

FABIANA MESQUITA ROESE

**EFEITO DA ESPÉCIE *GUAZUMA ULMIFOLIA*
(STERCULIACEAE) NO PESO CORPORAL E NO PERFIL
SÉRICO DE RATOS WISTAR INDUZIDOS À OBESIDADE.**

CAMPO GRANDE - MS
2011

FABIANA MESQUITA ROESE

**EFEITO DA ESPÉCIE *GUAZUMA ULMIFOLIA*
(STERCULIACEAE) NO PESO CORPORAL E NO PERFIL
SÉRICO DE RATOS WISTAR INDUZIDOS À OBESIDADE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro – Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Lima Ramos

CAMPO GRANDE - MS
2011

AGRADECIMENTOS

À Deus por iluminar o meu caminho e por ter me dado forças para que pudesse concluir mais uma etapa da minha vida.

Aos meus queridos pais, Roberto e Léia, por toda dedicação e amor incondicional, pelas palavras de carinho, conforto e encorajamento.

Às minhas irmãs Fernanda e Andréa, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade, carinho e apoio. Sou grata por se aventurarem nas coletas de frutos e pela paciência em assistirem aos meus vídeos. Fer, obrigada pelo seu amor e dedicação.

A todos os meus familiares, em especial aos meus avós, pela presença constante, pelas orações e amor que sempre me dedicaram.

Ao Marcos Alexandre, por todo amor, companheirismo, compreensão e por sempre ter me incentivado.

À “amiga-irmã” Patrícia, pelas sugestões e essencial colaboração no desenvolvimento deste trabalho e, principalmente, pela sua valiosa amizade. Meus sinceros agradecimentos a toda sua família (Olga, Paulo e Aline) pelo acolhimento e carinho.

À Nayara, que além de participar diretamente no desenvolvimento deste trabalho, me presenteou com sua amizade. Muito obrigada pela agradável companhia, pelas conversas, apoio e carinho.

À professora Dra. Maria Isabel Lima Ramos, pela excelente orientação, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pelos conhecimentos transmitidos, pelo apoio e pela confiança.

Aos professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde pública (DTA), em especial ao professor Dr. José Antônio Braga Neto e à professora Dra. Priscila Aiko Hiane, pelos apontamentos e pela atenção dispensada.

Aos técnicos do DTA: Osmar, Márcio, Maurício, Magalli, Mariana e Michelly sempre prestativos, pelo suporte técnico, pelas risadas e momentos de descontração.

Ao Prof. Dr. Walmir Silva Garcez, pela colaboração e por me receber em seu laboratório. À Valquíria, pelo auxílio na realização das análises de atividade antioxidante.

A todos os funcionários do Biotério Central pela assistência, em especial, à médica veterinária Elane Fabrício de Jesus, pela colaboração e auxílio na coleta de sangue dos animais.

À farmacêutica-bioquímica Sandra Maura Agüena, pela execução das análises bioquímicas e por todo auxílio prestado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, aos docentes e à colega Liliane pela agradável companhia e amizade.

À CAPES, pela bolsa concedida e à PROPP/UFMS (Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul), pelo suporte financeiro.

À amiga Lívia, que apesar da distância, sempre esteve presente, me dando forças e me contagiando com sua alegria.

À amiga Camila, pelo carinho, apoio e amizade.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é "muito" para ser insignificante.”

