mutação, impedindo a remoção deste tipo de colesterol do organismo. A secundária sim depende de fatores de escolhas sociais e estilo de vida, como dietas ricas em calorias (MACPHERSON et al., 2016). A hipercolesterolemia primária, também chamada de hipercolesterolemia familiar é a apresentação mais grave da doença devido às mutações do gene responsável pelos receptores de LDL, trata-se de um distúrbio hereditário autossômico dominante comum, podendo ser de duas formas: homozigotos, que apresentam com dois alelos de receptores de LDL mutado e heterozigoto, que só apresentam um alelo mutado (KAWASHIRI, RADDER, 2019).

Na população geral, estima-se que a frequência da hipercolesterolemia familiar heterozigótica ocorra em 1 a cada 200-300 indivíduos, já a hipercolesterolemia familiar homozigótica é estimada em 1 a cada 160.000 a 360.000, sendo que em algumas regiões como Canadá, França, Libaneses e certas localidades da África do Sul a forma heterozigótica pode vir a ter um número mais elevado, devido ao gene fundador provindo um pequeno número de indivíduos desses países que possuíam uma mutação específica e deram origem a patologia de escala mundial (KAWASHIRI; RADDER, 2019).

Nos pacientes portadores da forma heterozigótica, em sua farmacoterapia, são geralmente iniciados com a dosagem máxima de estatinas associada ou não com ezetimiba, em alguns casos são necessárias terapias adicionais para reduzir os lipídios até se atingir as metas terapêuticas dos níveis de LDL-C segundo as diretrizes preconizadas para essas patologias (DUFOUR et al., 2019).

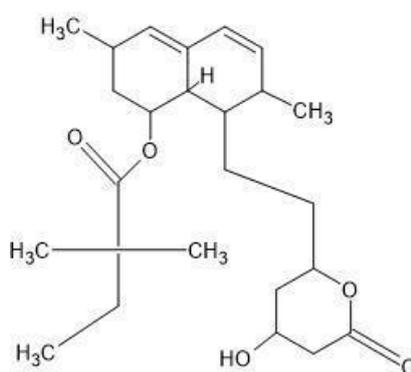
Para se confirmar um diagnóstico de hipercolesterolemia primária sempre se deve descartar qualquer possibilidade de ser uma causa secundária, essas, podem englobar doença renal crônica, síndrome nefrótica e metabólica, hipotireoidismo, diabetes mellitus tipo 2, variadas drogas e colestase; para isso usa-se exames simples antes de qualquer diagnóstico como dosagem dos níveis hormonais da tireoide, de glicose e enzimas das funções hepáticas e renais (FILIPPASNTEKOUAN et al., 2019).

3.2 ESTATINAS

Conforme Sultan e colaboradores (2019) a identificação do primeiro inibidor da HMG-CoA redutase ocorreu em 1976 por Akira Endo isolando uma droga chamada compactina de um molde de penicilium. A hipótese de que um inibidor da HMG-CoA impediria a biossíntese do colesterol endógeno surgiu com Joseph Goldstein e Michel Brown da universidade do Texas, que testaram em animais a mevinolina, outro inibidor similar à compactina, comprovando o aumento da captação do LDL e reduzindo seus níveis plasmáticos (SULTAN et al., 2019).

Hoje a Sinvastatina (figura 1) é uma estatina muito receitada no tratamento da hipercolesterolemia, dislipidemias e em quadros de doenças coronárias, trata-se de um anticolesterolêmico e antilipidêmico de rápida absorção no intestino, por volta de 1-2 horas, o qual sofre hidrólise tornando-se o ácido β,δ -hidroxiácido, sendo a sinvastatina e seu metabólito moléculas que podem se ligar a proteínas plasmáticas em uma taxa de até 95% e sua excreção se dá principalmente através das fezes (AL-HASHIMI et al., 2019).

Figura 1 - Representação da estrutura química da sinvastatina.



Fonte: autoria própria.

3.3 FARMACOCINÉTICA DA SINVASTATINA

A sinvastatina é um pró-fármaco administrado na forma de uma lactona farmacologicamente inativa, necessitando ser hidrolisada principalmente no fígado em β,δ -hidroxiácido, que é o inibidor da HMG-CoA redutase. O vasto metabolismo da sinvastatina no fígado humano é mediado por enzimas do Citocromo P450 (CYP), principalmente pela CYP3A4 e CYP3A5. As concentrações plasmáticas da sinvastatina após administração oral de doses terapêuticas são muito baixas, por volta de 5%, por causa da ação enzimática mediada, no fígado e intestino, pelo citocromo P450 (SUTERIO et al., 2021). O medicamento possui baixa solubilidade em água, em sua molécula é possível observar grupos lipofílicos ligados a uma cadeia lateral comum. Por causa dessa conformação, a molécula possui baixa penetração em células não hepáticas, contribuindo assim, para uma maior seletividade para inibir a

3 CAPÍTULO 1

HMG-CoA redutase hepática e início de ação mais rápido, alcançando picos de concentração em apenas 60 minutos (CAMPO;CARVALHO, 2007).

O fármaco possui um indício para oxidação, isso afeta diretamente a quantidade de hidrogênios presente na molécula, que é promovida pela união de um oxigênio com o fármaco. Quando o oxigênio entra em contato com a molécula e promove a retirada de um hidrogênio ocorre a formação de um radical livre, proveniente da molécula oxidada. Esse radical livre promove destruição de outra molécula do fármaco, criando uma reação em cadeia que afeta a estabilidade do fármaco (BARONI et al., 2021).

Após a absorção, a sinvastatina sofre efeito de primeira passagem no fígado. A metabolização é realizada por isoenzimas do citocromo P450 (CYPs) localizadas no fígado e no intestino. Um quantitativo por volta de 5% da estatina atinge a circulação sistêmica devido ao efeito de primeira passagem, o que ocasiona baixa biodisponibilidade do fármaco. O medicamento é administrado na forma de lactonas como pró-fármacos (DE SOUSA et al., 2017).

Após a administração na forma de lactona inativa, o fármaco é metabolizado em sua forma ativa de β,δ -hidroxiácido por uma união de conversão química espontânea e hidrólise conduzidas por enzimas carboxiesterases inespecíficas localizadas na parede intestinal, plasma e fígado (ALVES et al., 2013).

O metabolismo oxidativo do fígado é realizado principalmente através dos CYP3A4 e CYP3A5 e uma pequena parte mediada por CYP2C8 e CYP2C9. Após sua metabolização os principais metabólitos ativos da sinvastatina encontrados são: β,δ -hidroxiácido e seus derivados 6'-hidroxi, 6'-hidroximetil e 6'-exometileno. O polimorfismo no gene CYP3A5 demonstram afetar a biodisponibilidade do fármaco e possivelmente terão a capacidade de explicar como ocorre a variabilidade interindividual da farmacocinética da sinvastatina (ALVES et al., 2013; DE SOUSA et al., 2017). As estatinas e seus metabólitos são excretados pela bÍlis por meio das fezes depois de sofrerem o processo de biotransformação no fígado. A filtração do fármaco pelo sistema renal para posteriormente ser excretado pela urina é mínima. A fim de se determinar percentualmente a eliminação de sinvastatina foi administrado uma dose via oral do fármaco radioativo em humanos. 13% da radioatividade foi

excretada na urina e 60% nas fezes em 96 horas. O quantitativo de sinvastatina radioativa recuperada nas fezes representa os equivalentes do fármaco absorvido excretados na bile, assim como o fármaco não absorvido. Posteriormente, a uma injeção intravenosa do metabólito β,δ -hidroxiácido, apenas 0,3% da dose administrada foi excreta pela urina como inibidores (MANGILI, 2012).

De acordo com Askarizadeh e colaboradores (2019) as propriedades da sinvastatina são: pró-fármaco de lactona com solubilidade lipofílica (lipofilicidade $\log P = 4,7$); a fração absorvida é de 60 - 80 %; com nível de biodisponibilidade < 5 ; não apresenta efeito se administrada junto à comida; t_{\max} 1,3 – 2,4 h; C_{\max} 10 – 34 ng/mL; limite de fração 95–98 %; o metabolismo é realizado pela CYP3A4, apresenta metabólito hipolipemiantes ativos; $t_{1/2} = 2 - 3$ h; a extração hepática é de 78 – 87 % e excreção renal de 13%.

3.4 INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA

Existem inúmeras doenças no mundo, e em razão disso foram desenvolvidos os mais variados medicamentos, a maioria deles utiliza a família de isoenzimas do citocromo P450 para realizar sua metabolização, totalizando mais de 70% dos medicamentos presentes no mercado, quando administrados ao mesmo tempo podem modificar a ação dessas isoenzimas, ocasionando interações medicamentosas que podem proceder em reações adversas graves, principalmente as de estreitas janelas terapêuticas (SHOWANDE et al., 2019).

A interação farmacocinética é a interação causada quando uma droga modifica de alguma forma a absorção, distribuição, metabolismo ou excreção de outra, em que a fase mais comum afetada é a absorção ou as atividades das enzimas do citocromo P450, a não ser que a administração seja por via intravenosa, já que por essa via a concentração do medicamento é de 100% no organismo (ROGALA et al., 2019). Já a interação farmacodinâmica é resultado alterado do mecanismo de ação em nível de toxicidade e eficácia, ou seja, quando ocorre a administração de dois ou mais medicamentos que tem como alvo molecular sítios de ação semelhantes, os resultados da ligação podem ser efeitos de ação aditiva, ação antagônica sobre o

outro medicamento ou ação de forma sinérgica, ou seja, potencializando o efeito desejado (HUSSAARTS et al., 2019).

Assim, é possível que o açaí possa causar algum desses tipos de interação com a sinvastatina, comprometendo o tratamento dos pacientes que realizam coadministrações de medicamento-alimento, podendo trazer riscos na segurança e eficácia da farmacoterapia.

3.4.1 INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO

A importância do alimento está relacionada ao fornecimento de nutrientes necessários ao corpo humano. Para que haja êxito nessa tarefa é preciso que a ingestão do alimento seja feita de forma equilibrada em quantidade e qualidade a fim de manter funções específicas do corpo como a plástica, reguladora e energética, promovendo a manutenção estrutural e funcional do organismo (MOURA; REYES, 2002).

Existem diversas maneiras de ocorrer interação entre fármacos e alimentos. Na literatura, algumas interações podem causar efeitos conhecidos apenas através de ensaios clínicos, enquanto outros podem ser relevantes na prática clínica. O uso de medicamentos junto ao momento de uma refeição pode ser aliado para diminuir a irritação da mucosa gástrica, ajudar no horário da administração do medicamento ou mesmo manter o medicamento dentro da faixa terapêutica. Porém, essa junção pode causar prejuízos na farmacoterapia do paciente uma vez que pode haver interferências na resposta farmacológica (LOMBARDO; ESERIAN, 2014).

As interações fármaco-alimento possuem como principal fator de relevância o aumento na morbidade e o tempo de hospitalizações. Eventos de interação entre fármaco-alimento podem ser considerados facilitados uma vez que a maioria dos tratamentos farmacológicos é feito por via oral. A disponibilidade, ação ou a toxicidade podem ser alteradas devido as interações fármaco-alimento. Elas podem receber 3 classificações: físico-químicas, fisiológicas e fisiopatológicas. As físico-químicas consistem em reações de complexação entre nutrientes alimentares e o fármaco. As

fisiológicas são as modificações induzidas por medicamentos que atinge o apetite, digestão, esvaziamento gástrico, biotransformação e *clearance* renal. Por último, as fisiopatológicas são caracterizadas quando os fármacos prejudicam a absorção e/ou inibição do processo metabólico de nutrientes (MAKA; MURPHY, 2000).

Diversos fatores podem influenciar no surgimento de interações fármaco-alimento, como por exemplo a dose, quantidade de nutrientes, o horário, além de motivos individuais de cada paciente como quadro clínico, polifarmácia, constituição enzimática e microbiota intestinal. As interações precisam ser tratadas com mais seriedade para aqueles pacientes hospitalizados, principalmente quando são usados fármacos de baixo índice terapêutico ou que necessitam de ajuste de dose já que pequenas mudanças na dose podem causar grandes interferências na eficácia e segurança do tratamento (MACEDO et al., 2020).

3.5 AÇAÍ E INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

A *Euterpe oleracea* Mart. é uma palmeira conhecida popularmente como açaí, é nativa e ocorre de forma natural na Amazônia, pertence à família Arecaceae com quase 200 gêneros e 2600 espécies estimadas espalhadas principalmente nas regiões de clima tropical e subtropical (DE CASTRO et al., 2019). Seus frutos possuem forma esférica, são comestíveis, mostrando-se com tons roxos escuros quando maduros e chegam de 10-12 mm de diâmetro, geralmente sendo consumidos na forma de polpas adquiridos através da maceração do pericarpo com água (OLIVEIRA et al., 2019).

O interesse atual em investimentos e pesquisas no fruto do açaí é justificado por suas propriedades benéficas a saúde por conterem ativos com ação antioxidante e compostos fenólicos como as antocianinas, podendo auxiliar na prevenção do desenvolvimento de doenças cardiovasculares e degenerativas, outra importante atribuição ao fruto é devido à riqueza de possuir ácidos graxos com o oleico e linoleico e outros saturados, comparando-o assim ao azeite (SILVA et al., 2019). Com isso, devido aos prováveis benefícios clínicos do açaí argumentados, possivelmente está associado ao aumento do consumo do açaí e seus derivados como suplementos

alimentares (ZHANG et al., 2019).

A CYP3A4 trata-se de uma isoforma da família de enzimas chamada citocromo P450 (CYP), tem um papel fundamental como enzima metabolizadora da Fase I, portanto é envolvida na biotransformação de cerca de 60% das drogas usadas para os tratamentos clínicos no mundo (ZHANG et al., 2019).

Já há relatado na comunidade científica que o açaí é um alimento nutracêutico com potencial para causar reações adversas por interagirem com o citocromo P450, em especial a CYP3A4, existindo uma preocupação em especial por esse fruto conter distintos elementos como manganês e o aminoácido D-aspartato podendo causar, por exemplo, icterícia colestática (FAHIM et al., 2019).

Outro estudo, esse realizado de modo *in vitro* por Costa (2016) mostrou a inativação de 91,3% da enzima CYP3A4 causados pelo suco de açaí, superando o resultado obtido no teste com o padrão que é o cetoconazol, que inibiu 84,1% da atividade enzimática.

No banco de dados do Sistema de Notificação de Eventos Adversos dos Estados Unidos da América 2004-2015 foi realizado um levantamento de potenciais sinais e risco de sete suplementos dietéticos botânicos quanto ao seu uso ao mesmo tempo com drogas anticâncer, são eles, o açaí, cranberry, fibra, alho, gengibre, chá verde e maca peruana, em que se ressaltou o açaí como o único a apresentar um sinal potencial que justificava o crescimento dos relatos de eventos adversos graves associados ao uso de drogas anticâncer (ZHANG et al., 2019).

Ainda Zhang e colaboradores (2019) observaram em seu estudo com extrato de açaí que o mesmo possui compostos passivamente dispersos com grande potencial de causar interações entre medicamentos botânicos, como resultado, foi visto que o extrato obtido através de metanol inibiu 50% da CYP3A4, entretanto o mesmo extrato mostrou-se com potencial para induzir a produção da isoenzima.

Dito isto, esses estudos foram desenvolvidos a partir de notificação de banco de dados de reações adversas e ensaios *in vitro*, assim como a maioria dos estudos atuais desenvolvidos, necessitando a realização de estudos *in vivo* (FAHIM et al., 2019).

3.6 SCREENING VIRTUAL BASEADO EM SIMILARIDADE E DOCKING MOLECULAR

Os custos sempre crescentes da descoberta de fármacos resultaram no desenvolvimento de muitas técnicas para screening virtual. Uma das técnicas mais simples e mais amplamente utilizada são as buscas por similaridade em que uma conhecida estrutura bioativa de referência é procurada em uma base de dados para identificar as moléculas mais similares, uma vez que essas são as mais prováveis de exibir bioatividade de interesse (HOLLIDAY, J. D. et al., 2011).

O screening virtual usando tanto técnicas baseadas na estrutura como em ligante é hoje uma parte integrante do processo de descoberta de fármacos. Quando possível, tanto os métodos baseados na estrutura quanto no ligante podem ser usados juntos. Um método comum é o docking molecular, isto é, o ajuste de moléculas ligantes dentro do sítio ativo de uma proteína para prever a afinidade de ligação. Outras estratégias envolvem o screening em bases de dados de compostos por correspondências em sítios farmacofóricos que, por sua vez, são considerados importantes para a atividade biológica e para o screening por similaridade baseados no princípio que compostos com as mesmas formas moleculares têm propriedades similares (SVENSSON, F.; KARLEN, A.; SKOLD, C., 2012).

Docking molecular é uma ferramenta computacional que promove a interação entre uma enzima e um ligante, sendo o processo, realizado em duas etapas correlacionadas: (1) determinação da conformação do ligante no sítio catalítico da enzima e, (2) classificação de cada conformação por uma função de pontuação (MENG, X.-Y. et al., 2012).

A execução do docking pode variar de acordo com a metodologia empregada, onde pode-se trabalhar com ligante e receptor rígidos (AGARWAL; MEHROTRA, 2016), porém, torna-se o processo limitado pelas poucas possibilidades de conformações produzidas, utilizado para a docagem entre duas macromoléculas.

Outra forma de abordagem utilizada é o tratamento do ligante flexível e o receptor rígido, tornando o processo mais dispendioso, pois o número de conformações possíveis do ligante, determinado pelo seu grau de liberdade,

demandam um custo operacional, porém, torna-se um método mais eficiente, aproximando de uma condição biológica, quando comparado com ao primeiro método (LIN, Xiaoqian; LI, Xiu; LIN, Xubo, 2020).

Dentre os programas de docking que têm demonstrado uma melhor acurácia e precisão na previsão dos modos de ligação entre o sítio receptor e o ligante, destacam-se o Glide e o GOLD (KONTOYIANNI; MCCLELLAN; SOKOL, 2004; CORBEIL; MOITESSIER, 2009; LI et al., 2010).

**INTERAÇÃO FÁRMACO-ALIMENTO: EFEITOS DO AÇAÍ (*Euterpe oleracea*
Mart.) NA FARMACOCINÉTICA DA ESTATINA (SINVASTATINA)
METABOLIZADA POR CYP3A4 EM HUMANOS**

Artigo submetido para publicação a Scientific Reports*:

*A formatação deste capítulo segue as normas da Scientific Reports

Interação alimento-medicação: efeitos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) na farmacocinética das estatinas (sinvastatina) metabolizadas pelo CYP3A4 em humanos

Breno Nunes Aguillar, Rodrigo Pinto da Costa, Elenilze Figueiredo Batista Ferreira, Ryan da Silva Ramos, Daniel Ricardo da Silva Alves, Patricia Aguirre Bañuelos, Valéria Veras de Paula, José Trinidad Pérez Urizar, Gabriel Araújo-Silva, Lílian Grace da Silva Solon

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do consumo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) na farmacocinética da sinvastatina através de métodos clínicos e *in silico*. Doze voluntários receberam sinvastatina no dia 1, na dose de 20 mg por via oral após jejum noturno de 10 horas. Nos dias 2 a 5, os participantes ingeriram 300 mL de polpa de açaí, duas vezes ao dia. No dia 6, uma dose de sinvastatina (20 mg) foi coadministrada com a polpa de açaí. As amostras biológicas foram preparadas pela precipitação de proteínas e detectadas por UHPLC-MS, obtendo uma boa separação de sinvastatina, β , δ -hidroxiácido e o padrão interno atorvastatina após 10 min. Os dados farmacocinéticos indicam que a área sob as curvas concentração plasmática-tempo (AUC) da sinvastatina diminuiu em média 12,5%. Estudos *in silico* mostraram que os dois principais compostos encontrados no açaí (Cianidina 3-glicosídeo, Cianidina 3-rutinosídeo) apresentaram atividade indutiva para CYP3A4, o que corrobora com os dados obtidos na quantificação plasmática. Dessa forma, a *Euterpe oleracea* provavelmente inibe o metabolismo da sinvastatina em humanos. Com base na interação alimento-medicação, as pessoas que consomem diariamente polpa de açaí devem ser alertadas sobre esta possibilidade de interação, readequando em alguns casos o protocolo de tratamento.

Palavras-chave: hipercolesterolemia; UHPLC/MS, β , δ -hidroxiácido, sinvastatina, açaí, *Euterpe oleracea* Mart, metabolismo.

1 Introdução

A hipercolesterolemia é uma condição de risco grave para o desenvolvimento de aterosclerose e complicações cardiovasculares precoces. Estima-se que no Brasil exista uma alta prevalência de doenças relacionadas a taxas lipídicas incontroláveis. Entre as classes de medicamentos utilizados para reduzir o nível de colesterol no organismo estão as estatinas, que limitam a biossíntese do colesterol nos hepatócitos, aumentando a absorção da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e consequentemente reduzindo os níveis de colesterol no organismo. A sinvastatina é uma das estatinas mais prescritas nesta classe de medicamentos. É um medicamento hipolipemiante, muito presente no cotidiano de pacientes com doenças crônicas, mostrando assim a necessidade de ampliar o estudo sobre a farmacocinética deste medicamento. Além da interação alimento-medimento, os parâmetros farmacológicos das estatinas podem ser alterados por hábitos sociais como o consumo de alguns alimentos e bebidas. As interações com alimentos estão comumente associadas a alterações na farmacocinética do medicamento devido a alterações no esvaziamento gástrico e no pH ou outras alterações fisiológicas que resultam em absorção alterada. Além dos efeitos dos alimentos na absorção dos medicamentos, eles também podem influenciar na sua biotransformação. No fígado e no intestino existe uma família de isoenzimas chamada citocromo P450 (CYP), que metaboliza a maioria dos medicamentos, incluindo a sinvastatina, especificamente através do CYP3A4. Portanto, a inibição desta enzima pode provocar alterações na concentração sérica destes medicamentos.

Estudos mostram que os derivados de frutas são capazes de inibir essas enzimas, principalmente o CYP3A4, como o suco de toranja e o açaí. Portanto, é possível que o consumo de açaí provoque alterações na farmacocinética das estatinas. Porém, não há dados na literatura de ensaios pré-clínicos, *in silico* ou clínicos sobre a interação do açaí (*Euterpe oleracea*) com essas classes de medicamentos, portanto o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre a farmacocinética da sinvastatina metabolizada por CYP3A4 em estudos clínicos e *in silico*.

2. Métodos

2.1. Materiais

O medicamento sinvastatina (SANDOZ®) utilizado foi obtido pelo Sistema Único de Saúde (SUS) na forma sólida para administração oral. A polpa de açaí foi obtida in natura de uma

empresa produtora de açaí, localizada na cidade de Macapá, Estado do Amapá, Brasil. Os padrões analíticos de sinvastatina e atorvastatina foram adquiridos da Sigma Aldrich (pureza $\geq 97\%$).

2.2. Composição físico-química e quantificação de antocianinas totais na polpa de açaí

A polpa do açaí foi analisada quanto aos seguintes parâmetros: teor de umidade, quantidade de proteínas, lipídios, fibras e umidade conforme metodologias descritas por AOAC (2006) e Zenebon e Pascuet (2005).

O teor total de antocianinas foi determinado pelo método espectrofotométrico (AOAC, 2006). Uma solução de ácido clorídrico/água/etanol (29/1/70) foi utilizada para extrair antocianinas de uma alíquota de 10 mL da polpa. O extrato foi centrifugado por 10 minutos a 10.000 g e analisado em espectrofotômetro Shimadzu UV 1800 nos comprimentos de onda de 520 nm e 700 nm.

O teor total de antocianinas foi expresso em cianidina-3-O-glicosídeo, que foi previamente identificada como a principal antocianina presente no açaí.

2.3. Estudos clínicos

O estudo atendeu às considerações éticas previstas na resolução 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) após registro na Plataforma Brasil.

Foram escolhidos 12 voluntários saudáveis do sexo masculino, com idade entre 20 e 49 anos, com índice de massa corporal de 19 a 27 kg/m². A saúde dos participantes foi determinada por meio de exames físicos, sinais vitais e exames laboratoriais (hematológicos, bioquímicos e urinálise).

Os sujeitos que seriam excluídos seriam: uso de drogas ilícitas nos 90 dias anteriores à administração da primeira dose de sinvastatina, se utilizassem medicamentos que induzam ou inibam enzimas que metabolizam drogas, se fossem sensíveis à sinvastatina, se tivessem alergia doença que requer tratamento ou se testaram positivo para hepatite ou vírus da imunodeficiência humana. Todos os participantes desta pesquisa receberam um termo de consentimento informado e consentiram em participar.

2.4. Design experimental

O estudo foi aberto, onde todos os sujeitos receberam duas intervenções na mesma ordem. 12 indivíduos receberam sinvastatina no dia 1, com uma dose de 20 mg por via oral após jejum noturno de 10 horas. Nos dias 2 a 5, os participantes ingeriram 300 mL de polpa de açaí, duas vezes ao dia. No 6º dia foi coadministrada por via oral uma dose de sinvastatina na mesma dose anterior e em seguida foi ingerida a polpa de açaí.

Todas as doses foram administradas com água e os indivíduos não foram autorizados a consumir água até 2 horas após a administração do medicamento. Todos os indivíduos ficaram alocados no Laboratório de Bioquímica da Universidade Estadual do Amapá, desde a administração da sinvastatina até a coleta da última amostra de sangue, 12 horas depois, com retorno agendado em 24 horas.

2.5. Coleta de amostra de sangue

Amostras seriadas de sangue venoso para avaliação farmacocinética foram obtidas em tubos de EDTA utilizando cateter de calibre 22 mm. Amostras de sangue foram coletadas em intervalos de 0, 0,17, 0,34, 0,50, 0,75, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 12, 24 horas após a administração de sinvastatina em cada período.

Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 1800g por 10 minutos, separando o plasma para armazenar em tubos a -80°C até a análise. As concentrações plasmáticas de sinvastatina e β,δ -hidroxiácido foram medidas por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC) acoplada a um espectrômetro de massa (MS/MS).

2.6. Condições cromatográficas, preparação e validação de amostras

O sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC-MS/MS) utilizado para a determinação dos analitos foi o sistema UHPLC-MS/MS composto por um UHPLC Nexera 2 (Shimadzu®) acoplado a um espectrômetro de massas 8040 (Shimadzu®) e um BEH Coluna C18 (1,7 μ m, 2,1 \times 75 mm) (Waters®, EUA).

A separação cromatográfica foi realizada de forma isocrática, utilizando uma mistura de metanol: água (50:50, v/v) e 1% de água acidificada como fase móvel. Antes da primeira injeção, a coluna cromatográfica foi equilibrada com a fase móvel por 3 min utilizando um volume de

4 CAPÍTULO 2

injeção de 5 μL . As condições cromatográficas foram ajustadas visando uma corrida com menos interferências e melhor resolução dos picos do analito. A sinvastatina foi detectada pela razão m/z 419,3 > 199,0, atorvastatina (padrão interno) m/z 559,09 > 440,21 e sinvastatina ácida m/z 437,3 > 440,21.

Para o preparo da amostra foi preparada uma solução estoque de sinvastatina a partir da solubilização de 10 mg de sinvastatina em 10 mL de metanol, em seguida foram adicionados 2 mL desta solução a 8 mL de metanol:água (50:50 v/v) obtendo-se uma solução final de 20 $\mu\text{g/mL}$.

Para preparar soluções de trabalho na faixa de concentração de 0,1 ng/mL a 60 ng/mL, a solução estoque foi diluída em metanol:água (50:50 v/v). Todas as soluções foram previamente filtradas através de uma membrana hidrofílica de PTFE de 0,22 μm antes da injeção no sistema cromatográfico. As soluções foram utilizadas na preparação de padrões de calibração de plasma. O plasma humano padrão sem adição foi analisado antes da adição para garantir a ausência de interferentes endógenos nos tempos de retenção da sinvastatina. A precipitação das proteínas plasmáticas foi realizada em microtubo tipo eppendorf, adicionando 50 μL de padrão interno de atorvastatina, 500 μL de plasma e 500 μL de acetonitrila. A mistura foi agitada em vórtice por 1 minuto e centrifugada por 10 minutos a 15.000 rpm sob refrigeração. O sobrenadante foi adicionado a outro frasco, filtrado e injetado em UHPLC-MS/MS.

A validação do método analítico foi realizada conforme Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Brasil: exatidão verificada a partir de pelo menos 9 determinações, contemplando a faixa linear do método analítico, em baixas, médias e altas concentrações, com 3 repetições em cada nível; Repetibilidade e precisão intermediária demonstradas pela dispersão dos resultados, calculando o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições. Soluções de calibração padrão para amostras de plasma em branco foram preparadas adicionando 30 μL de soluções estoque apropriadas de medicamentos selecionados a 270 μL de plasma livre de medicamentos fornecidos por voluntários saudáveis.

A linearidade da solução e a linearidade plasmática da sinvastatina foram medidas em oito concentrações entre 1 – 60 ng/mL, com pontos de controle de qualidade baixo (1,5 ng/mL),

médio (20 ng/mL) e alto (40 ng/mL). O β,δ -hidroxiácido foi medido em equivalente de sinvastatina.

Para recuperação, a seletividade foi realizada por métodos cromatográficos comprovando a pureza cromatográfica do sinal do analito; O limite de detecção foi demonstrado obtendo-se a menor quantidade de analito presente na amostra que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada, nas condições experimentais estabelecidas; O limite de quantificação foi a menor quantidade do analito da amostra que poderia ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis nas condições experimentais estabelecidas; Linearidade: foram utilizadas pelo menos 5 concentrações diferentes da substância de referência para soluções preparadas em pelo menos triplicado, avaliando se havia relação linear; e intervalo foi estabelecer concentração alta, média e baixa do analito.

2.7. Estatísticas

Os parâmetros farmacocinéticos para sinvastatina e β,δ -hidroxiácido foram determinados pelo método não compartimental usando Pk Solver (Zhang et al., 2010): área sob a curva concentração plasmática-tempo desde o momento zero até o momento do último quantificável concentração (AUC 0-t); $C_{m\acute{a}x}$; tempo para atingir a C_{max} (t_{max}); meia-vida de eliminação terminal ($t_{1/2}$); volume de distribuição (Vd); tempo médio de residência de 0 ao infinito (MRT 0-inf); e depuração (Cl). AUClast e C_{max} transformados em log de sinvastatina, β,δ -hidroxiácido comparados entre intervenções usando um modelo de efeitos mistos, e resultados apresentados como razão média geométrica de mínimos quadrados (GMR) e intervalo de confiança de 90% (IC). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando R e significância estatística no nível $p < 0,05$ por meio de teste bilateral.

2.8. Estudos *in silico*

50 estruturas químicas (Tabela 1) identificadas e descritas na literatura para a espécie *Euterpe oleracea* (Açaí) foram utilizadas para estudar a avaliação *in silico* da interação receptor/ligante para obtenção de um potencial agente inibidor do Citocromo P450 3A4.

4 CAPÍTULO 2

Tabela 1 Componentes químicos identificados e descritos na literatura na espécie *Euterpe oleracea* (Açaí).

#	Moléculas	CID da Pubchem	Referência
1	Cianidina 3-glicosídeo	4481259	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Gordon et al., 2012)
2	Cianidina 3-rutinosídeo	441674	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Gordon et al., 2012)
3	Ácido 3,4-dihidroxibenzóico	72	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
4	Ácido 4-hidroxibenzóico	135	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
5	ácido vanílico	8468	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
6	Ácido cafeico	689043	(Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012)
7	ácido seringico	10742	(Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012)
8	<i>p</i> -Cumaricaácido	637542	(Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
9	Isoorientina	114776	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
10	Orientação	5281675	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
11	Ácido ferúlico	445858	(Carvalho et al., 2017)
12	Cloreto de cianidina-3-O-sambubiosídeo	6602304	(Silva Cedrim et al., 2018)
13	Peonidina 3-rutinosídeo	44256842	(Brunschwig et al., 2017; Silva Cedrim et al., 2018)
14	Pelargonidina-3-glicósido	443648	(Brunschwig et al., 2017)
15	Delfinidol 3-glicosídeo	443650	(Brunschwig et al., 2017)
16	Ácido 3-O-cafeoilquínico	1794427	(Gordon e outros, 2012)
17	Ácido 4-O-cafeoilquínico	9798666	(Gordon e outros, 2012)
18	Ácido 5-O-cafeoilquínico	5280633	(Gordon e outros, 2012)
19	Ácido 3-O-cafeoilshiquímico	10131826	(Gordon e outros, 2012)
20	Ácido 4-O-cafeoilshiquímico	49821869	(Gordon e outros, 2012)
21	Ácido 5-O-cafeoilshiquímico	5281762	(Gordon e outros, 2012)
22	Apigenina	5280443	(Gordon e outros, 2012)
23	Apigenina 8-C-glicosídeo	5280441	(Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012)
24	Apigenina 6-C-glicosídeo	162350	(Gordon e outros, 2012)
25	Luteolina	5280445	(Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012; Pacheco-Palencia et al., 2009)
26	Luteolina 8-C-glicosídeo	5281675	(Gordon e outros, 2012)
27	Luteolina 6-C-glicosídeo	114776	(Gordon e outros, 2012)

28	(+)-Catequina	9064	(Brunschiwig et al., 2017; Dias et al., 2013)
29	Luteolindi-glicosídeo	44258093	(Brunschiwig et al., 2017)
30	(-)-Epicaquina	72276	(Brunschiwig et al., 2017)
31	Taxifolina 7-glicosídeo	14282775	(Brunschiwig et al., 2017)
32	Isovitexina-7-olato	25202038	(Brunschiwig et al., 2017)
33	Taxifolinadesoxihexose	--	(Brunschiwig et al., 2017)
34	Procianidídímero B5	131752343	(Brunschiwig et al., 2017)
35	Isovitexina	162350	(Brunschiwig et al., 2017; Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
36	Escoparina	20055255	(Brunschiwig et al., 2017)
37	Procianidina B1	11250133	(Brunschiwig et al., 2017)
38	Procianidina C1	169853	(Brunschiwig et al., 2017)
39	Quercetina 3-glicosídeo	5280804	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
40	Kaempferol 3-Rutinosídeo	5318767	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
41	Rutina	5280805	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
42	(+)-Diidrocaempferol	122850	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
43	Crisoeriol	5280666	(Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
44	Eriodictiol	440735	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
45	Quercetina	5280343	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
46	Ácido gálico	370	(Dias et al., 2013)
47	Ácido clorogênico	1794427	(Dias et al., 2013)
48	Luteolina 7-O-glicosídeo	5280637	(Dias et al., 2013)
49	Crisoeriol 7-O-glicosídeo	11294177	(Dias et al., 2013)
50	Taxifolina	439533	(Dias et al., 2013)

As estruturas químicas foram desenhadas utilizando o software ChemDraw Ultra 12.0 e utilizadas no formato MDL Molfile (.mol). Em seguida, a otimização geométrica da estrutura 3D foi realizada no software ChemSketch pelo método de Mecânica Molecular (MM+) com o campo de força inicialmente baseado na parametrização CHARMM (Brooks et al., 1983.; Laxmi, 2017; Mweene & Muzaza, 2020).

2.8.1. Ancoragem molecular

Nesta etapa, as moléculas foram utilizadas em docking molecular com análise de conformações, modo de interação e afinidade de ligação com o receptor via função de classificação de energia, que indica a ordem dos melhores valores de escore de energia livre (ΔG) baseados em compostos (S. Ramos et al., 2019; RS Ramos et al., 2020, 2022).

2.8.2. Seleção do alvo da estrutura cristalina

A estrutura cristalina do Citocromo P450 3A4 complexada com terc-butil {6-oxo-6-[(piridin-3-ilmetil)amino]hexil}carbamato (PK9) foi baixada do Protein Data Bank

4 CAPÍTULO 2

(//www.rcsb.org/) (acessado em: 01/11/2022) com PDB ID 4D75 e resolução 2,25 Å (Kaur et al., 2016). PK9, Fluconazol, Cloranfenicol, Claritromicina e Ritonavir foram utilizados como controles positivos no estudo de acoplamento molecular.

2.8.3. Estudo de docking molecular com AutoDock 4.2/Vina 1.1.2 via Interface Gráfica PyRx (Versão 0.8.30)

A estrutura cristalina utilizada no docking molecular foi preparada utilizando o software Discovery Studio® (v.16, 2015) [11] para remoção de água residual e cofatores. A estrutura da proteína foi protonada usando Propka 3.0 (Olsson et al., 2011) para pH = 7, e as energias foram minimizadas usando UCSF Chimera® 1.16. No estudo de docking molecular, o receptor Cytochrome P450 3A4 e potenciais ligantes foram utilizados com simulações flexíveis em AutoDock 4.2/Vina 1.1.2 e PyRx 0.8.30 (//pyrx.sourceforge.io).

O complexo receptor-ligante foi usado para definir as coordenadas espaciais médias x, y e z do sítio de ligação para atribuir valores de dimensão e caixa de grade central para simulações de acoplamento molecular. As coordenadas utilizadas para o centro da grade podem ser vistas na Tabela 2.

Tabela 2 Dados de protocolos usados para simulações de acoplamento molecular.

Alvo	Ligando	Grade Coordenada	Grade de Dimensões
Citocromo P450 3A4	{6-oxo-6-[(piridin-3-ilmetil)amino]hexil}carbamato de terc-butil	X = -20,379 Y = -19,450 Z = -10,761	20x 18 anos 24 z

2.8.4. Previsão de atividade biológica por triagem virtual

Posteriormente, o estudo de acoplamento molecular das moléculas potenciais foi submetido usando o servidor online Way2Drug PASS para previsões de atividade biológica (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline>) (Goel et al., 2011). Utilizando o PASS, foi possível descobrir os efeitos de uma molécula baseada inteiramente na fórmula molecular utilizando descritores MNA (multilevel vizinho atoms), sugerindo que a atividade biológica está em função de sua estrutura química, na qual é possível atribuir o Potencial para estar ativo (Pa) e para estar inativo (Pi) (Ferreira et al., 2019; Kirchmair et al., 2015.).

3. Resultados**3.1. Avaliação físico-química da polpa de açaí**

Os resultados das análises físico-químicas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Avaliação físico-química da polpa de açaí

	Significar	Desvio padrão
Umidade (%)	84,12	0,25
Lipídios (%)	8,9	0,61
Proteínas (%)	3,39	0,28
Fibras (%)	9h32	0,22
Antocianinas totais (mg/100 g)	62,5	3,1

O valor de umidade obtido para a polpa de açaí utilizada neste estudo foi de 84,12%, valor semelhante ao encontrado por outros autores como Nascimento e colaboradores (2008) que encontraram teor de 89,18%. A polpa do açaí é extraída da parte comestível do fruto através do amaciamento com adição de água, portanto, a alta umidade está ligada ao modo de extração da polpa.

Em relação às antocianinas, a polpa utilizada possui teor de 62,5 mg/100g, o que é considerado um alto teor, uma vez que os frutos são ricos em antocianinas, principalmente cianidina 3-O glicosídeo.

Silva et al (2017) encontraram resultados semelhantes em relação ao teor de antocianinas em que relataram um teor de 73,54 mg/100g de polpa de açaí. Santos et al (2008) encontraram níveis de 13,93 a 54,18 mg/100g de antocianinas totais ao analisar 12 polpas comercializadas em Fortaleza/CE. Em outra pesquisa, Tonon, Brabet e Hubinger (2009) encontraram 32,81 mg/100g de antocianinas na polpa de açaí encontrada em Belém/PA.

Os valores de antocianinas totais presentes na polpa variam entre diferentes autores, uma vez que as antocianinas são substâncias instáveis que podem ser degradadas pelo calor e pela luz e por isso a embalagem adequada é importante para este produto.

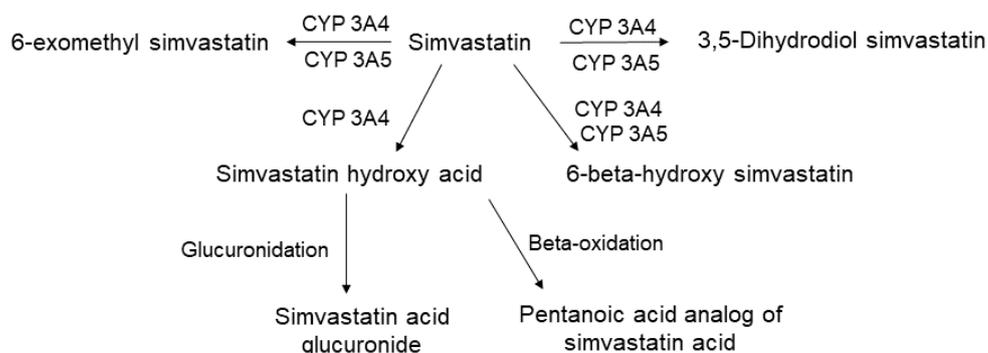
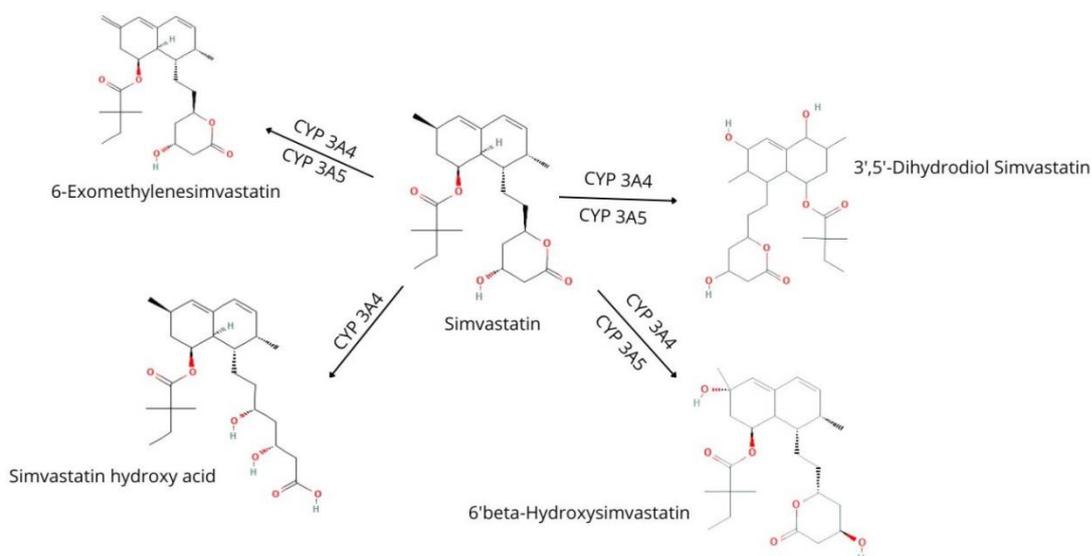
3.2. Efeito da ingestão de açaí na farmacocinética da sinvastatina

A sinvastatina é um derivado semissintético da lovastatina (TALREJA, KERNDT e CASSAGNOL, 2018), que é produzida biossinteticamente a partir do fungo *Aspergillus terreus* (KUMAR E JAIN, 2012) e possui alto valor de log P, resultando em alta absorção hepática e alta eficácia. no controle da síntese de colesterol.