Augusto Branco

RESUMO

Roese FM. **Efeito da espécie *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae) no peso corporal e no perfil sérico de ratos Wistar induzidos à obesidade.** Campo Grande; 2011. [Dissertação – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Atualmente a obesidade é um problema de saúde pública mundial, representando um maior risco para o desenvolvimento de doenças como diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e dislipidemias. Pesquisas científicas têm demonstrado os efeitos benéficos do consumo de produtos naturais na prevenção e no tratamento dessas enfermidades, principalmente pelo elevado teor de compostos fenólicos presentes, que são reconhecidos por sua capacidade antioxidante. *Guazuma ulmifolia* (chico-magro), espécie comum no Cerrado brasileiro, tem sido utilizada pela medicina popular, no entanto, considerando a escassez de estudos referentes a essa espécie, o objetivo do presente trabalho foi fornecer embasamento científico no uso de suas cascas e frutos no tratamento alternativo da obesidade, bem como avaliar seu potencial antioxidante. Os teores de compostos fenólicos dos extratos aquosos, etanólicos e acetônicos dos frutos e das cascas foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu e, para determinação da atividade antioxidante, foi avaliada a atividade sequestrante do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). As análises da composição centesimal das matérias-primas e das dietas preparadas para o estudo foram realizadas de acordo com os métodos do Instituto Adolfo Lutz (IAL) e Association of Official Analytical Chemists (AOAC). O delineamento experimental compreendeu a indução da obesidade no primeiro período (10 semanas) e a avaliação da ingestão do chá da casca e do chá do fruto no segundo período (8 semanas). Para isso, foram utilizados 40 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*) obtidos após o desmame, divididos aleatoriamente conforme a intervenção escolhida. Os animais foram avaliados quanto ao ganho de peso e consumo de ração. Ao final dos dois períodos, as análises bioquímicas foram determinadas por sistema automatizado Cobas Integra® 400 plus (Roche). Para significância dos dados foi utilizado análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Tanto para o fruto como para a casca de *G. ulmifolia*, a extração de compostos fenólicos com solventes orgânicos (etanol e acetona) foi mais eficiente que a extração por decocção. Os extratos da casca demonstraram elevada capacidade antioxidante, a qual pode ser associada ao maior conteúdo de compostos fenólicos. A intervenção com o chá da casca influenciou o consumo de ração pelos animais, que apresentaram menor tendência de ganho de peso e melhora nos níveis de colesterol total e triglicérides. Dessa forma, os compostos biologicamente ativos presentes na espécie *G. ulmifolia* mostraram-se capazes de contribuir para o tratamento de doenças relacionadas a processos oxidativos, assim como para a obesidade.

PALAVRAS-CHAVE: CHICO-MAGRO, *GUAZUMA ULMIFOLIA*, COMPOSTOS FENÓLICOS, ANTIOXIDANTES, PERFIL LIPÍDICO.

ABSTRACT

Roese, FM. **Effect of species *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae) on body weight and serum profile of Wistar rats induced to obesity.** Campo Grande; 2011. [Master thesis - Faculty of Medicine, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Currently obesity is a worldwide public health problem, representing a higher risk for developing diseases such as: diabetes mellitus, cardiovascular disease and dyslipidemia. Scientific studies have shown the beneficial effects of consumption of natural products in the prevention and treatment of these diseases, mainly by the high content of phenolic compounds present in it, which are recognized for their antioxidant capacity. *Guazuma ulmifolia* (chico-magro), a common species in Brazilian's Cerrado, have been used in popular medicine, however, considering the lack of literature on this species, the purpose of this study was to provide scientific basis in the usage of their barks and fruits in the alternative obesity treatment, as well as, to evaluate its antioxidant potential. The levels of phenolic compounds from aqueous, ethanol and acetone extracts from fruits and barks were quantified by Folin-Ciocalteu's methods and for determination of the antioxidant activity, we evaluated the radical scavenging assay activity 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Analyses of proximate composition of raw materials and prepared diets for the study were performed according to the of the Instituto Adolfo Lutz (IAL) and Association of Official Analytical Chemists (AOAC) methods . The experiment involved the induction of obesity in the first period (10 weeks) and evaluation of intake of bark tea and fruit tea in the second period (8 weeks). In the study, 40 male Wistar Rats (*Rattus Novergicus*) were divided up randomly according to their chosen intervention. The animals were assessed for their weight gain and feed intake. At the end of two periods, the biochemical analysis were determined by automated Cobas Integra ® 400 plus (Roche). For significance of the data were used analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test ($p \leq 0.05$). For both the fruit and the bark of *G. ulmifolia*, the extraction of phenolic compounds with organic solvents (ethanol and acetone) was more efficient than extraction by decoction. The bark extracts showed high antioxidant capacity, which was associated with higher content of phenolic compounds. Intervention with bark tea influenced the feed consumption by animals and they showed less tendency to weight gain and an improvement in the levels of total cholesterol and triglycerides. Thus, the biologically active compounds present in the species *G. ulmifolia* were capable of contributing to the treatment of diseases related to oxidative processes, as well as obesity.