A sinvastatina é administrada como um derivado inativo da lactona que é então metabolicamente ativo em sua forma β,δ -hidroxiácido por uma combinação de conversão química espontânea e hidrólise mediada por enzimas por carboxiesterases inespecíficas na parede intestinal, fígado e plasma. O metabolismo oxidativo no fígado é mediado principalmente pelo CYP3A4 e CYP3A5, (figura 1) com o restante do metabolismo ocorrendo através do CYP2C8 e CYP2C9 (TUBIC-GROZDANIS et al., 2008)

O aumento ou diminuição da AUC e Cmax da sinvastatina pode ser explicado pela inibição ou indução do CYP 3A4, que atua no metabolismo de primeira passagem na parede intestinal. Devido ao seu extenso metabolismo de primeira passagem, a sinvastatina é suscetível a interações medicamentosas e medicamentosas (NEUVONEN et al., 1998).

Imagem 1. Rota metabólica da sinvastatina pelo CYP 3A4 e CYP 3A5



Existe a preocupação de que algumas substâncias que podem afetar o metabolismo da sinvastatina também possam desencadear os efeitos adversos deste medicamento. As concentrações plasmáticas da forma ativa da sinvastatina podem ser significativamente aumentadas pelos inibidores do CYP 3A5. Outras substâncias podem acelerar ou inibir o metabolismo através de enzimas que metabolizam as estatinas, gerando os efeitos tóxicos desta classe de medicamentos (LIU et al., 2019). Algumas substâncias presentes na polpa do açaí são capazes de inibir algumas enzimas do grupo CYP. Um estudo realizado por Srovnalova e colegas (2014) demonstrou que antocianinas e antocianidinas podem inibir o CYP 3A4 como cianidina 3-O ramaminosídeo (> 75% de inibição, IC₅₀ = 44 μM) e dois glicosídeos de delfinidina inibiram significativamente o CYP 3A4 e o CYP 2C9. No presente estudo, observou-se que os indivíduos após ingerirem açaí apresentaram alterações significativas no

4 CAPÍTULO 2

perfil farmacocinético da sinvastatina e do ácido sinvastatina, tais como: aumento da concentração máxima (C_{max}), área sob a curva (AUC), volume de distribuição (V_d); significativo na depuração (Cl); constante de eliminação (K_e); e λ . No entanto, em relação ao β,δ -hidroxiácido, foi observado um aumento significativo no tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), no tempo médio de residência (MRT) e na depuração, enquanto os valores de C_{max} e AUC mostraram uma redução significativa. (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros farmacocinéticos da sinvastatina e do β,δ -hidroxiácido antes e após a ingestão do açaí

Parâmetro PK	Sinvastatina	Sinvastatina + açaí	β,δ - hidroxiácido	β,δ -hidroxiácido+ açaí
K_e (λ 1/h)	0,08±0,04	0,11±0,10	0,21±0,13	0,16±0,09
$t_{1/2}$ (h)	13,64±10,62	12,66±13,83	4,17±2,26	5,89±3,88*
$T_{máx}$ (h)	0,96±0,57	0,91±0,57	0,95±0,63	1,17±1,67
$C_{máx}$ (ng/mL)	23,23±15,01	18,23±16,18*	2,09±1,26	1,54±1,42***
AUC 0-t (ng/mL*h)	243,93±193,7 9	213,41±203,41 ***	12,96±10,24	11,29±13,20**
MRT 0-inf_obs (h)	22,68±11,92	22,42±18,14	165,21±123,80	224,49±227,48*
V_d (mg)/(ng/mL)	2,27±1,99	2,43±2,62**	21,95±27,16	102,38±231,38
Cl (mg)/(ng/ml)/h	0,11±0,08	0,13±0,09*	4,87±7,57	8,24±13,24***

As Figuras 2 e 3 mostram a curva de concentração de sinvastatina e β,δ -hidroxiácido antes e após a ingestão de açaí por 24 horas.

Figura 2. Curva de concentração de sinvastatina antes e depois da ingestão de açai

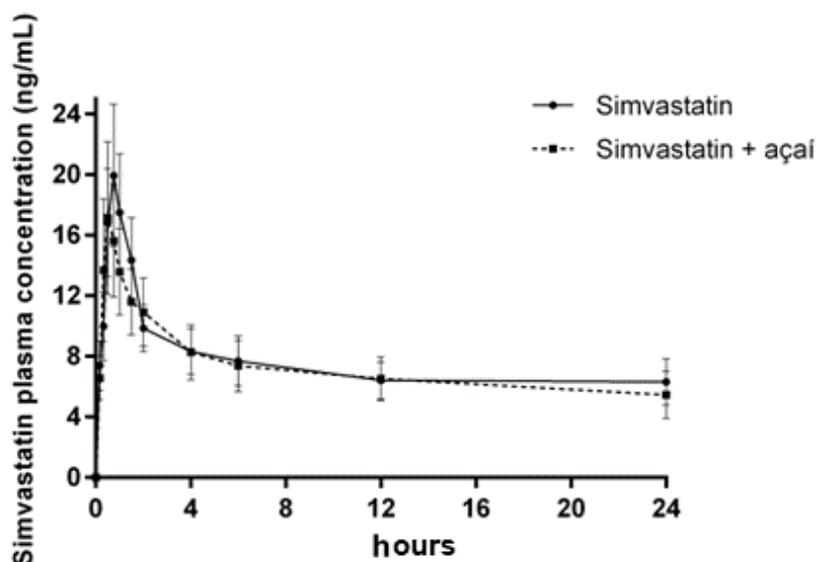
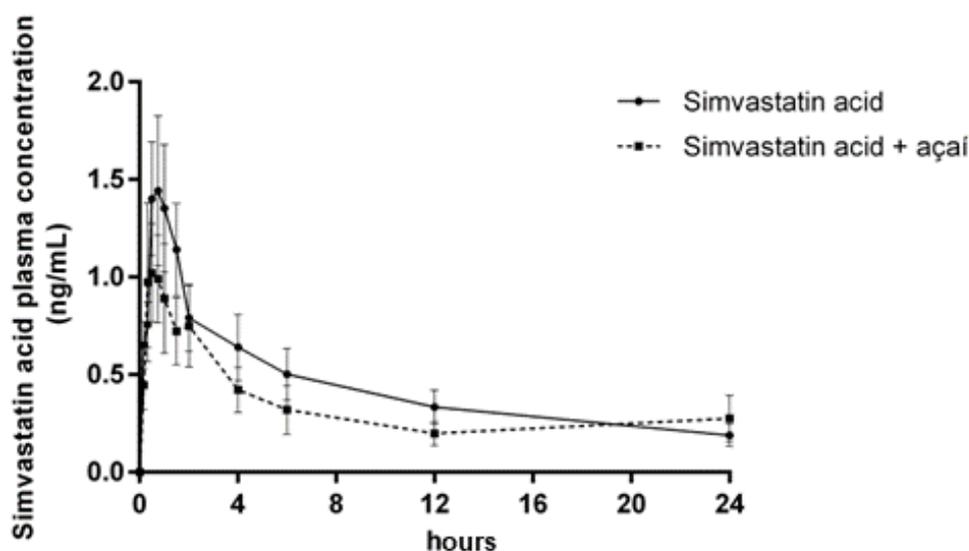


Figura 3. Curva de concentração de β,δ -hidroxiácidos antes e após a ingestão de açai



Os resultados mostraram que o perfil farmacocinético da sinvastatina e do β,δ -hidroxiácido foi: concentração máxima (C_{max}), área sob a curva (AUC), volume de distribuição (Vd); depuração (Cl); tempo de meia vida ($t_{1/2}$); tempo médio de permanência (TRM), Sinvastatina: $t_{1/2}$ (h) $13,64 \pm 10,62$; $T_{m\acute{a}x}$ (h) $0,96 \pm 0,57$; $C_{m\acute{a}x}$ (ng/mL) $23,23 \pm 15,01$; AUC_{0-t} (ng/mL*h) $243,93 \pm 193,79$; MRT_{0-inf_obs} (h) $22,68 \pm 11,92$; Vd (mg)/(ng/mL) $2,27 \pm 1,99$; Cl (mg)/(ng/ml)/h $0,11 \pm 0,08$. Sinvastatina+açai: $t_{1/2}$ (h) $12,66 \pm 13,83$; $T_{m\acute{a}x}$ (h) $0,91 \pm 0,57$; $C_{m\acute{a}x}$ (ng/mL)

4 CAPÍTULO 2

18,23 ± 16,18* AUC 0-t (ng/mL*h) 213,41±203,41***; MRT 0- inf_obs (h) 22,42±18,14 Vd(mg)/(ng/mL) 2,43±2,62** Cl (mg)/(ng/ml)/h 0,13±0,09*. Ácido sinvastatina: t1/2 (h) 4,17±2,26; Tmáx (h) 0,95±0,63; C_{máx} (ng/mL) 2,09±1,26; AUC 0-t (ng/mL*h) 12,96±10,24; MRT 0-inf_obs (h) 165,21±123,80; Vd (mg)/(ng/mL); 21,95±27,16; Cl (mg)/(ng/ml)/h 4,87±7,57. Sinvastatina+ácido açai: t1/2 (h) 5,89 ± 3,88*; T_{máx} (h) 1,17 ± 1,67; C_{máx} (ng/mL) 1,54 ± 1,42***; AUC 0-t (ng/mL*h) 11,29 ± 13,20**; MRT 0-inf_obs (h) 224,49 ± 227,48*; Vd (mg)/(ng/mL) 102,38 ± 231,38; Cl (mg)/(ng/ml)/h 8,24 ± 13,24**.

Para confirmar os dados obtidos na pesquisa clínica, as antocianidinas foram monitoradas quanto à sua atividade *in silico*. Os dois compostos principais (Cianidina 3-glicosídeo, Cianidina 3-rutinosídeo) apresentaram atividade indutiva para CYP 3A4, o que corrobora os dados obtidos na quantificação do plasma sanguíneo.

Os resultados da validação dos protocolos de docking molecular foram considerados satisfatórios uma vez que a pose+orientação+torção relativa do ligante cristalográfico e a pose+orientação+torção (docking) das simulações foram consideradas semelhantes. O valor RMSD entre os átomos do ligante cristalográfico PK9 e a pose de acoplamento foi calculado em 1,85Å. Assim, a literatura especifica que quando os valores de RMSD ≤ 2 Å, o protocolo de docking é considerado satisfatório por apresentar semelhança com o modelo experimental (RS Ramos et al., 2020, 2022). O melhor resultado da sobreposição dos modelos experimentais (cristalográficos) e teóricos (pose de ancoragem molecular).

Assim, a literatura especifica que quando os valores de RMSD ≤ 2 Å, o protocolo de docking é considerado satisfatório por apresentar semelhança com o modelo experimental (RS Ramos et al., 2020, 2022). O melhor resultado da sobreposição dos modelos experimentais (cristalográficos) e teóricos (pose de ancoragem molecular). As interações foram quantificadas em termos de afinidade de ligação em relação ao controle (PK9) e potenciais inibidores do citocromo P450 3A4.

Os inibidores com melhor pontuação em termos de afinidade de ligação foram Taxifolina desoxihexose (C), Escoparina (D), Eriodictiol (E), Crisoeriol (F) e Taxifolina (G) em que as interações foram semelhantes às observadas no controle PK9 para os resíduos de aminoácidos de Ser119, Arg212, Ala305 e Ala370 e com Thr309 menos recorrente, e essas contribuições de interação corroboram os dados da literatura para classificação de potenciais

4 CAPÍTULO 2

constituintes ativos inibidores do CYP3A4 (Kaur et al., 2016; Niwa et al., 2010), conforme mostrado na Tabela 5.

Tabela 5 Resultados de afinidade de ligação e principais interações no receptor 3A4 do citocromo P450. BA- Afinidade de ligação (kcal/mol).

Complexo (receptor-ligante)	BA*	Ligação H	Interações lipofílicas
PK9	-5,5	Arg212	Phe215, Ala305, Ala370, Met371
Fluconazol	-6,0	Fe304	Phe108, Phe304, Ala305
Cloranfenicol	-5,0	Arg212, Ala370	Phe304, Ala370
Claritromicina	16,2	Arg105	Ph3108, Ser119, Ile120, Arg212, Phe213, Phe215, Cys442
Ritonavir	-0,1	Cys442	Phe108, Ile120, Arg212, Phe215, Phe304, Ile369, Ala370
Taxifolinadesoxihexose	-6,6	Ser119, Arg212	Ala305, Ala370
Escoparina	-6,6	Ser119, Arg212	Phe108, Arg212, Ph304, Thr309, Ile369, Ala370
Eriodictiol	-5,6	--	Ile369, Ala370
Crisoeriol	-5,7	Arg212	Phe108, Ile369, Phe304, Trh309, Ala370
Taxifolina	-5,6	Ile369, Phe304, Ala370	Arg212, Ala305, Ala370

A predição da atividade biológica através do servidor web PASS resultou nos dados mostrados na Tabela 6. Fluconazol, Cloranfenicol, Claritromicina e Ritonavir apresentaram atividade inibidora e substrato do CYP3A4, exceto PK9, o que corrobora os resultados da literatura (Kaur et al., 2016).

Tabela 6 Valores de previsão de atividade biológica de ligantes potenciais selecionados. Pa a - potencial para estar ativo; bPi- potencial para ficar inativo.

Ligando	(Pa)a	(Pi)b	Previsão de atividade biológica
PK9	--	--	--
	0,842	0,005	Indutor CYP3A4
Cianidina 3-glicosídeo	0,355	0,113	Substrato CYP3A4
	0,487	0,041	Substrato CYP3A5
	0,871	0,004	Indutor CYP3A4
Cianidina 3-rutinosídeo	0,676	0,029	Substrato CYP3A4
	0,597	0,025	Substrato CYP3A5
Fluconazol	0,682	0,004	Inibidor do CYP3A4
	0,618	0,037	Substrato CYP3A4
Cloranfenicol	0,278	0,044	Inibidor do CYP3A4
	0,428	0,080	Substrato CYP3A4
Claritromicina	0,519	0,005	Inibidor do CYP3A4
	0,974	0,001	Substrato CYP3A4
Ritonavir	0,490	0,005	Inibidor do CYP3A4
Taxifolinadesoxihexose	0,888	0,003	Indutor CYP3A4
	0,594	0,042	Substrato CYP3A4
Escoparina	0,834	0,005	Indutor CYP3A4
	0,296	0,153	Substrato CYP3A4
	0,800	0,007	Indutor CYP3A4
Eriodictiol	0,563	0,050	Substrato CYP3A4
	0,178	0,153	Inibidor do CYP3A4
	0,846	0,005	Indutor CYP3A4
Crisoeriol	0,609	0,039	Substrato CYP3A4
	0,216	0,103	Inibidor do CYP3A4
Taxifolina	0,860	0,004	Indutor CYP3A4
	0,397	0,090	Substrato CYP3A4

4. Discussão

No que diz respeito à farmacocinética da sinvastatina, o pico da concentração plasmática de β,δ -hidroxiácido é atingido entre 1,3 e 2,4 horas após a ingestão de uma dose de sinvastatina. Embora o intervalo de dose terapêutica recomendado seja de 10 a 40 mg por dia, não há desvio da linearidade da área sob a curva (AUC) com um aumento de dose até 120 mg. Em relação ao estado de jejum, o perfil plasmático não é afetado quando a sinvastatina é administrada imediatamente antes da refeição (Food and Drug Administration, 2012). Em um estudo com 17 voluntários saudáveis que ingeriram comprimidos de 40 mg de sinvastatina, os principais parâmetros farmacocinéticos encontrados foram: $T_{m\acute{a}x}$ = 1,44 horas, $C_{m\acute{a}x}$ = 9,83 $\mu\text{g/L}$, $T_{1/2}$ = 4,85 horas e AUC = 40,32 $\mu\text{g.h/L}$ (Zhaou e outros, 2013). Em estudos em animais, após administração oral, a sinvastatina atingiu concentrações mais elevadas no fígado do que em tecidos não alvo. Contudo, como a sinvastatina sofre extenso metabolismo de primeira passagem, a biodisponibilidade sistêmica é baixa. Num estudo de dose única em nove indivíduos saudáveis, estimou-se que menos de 5% de uma dose oral de sinvastatina atingiu a circulação geral na forma de inibidores ativos (Monografia da Health Canada, 2012).

Segundo estudo realizado por Rindone (1999), que teve como objetivo avaliar a resposta a doses menores de sinvastatina em pacientes com hipercolesterolemia, demonstrou que mais de 80% dos pacientes que receberam doses de 2,5 a 10 mg/dia tiveram resultado satisfatório. redução e controle do perfil lipídico em comparação aos pacientes que receberam doses de 40 mg/dia.

A sinvastatina é um derivado semissintético da lovastatina (TALREJA, KERNDT e CASSAGNOL, 2018), que é produzida biossinteticamente a partir do fungo *Aspergillus terreus* (KUMAR E JAIN, 2012) e possui alto valor de log P, resultando em alta absorção hepática e alta eficácia . no controle da síntese de colesterol.

Quando associadas à atorvastatina, essas substâncias são os dois medicamentos mais vendidos no mundo para o tratamento clínico da hipercolesterolemia (NOVAKOVA et al., 2009). Semelhante a outras estatinas, a sinvastatina possui duas porções, uma unidade de ácido dihidroxiheptanóico (farmacóforo) e um sistema de anel com substituintes lipofílicos. Contém um componente de ácido hidroxiglutarico modificado, que se assemelha estruturalmente à unidade 3-hidroxiglutaril tanto do substrato (HMG CoA) quanto do intermediário do estado de transição mevalonilCoA, tornando a sinvastatina um potente inibidor competitivo da HMG-CoA redutase (LENNERNAS E FAGER, 1997; ROCHE , 2005). A sinvastatina é administrada como um derivado inativo da lactona que é então metabolicamente ativo em sua forma β -hidroxiácido por uma combinação de conversão química espontânea e hidrólise mediada por

4 CAPÍTULO 2

enzimas por carboxiesterases inespecíficas na parede intestinal, fígado e plasma. O metabolismo oxidativo no fígado é mediado principalmente pelo CYP3A4 e CYP3A5, sendo que o restante do metabolismo ocorre através do CYP2C8 e CYP2C9 (TUBIC-GROZDANIS et al., 2008). Os principais metabólitos ativos da sinvastatina são o metabólito β,δ -hidroxiácido e seus derivados 6'-hidroxi, 6'-hidroximetil e 6'-exometileno. Foi demonstrado que polimorfismos no gene CYP3A5 afetam a disposição da sinvastatina e podem fornecer uma explicação plausível para a variabilidade interindividual da disposição e farmacocinética da sinvastatina (KIM et al, 2007). Para gerar os metabólitos ativos, a sinvastatina sofre extenso metabolismo de fase I para gerar vários produtos oxidativos e algumas das formas de hidroxiácidos desses metabólitos de fase I, como 3' α , 5' β -diidrodiol sinvastatina, 3' α -hidroxi sinvastatina e 6' β -hidroxi sinvastatina também são inibidores da HMG-CoA redutase, enquanto sinvastatina di-hidrodiol, 3' α -hidroxi sinvastatina e 3' α , 5' β -di-hidrodiol sinvastatina foram relatados anteriormente como metabólitos inativos (Khera e Hu, 2013) .

Estudos anteriores documentaram que as enzimas CYP450 são as principais responsáveis pelo metabolismo das estatinas. Um estudo de Prueksaritanont et al. (1997) indicou que o CYP3A1/2 era a principal subfamília de enzimas envolvidas no metabolismo da sinvastatina. A sinvastatina é hidrolisada pela esterase no fígado para produzir um metabólito ativo, o ácido sinvastatina (Vickers et al., 1990), e tanto a sinvastatina quanto o ácido sinvastatina são posteriormente metabolizados em vários metabólitos inativos, incluindo o 6'-hidroxi e 3',5' -dihidrodiol, pelo CYP3A em humanos e ratos (Ishigami et al., 2001; Prueksaritanont et al., 1997; Prueksaritanont, Ma, & Yu, 2003). Os efeitos adversos mais associados às estatinas são miopatia e aumento assintomático das transaminases hepáticas, o que pode levar à hepatotoxicidade. Num caso amplamente divulgado, conhecido como “incidente lipobay”, houve 31 casos documentados em que pacientes que tomaram cerivastatina morreram de miopatia grave devido à dissolução do músculo estriado, o que desde então chamou a atenção para os riscos do uso de estatinas (Zeman, Zak, Vecka e Romaniv, 2003). Os sintomas musculares associados às estatinas são relatados por 10 a 29% dos pacientes na prática clínica, que são um dos principais determinantes da não adesão, descontinuação e troca de estatinas (Jacobson, Khan, Maki, Brinton, & Cohen, 2017). Embora as estatinas sejam a classe de medicamentos mais amplamente prescrita para doença arterial coronariana, um recente estudo transversal realizado entre 300 pacientes adultos

4 CAPÍTULO 2

com doença arterial coronariana que visitaram o ambulatório de um hospital terciário no norte da Índia, que estavam recebendo estatinas para seu diagnóstico, revelaram que miopatia e doenças musculares, como dores musculares, câibras e fraqueza muscular, foram os efeitos colaterais mais prevalentes (32, 34 e 47%, respectivamente), seguidos de dormência, formigamento e queimação nas extremidades (31%) (Mulchandani, Lyngdoh, Chakraborty e Kakkar, 2017). Além disso, foram observadas dores nas articulações e deficiências cognitivas em quase 20% dos pacientes (Mulchandani et al., 2017). Estudos demonstraram claramente que as estatinas podem causar hepatotoxicidade idiossincrática. Sabe-se também que as estatinas aumentam a alanina aminotransferase (ALT), com uma ligeira dependência da dose, uma vez que a ALT aumenta para doses mais elevadas de estatina (Schulze & Glass, 2012). Embora as estatinas possam ser administradas a pacientes com fígado, isso pode causar um certo grau de toxicidade hepática.

Além da miopatia, as estatinas comumente usadas também aumentam o risco de hipercalemia (Deska&Nowicki, 2017). As opções de tratamento para hipercolesterolemia em pacientes com intolerância a estatinas e distrofia miotônica são atualmente limitadas, com alguns pacientes desenvolvendo mialgias graves nas extremidades proximais inferiores e superiores logo após o tratamento com sinvastatina, juntamente com um aumento na creatina quinase (CK) sérica para 317 U/L (Shakir, Shin, Hoang & Mai, 2017). Os pacientes tratados com várias estatinas, incluindo rosuvastatina, tiveram posteriormente resultados semelhantes (Shakir et al., 2017).

Embora os únicos efeitos adversos verdadeiramente confiáveis causados pelas estatinas sejam relacionados aos músculos, diabetes tipo 2 e provavelmente infarto hemorrágico (Collins et al., 2016; Newman et al., 2019), é necessário considerar todas as manifestações clínicas da toxicidade e intolerância induzida por estatinas, o que pode impactar diretamente na adesão terapêutica.

Acredita-se que a toxicidade das estatinas surge devido aos efeitos da inibição da HMG-Coa redutase, aos efeitos celulares e a uma combinação de ambos (Muntean et al., 2017). Outras causas possíveis incluem fatores genéticos, interações medicamentosas, deficiência de vitamina D e outros efeitos imunológicos ou metabólicos (Banach et al., 2015). Embora os mecanismos sejam variados e provavelmente decorrentes de múltiplas vias, a idade é considerada o principal fator de risco devido à provável presença de múltiplas comorbidades (disfunção renal ou hepática), uso concomitante de medicamentos que interferem no metabolismo, diminuição da

da massa corporal e outras. estressores (Mancini et al., 2016). Um produto natural conhecido por também inibir o CYP 3A4 é o suco de toranja. Lijja e colaboradores (2003) demonstraram que 10 voluntários saudáveis foram divididos em 2 grupos onde um grupo ingeriu 200 mL de suco de toranja e o outro ingeriu água e posteriormente receberam comprimidos de 40 mg de sinvastatina e foram avaliados por 24 horas. Foi demonstrado que o sumo de toranja aumenta consideravelmente a concentração plasmática de sinvastatina em todos os participantes, com a AUC média aumentada em 3,6 vezes e a Cmax média aumentada em 3,9 vezes, mas sem uma alteração significativa em $t_{1/2}$. Em relação à sinvastatina β,δ -hidroxiácido houve um aumento de 3,3 vezes e 4,3 vezes na AUC média e na Cmax média, respectivamente.

O mesmo autor avaliou posteriormente a duração do efeito inibitório do CYP 3A4 em relação à sinvastatina e seu metabólito β,δ -hidroxiácido. Observou-se que quando a sinvastatina foi administrada com a ingestão de suco de toranja, a Cmax e a AUC médias aumentaram 12,0 e 13,5 vezes (Lilja, Kivisto e Neuvonen, 2000).

Quando a sinvastatina foi administrada 24 horas após a última ingestão de sumo de toranja, a Cmax e a AUC médias aumentaram 2,4 e 2,1 vezes e para o hidroxiácido o aumento foi de 5,0 e 4,5 vezes. Outro parâmetro avaliado foi a depuração, onde foi observado que a depuração após a ingestão de suco de toranja foi 15 vezes menor que a depuração do grupo controle e após 24 horas a depuração foi 2 vezes menor que a depuração do grupo controle (Lilja, Kivisto e Neuvonen, 2000).

Outros autores utilizaram erva de São João, potente indutor do CYP 3A4, em 16 pacientes saudáveis em uso de comprimidos de 10 mg de sinvastatina e analisados por 24 horas. O tratamento com esta erva demonstrou uma diminuição na concentração plasmática de sinvastatina e do seu metabólito ativo. A erva de São João reduziu a AUC em 0,66 vezes e a Cmax em 0,88 vezes, mas sem significância estatística (SUGIMOTO et al., 2001).

Para substratos do CYP3A4, é esperado um certo grau de interação medicamentosa ao nível da parede intestinal devido à posição anatômica do intestino delgado. Representa o primeiro de uma série de órgãos eliminativos de primeira passagem e, portanto, está exposto a alta concentração de inibidores ou indutores administrados por via oral. Vários estudos *in vitro* avaliaram a atividade catalítica das enzimas P450 intestinais em comparação com o fígado (OBACH et al., 2001; VON RICHTER et al, 2004). Outros estudos demonstraram que as

4 CAPÍTULO 2

antocianinas e antocianidinas são inibidores fracos do CYP 3A4, com valores de IC₅₀ variando entre 12,2 e 249 μM (DREISEITEL et al., 2008). Em relação a outros CYPs, como o CYP 2D6, as antocianinas e antocianidinas apresentaram valores de IC₅₀ entre 55 e 800 μM (DREISEITEL et al., 2009). Com base na interação alimento-medicamento, as pessoas que tomam açaí diariamente devem ser alertadas sobre a possibilidade de interação com a sinvastatina.

5 Referências

AGARWAL, Shweta; MEHROTRA, R. J. J. C. An overview of molecular docking. *JSM chem*, v. 4, n. 2, p. 1024-1028, 2016.

BADER, Ted. Resposta para: “Hepatotoxicidade das estatinas e o dilema da causalidade em reações adversas medicamentosas hepáticas raras”. *Revista de Hepatologia*, v. 57, n. 3, pág. 703-704, 2012.

BANACH, M. et al. Mikhailidis [http://dx. sim. org/10.5772/intechopen. 79518](http://dx.sim.org/10.5772/intechopen.79518) DP. Documento de posição sobre intolerância às estatinas – Uma tentativa de uma definição unificada. Artigo de posição de um painel internacional de especialistas em lipídios. *Arquivos de Ciência Médica*, v. 11, n. 1, pág. 1-23, 2015.

COLLINS, Rory et al. Interpretação das evidências da eficácia e segurança da terapia com estatinas. *The Lancet*, v. 10059, pág. 2532-2561, 2016.

CORBEIL, Christopher R.; MOITESSIER, Nicolas. Docking ligands into flexible and solvated macromolecules. 3. Impact of input ligand conformation, protein flexibility, and water molecules on the accuracy of docking programs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 49, n. 4, p. 997-1009, 2009.

DA SILVA, Aline Kazumi Nakata et al. Composição nutricional e capacidade antioxidante da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* M.). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 1, 2017.

DESKA, P.; NOWICKI, M. Alterações de curto prazo na concentração sérica de potássio induzidas por exercício físico em pacientes com hipertensão arterial tratados com inibição da enzima conversora de angiotensina isoladamente ou em combinação com estatina. *Revista de Fisiologia e Farmacologia*, v. 68, n. 1, 2017.

DREISEITEL, Andrea et al. As antocianinas e seus metabólitos são inibidores fracos do citocromo P450 3A4. *Nutrição molecular e pesquisa alimentar*, v. 52, n. 12, pág. 1428-1433, 2008.

DREISEITEL, Andrea et al. As antocianinas e as antocianidinas são inibidores fracos do CYP2D6. *Métodos e descobertas em farmacologia experimental e clínica*, v. 31, n. 1, pág. 3-9, 2009.

HOLLIDAY, John D. et al. Multiple search methods for similarity-based virtual screening: analysis of search overlap and precision. *Journal of cheminformatics*, v. 3, n. 1, p. 1-15, 2011.

ISHIGAMI, Michi et al. Interação medicamentosa entre sinvastatina e itraconazol em ratos machos e fêmeas. *Metabolismo e Disposição de Drogas*, v. 29, n. 7, pág. 1068-1072, 2001.

JACOBSON, Terry A. et al. Recomendações do provedor para sintomas musculares relatados pelo paciente em terapia com estatinas: Insights da pesquisa Understanding Statin Use in America and Gaps in Patient Education. *Revista de Lipidologia Clínica*, v. 12, n. 1, pág. 78-88, 2018.

KHERA, Smriti; HU, Na. Geração de metabólitos de estatinas por meio de oxidações eletroquímicas e enzimáticas. *Química analítica e bioanalítica*, v. 405, p. 6009-6018, 2013.

KIM, Kyoung-Ah et al. Efeito do genótipo polimórfico CYP3A5 na farmacocinética de dose única de sinvastatina em indivíduos saudáveis. *O Jornal de Farmacologia Clínica*, v. 47, n. 1, pág. 87-93, 2007.

KONTOYIANNI, Maria; MCCLELLAN, Laura M.; SOKOL, Glenn S. Evaluation of docking performance: comparative data on docking algorithms. *Journal of medicinal chemistry*, v. 47, n. 3, p. 558-565, 2004.

KUMAR BASNIWAL, Pawan; JAIN, Deepti. Sinvastatina: revisão de atualizações sobre tendências recentes em farmacocinética, farmacodinâmica, interação medicamentosa, impurezas e métodos analíticos. *Análise Farmacêutica Atual*, v. 8, n. 2, pág. 135-156, 2012.

LENNERNÄS, Hans; FAGER, Gunnar. Farmacodinâmica e farmacocinética dos inibidores da HMG-CoA redutase: semelhanças e diferenças. *Farmacocinética clínica*, v. 32, p. 403-425, 1997.

LI, Xun et al. Evaluation of the performance of four molecular docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes. *Journal of computational chemistry*, v. 31, n. 11, p. 2109-2125, 2010.

LIN, Xiaoqian; LI, Xiu; LIN, Xubo. A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules*, v. 25, n. 6, p. 1375, 2020.

LIU, Aimei et al. Estatinas: Reações adversas, estresse oxidativo e interações metabólicas. *Farmacologia e terapêutica*, v. 195, p. 54-84, 2019.

LILJA, Jari J.; KIVISTÖ, Kari T.; NEUVONEN, Pertti J. Duração do efeito do suco de toranja na farmacocinética do substrato do CYP3A4 sinvastatina. *Farmacologia Clínica e Terapêutica*, v. 68, n. 4, pág. 384-390, 2000

LILJA, Jari J.; NEUVONEN, Mikko; NEUVONEN, Pertti J. Efeitos do consumo regular de suco de toranja na farmacocinética da sinvastatina. *Revista Britânica de Farmacologia Clínica*, v. 58, n. 1, pág. 56-60, 2004.

MANCINI, GB John et al. Diagnóstico, prevenção e tratamento dos efeitos adversos e da intolerância às estatinas: Atualização do Grupo de Trabalho do Consenso Canadense (2016). *Revista Canadense de Cardiologia*, v. 7, pág. S35-S65, 2016.

MENG, Xuan-Yu et al. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011.

MULCHANDANI, Rubina et al. Efeitos adversos relacionados às estatinas e educação do paciente: um estudo em ambientes com recursos limitados. *Acta Cardiológica*, v. 73, n. 4, pág. 393-401, 2018.

MUNTEAN, Danina M. et al. Miopatia associada às estatinas e a busca por biomarcadores: podemos prever com eficácia os sintomas musculares associados às estatinas?. A descoberta de medicamentos hoje, v. 22, n. 1, pág. 85-96, 2017.

NEUVONEN, Pertti J.; KANTOLA, Teemu; KIVISTÖ, Kari T. A sinvastatina, mas não a pravastatina, é muito suscetível à interação com o inibidor do CYP3A4, itraconazol. Farmacologia clínica e terapêutica, v. 63, n. 3, pág. 332-341, 1998.

NEWMAN, Connie B. et al. Segurança das estatinas e eventos adversos associados: uma declaração científica da American Heart Association. Arteriosclerose, trombose e biologia vascular, v. 39, n. 2, pág. e38-e81, 2019.

NOVAKOVÁ, Lucie et al. Detecção por espectrometria de massa em tandem de cromatografia líquida de ultra alta eficiência em análises clínicas de sinvastatina e atorvastatina. Revista de Cromatografia B, v. 877, n. 22, pág. 2093-2103, 2009.

OBACH, R. Scott et al. Caracterização metabólica dos principais citocromos p450 do intestino delgado humano. Metabolismo e Disposição de Drogas, v. 29, n. 3, pág. 347-352, 2001.

PRUEKSARITANONT, Thomayant et al. Metabolismo in vitro da sinvastatina em humanos [SBT] identificação de enzimas metabolizadoras e efeito da droga nos P450 hepáticos. Metabolismo e disposição de medicamentos, v. 25, n. 10, pág. 1191-1199, 1997.

PRUEKSARITANONT, Thomayant; MA, Bennet; SIM, Nathan. O metabolismo hepático humano do hidróxiácido da sinvastatina é mediado principalmente pelo CYP3A e não pelo CYP2D6. Revista Britânica de Farmacologia Clínica, v. 56, n. 1, pág. 120-124, 2003.

RINDONE, Joseph P. O resultado de dosagens muito baixas de sinvastatina em pacientes com hipercolesterolemia. Farmacoterapia: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, v. 4, pág. 399-403, 1999.

ROCHE, Victoria F. Estatinas anti-hiperlipidêmicas: uma lição de química medicinal independente e clinicamente relevante. Revista Americana de Educação Farmacêutica, v. 69, n. 1-5, pág. 546, 2005.

SANTOS, Gerusa Matias et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). *Arquivos latinoamericanos de nutrição*, v. 58, n. 2, pág. 187-192, 2008.

SHAKIR, Mohamed KM et al. Tratamento bem-sucedido de um paciente com miopatia induzida por estatinas e distrofia miotônica tipo II com inibidor da pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9, alirocumabe (Praluent). *Revista de Lipidologia Clínica*, v. 6, pág. 1485-1487, 2017.

SROVNALOVA, Alzbeta et al. Efeitos das antocianidinas e antocianinas na expressão e atividades catalíticas de CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9 e CYP3A4 em hepatócitos humanos primários e microsomas hepáticos humanos. *Revista de Química Agrícola e Alimentar*, v. 62, n. 3, pág. 789-797, 2014.

SUGIMOTO, Koh-ichi et al. Diferentes efeitos da erva de São João na farmacocinética da sinvastatina e da pravastatina. *Farmacologia Clínica e Terapêutica*, v. 70, n. 6, pág. 518-524, 2001.

SVENSSON, Fredrik; KARLÉN, Anders; SKÖLD, Christian. Virtual screening data fusion using both structure-and ligand-based methods. *Journal of chemical information and modeling*, v. 52, n. 1, p. 225-232, 2012.

TALREJA, Om; KERNDT, Connor C.; CASSAGNOL, Manouchkathe. *Sinvastatina*. 2018.

TONON, Renata Valeriano; BRABET, Catarina; HUBINGER, Míriam Dupas. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração do agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, p. 444-450, 2009.

TUBIC-GROZDANIS, Marija et al. Farmacocinética do substrato do CYP3A sinvastatina após administração de formas farmacêuticas orais de liberação retardada versus liberação imediata. *Pesquisa farmacêutica*, v. 25, p. 1591-1600, 2008.

VICKERS, S. et al. Biotransformação in vitro e in vivo da sinvastatina, um inibidor da HMG CoA redutase. *Metabolismo e Disposição de Drogas*, v. 18, n. 4, pág. 476-483, 1990.

VON RICHTER, Oliver et al. Expressão do citocromo P450 3A4 e da glicoproteína P em enterócitos e hepatócitos do intestino delgado humano: uma análise comparativa em amostras de tecido pareadas. *Farmacologia clínica e terapêutica*, v. 75, n. 3, pág. 172-183, 2004.

ZEMAN, M. et al. Tratamento hipolipidêmico de longo prazo da hiperlipidemia mista com uma combinação de estatinas e fibratos. *Casopislekaruceskych*, v. 8, pág. 500-504, 2003.

ZHOU, Quan et al. Farmacocinética da sinvastatina em chineses saudáveis e suas relações com os polimorfismos CYP2C9, CYP3A5, ABCB1, ABCG2 e SLCO1B1. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 2, pág. 124-128, 2013.

ZHANG, Yong et al. PKSolver: Um programa complementar para análise de dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos no Microsoft Excel. *Métodos e programas computacionais em biomedicina*, v. 99, n. 3, pág. 306-314, 2010.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

- O estudo proposto possui ampla aplicação no meio social em que está inserido uma vez que o consumo de açaí na região é extremamente elevado.
- As dislipidemias são um dos fatores que mais causam mortes e hospitalizações no Brasil e no mundo, entender como os alimentos podem influenciar diretamente no controle lipêmico influencia diretamente na sobrevida do paciente.
- Todas as amostras foram coletadas de forma adequada e armazenadas de acordo com a literatura até a data da análise, o que garantiu resultados fidedignos.
- Foi possível verificar redução estatisticamente significativa na biodisponibilidade do ácido da sinvastatina quando comparado a concentração plasmática do fármaco antes da ingestão de açaí, o que pode causar ineficácia terapêutica e sugere que haja interação fármaco-alimento.
- As antocianidinas por serem indutoras de CYP3A4 favorecem o metabolismo de medicamentos, porém no caso da sinvastatina ocorre redução na metabolização do medicamento em seu composto ativo.
- Espera-se futuramente poder ampliar a pesquisa para os outros medicamentos da classe das estatinas como a atorvastatina e rosuvastatina, além disso também ampliar o n da pesquisa buscando mais voluntários saudáveis e posteriormente voluntários que sejam dislipidêmicos.
- Também espera-se realizar de forma qualitativa e quantitativa a identificação dos outros compostos que possam ter sido obtidos no metabolismo da CYP3A4 uma vez que a sinvastatina possui 6 metabólitos principais, sendo alguns deles tóxicos em determinadas concentrações.

REFERÊNCIAS

AOAC. Official methods of analysis (18th ed.). Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists. 2006.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada-RDC No. 166, de 24 de julho de 2017. **Diário Oficial da União**, 2017.

ALTISSIMO, J. et al. Desenvolvimento de método de quantificação de estatinas em efluente hospitalar e estudo de degradação oxidativa avançada. 2015.

AL-HASHIMI, N. N. et al. Cetyl-alcohol-reinforced hollow fiber solid/liquid-phase microextraction and HPLC–DAD analysis of ezetimibe and simvastatin in human plasma and urine. **Biomedical Chromatography**, v. 33, n. 2, p. e4410, 2019.

ALVES, D. D.s et al. revisão de medicamentos como ferramenta na identificação de reações adversas e interações medicamentosas. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 2, n. 1, p. 5, 2013.

BARONI, G. et al. Desenvolvimento, caracterização e avaliação de nanocápsulas poliméricas contendo sinvastatina na prevenção da fibrose peritoneal. 2021.

CAMPO, Vanessa Leiria; CARVALHO, Ivone. ESTATINAS HIPOLIPÊMICAS E NOVAS TENDÊNCIAS TERAPÊUTICAS. **Química Nova**, v. 30, n. 2, pág. 425-430, 2007.

CINQUANTA, L.; DI MATTEO, M.; ESTI, M. Physical pre-treatment of plums (*Prunus domestica*). Part 2. Effect on the quality characteristics of different prune cultivars. **Foodchemistry**, v. 79, n. 2, p. 233-238, 2002.

DE CASTRO, D. A. R. et al. Fractional Distillation of Bio-Oil Produced by Pyrolysis of Açaí (*Euterpeoleracea*) Seeds. In: **Fractionation**. IntechOpen, 2019.

DE SOUSA, Dircilei Nascimento et al. Efeito tópico da sinvastatina no metabolismo ósseo: revisão crítica da literatura. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 26, n. 77, 2017.