KEYWORDS: CHICO-MAGRO, *GUAZUMA ULMIFOLIA*, PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANTS, LIPIDIC PROFILE.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação da obesidade segundo o Índice de Massa Corporal (IMC) e o Risco de doença.....	15
Tabela 2 – Formulações das dietas preparadas para os ratos Wistar durante o ensaio biológico	34
Tabela 3 – Delineamento experimental em função dos grupos e das dietas	35
Tabela 4 – Composição centesimal das matérias-primas fruto e casca, expressas em g.100g ⁻¹ de amostra integral.....	42
Tabela 5 – Composição centesimal das dietas experimentais padrão e hiperlipídica, expressas em g.100g ⁻¹ de amostra integral.....	43
Tabela 6 – Teores de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE).....	44
Tabela 7 – Determinação da atividade antioxidante, expressa em µg.mL ⁻¹ do extrato capaz de causar inibição de 50% (IC ₅₀).....	46
Tabela 8 – Percentual de inibição de oxidação em função da concentração das amostras analisadas.....	47
Tabela 9 – Ganho de peso e média dos pesos corpóreos inicial e final dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e dieta hiperlipídica (DH) durante o 2º período experimental	52
Tabela 10 – Ingestão alimentar diária dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) durante o 2º período experimental.....	53
Tabela 11 – Parâmetros bioquímicos dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) ao final do 1º período experimental.....	56
Tabela 12 – Parâmetros bioquímicos dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) ao final do 2º período experimental.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fruto da espécie vegetal <i>Guazuma ulmifolia</i> e suas sementes	21
Figura 2 – Espécie vegetal <i>Guazuma ulmifolia</i>	22
Figura 3 – Estrutura química do núcleo flavan-3-ol	23
Figura 4 – Unidades monoméricas das principais proantocianidinas.	24
Figura 5 – Exemplo de proantocianidinas do tipo A (A) e do tipo B (B).	24
Figura 6 – Mecanismo de redução de compostos fenólicos	26
Figura 7 – Estrutura do DPPH antes e depois de reagir com um antioxidante	27
Figura 8 – Percentual de inibição de oxidação em função da concentração da amostra.	32
Figura 9 – (A) Caixa de polipropileno com água e ração sob o sistema de livre acesso. (B) Estante ventilada com circulação de ar e temperatura controlada.	33
Figura 10 – Administração do chá com cânula orogástrica.	36
Figura 11 – Coleta de sangue a partir do seio orbital.	37
Figura 12 – Princípio do método para determinação de glicose.....	37
Figura 13 - Princípio do método para determinação de colesterol total.	38
Figura 14 – Princípio do método para determinação de triglicerídeos.	39
Figura 15 – Princípio do método para determinação de lipoproteína de alta densidade (HDL).	40
Figura 16 – Princípio do método para determinação de lipoproteína de baixa densidade (LDL).	40
Figura 17 – Evolução do peso corpóreo dos animais submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) durante o 1º período experimental.....	50
Figura 18 – Evolução do peso corpóreo dos animais dos grupos G1 (DP + água), G2 (DH + água), G3 (DH + chá do fruto) e G4 (DH + chá da casca) durante o 2º período experimental.	51
Figura 19 – Consumo de dieta padrão pelo grupo G1 (água) e hiperlipídica pelos grupos G2 (água), G3 (chá do fruto) e G4 (chá da casca) durante o 2º período experimental.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIN	American Institute of Nutrition
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CT	Colesterol total
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV	Doenças cardiovasculares
DH	Dieta Hiperlipídica
DP	Dieta Padrão
DTA	Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
GAE	Equivalente em ácido gálico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
OMS	Organização Mundial de Saúde
TG	Triglicerídeos
TMB	Taxa metabólica basal
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
dL	Decilitro
%	Porcentagem
g	Gramma
°C	Graus Celsius
cm	Centímetros
kcal	Kilocaloria
kg	Kilograma
m	Metro
μg	Micrograma
μL	Microlitro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
rpm	Rotação por minuto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Obesidade e Saúde Pública	15
2.2	Produtos naturais no tratamento da obesidade	20
2.3	Espécie <i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	21
2.4	Compostos fenólicos e atividade antioxidante	25
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivo geral	28
3.2	Objetivos específicos	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	Material	29
4.2	Caracterização da matéria-prima	29
4.3	Preparo dos extratos	30
4.4	Determinação de compostos fenólicos	30
4.5	Avaliação da atividade antioxidante	31
4.6	Ensaio biológico	32
4.6.1	Animais e condições experimentais	32
4.6.2	Preparo das dietas	33
4.6.3	Preparo do chá	34
4.6.4	Delineamento experimental	35
4.6.5	Ganho de peso	36
4.6.6	Consumo alimentar	36
4.6.7	Parâmetros bioquímicos	36
4.6.7.1	Glicose	37
4.6.7.2	Colesterol total	38