DUFOUR, R. et al. Individualized low-density lipoprotein cholesterol reduction with alirocumab titration strategy in heterozygous familial hypercholesterolemia: Results from an open-label extension of the ODYSSEY LONG TERM trial. **Journal of clinical lipidology**, v. 13, n. 1, p. 138-147, 2019.

FAHIM, S. M. et al. Adverse event reporting patterns of concomitant botanical dietary supplements with CYP3A4 interactive & CYP3A4 non-interactive anticancer drugs in the US Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System (FAERS). **Expert opinion on drug safety**, v. 18, n. 2, p. 145-152, 2019.

REFERÊNCIAS

FILIPPAS-NTEKOUAN, S. et al. A case of uncommon cause of hypercholesterolemia. **Hellenic Journal of Atherosclerosis**, v. 9, n. 4, 2019.

HUSSAARTS, K. G. et al. Clinically relevant drug interactions with multikinase inhibitors: a review. **Therapeutic advances in medical oncology**, v. 11, p. 1758835918818347, 2019.

JOHNSON, B. M.; DEBOSE-BOYD, R. A. Underlying mechanisms for sterol-induced ubiquitination and ER-associated degradation of HMG CoA reductase. In: **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, p. 121-128, 2018.

KAWASHIRI, M.; RADER, D. J. Familial Hypercholesterolemia. In: **Human Pathobiochemistry**. Springer, Singapore, p. 43-56, 2019.

KIM, J. et al. Effect of Cilostazol on the Pharmacokinetics of Simvastatin in Healthy Subjects. **BioMed research international**, v. 2019, 2019.

LOMBARDO, M.; ESERIAN, J. K. Fármacos e alimentos: interações e influências na terapêutica. **Infarma**, v. 26, n. 3, 2014.

MACPHERSON, M. et al. Artificial Neural Networks in Drug Transport Modeling and Simulation–I. In: **Artificial Neural Network for Drug Design, Delivery and Disposition**. Academic Press, p. 221-241, 2016.

MAKA, D. A.; MURPHY, L. K. Interações medicamentosas-nutrientes: uma revisão. **AACN Advanced Critical Care**, v. 11, n. 4, pág. 580-589, 2000.

MANGILI, Otávio Celeste. **Efeitos da associação de sinvastatina e ezetimiba na cinética de quilomícrons artificiais em pacientes portadores de doença arterial coronária estável**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2012

MOURA, M. R. L.; REYES, F. G. R. Interação fármaco-nutriente: uma revisão. **Revista de nutrição**, v. 15, p. 223-238, 2002.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Simvastatin, CID=54454. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54454>. Acesso em 29 de Abril, 2019.

National Center for Biotechnology Information. PubChemDatabase. Atorvastatin, CID=60823. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/60823>. Acesso em 29 de Abril, 2019.

OLIVEIRA, S. R. et al. In vitro gastrointestinal digestion to evaluate the total, bioaccessible and bioavailable concentrations of iron and manganese in açai

REFERÊNCIAS

(Euterpeoleracea Mart.) pulps. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 53, p. 27-33, 2019.

PALA, D. et al. Açai (Euterpeoleracea Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 2, p. 618-623, 2018.

ROGALA, B. G. et al. Oral anticancer therapy: Management of drug interactions. **Journal of oncology practice**, v. 15, n. 2, p. 81-90, 2019.

SHI, J. et al. ShuangyuTiaozhi Granule Attenuates Hypercholesterolemia through the Reduction of Cholesterol Synthesis in Rat Fed a High Cholesterol Diet. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.

SHOWANDE, S. J. et al. Potential inhibition of major human cytochrome P450 isoenzymes by selected tropical medicinal herbs—Implication for herb–drug interactions. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 1, p. 44-55, 2019.

SILVA, M. P. et al. Supercritical CO₂ extraction of lyophilized Açai (Euterpeoleracea Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 31, p. 226-234, 2019.

SULTAN, S. et al. Statins: Rationale, Mode of Action, and Side Effects. In: **The Impact of Nutrition and Statins on Cardiovascular Diseases**. Academic Press, p. 171-200, 2019.

SUTERIO, Natália Gianini et al. Desenvolvimento e caracterização de um gel tópico a base de argila sintética e sinvastatina para atuar como alternativa terapêutica no tratamento do melanoma. 2021.

TONON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (Euterpeoleracea Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 907-914, 2010.

UDANI, J. K. et al. Effects of Acai (Euterpeoleracea Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: a pilot study. **Nutritionjournal**, v. 10, n. 1, p. 45, 2011.

VASCONCELOS, M. S. et al. Açai or Brazilian Berry (Euterpeoleracea). In: **Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements**. Academic Press, p. 131-133, 2019.

WANG, J. et al. Pharmacokinetics of vitacoxib in rabbits after intravenous and oral administration. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 42, n. 3, p. 368-371, 2019.

REFERÊNCIAS

WATSON, M. K. et al. Pharmacokinetics and bioavailability of orbifloxacin oral suspension in New Zealand White rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **American journal of veterinary research**, v. 76, n. 11, p. 946-951, 2015.

ZAREI, B. et al. Early effects of atorvastatin on Vitamin D and parathyroid hormone serum levels following acute myocardial infarction. **Journal of research in pharmacy practice**, v. 8, n. 1, p. 7, 2019.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. In: **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Monografia. p. 1018-1018. 2015.

ZHANG, Y. et al. Screening for CYP3A4 inhibition and induction coupled to parallel artificial membrane permeability assay (PAMPA) for prediction of botanical drug interactions: The case of açai and maca. **Phytomedicine**, v. 59, p. 152915, 2019.

ANEXO I – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA SCIENTIFIC REPORTS

GUIDE FOR AUTHORS

Format of articles

Scientific Reports publishes original research in two formats: Article and Registered Report. For Registered Reports, see section [below](#). In most cases, we do not impose strict limits on word count or page number. However, we strongly recommend that you write concisely and stick to the following guidelines:

- Articles should ideally be no more than 11 typeset pages
- The main text should be no more than 4,500 words (not including Abstract, Methods, References and figure legends)
- The title should be no more than 20 words, should describe the main message of the article using a single scientifically accurate sentence, and should not contain puns or idioms
- The abstract should be no more than 200 words

For a definitive list of which limits are mandatory please visit the [submission checklist page](#).

Abstract

Please do not include any references in your Abstract. Make sure it serves both as a general introduction to the topic and as a brief, non-technical summary of the main results and their implications. Abstract should be unstructured, i.e. should not contain sections or subheadings.

Manuscript

Your manuscript text file should start with a title page that shows author affiliations and contact information, identifying the corresponding author with an asterisk. We recommend that each section includes an introduction of referenced text that expands on the background of the work. Some overlap with the Abstract is acceptable.

Large Language Models (LLMs), such as [ChatGPT](#), do not currently satisfy our [authorship criteria](#). Notably an attribution of authorship carries with it accountability for the work, which cannot be effectively applied to LLMs. Use of an LLM should be properly documented in the Methods section (and if a

Methods section is not available, in a suitable alternative part) of the manuscript. In response to emerging information, advice, guidance and policy around artificial intelligence (AI), we have created a dedicated AI section in our [Editorial Policy page](#). Please familiarize yourself with this content and comply with relevant policies.

For the main body of the text, there are no specific requirements. You can organise it in a way that best suits your research. However, the following structure will be suitable in many cases:

- Introduction
- Results (with subheadings)
- Discussion (without subheadings)
- Methods

You should then follow the main body of text with:

- References (limited to 60 references, though not strictly enforced)
- Acknowledgements (optional)
- Author contributions (names must be given as initials)
- Data availability statement (mandatory)
- Additional Information (including a Competing Interests Statement)
- Figure legends (these are limited to 350 words per figure)
- Tables (maximum size of one page)

Please note, footnotes should not be used. Please also do not include keywords, as these are not published in *Scientific Reports* articles.

We do not automatically include page or line numbers in the materials sent to Editorial Board Members and reviewers. Please consider including those in your manuscript; this can help facilitate the evaluation of the paper and makes giving feedback on specific sections easier.

You may include a limited number of uncaptioned molecular structure graphics and numbered mathematical equations if necessary. Display items are limited to 8 ([figures](#) and/or [tables](#)). However, to enable typesetting of papers, we advise making the number of display items commensurate with your overall word length. So, for Articles of 2,000 words or less, we suggest

including no more than 4 figures/tables. Please note that schemes should not be used and should be presented as figures instead.

Your submission must also include:

- A cover letter
- Individual figure files and optional supplementary information files

For first submissions (i.e. not revised manuscripts), you may incorporate the manuscript text and figures into a single file up to 3 MB in size. Whilst Microsoft Word is preferred we also accept LaTeX, or PDF format. Figures can be inserted in the text at the appropriate positions, or grouped at the end.

Supplementary information should be combined and supplied as a single separate file, preferably in PDF format.

A [submission template](#) is available in the [Overleaf](#) template gallery to help you prepare a LaTeX manuscript within the *Scientific Reports* formatting criteria.

Cover letter

In your cover letter, you should include:

- The affiliation and contact information of your corresponding author
- A brief explanation of why the work is appropriate for *Scientific Reports*
- The names and contact information of any reviewers you consider suitable
- The names of any referees you would like *excluded* from reviewing

Finally, you should state whether you have had any prior discussions with a *Scientific Reports* Editorial Board Member about the work described in your manuscript.

Revised manuscripts

For revised manuscripts, you should provide all textual content in a single file, prepared using either Microsoft Word or LaTeX. Please note, we do not accept PDF files for the article text of revised manuscripts. Make sure you:

- Format the manuscript file as single-column text without justification.
- Number the pages using an Arabic numeral in the footer of each page.
- Use the default Computer Modern fonts for your text, and the 'symbols' font for any Greek characters.
- Supply any figures as individual files.
- Combine and supply any Supplementary Information as a separate file, preferably in PDF format.
- Include the title of the manuscript and author list in the first page of the Supplementary Information file.

If you do not wish to incorporate the manuscript text and figures into a single file, please provide all textual content in a separate single file, prepared using either Microsoft Word or LaTeX.

TeX/LaTeX files

If you're submitting LaTeX files, you can either use the standard 'Article' document class (or similar) or the wlscrep.cls file and [template provided by Overleaf](#). For graphics, we recommend your use graphicx.sty. Use numerical references only for citations.

Our system cannot accept .bib files. If you prepare references using BibTeX (which is optional), please include the .bbl file with your submission (as a 'LaTeX supplementary file') in order for it to be processed correctly; this file is included automatically in the zip file generated by Overleaf for submissions. Please see this [help article on Overleaf](#) for more details.

Alternatively, you can make sure that the references (source code) are included within the manuscript file itself. As a final precaution, you should ensure that the complete .tex file compiles successfully on its own system with no errors or warnings, before submission.

Writing your manuscript

Scientific Reports is read by a truly diverse range of scientists. Please therefore give careful thought to communicating your findings as clearly as possible.

Although you can assume a shared basic knowledge of science, please don't expect that everyone will be familiar with the specialist language or concepts of your particular field. Therefore:

- Avoid technical jargon wherever possible, explaining it clearly when it is unavoidable.
- Keep abbreviations to a minimum, particularly when they are not standard.
- If you must use an abbreviation, make sure you spell it out fully in the text or legend the first time it appears.
- Clearly explain the background, rationale and main conclusions of your study.
- Write titles and abstracts in language that will be readily understood by any scientist.

We strongly recommend that you ask a colleague with different expertise to review your manuscript before you submit it. This will help you to identify concepts and terminology that non-specialist readers may find hard to grasp.

Copy editing services

We don't provide in-depth copy editing as part of the production process. So, if you feel your manuscript would benefit from someone looking at the copy, please consider using a copy editing or language editing service. You can either do this before submission or at the revision stage. You can also get a fast, free [grammar check](#) of your manuscript that takes into account all aspects of readability in English.

We have two affiliates who can provide you with these services: [Nature Research Editing Service](#) and [American Journal Experts](#). As a *Scientific Reports* author, you are entitled to a 10% discount on your first submission to either of these.

[Claim 10% off English editing from Nature Research Editing Service](#)

[Claim 10% off American Journal Experts](#)

Please note that the use of an editing service is at your own expense, and doesn't ensure that your article will be selected for peer-review or accepted for publication.

Methods

We don't impose word limits on the description of methods. Make sure it includes adequate experimental and characterisation data for others to be able to reproduce your work. You should:

- Include descriptions of standard protocols and experimental procedures.
- Only identify commercial suppliers of reagents or instrumentation when the source is critical to the outcome of the experiments.
- Identify sources for any kits you use in your procedures.
- Include any experimental protocols that describe the synthesis of new compounds.
- Use the systematic name of any new compound and put its bold Arabic numeral in the heading for the experimental protocol, indicating it thereafter by its assigned, bold numeral.
- Describe the experimental protocol in detail, referring to amounts of reagents in parentheses, when possible (eg 1.03 g, 0.100 mmol).
- Use standard abbreviations for reagents and solvents.
- Clearly identify safety hazards posed by reagents or protocols.
- Report isolated mass and percent yields at the end of each protocol.

If you're reporting experiments on live vertebrates (or higher invertebrates), humans or human samples, you must include a statement of ethical approval in the Methods section (see [our detailed requirements](#) for further information on preparing these statements).

References

We don't copy edit your references. Therefore, it's essential you format them correctly, as they will be linked electronically to external databases where possible. At *Scientific Reports*, we use the standard *Nature* referencing style. So, when formatting your references, make sure they:

- Run sequentially (and are always numerical).
- Sit within square brackets.
- Only have one publication linked to each number.
- Only include papers or datasets that have been published or accepted by a named publication, recognised preprint server or data repository

(if you include any preprints of accepted papers in your reference list, make sure you submit them with the manuscript).

- Include published conference abstracts and numbered patents, if you wish.
- Don't include grant details and acknowledgements.

Sorry, we cannot accept BibTeX (.bib) bibliography files for references. If you are making your submission by LaTeX, it must either contain all references within the manuscript .tex file itself, or (if you're using the Overleaf template) include the .bbl file generated during the compilation process as a 'LaTeX supplementary file' (see the "Manuscripts" section for more details).

In your reference list, you should:

- Include all authors unless there are six or more, in which case only the first author should be given, followed by 'et al.'
- List authors by last name first, followed by a comma and initials (followed by full stops) of given names.
- Use Roman text for Article and dataset titles, with only the first word of the title having an initial capital and written exactly as it appears in the work cited, ending with a full stop.
- Use italics for book titles, giving all words in the title an initial capital.
- Use italics for journal and data repository names, abbreviating them according to common usage (with full stops).
- Use bold for volume numbers and the subsequent comma.
- Give the full page range (or article number), where appropriate.

Examples

Published papers:

Printed journals
Schott, D. H., Collins, R. N. & Bretscher, A. Secretory vesicle transport velocity in living cells depends on the myosin V lever arm length. *J. Cell Biol.* **156**, 35-39 (2002).

Online only
Bellin, D. L. *et al.* Electrochemical camera chip for simultaneous imaging of

multiple metabolites in biofilms. *Nat. Commun.* **7**, 10535; [10.1038/ncomms10535](https://doi.org/10.1038/ncomms10535) (2016).

For papers with more than five authors include only the first author's name followed by 'et al.'.

Books:

Smith, J. Syntax of referencing in *How to reference books* (ed. Smith, S.) 180-181 (Macmillan, 2013).

Online material:

Babichev, S. A., Ries, J. & Lvovsky, A. I. Quantum scissors: teleportation of single-mode optical states by means of a nonlocal single photon. Preprint at <https://arxiv.org/abs/quant-ph/0208066> (2002).

Manaster, J. Sloth squeak. *Scientific American Blog Network* <http://blogs.scientificamerican.com/psi-vid/2014/04/09/sloth-squeak> (2014).

Hao, Z., AghaKouchak, A., Nakhjiri, N. & Farahmand, A. Global integrated drought monitoring and prediction system (GIDMaPS) data sets. *figshare* <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.853801> (2014).

Acknowledgements

Please keep any acknowledgements brief, and don't include thanks to anonymous referees and editors, or any effusive comments. You may acknowledge grant or contribution numbers. You should also acknowledge assistance from medical writers, proof-readers and editors.

Author contributions

You must supply an Author Contribution Statement as described in the [Author responsibilities](#) section of our [Editorial and Publishing Policies](#).

Please be aware:

- The author name you give as the corresponding author will be the main contact during the review process and should not change.
- The information you provide in the submission system will be used as the source of truth when your paper is published.

Competing interests

You must supply a [competing interests statement](#). If there is no conflict of interest, you should include a statement declaring this.

Your statement must be explicit and unambiguous, describing any potential competing interest (or lack thereof) for EACH contributing author. The information you provide in the submission system will be used as the source of truth when your paper is published.

Examples of declarations are:

Competing

interests

The author(s) declare no competing interests.

Competing

interests

Dr X's work has been funded by A. He has received compensation as a member of the scientific advisory board of B and owns stock in the company. He also has consulted for C and received compensation. Dr Y and Dr Z declare no potential conflict of interest.

Data availability

You must include a Data Availability Statement in all submitted manuscripts (at the end of the main text, before the References section); see '[Availability of materials and data](#)' section for more information.

Ethics declarations

If your research includes human or animal subjects, you will need to include the appropriate ethics declarations in the Methods section of your manuscript.

Approval for animal experiments

For experiments involving live vertebrates and/or higher invertebrates, your Methods section must include a statement that:

1. Identifies the institutional and/or licensing committee that approved the experiments, including any relevant details.
2. Confirms that all experiments were performed in accordance with relevant named guidelines and regulations.
3. Confirms that the authors complied with the ARRIVE guidelines.

Approval for human experiments

For experiments involving human subjects (or tissue samples), your Methods section must include a statement that:

1. Identifies the institutional and/or licensing committee that approved the experiments, including any relevant details.
2. Confirms that all experiments were performed in accordance with relevant named guidelines and regulations.
3. Confirms that informed consent was obtained from all participants and/or their legal guardians.

Consent to participate/Consent to publish

Please note that:

1. Study participant names (and other personally identifiable information) must be removed from all text/figures/tables/images.
2. The use of coloured bars/shapes or blurring to obscure the eyes/facial region of study participants is not an acceptable means of anonymisation. For manuscripts that include information or images that could lead to identification of a study participant, your Methods section must include a statement that confirms informed consent was obtained to publish the information/image(s) in an online open access publication.

Supplementary Information

You should submit any Supplementary Information together with the manuscript so that we can send it to referees during peer-review. This will be published online with accepted manuscripts.

It's vital that you carefully check your Supplementary Information before submission as any modification after your paper is published will require a formal correction.

Please avoid including any "data not shown" statements and instead make your data available via deposition in a public repository (see '[Availability of materials and data](#)' for more information).

If any data that is necessary to evaluate the claims of your paper is not available via a public depository, make sure you provide it as Supplementary Information.

We do not edit, typeset or proof Supplementary Information, so please present it clearly and succinctly at initial submission, making sure it conforms to the style and terminology of the rest of the paper.

To avoid any delays to publication, please follow the guidelines below for creation, citation and submission of your Supplementary Information:

1. You can combine multiple pieces of Supplementary Information and supply them as a single composite file. If you wish to keep larger information (e.g. supplementary videos, spreadsheets [.csv or .xlsx] or data files) as another separate file you may do so.
2. Designate each item as Supplementary Table, Figure, Video, Audio, Note, Data, Discussion, Equations or Methods, as appropriate. Number Supplementary Tables and Figures as, for example, "Supplementary Table S1". This numbering should be separate from that used in tables and figures appearing in the main article. Supplementary Note or Methods should not be numbered; titles for these are optional.
3. Refer to each piece of supplementary material at the appropriate point(s) in the main article. Be sure to include the word "Supplementary" each time one is mentioned. Please do not refer to individual panels of supplementary figures.

4. Use the following examples as a guide (note: abbreviate "Figure" as "Fig." when in the middle of a sentence): "Table 1 provides a selected subset of the most active compounds. The entire list of 96 compounds can be found as Supplementary Table S1 online." "The biosynthetic pathway of L-ascorbic acid in animals involves intermediates of the D-glucuronic acid pathway (see Supplementary Fig. S2 online). Figure 2 shows..."
5. Remember to include a brief title and legend (incorporated into the file to appear near the image) as part of every figure submitted, and a title as part of every table.
6. Keep file sizes as small as possible, with a maximum size of 50 MB, so that they can be downloaded quickly.
7. Supplementary video files should be provided in the standard video aspects: 4:3, 16:9, 21:9.

If you have any further questions about the submission and preparation of Supplementary Information, please email: scirep.admin@nature.com.

Figure legends

Please begin your figure legends with a brief title sentence for the whole figure and continue with a short description of what is shown in each panel. Use any symbols in sequence and minimise the methodological details as much as possible. Keep each legend total to no more than 350 words. Provide text for figure legends in numerical order after the references.

Tables

Please submit any tables in your main article document in an editable format (Word or TeX/LaTeX, as appropriate), and not as images. Tables that include statistical analysis of data should describe their standards of error analysis and ranges in a table legend.

Equations

Include any equations and mathematical expressions in the main text of the paper. Identify equations that are referred to in the text by parenthetical

numbers, such as (1), and refer to them in the manuscript as "equation (1)" etc.

For submissions in a .doc or .docx format, please make sure that all equations are provided in an editable Word format. You can produce these with the equation editor included in Microsoft Word.

General figure guidelines

You are responsible for obtaining permission to publish any figures or illustrations that are protected by copyright, including figures published elsewhere and pictures taken by professional photographers. We cannot publish images downloaded from the internet without appropriate permission.

You should state the source of any images used. If you or one of your co-authors has drawn the images, please mention this in your acknowledgements. For software, you should state the name, version number and URL.

Number any figures separately with Arabic numerals in the order they occur in the text of the manuscript. Include error bars when appropriate. Include a description of the statistical treatment of error analysis in the figure legend.

Please do not use schemes. You should submit sequences of chemical reactions or experimental procedures as figures, with appropriate captions. You may include in the manuscript a limited number of uncaptioned graphics depicting chemical structures - each labelled with their name, by a defined abbreviation, or by the bold Arabic numeral.

Use a clear, sans-serif typeface (for example, Helvetica) for figure lettering. Use the same typeface in the same font size for all figures in your paper. For Greek letters, use a 'symbols' font. Put all display items on a white background, and avoid excessive boxing, unnecessary colour, spurious decorative effects (such as three-dimensional 'skyscraper' histograms) and highly pixelated computer drawings. Never truncate the vertical axis of histograms to exaggerate small differences. Ensure any labelling is of sufficient size and contrast to be legible, even after appropriate reduction.

The thinnest lines in the final figure should be no smaller than one point wide. You will be sent a proof that will include figures.

- Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, bold letter (**a**, **b**, **c** and so on) in the same type size as used elsewhere in the figure.
- Lettering in figures should be in lower-case type, with only the first letter of each label capitalised.
- Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature (for example, ms rather than msec) or the nomenclature common to a particular field.
- Thousands should be separated by commas (1,000).
- Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend.
- Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined on the bar itself rather than in the legend.

In legends, please use visual cues rather than verbal explanations such as "open red triangles". Avoid unnecessary figures: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced at the smallest size at which essential details are visible.

Figures for peer review

At the initial submission stage, you may choose to upload separate figure files or to incorporate figures into the main article file, ensuring that any figures are of sufficient quality to be clearly legible.

When submitting a revised manuscript, you must upload all figures as separate figure files, ensuring that the image quality and formatting conforms to the specifications below.

Figures for publication

You must supply each complete figure as a separate file upload. Multi-part/panel figures must be prepared and arranged as a single image file

(including all sub-parts; a, b, c, etc.). Please do not upload each panel individually.

Please read the [digital images integrity and standards](#) section of our [Editorial and Publishing Policies](#). When possible, we prefer to use original digital figures to ensure the highest-quality reproduction in the journal. When creating and submitting digital files, please follow the guidelines below. Failure to do so, or to adhere to the following guidelines, can significantly delay publication of your work.

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

1. Line art, graphs, charts and schematics

For optimal results, you should supply all line art, graphs, charts and schematics in vector format, such as EPS or AI. Please save or export it directly from the application in which it was made, making sure that data points and axis labels are clearly legible.

2. Photographic and bitmap images

Please supply all photographic and bitmap images in a bitmap image format such as tiff, jpg, or psd. If saving tiff files, please ensure that the compression option is selected to avoid very large file sizes. Please do not supply Word or Powerpoint files with placed images. Images can be supplied as RGB or CMYK (note: we will not convert image colour modes).

Figures that do not meet these standards will not reproduce well and may delay publication until we receive high-resolution images.

3. Chemical structures

Please produce Chemical structures using ChemDraw or a similar program. All chemical compounds must be assigned a bold, Arabic numeral in the order in which the compounds are presented in the manuscript text. Structures should then be exported into a 300 dpi RGB tiff file before being submitted.

4. Stereo images

You should present stereo diagrams for divergent 'wall-eyed' viewing, with the two panels separated by 5.5 cm. In the final accepted version of the manuscript, you should submit the stereo images at their final page size.

Statistical guidelines

If your paper contains statistical testing, it should state the name of the statistical test, the n value for each statistical analysis, the comparisons of interest, a justification for the use of that test (including, for example, a discussion of the normality of the data when the test is appropriate only for normal data), the alpha level for all tests, whether the tests were one-tailed or two-tailed, and the actual P value for each test (not merely "significant" or " $P < 0.05$ "). Please make it clear what statistical test was used to generate every P value. Use of the word "significant" should always be accompanied by a P value; otherwise, use "substantial," "considerable," etc.

Data sets should be summarised with descriptive statistics, which should include the n value for each data set, a clearly labelled measure of centre (such as the mean or the median), and a clearly labelled measure of variability (such as standard deviation or range).

Ranges are more appropriate than standard deviations or standard errors for small data sets. Graphs should include clearly labelled error bars. You must state whether a number that follows the \pm sign is a standard error (s.e.m.) or a standard deviation (s.d.).

You must justify the use of a particular test and explain whether the data conforms to the assumptions of the tests. Three errors are particularly common:

- Multiple comparisons: when making multiple statistical comparisons on a single data set, you should explain how you adjusted the alpha level to avoid an inflated Type I error rate, or you should select statistical tests appropriate for multiple groups (such as ANOVA rather than a series of t-tests).
- Normal distribution: many statistical tests require that the data be approximately normally distributed; when using these tests, you should explain how you tested your data for normality. If the data does not

meet the assumptions of the test, you should use a non-parametric alternative instead.

- Small sample size: when the sample size is small (less than about 10), you should use tests appropriate to small samples or justify the use of large-sample tests.

Chemical and biological nomenclature and abbreviations

You should identify molecular structures by bold, Arabic numerals assigned in order of presentation in the text. Once identified in the main text or a figure, you may refer to compounds by their name, by a defined abbreviation, or by the bold Arabic numeral (as long as the compound is referred to consistently as one of these three).

When possible, you should refer to chemical compounds and biomolecules using systematic nomenclature, preferably using [IUPAC](#). You should use standard chemical and biological abbreviations. Make sure you define unconventional or specialist abbreviations at their first occurrence in the text.

Gene nomenclature

You should use approved nomenclature for gene symbols, and employ symbols rather than italicised full names (for example Ttn, not titin). Please consult the appropriate nomenclature databases for correct gene names and symbols. A useful resource is [Entrez Gene](#).

You can get approved human gene symbols from HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC), e-mail: hgnc@genenames.org; see also www.genenames.org.

You can get approved mouse symbols from The Jackson Laboratory, e-mail: nomen@informatics.jax.org; see also www.informatics.jax.org/mgihome/nomen.

For proposed gene names that are not already approved, please submit the gene symbols to the appropriate nomenclature committees as soon as possible, as these must be deposited and approved before publication of an article.

Avoid listing multiple names of genes (or proteins) separated by a slash, as in 'Oct4/Pou5f1', as this is ambiguous (it could mean a ratio, a complex, alternative names or different subunits). Use one name throughout and include the other at first mention: 'Oct4 (also known as Pou5f1)'.

Characterisation of chemical and biomolecular materials

Scientific Reports is committed to publishing technically sound research. Manuscripts submitted to the journal will be held to rigorous standards with respect to experimental methods and characterisation of new compounds.

You must provide adequate data to support your assignment of identity and purity for each new compound described in your manuscript. You should provide a statement confirming the source, identity and purity of known compounds that are central to the scientific study, even if they are purchased or resynthesised using published methods.

1. Chemical identity

Chemical identity for organic and organometallic compounds should be established through spectroscopic analysis. Standard peak listings (see formatting guidelines below) for ^1H NMR and proton-decoupled ^{13}C NMR should be provided for all new compounds. Other NMR data should be reported (^{31}P NMR, ^{19}F NMR, etc.) when appropriate. For new materials, you should also provide mass spectral data to support molecular weight identity. High-resolution mass spectral (HRMS) data is preferred. You may report UV or IR spectral data for the identification of characteristic functional groups, when appropriate. You should provide melting-point ranges for crystalline materials. You may report specific rotations for chiral compounds. You should provide references, rather than detailed procedures, for known compounds, unless their protocols represent a departure from or improvement on published methods.

2. Combinational compound libraries

When describing the preparation of combinatorial libraries, you should include standard characterisation data for a diverse panel of library components.

3. Biomolecular identity

For new biopolymeric materials (oligosaccharides, peptides, nucleic acids, etc.), direct structural analysis by NMR spectroscopic methods may not be possible. In these cases, you must provide evidence of identity based on sequence (when appropriate) and mass spectral characterisation.

4. Biological constructs

You should provide sequencing or functional data that validates the identity of their biological constructs (plasmids, fusion proteins, site-directed mutants, etc.) either in the manuscript text or the Methods section, as appropriate.

5. Sample purity

We request evidence of sample purity for each new compound. Methods for purity analysis depend on the compound class. For most organic and organometallic compounds, purity may be demonstrated by high-field ¹H NMR or ¹³C NMR data, although elemental analysis ($\pm 0.4\%$) is encouraged for small molecules. You may use quantitative analytical methods including chromatographic (GC, HPLC, etc.) or electrophoretic analyses to demonstrate purity for small molecules and polymeric materials.

6. Spectral data

Please provide detailed spectral data for new compounds in list form (see below) in the Methods section. Figures containing spectra generally will not be published as a manuscript figure unless the data are directly relevant to the central conclusions of the paper. You are encouraged to include high-quality images of spectral data for key compounds in the Supplementary Information. You should list specific NMR assignments after integration values only if they were unambiguously determined by multidimensional NMR or decoupling experiments. You should provide information about how assignments were made in a general Methods section.

Example format for compound characterisation data. mp: 100-102 °C (lit.^{ref} 99-101 °C); TLC (CHCl₃:MeOH, 98:2 v/v): R_f = 0.23; [α]_D = -21.5 (0.1 M in n-hexane); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9.30 (s, 1H), 7.55-7.41 (m, 6H), 5.61 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.40 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.93 (m, 1H), 4.20 (q, J = 8.5 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.25 (t, J = 8.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 165.4, 165.0, 140.5, 138.7, 131.5, 129.2, 118.6, 84.2, 75.8, 66.7, 37.9, 20.1; IR (Nujol):

1765 cm⁻¹; UV/Vis: λ_{max} 267 nm; HRMS (m/z): [M]⁺ calcd. for C₂₀H₁₅Cl₂NO₅, 420.0406; found, 420.0412; analysis (calcd., found for C₂₀H₁₅Cl₂NO₅): C (57.16, 57.22), H (3.60, 3.61), Cl (16.87, 16.88), N (3.33, 3.33), O (19.04, 19.09).

7. Crystallographic data for small molecules

If your manuscript is reporting new three-dimensional structures of small molecules from crystallographic analysis, you should include a .cif file and a structural figure with probability ellipsoids for publication as Supplementary Information. These must have been checked using the IUCR's [CheckCIF](#) routine, and you must include a PDF copy of the output with the submission, together with a justification for any alerts reported. You should submit crystallographic data for small molecules to the [Cambridge Structural Database](#) and the deposition number referenced appropriately in the manuscript. Full access must be provided on publication.

8. Macromolecular structural data

If your manuscript is reporting new structures, it should contain a table summarising structural and refinement statistics. Templates are available for such tables describing [NMR](#) and [X-ray crystallography](#) data. To facilitate assessment of the quality of the structural data, you should submit with the manuscript a stereo image of a portion of the electron density map (for crystallography papers) or of the superimposed lowest energy structures (≥ 10 ; for NMR papers). If the reported structure represents a novel overall fold, you should also provide a stereo image of the entire structure (as a backbone trace).

Registered Reports

Registered Reports are original research articles which undergo peer-review prior to data collection and analyses. This format is designed to minimize publication bias and research bias in hypothesis-driven research, while also allowing the flexibility to conduct exploratory (unregistered) analyses and report serendipitous findings. If you intend to submit a Registered Report to *Scientific Reports*, please refer to detailed guidelines [here](#).

ANEXO II – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO A SCIENTIFIC REPORTS

04/12/23, 02:25E-mail de Universidade Federal do Amapá - Scientific Reports - Receipt of Manuscript 'Food-drug interaction: effects...'



LILIAN SOLON <lilian.solon@unifap.br>

Scientific Reports - Receipt of Manuscript 'Food-drug interaction: effects...'

1 mensagem

Scientific Reports <srep@nature.com>

4 de dezembro de 2023 às 02:24

Para: lilian.solon@unifap.br

Ref: Submission ID 2b97ce29-2aaf-49da-9627-d6791dca5d40

Dear Dr Silva Solon,

Thank you for submitting your manuscript to Scientific Reports.

Your manuscript is now at our initial Technical Check stage, where we look for adherence to the journal's submission guidelines, including any relevant editorial and publishing policies. If there are any points that need to be addressed prior to progressing we will send you a detailed email. Otherwise, your manuscript will proceed into peer review.

You can check on the status of your submission at any time by using the link below and logging in with the account you created for this submission:

https://researcher.nature.com/your-submissions?utm_source=submissions&utm_medium=email&utm_campaign=confirmation-email&journal_id=41598

Kind regards,

Peer Review Advisors

Scientific Reports

Springer Nature offers an open access support service to make it easier for our authors to discover and apply for APC funding. For further information please visit <http://www.springernature.com/gp/open-research/funding>

Food-drug interaction: effects of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) on the pharmacokinetics of simvastatin metabolized by CYP3A4 in humans

Breno Nunes Aguillar, Rodrigo Pinto da Costa, Elenilze Figueiredo Batista Ferreira, Ryan da Silva Ramos, Daniel Ricardo da Silva Alves, Patricia Aguirre Bañuelos, Valéria Veras de Paula, José Trinidad Pérez Urizar, Gabriel Araújo-Silva, Lílian Grace da Silva Solon

Abstract

The aim of the present study was to investigate the effect of consumption of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) on the pharmacokinetics of simvastatin through *in silico* method and clinical studies. Twelve volunteers received simvastatin on day 1, at dose of 20 mg orally after a 10-hour overnight fasting. On days 2 to 5, participants ingested 300 mL of açai pulp, twice a day. On day 6, a dose of simvastatin (20 mg) was co-administered with the açai pulp. The biological samples were prepared by the protein precipitation and detected by UHPLC-MS, getting a good separation of simvastatin, β,δ -hydroxy acid and the internal standard atorvastatin after 10 min. The pharmacokinetic data indicate that the area under the plasma concentration–time curves (AUC) of simvastatin was decreased on average 12,5%. *In silico* studies showed that the two main compounds found in açai (Cyanidin 3-glucoside, Cyanidin 3-rutinoside) showed inductive activity for CYP3A4, which corroborates with the data obtained in plasma quantification. This way, *Euterpe oleracea* was found to probably inhibit the metabolism of simvastatin in humans. Based on the food–drug interaction, persons consumption daily açai pulp should be warned of this interaction possibility, readjusting the treatment protocol in some cases.

Keywords: hypercholesterolemia; UHPLC/MS, β,δ -hydroxy acid, simvastatin, açai, *Euterpe oleracea* Mart, pharmacokinetics.

1. Introduction

Hypercholesterolemia is a risk condition for atherosclerosis and early cardiovascular complications. Among the classes of drugs used to reduce the levels of cholesterol are the statins, which limit the biosynthesis of cholesterol in the hepatocytes, increasing the absorption of low-density lipoproteins (LDL) and consequently reducing cholesterol levels. Simvastatin is one of the most prescribed statins. It is a lipid-lowering drug, very present in the daily lives of patients with chronic diseases. Therefore, there is a need to expand the study on its pharmacokinetics. In addition to the food-drug interactions, the pharmacological parameters of statins can be altered by social habits such as the consumption of some foods and alcohol. Interactions with

food are commonly associated with the changes in the gastric emptying and pH or other physiological alteration based in the absorption. In addition to the effects of food on drug absorption, they can also influence their biotransformation. In the liver and intestine, there is a family of isoenzymes named cytochrome P450 (CYP), which metabolizes most drugs, including simvastatin, specifically through CYP3A4. Therefore, the inhibition of this enzyme may cause changes in its serum concentration.

Previous studies show that some fruit, such as grape fruit and açai, are capable of inhibiting these enzymes, mainly CYP3A4. Therefore, it is possible that the açai consumption may affect in the pharmacokinetics of statins. Nonetheless, there is no data in the literature of pre-clinical, *in silico* or clinical trials regarding the interaction of açai with this class of drug. Accordingly the aim of this study was to investigate the effect of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) consumption on the pharmacokinetics of simvastatin by means of *in silico* and clinical studies.

2. Methods

2.1. Materials

Simvastatin tablets (SANDOZ[®]) was obtained from the Brazilian Unified Health System (SUS). Fresh açai pulp was obtained from a local açai producing company (Açai e frios), located in Macapá City, Amapá State, Brazil. Simvastatin and atorvastatin analytical standards were purchased from Carvalhães (purity $\geq 97\%$).

2.2. Physicochemical composition and quantification of total anthocyanins in açai pulp

The açai pulp was analyzed according to parameters: moisture content, amount of proteins, lipids, fibers, total sugar, ash and acidity according to methodologies described by AOAC (2006) and Zenebon and Pascuet (2005).

The total anthocyanin content was determined using the spectrophotometric method (AOAC, 2006). A hydrochloric acid/water/ethanol solution (1/29/70) was used to extract anthocyanins from a 10 mL aliquot of the pulp. The extract was centrifuged for 10 minutes at 10.000rpm and analyzed using a Shimadzu UV 1800 spectrophotometer at wavelengths of 520 nm (Cyanidin 3-glucoside) and 700 nm (Cyanidin 3-rutinoside).

The total anthocyanin content was expressed in cyanidin-3-O-glucoside, which was previously identified as the main anthocyanin found in açai.

2.3. Clinical studies

The study met the ethical considerations set out in resolution 466 of December 12, 2012 of the National Health Council, and was approved by the Research Ethics Committee (CEP) of the Federal University of Amapá (UNIFAP) under the protocol 3.644.080 after registration on Brasil Platform.

Twelve healthy male volunteers aged between 20 and 49 years old, with a body mass index from 19 to 27 kg/m² were chosen. Participants' health was assessed through physical examination, vital signs and laboratory tests (hematological, biochemical tests and urinalysis).

The subjects that incet one of those aspects were excluded: use of illicit drugs within 90 days before the administration of the first dose of simvastatin, used of drugs that induce or inhibit enzymes that metabolize drugs, allergy to simvastatin, allergic disease that requires treatment or if they tested positive for hepatitis or human immunodeficiency virus. All participants in this research consented to participate by signing the informed consent.

2.4. Experimental design

The study was open, where all subjects received two interventions in the same order. Twelve subjects received simvastatin on day 1, in a dose of 20 mg orally after a 10-hour overnight fast. Between days 2 to 5, participants ingested 300 mL of *Euterpe oleracea* pulp, twice a day. On day 6, a new dose of simvastatin 20mg was co-administered orally to the açai pulp.

All doses were administered with water and subjects were not allowed to intake water in the next 2 hours after the administration. All individuals were allocated in the Biochemistry laboratory at the state of university of Amapá, from the administration of simvastatin until the collection of the last blood sample, 12 hours later, with a return scheduled in 24 hours.

2.5. Blood sample collection

Serial venous blood samples for pharmacokinetic evaluation were obtained in EDTA tubes using a 22 mm caliber catheter. Blood samples were collected at intervals of 0, 0.17, 0.34, 0.50, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 12 and 24 hours after administration of simvastatin in each period.

After collection, the samples were centrifuged at 1800rpm for 10 minutes, separating the plasma. It was stored in microtubes at -80°C until analysis. Plasma concentrations of simvastatin and β,δ -hydroxy acid were determined using ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC) coupled to a mass spectrometer (MS/MS).

2.6. Chromatographic conditions, sample preparation and validation

The ultra-performance liquid chromatography system (UHPLC-MS/MS) used for the determination of analytes was UHPLC-MS/MS system consisting of a Nexera 2 UHPLC (Shimadzu®) coupled to an 8040 mass spectrometer (Shimadzu®) and a BEH C18 column (1.7 μm , 2.1 \times 75 mm) (Waters®, USA).

Chromatographic separation was carried out isocratically, using a mixture of methanol: water (50:50, v/v) and 1% acidified water with acetic acid as the mobile phase. Before the first injection, the chromatographic column was equilibrated with the mobile phase for 3 min using an injection volume of 5 μL . The chromatographic conditions were adjusted aiming for a run with fewer interferences and better resolution of the analyte peaks. Simvastatin was detected using the ratio m/z 419.3 > 199.0, atorvastatin (internal standard) m/z 559.09 > 440.21 and simvastatin acid m/z 453.3 > 239.05.

For sample preparation, a stock solution of simvastatin was prepared from the solubilization of 10 mg of simvastatin in 10 mL of methanol, then 2 mL of this solution was added to 8 mL of methanol:water (50:50 v/v) obtaining a final solution of 20 $\mu\text{g/mL}$.

To prepare working solutions in the concentration range of 0.1 ng/mL to 60 ng/mL, the stock solution was diluted in methanol:water (50:50 v/v). All solutions were previously filtered through a 0.22 μm hydrophilic PTFE membrane before injection into the chromatographic system. The solutions were used in the preparation of plasma calibration standards. Standard-uns spiked human plasma was screened prior to spiking to ensure the absence of endogenous interferers on the simvastatin retention times. Plasma protein precipitation was conducted in a plastic microtube, by adding 50 μL of atorvastatin internal standard, 500 μL of plasma, and 500 μL of acetonitrile. The mixture was vortexed for 1 minute and centrifuged for 10 minutes at 15.000 rpm under refrigeration. The supernatant was filtered, added to another vial and injected into UHPLC-MS/MS.

The analytical method validation was carried out according to the Resolution of the Collegiate Board - RDC n° 166, of July 24, 2017 of the Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA): accuracy verified from at least 9 determinations, contemplating the linear range of the analytical method, in low, medium and high concentrations, with 3 replicates at each level; Repeatability and intermediate precision demonstrated by the dispersion of the results, calculating the relative standard deviation (DPR) of the series of measurements. Standard calibration solutions for blank plasma samples were prepared by adding 30 μL of appropriate stock solutions of selected drugs to 270 μL of drug-free plasma provided by healthy volunteers.

Solution linearity and plasma linearity of simvastatin were measured at eight concentrations between 1 – 60 ng/mL, with quality control points low (1.5 ng/mL), medium (20 ng/mL) and high (40 ng/mL). β,δ -hydroxy acid was measured in simvastatin equivalent.

For recovery, selectivity was performed by chromatographic methods proving the chromatographic purity of the analyte signal; Limit of detection was demonstrated by obtaining the smallest amount of analyte present in the sample that can be detected, however, not necessarily quantified, under the established experimental conditions; Limit of quantification was the smallest amount of the sample analyte that could be determined with acceptable precision and accuracy under the established experimental conditions; Linearity: at least 5 different concentrations of the reference substance were used for solutions prepared in at least triplicate, evaluating whether there was a linear relationship; and interval was establishing a high, medium and low concentration of the analyte.

2.7. Statistics

The pharmacokinetic parameters for simvastatin and β,δ -hydroxy acid were determined by the non-compartmental method using Pk Solver (Zhang et al., 2010): area under the plasma concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (AUC 0-t); C_{max}; time to reach C_{max} (t_{max}); terminal elimination half-life (t_{1/2}); volume of distribution (V_d); average residence time from 0 to infinity (MRT 0-inf); and clearance (Cl). Log-transformed AUC_{last} and C_{max} of simvastatin, β,δ -hydroxy acid compared between interventions using a mixed-effects model, and results presented as geometric least squares mean ratio (GMR) and 90% confidence interval (CI). All statistical analyzes were performed using R, and considered significant at the p<0.05 level using a two-sided test.

2.8. *In silico* studies

Fifty chemical structures (Table 1) identified and described in the literature for the species *Euterpe oleracea* (Açaí) were used to study the *in-silico* evaluation of receptor/ligand interaction to obtain a potential inhibitory agent of Cytochrome P4503A4.

Table 1 Chemical components identified and described in the literature in the species *Euterpe oleracea* (Açaí).

#	Molecules	Pubchem CID	Reference
1	Cyanidin 3-glucoside	4481259	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Gordon et al., 2012)
2	Cyanidin 3-rutinoside	441674	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Gordon et al., 2012)
3	3,4-Dihydroxybenzoic acid	72	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
4	4-Hydroxybenzoic acid	135	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
5	Vanillicacid	8468	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
6	Caffeicacid	689043	(Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012)
7	Syringicacid	10742	(Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012)
8	<i>p</i> -Coumaricacid	637542	(Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013)
9	Isoorientin	114776	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
10	Orientin	5281675	(Brunschwig et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
11	Ferulicacid	445858	(Carvalho et al., 2017)
12	Cyanidin-3-O-sambubioside chloride	6602304	(Silva Cedrim et al., 2018)
13	Peonidin 3-rutinoside	44256842	(Brunschwig et al., 2017; Silva Cedrim et al., 2018)
14	Pelargonidin-3- glucoside	443648	(Brunschwig et al., 2017)
15	Delphinidol 3-glucoside	443650	(Brunschwig et al., 2017)
16	3- <i>O</i> -caffeoylquinic acid	1794427	(Gordon et al., 2012)
17	4- <i>O</i> -caffeoylquinic acid	9798666	(Gordon et al., 2012)
18	5- <i>O</i> -caffeoylquinic acid	5280633	(Gordon et al., 2012)
19	3- <i>O</i> -caffeoylshikimic acid	10131826	(Gordon et al., 2012)
20	4- <i>O</i> -caffeoylshikimic acid	49821869	(Gordon et al., 2012)
21	5- <i>O</i> -caffeoylshikimic acid	5281762	(Gordon et al., 2012)
22	Apigenin	5280443	(Gordon et al., 2012)
23	Apigenin 8- <i>C</i> -glucoside	5280441	(Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012)
24	Apigenin 6- <i>C</i> -glucoside	162350	(Gordon et al., 2012)
25	Luteolin	5280445	(Dias et al., 2013; Gordon et al., 2012; Pacheco-Palencia et al., 2009)
26	Luteolin 8- <i>C</i> -glucoside	5281675	(Gordon et al., 2012)
27	Luteolin 6- <i>C</i> -glucoside	114776	(Gordon et al., 2012)
28	(+)-Catechin	9064	(Brunschwig et al., 2017; Dias et al., 2013)
29	Luteolindi-glucoside	44258093	(Brunschwig et al., 2017)

30	(-)-Epicatechin	72276	(Brunschwig et al., 2017)
31	Taxifolin 7-glucoside	14282775	(Brunschwig et al., 2017)
32	Isovitexin-7-olate	25202038	(Brunschwig et al., 2017)
33	Taxifolindeoxyhexose	--	(Brunschwig et al., 2017)
34	Procyanidindimer B5	131752343	(Brunschwig et al., 2017)
35	Isovitexin	162350	(Brunschwig et al., 2017; Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
36	Scoparin	20055255	(Brunschwig et al., 2017)
37	Procyanidin B1	11250133	(Brunschwig et al., 2017)
38	Procyanidin C1	169853	(Brunschwig et al., 2017)
39	Quercetin 3-glucoside	5280804	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
40	Kaempferol 3-Rutinoside	5318767	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
41	Rutin	5280805	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
42	(+)-Dihydrokaempferol	122850	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
43	Chrysoeriol	5280666	(Dias et al., 2013; Pacheco-Palencia et al., 2009)
44	Eriodictyol	440735	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
45	Quercetin	5280343	(Pacheco-Palencia et al., 2009)
46	Gallicacid	370	(Dias et al., 2013)
47	Chlorogenicacid	1794427	(Dias et al., 2013)
48	Luteolin 7-O-glucoside	5280637	(Dias et al., 2013)
49	Chrysoeriol 7-O-glucoside	11294177	(Dias et al., 2013)
50	Taxifolin	439533	(Dias et al., 2013)

Chemical structures were drawn using ChemDraw Ultra 12.0 software and used in MDL Molfile (.mol) format. Then, the geometric optimization of the 3D structure was performed in the ChemSketch software by the Molecular Mechanics method (MM+) with the force field initially based on the CHARMM parameterization (Brooks et al., 1983.; Laxmi, 2017; Mweene & Muzaza, 2020).

2.8.1. Molecular docking

In this step, the molecules were used in molecular docking with analysis of conformations, mode of interaction, and binding affinity with the receptor via energy classification function, which indicates the order of the best free energy score (ΔG) values (R. da S. Ramos et al., 2019; R. S. Ramos et al., 2020, 2022).

2.8.2. Selection the target of crystal structure

The crystal structure of Cytochrome P450 3A4 complexed with tert-butyl {6-oxo-6-[(pyridin-3-ylmethyl)amino]hexyl} carbamate (PK9) was downloaded from the Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) (accessed on: 11/01/2022) with PDB ID 4D75 and 2.25 Å

resolution (Kaur et al., 2016). PK9, Fluconazole, Chloramphenicol, Clarithromycin and Ritonavir were utilized as positive controls in the molecular docking study.

2.8.3. Study of molecular docking

The crystal structure used in the molecular docking was prepared using the Discovery Studio® software (v.16, 2015) [11] to remove residual water and cofactors. The protein structure was protonated using Propka 3.0 (Olsson et al., 2011) to pH= 7, and the energies were minimized using UCSF Chimera® 1.16. In the study of molecular docking, the Cytochrome P450 3A4 receptor and potential ligands were used with flexible simulations in AutoDock 4.2/Vina 1.1.2 and PyRx 0.8.30 (<https://pyrx.sourceforge.io>).

The receptor-ligand complex was used to define the x, y and z average spatial coordinates of the binding site to assign dimension values and the center grid box for molecular docking simulations. The coordinates used for the center of the grid are shown in Table 2.

Table 2 Data from protocols used for molecular docking simulations.

Target	Ligand	Coordenadas Grid	Dimensões Grid
Cytochrome P450 3A4	tert-butyl {6-oxo-6-[(pyridin-3-ylmethyl)amino]hexyl}carbamate	X= -20.379 Y=-19.450 Z=-10.761	20 x 18 y 24 z

2.8.4. Prediction of biological activity by virtual screening

After, the molecular docking study of the potential candidates were submitted to the online Way2Drug PASS web server for biological activity predictions (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline>) (Goel et al., 2011). Using PASS, it was possible to discover the effects of a molecule based entirely on the molecular formula using MNA (multilevel neighboring atoms) descriptors, suggesting that the biological activity is in the function of its chemical structure, in which it is possible to assign the Potential to be active (Pa) and to be inactive (Pi) (Ferreira et al., 2019; Kirchmair et al., 2015.).

3. Results

3.1. Physicochemical evaluation of açai pulp

The results of physicochemical analysis are presented in Table 3.

Table 3. Physicochemical evaluation of açai pulp

Variable	Mean	Standard deviation
Humidity (%)	84.12	0.25
Lipids (%)	8.9	0.61
Proteins (%)	3.39	0.28
Fibers (%)	9.32	0.22
Total anthocyanins (mg/100 g)	62.5	3.1

The moisture value obtained for the açai pulp used in this study was 84.12%, similar to that found by Nascimento and cols (2008) who found a content of 89.18%. Açai pulp is extracted from the edible part of the fruit through softening by hydration. Therefore, the high humidity is linked to the way of extracting the pulp.

Regarding the anthocyanins, the pulp used has a content of 62.5 mg/100g, demonstrating that fruits are rich in anthocyanins, mainly cyanidin 3-O glucoside.

Silva et al., 2017 found similar results, reporting a content of 73.54 mg/100g of açai pulp. Santos et al (2008) found levels of 13.93 to 54.18 mg/100g of total anthocyanins when analyzing twelve pulps sold in Fortaleza, the city of Brazil. In another research, Tonon, Brabet and Hubinger (2009) found 32.81 mg/100g of anthocyanins in açai pulp sold in Belém, Brazil.

The amount of anthocyanins founded in the pulp vary between different authors since anthocyanins are unstable substances that can be degraded by heat and light and therefore adequate packaging is important for this product.

3.2. Effect of açai ingestion on the pharmacokinetic of simvastatin

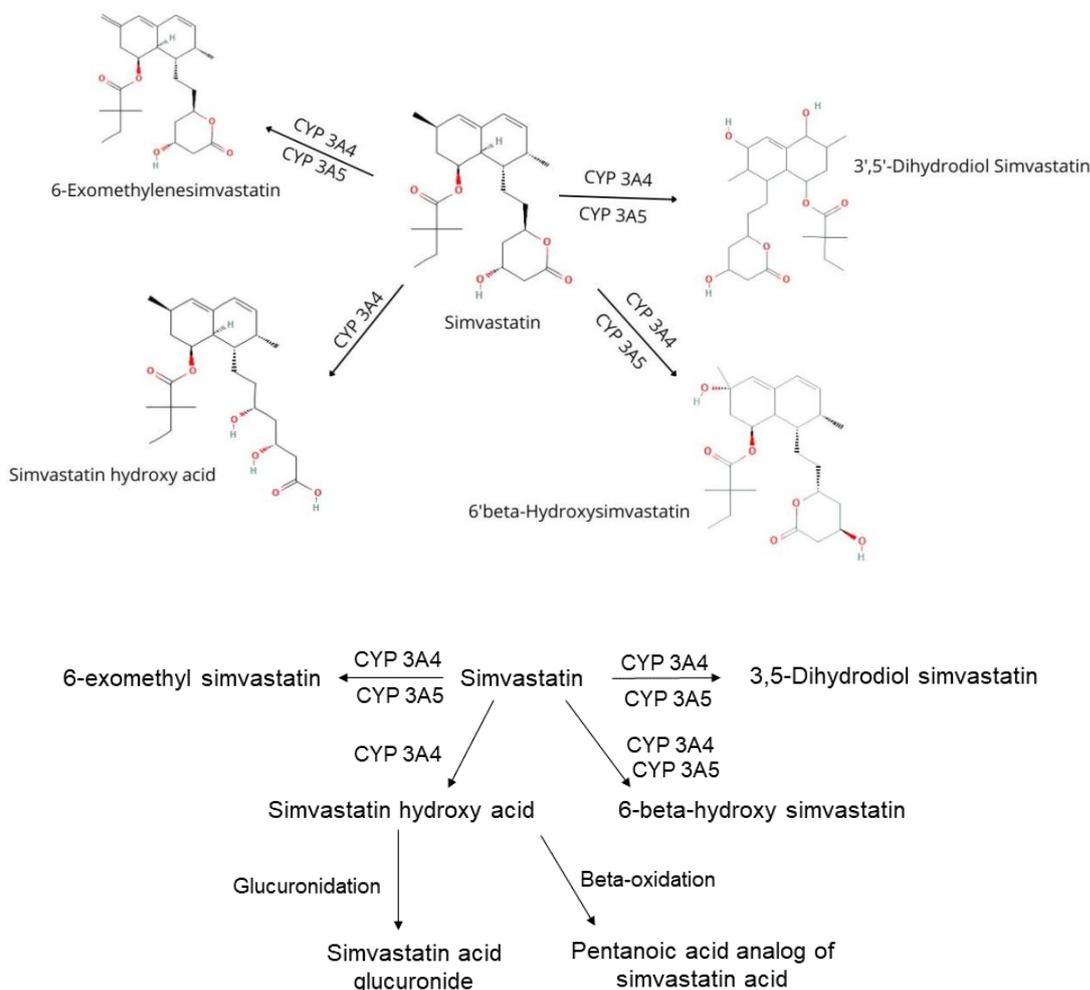
Simvastatin is a semi-synthetic derivative of lovastatin (TALREJA, KERNDT and CASSAGNOL, 2018), which is produced biosynthetically from the fungus *Aspergillus terreus*

(KUMAR AND JAIN, 2012) and has a high log P value, resulting in high hepatic absorption and high efficacy in the control of the cholesterol biosynthesis.

Simvastatin is administered as the inactive lactone derivative that is further metabolically activated to β -hydroxyacid by a combination of spontaneous chemical conversion and enzyme-mediated hydrolysis by nonspecific carboxyesterases in the intestinal wall, liver, and plasma. Oxidative metabolism in the liver is mediated mainly by CYP3A4 and CYP3A5, (Figure 1) with the remaining of metabolism occurring through CYP2C8 and CYP2C9 (TUBIC-GROZDANIS et al., 2008)

The increase or decrease in AUC and Cmax of simvastatin can be explained by the inhibition or induction of CYP 3A4, which acts on first-pass metabolism in the intestinal wall. Due to its extensive first-pass metabolism, simvastatin is susceptible to drug-drug and drug-food interactions (NEUVONEN et al., 1998).

Figure 1. Simvastatin metabolism route by CYP 3A4 and CYP 3A5



There is some concern that some substances that may affect the metabolism of simvastatin may also trigger its adverse effects. Plasma concentrations of the active form of simvastatin can be significantly increased by CYP 3A5 inhibitors. Other substances can accelerate or inhibit metabolism through enzymes that metabolize statins, generating the toxic effects of this class of drugs (LIU et al., 2019). Some substances found in açai pulp are capable of inhibiting some CYP group enzymes. A study by Srovnalova and colleagues (2014) demonstrated that anthocyanins and anthocyanidins can inhibit CYP 3A4 as cyanidin 3-O rhamnoside (>75% inhibition, IC50 = 44 µM) and two delphinidin glycosides significantly inhibited CYP 3A4 and CYP 2C9. In the present study, it was observed that after ingesting açai, individuals showed significant changes in the pharmacokinetic profile of simvastatin and simvastatin acid, such as: decrease in maximum concentration (Cmax), area under curve (AUC), volume of distribution (Vd); clearance (Cl); elimination constant (Ke); and Lambda (λ). Moreover, for β,δ-hydroxyacid, a significant increment on its half-life time (t1/2), mean residence time (MRT) and clearance were observed, while Cmax and AUC values showed a significant reduction. (Table 4).

Table 4. Pharmacokinetic parameters of simvastatin and β,δ-hydroxyacid before and after açai ingestion

PK parameter	Simvastatin	Simvastatin + açai	β,δ-hydroxyacid	β,δ-hydroxyacid + açai
Ke (λ 1/h)	0,08±0,04	0,11±0,10	0,21±0,13	0,16±0,09
t1/2 (h)	13,64±10,62	12,66±13,83	4,17±2,26	5,89±3,88*
Tmax (h)	0,96±0,57	0,91±0,57	0,95±0,63	1,17±1,67
Cmax (ng/mL)	23,23±15,01	18,23±16,18*	2,09±1,26	1,54±1,42***
AUC 0-t (ng/mL*h)	243,93±193,79	213,41±203,41***	12,96±10,24	11,29±13,20**
MRT 0-inf_obs (h)	22,68±11,92	22,42±18,14	165,21±123,80	224,49±227,48*
Vd (mg)/(ng/mL)	2,27±1,99	2,43±2,62**	21,95±27,16	102,38±231,38
Cl (mg)/(ng/ml)/h	0,11±0,08	0,13±0,09*	4,87±7,57	8,24±13,24***

* Low statistical significance ** Medium statistical significance *** High statistical significance

Figures 2 and 3 show the concentration curve of simvastatin and β,δ -hydroxy acid before and after ingestion of açaí for 24 hours.

Figure 2. Simvastatin concentration curve before and after açaí ingestion

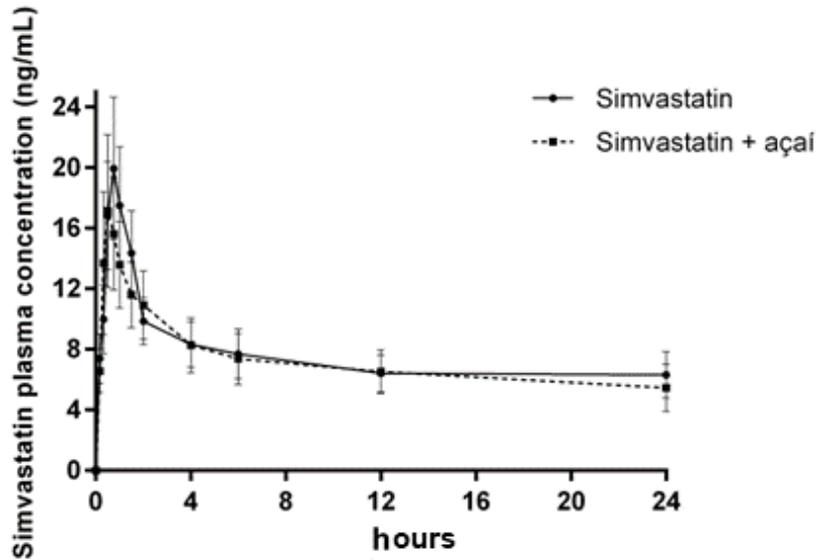
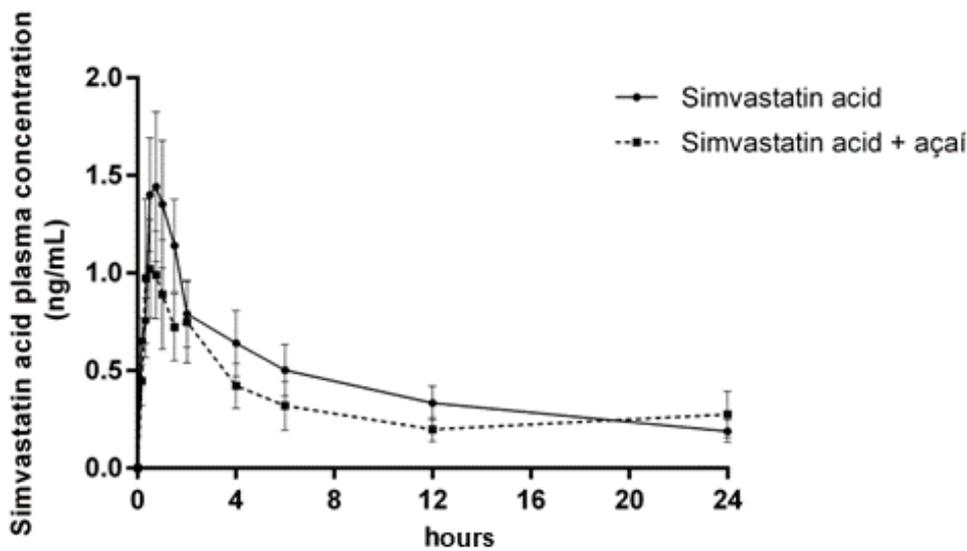


Figure 3. β,δ -hydroxy acid concentration curve before and after açaí ingestion



In order to confirm the data obtained in clinical research, anthocyanidins were monitored for their activity *in silico*. The two main compounds (Cyanidin 3-glucoside, Cyanidin 3-rutinoside) showed inductive activity for CYP 3A4, which corroborates the data obtained in the quantification of blood plasma.

The results of molecular docking protocols were considered satisfactory, as the pose+orientation+relative torsion of the crystallographic ligand and the pose+orientation+torsion (docking) of the simulations were considered similar. The RMSD value between PK9 crystallographic ligand atoms and the docking pose was calculated to be 1.85Å. When the RMSD values are ≤ 2 Å, the docking protocol is considered satisfactory as it presents similarity to the experimental model (R. S. Ramos et al., 2020, 2022). Interactions were quantified in terms of binding affinity relative to control (PK9) and potential Cytochrome P450 3A4 inhibitors.

Inhibitors with the best score in terms of binding affinity were Taxifolin deoxyhexose (**C**), Scoparin (**D**), Eriodictyol (**E**), Chrysoeriol (**F**), and Taxifolin (**G**) in which the interactions were similar to those observed in the PK9 control for the amino acid residues Ser119, Arg212, Ala305, and Ala370 and with less recurrent Thr309. These interaction contributions corroborate the literature data for classification of potential active constituents inhibitors of CYP3A4 (Kaur et al., 2016; Niwa et al., 2010), as shown in **Table 5**.

Table 5 Binding affinity results and main interactions at the Cytochrome P450 3A4 receptor. BA- Binding Affinity (kcal/mol).

Complex (receptor-ligand)	BA*	H-Bond	Lipophilic Interactions
PK9	-5.5	Arg212	Phe215, Ala305, Ala370, Met371
Fluconazole	-6.0	Phe304	Phe108, Phe304, Ala305
Chloramphenicol	-5.0	Arg212, Ala370	Phe304, Ala370
Clarithromycin	16.2	Arg105	Ph3108, Ser119, Ile120, Arg212, Phe213, Phe215, Cys442
Ritonavir	-0.1	Cys442	Phe108, Ile120, Arg212, Phe215, Phe304, Ile369, Ala370
Taxifolindeoxyhexose	-6.6	Ser119, Arg212	Ala305, Ala370
Scoparin	-6.6	Ser119, Arg212	Phe108, Arg212, Ph304, Thr309, Ile369, Ala370
Eriodictyol	-5.6	--	Ile369, Ala370
Chrysoeriol	-5.7	Arg212	Phe108, Ile369, Phe304, Trh309, Ala370
Taxifolin	-5.6	Ile369, Phe304, Ala370	Arg212, Ala305, Ala370

Biological activity prediction via the PASS web server resulted in the data shown in **Table 6**. Fluconazole, Chloramphenicol, Clarithromycin and Ritonavir showed CYP3A4 inhibitor and substrate activity except for PK9, which corroborates the results in the literature (Kaur et al., 2016).

Table 6 Biological activity prediction values of selected potential ligands. **Pa^a** - potential to be active; **Pi^b**- potential to be inactive.

Ligand	(Pa)^a	(Pi)^b	Biological activity prediction
PK9	--	--	--
Cyanidin 3-glucoside	0,842	0,005	CYP3A4 inducer
	0,355	0,113	CYP3A4 substrate
	0,487	0,041	CYP3A5 substrate
Cyanidin 3-rutinoside	0,871	0,004	CYP3A4 inducer
	0,676	0,029	CYP3A4 substrate
	0,597	0,025	CYP3A5 substrate
Fluconazole	0.682	0.004	CYP3A4 inhibitor
	0.618	0.037	CYP3A4 substrate
Chloramphenicol	0.278	0.044	CYP3A4 inhibitor
	0.428	0.080	CYP3A4 substrate
Clarithromycin	0.519	0.005	CYP3A4 inhibitor
	0.974	0.001	CYP3A4 substrate
Ritonavir	0.490	0.005	CYP3A4 inhibitor
Taxifolindeoxyhexose	0.888	0.003	CYP3A4 inducer
	0.594	0.042	CYP3A4 substrate
Scoparin	0.834	0.005	CYP3A4 inducer
	0.296	0.153	CYP3A4 substrate
Eriodictyol	0.800	0.007	CYP3A4 inducer
	0.563	0.050	CYP3A4 substrate
	0.178	0.153	CYP3A4 inhibitor
Chrysoeriol	0.846	0.005	CYP3A4 inducer
	0.609	0.039	CYP3A4 substrate
	0.216	0.103	CYP3A4 inhibitor
Taxifolin	0.860	0.004	CYP3A4 inducer
	0.397	0.090	CYP3A4 substrate

4. Discussion

Concerning simvastatin pharmacokinetics, the peak plasma concentration of β,δ -hydroxy acid is reached between 1.3 and 2.4 hours after ingesting a single dose of simvastatin. Although the recommended therapeutic dosage is 10 to 40 mg daily, there is no deviation from the linearity of the area under the curve (AUC) with a dose increased up to 120 mg. Regarding the fasting state, the plasma profile is not affected when simvastatin was administered immediately before a meal (Food and Drug Administration, 2012). In a study with 17 healthy volunteers who ingested 40 mg simvastatin tablets, the main pharmacokinetic parameters found were: T_{max} = 1.44 hours, C_{max} = 9.83 $\mu\text{g/L}$, $T_{1/2}$ = 4.85 hours and AUC = 40.32 $\mu\text{g.h/L}$ (Zhaou et al., 2013). In animal studies, following oral administration, simvastatin reached higher concentrations in the liver than in non-target tissues. However, as simvastatin undergoes extensive first-pass metabolism, systemic bioavailability is low. In a single-dose study in nine healthy subjects, it was estimated that less than 5% of an oral dose of simvastatin reached the general circulation in the form of active inhibitors (Health Canada Monograph, 2012).

According to a study carried out by Rindone (1999), which aimed to evaluate the response to lower doses of simvastatin in patients with hypercholesterolemia, they demonstrated that more than 80% of patients who received doses of 2.5 to 10 mg/day had a satisfactory reduction and control of the lipid profile compared to patients who received doses of 40 mg/day.

Simvastatin is a semi-synthetic derivative of lovastatin (TALREJA, KERNDT and CASSAGNOL, 2018), which is produced biosynthetically from the fungus *Aspergillus terreus* (KUMAR AND JAIN, 2012) and has a high log P value, resulting in high hepatic absorption and high efficacy. in the control of cholesterol synthesis.

The main active metabolites of simvastatin are the β,δ -hydroxyacid metabolite and its derivatives 6'-hydroxy, 6'-hydroxymethyl and 6'-exomethylene. Polymorphisms in the CYP3A5 gene have been shown to affect simvastatin disposition and may provide a plausible explanation for the interindividual variability of simvastatin disposition and pharmacokinetics (KIM et al, 2007).

Similar to other statins, simvastatin has two moieties, a dihydroxyheptanoic acid unit (pharmacophore) and a ring system with lipophilic substituents. It contains a modified hydroxyglutaric acid component, which structurally resembles the 3-hydroxyglutaryl unit of both the substrate (HMG CoA) and the transition state intermediate mevalonylCoA, making simvastatin a potent competitive inhibitor of HMG-CoA reductase (LENNERNAS AND FAGER , 1997; ROCHE, 2005).

The most associated adverse effects to statins are myopathy and asymptomatic increase in hepatic transaminases, which can lead to hepatotoxicity. In one widely reported case known as the "lipobay incident," 31 documented cases in which patients taking cerivastatin died from severe myopathy due to dissolution of striated muscle, which has since drawn attention to the risks of statin use (Zeman, Zak , Vecka and Romaniv, 2003). Statin-associated muscle symptoms are reported by 10 to 29% of patients in clinical practices, which are a major determinant of statin nonadherence, discontinuation and switching (Jacobson, Khan, Maki, Brinton, & Cohen, 2017).

Although statins are the most widely prescribed class of drugs for coronary arterial disease, a recent cross-sectional study conducted among 300 adult patients with coronary arterial disease visiting the outpatient clinic of a tertiary care hospital in northern India, who were receiving statins for their diagnosis, revealed that myopathy and muscle-related diseases, such as muscle pain, cramps and muscle weakness, were the most prevalent side effects (32, 34 and 47%, respectively), followed by numbness, tingling and blazing in the extremities (31%) (Mulchandani, Lyngdoh, Chakraborty, & Kakkar, 2017). Furthermore, joint pain and cognitive impairments were observed in almost 20% of patients (Mulchandani et al., 2017).

Studies have clearly demonstrated that statins can cause idiosyncratic hepatotoxicity. Statins are also known to increase alanine aminotransferase (ALT), with a slight dose dependence, as ALT increases for higher statin doses (Schulze & Glass, 2012). Although statins can be administered to hepatopathic patients, this can cause a certain degree of liver toxicity.

In addition to myopathy, commonly used statins also increase the risk of hyperkalemia (Deska&Nowicki, 2017). Treatment options for hypercholesterolemia in patients with statin intolerance and myotonic dystrophy are currently limited, with some patients developing severe myalgias in the proximal lower and upper extremities shortly after simvastatin treatment, along with an increase in serum creatine kinase (CK) to 317 U/L (Shakir, Shin, Hoang & Mai, 2017). Patients treated with various statins, including rosuvastatin, subsequently had similar outcomes (Shakir et al., 2017).

Although the only truly reliable adverse effects caused by statins are muscle-related, type 2 diabetes and probably hemorrhagic infarction (Collins et al., 2016; Newman et al., 2019), it is necessary to consider all clinical manifestations of the toxicity and intolerance induced by statins, which can directly impact therapeutic adherence.

A natural product known to also inhibit CYP 3A4 is grapefruit juice. Lijia and collaborators (2003) demonstrated that 10 healthy volunteers were divided into 2 groups where one group ingested 200 mL of grapefruit juice and the other ingested water and were subsequently

administered 40 mg simvastatin tablets and evaluated for 24 hours. Grapefruit juice was shown to considerably increase the plasma concentration of simvastatin in all participants with the mean AUC increased by 3.6-fold and the mean C_{max} increased by 3.9-fold, but without a significant change in t_{1/2}. In relation to simvastatin β,δ-hydroxy acid there was a 3.3-fold and 4.3-fold increase in mean AUC and mean C_{max}, respectively.

The same author subsequently evaluated the duration of the CYP 3A4 inhibitory effect of simvastatin and its β,δ-hydroxyacid metabolite. It was observed that when simvastatin was administered with the ingestion of grapefruit juice, the mean C_{max} and AUC increased by 12.0 and 13.5 times (Lilja, Kivisto, and Neuvonen, 2000).

When simvastatin was administered 24 hours after the last ingestion of grapefruit juice, the mean C_{max} and AUC increased 2.4 and 2.1 times and for the hydroxy acid the increase was 5.0 and 4.5 times. Another parameter evaluated was clearance, where it was observed that the clearance after ingestion of grapefruit juice was 15 times lower than the clearance in the control group and after 24 hours the clearance was 2 times lower than the clearance in the control group (Lilja, Kivisto and Neuvonen, 2000).

Other authors used St. John's wort, a potent CYP 3A4 inducer, in 16 healthy patients using 10 mg simvastatin tablets and analyzed for 24 hours. Treatment with this herb demonstrated a decrease in the plasma concentration of simvastatin and its active metabolite. St. John's wort reduced AUC by 0.66 times and C_{max} by 0.88 times, but without statistical significance (SUGIMOTO et al., 2001).

For CYP3A4 substrates, a certain degree of drug interaction is expected at the level of the intestinal wall due to the anatomical position of the small intestine. It represents the first in the series of first-pass eliminative organs and, therefore, is exposed to a high concentration of inhibitors or inducers administered orally. Several *in vitro* studies have evaluated the catalytic activity of intestinal P450 enzymes compared to the liver (OBACH et al., 2001; VON RICHTER et al, 2004).

Other studies have demonstrated that anthocyanins and anthocyanidins are weak inhibitors of CYP 3A4, with IC₅₀ values ranging between 12.2 and 249 μM (DREISEITEL et al., 2008). In relation to other CYPs, such as CYP 2D6, anthocyanins and anthocyanidins had IC₅₀ values between 55 and 800 μM (DREISEITEL et al., 2009). Based on the food–drug interaction, persons taking daily açai should be warned of simvastatin interaction possibility.

5. References

BADER, Ted. Reply to:“Statin hepatotoxicity and the dilemma of causality in rare hepatic adverse drug reactions”. *Journal of hepatology*, v. 57, n. 3, p. 703-704, 2012.

COLLINS, Rory et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *The Lancet*, v. 388, n. 10059, p. 2532-2561, 2016.

DA SILVA, Aline Kazumi Nakata et al. Composição nutricional e capacidade antioxidante da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* M.). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 11, n. 1, 2017.

DESKA, P.; NOWICKI, M. Short-term changes of serum potassium concentration induced by physical exercise in patients with arterial hypertension treated with angiotensin-converting enzyme inhibition alone or in combination with statin. *Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 68, n. 1, 2017.

DREISEITEL, Andrea et al. Anthocyanins and their metabolites are weak inhibitors of cytochrome P450 3A4. *Molecular nutrition & food research*, v. 52, n. 12, p. 1428-1433, 2008.

DREISEITEL, Andrea et al. Anthocyanins and anthocyanidins are poor inhibitors of CYP2D6. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, v. 31, n. 1, p. 3-9, 2009.

JACOBSON, Terry A. et al. Provider recommendations for patient-reported muscle symptoms on statin therapy: Insights from the Understanding Statin Use in America and Gaps in Patient Education survey. *Journal of clinical lipidology*, v. 12, n. 1, p. 78-88, 2018.

KIM, Kyoung-Ah et al. Effect of polymorphic CYP3A5 genotype on the single-dose simvastatin pharmacokinetics in healthy subjects. *The Journal of Clinical Pharmacology*, v. 47, n. 1, p. 87-93, 2007.

KUMAR BASNIWAL, Pawan; JAIN, Deepti. Simvastatin: review of updates on recent trends in pharmacokinetics, pharmacodynamics, drug–drug interaction, impurities and analytical methods. *Current Pharmaceutical Analysis*, v. 8, n. 2, p. 135-156, 2012.

LENNERNÄS, Hans; FAGER, Gunnar. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors: similarities and differences. *Clinical pharmacokinetics*, v. 32, p. 403-425, 1997.

LIU, Aimei et al. Statins: Adverse reactions, oxidative stress and metabolic interactions. *Pharmacology & therapeutics*, v. 195, p. 54-84, 2019.

LILJA, Jari J.; KIVISTÖ, Kari T.; NEUVONEN, Pertti J. Duration of effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of the CYP3A4 substrate simvastatin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 68, n. 4, p. 384-390, 2000

LILJA, Jari J.; NEUVONEN, Mikko; NEUVONEN, Pertti J. Effects of regular consumption of grapefruit juice on the pharmacokinetics of simvastatin. *British journal of clinical pharmacology*, v. 58, n. 1, p. 56-60, 2004.

MULCHANDANI, Rubina et al. Statin related adverse effects and patient education: a study from resource limited settings. *Acta Cardiologica*, v. 73, n. 4, p. 393-401, 2018.

NEUVONEN, Pertti J.; KANTOLA, Teemu; KIVISTÖ, Kari T. Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP3A4 inhibitor itraconazole. *Clinical pharmacology & therapeutics*, v. 63, n. 3, p. 332-341, 1998.

NEWMAN, Connie B. et al. Statin safety and associated adverse events: a scientific statement from the American Heart Association. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, v. 39, n. 2, p. e38-e81, 2019.

OBACH, R. Scott et al. Metabolic characterization of the major human small intestinal cytochrome p450s. *Drug Metabolism and Disposition*, v. 29, n. 3, p. 347-352, 2001.

RINDONE, Joseph P. The outcome of very low dosages of simvastatin in patients with hypercholesterolemia. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, v. 19, n. 4, p. 399-403, 1999.

ROCHE, Victoria F. Antihyperlipidemic statins: a self-contained, clinically relevant medicinal chemistry lesson. *American journal of pharmaceutical education*, v. 69, n. 1-5, p. 546, 2005.

SANTOS, Gerusa Matias et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). *Archivoslatinoamericanos de nutricion*, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SHAKIR, Mohamed KM et al. Successful treatment of a patient with statin-induced myopathy and myotonic dystrophy type II with proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor, alirocumab (Praluent). *Journal of Clinical Lipidology*, v. 11, n. 6, p. 1485-1487, 2017.

SROVNALOVA, Alzbeta et al. Effects of anthocyanidins and anthocyanins on the expression and catalytic activities of CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, and CYP3A4 in primary human hepatocytes and human liver microsomes. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 62, n. 3, p. 789-797, 2014.

SUGIMOTO, Koh-ichi et al. Different effects of St John's wort on the pharmacokinetics of simvastatin and pravastatin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 70, n. 6, p. 518-524, 2001.

TALREJA, Om; KERNDT, Connor C.; CASSAGNOL, Manouchkathe. *Simvastatin*. 2018.

TONON, Renata Valeriano; BRABET, Catherine; HUBINGER, Míriam Dupas. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. *Food Science and Technology*, v. 29, p. 444-450, 2009.

VON RICHTER, Oliver et al. Cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein expression in human small intestinal enterocytes and hepatocytes: a comparative analysis in paired tissue specimens. *Clinical pharmacology & therapeutics*, v. 75, n. 3, p. 172-183, 2004.

ZEMAN, M. et al. Long-term hypolipidemic treatment of mixed hyperlipidemia with a combination of statins and fibrates. *Casopislekaruceskych*, v. 142, n. 8, p. 500-504, 2003.

ZHOU, Quan et al. Simvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese subjects and its relations with CYP2C9, CYP3A5, ABCB1, ABCG2 and SLCO1B1 polymorphisms. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 68, n. 2, p. 124-128, 2013.

ZHANG, Yong et al. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. **Computer methods and programs in biomedicine**, v. 99, n. 3, p. 306-314, 2010.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

ANEXO III – PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Euterpe oleracea Mart. ALTERA A FARMACOCINÉTICA DOS MEDICAMENTOS DA CLASSE DAS ESTATINAS METABOLIZADOS POR CYP3A4 EM HUMANOS? **Pesquisador:** RODRIGO PINTO DA COSTA **Área Temática:**

Versão: 2

CAAE: 16332619.2.0000.0003

Instituição Proponente: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.644.080

Apresentação do Projeto:

Conforme parecer anterior

Objetivo da Pesquisa:

Conforme parecer anterior

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme parecer anterior

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante e exequível

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de acordo com a resolução 466/2012 e 510/2016

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAPÁ - UNIFAP



Continuação do Parecer: 3.644.080

Endereço: Rodovia Juscelino Kubistcheck de Oliveira - Km.02

Bairro: Bairro Universidade

CEP: 68.902-280

UF: AP

Município: MACAPA

Telefone: (96)4009-2805

Fax: (96)4009-2804

E-mail: cep@unifap.br

Página 01 de 02

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1368055.pdf	19/09/2019 11:40:21		Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoAssinada.pdf	19/09/2019 11:39:40	RODRIGO PINTO DA COSTA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	31/05/2019 17:54:58	RODRIGO PINTO DA COSTA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	31/05/2019 17:52:43	RODRIGO PINTO DA COSTA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MACAPA, 16 de Outubro de 2019

Assinado por:
RAPHAELLE SOUSA BORGES
Coordenador(a)

December 4th, 2023.

Editor-in-Chief of Scientific Reports

I am pleased to submit an original research article entitled “Food-drug interaction: effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) on the pharmacokinetics of statins (simvastatin) metabolized by CYP3A4 in humans” for consideration for publication in *Scientific Reports*.

This manuscript proposes for the first time the effect of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) on the pharmacokinetics of simvastatin metabolized by CYP3A4 in clinical and in silico studies. The increasing popularity, production, and exportation of açai, and its consumption worldwide, has increased the interest of researchers to investigate the possible effects of açai with medicines. According to our knowledge there is no data in the literature on pre-clinical, in silico, or clinical trials on the interaction of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) with these classes of medications; thus, the present study investigated the effect of Açai on the pharmacokinetics of simvastatin metabolized by CYP3A4 in clinical and in silico studies.

We believe that this manuscript is appropriate for publication in *Scientific Reports* because this research is related to health care. Furthermore this manuscript has not been published and is not under consideration for publication elsewhere. We have not had any previous discussions with a member of the *Scientific Reports* Editorial Board about the work described in our manuscript. Add we have no conflicts of interest to disclose.

Thank you for your consideration.

Sincerely,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Lilian G S Solori', written over a horizontal line.

Lílian G S Solori, PhD

Professor, Drug and Food Quality Control

Laboratory Federal University of Amapá, Brazil.

Post-Graduate Program in Pharmaceutical Sciences - PPGCF, Federal University of Amapá – UNIFAP, Rod.

Juscelino Kubitschek, Km2, Macapá, AP 68903-419, Brazil.

Phone: +55-96-98101-9997