4.6.7.3	Triglicerídeos	38
4.6.7.4	Lipoproteína de alta densidade (HDL)	39
4.6.7.5	Lipoproteína de baixa densidade (LDL).....	40
4.6.7.6	Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL)	41
4.7	Análise estatística	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1	Composição centesimal	42
5.1.1	Matéria-prima	42
5.1.2	Dietas elaboradas	43
5.2	Teores de compostos fenólicos	43
5.3	Avaliação da atividade antioxidante.....	46
5.4	Ensaio biológico.....	49
5.4.1	Consumo alimentar e ganho de peso	49
5.4.2	Análises bioquímicas	55
6	CONCLUSÕES.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
	ANEXO A.....	80

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um dos mais importantes fenômenos clínico-epidemiológicos da atualidade e suas consequências vão de um risco aumentado de morte prematura a várias doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), que afetam diretamente a qualidade de vida do indivíduo (WANDERLEY & FERREIRA, 2010; WHO, 2003).

Para a prevenção e tratamento dessas enfermidades, a *American Heart Association* (2000) enfatiza o consumo de vegetais, frutas e grãos integrais, confirmando a importância das fibras, antioxidantes e outras substâncias presentes na dieta. Adicionalmente, devido à ampla divulgação pela imprensa no que diz respeito à alimentação e saúde, a preocupação da sociedade com os produtos naturais e seus compostos biologicamente ativos tem aumentado de forma exponencial.

Os alimentos de origem vegetal das mais variadas espécies são fontes de diversos compostos que apresentam atividade antioxidante, importantes para a prevenção de doenças crônicas, tais como doenças cardiovasculares, câncer e distúrbios cerebrais relacionados ao envelhecimento. Dentre os mais estudados grupos de antioxidantes encontrados nas plantas, estão os compostos fenólicos, que além de desempenharem potente atividade antioxidante, apresentam atividades antiinflamatória, antialérgica, antimicrobiana e anticarcinogênica (SOARES, 2002; ROSS & KASUM, 2002).

Os chás, umas das bebidas mais consumidas no mundo todo, por serem fontes significativas de polifenóis, têm atraído muita atenção da comunidade científica, principalmente em relação a sua capacidade antioxidante (ASOLINI *et al.*, 2006; TREVISANATO & KIM, 2000). Vários trabalhos têm demonstrado efeitos positivos das catequinas do chá verde no tratamento e prevenção de inúmeras enfermidades, dentre elas a obesidade (WOLFRAM *et al.*, 2006; ZHENG *et al.*, 2004).

A riqueza florística da região Centro-Oeste do Brasil provém de grandes formações biogeográficas, como o Cerrado e o Pantanal, que contribuem com espécies vegetais distintas com grande potencial de utilização alimentar, madeireiro, combustível, agroindustrial, forrageiro, medicinal e ornamental (AVIDOS & FERREIRA, 2000). O Bioma Cerrado possui em sua vegetação heterogênea uma biodiversidade maior que a da floresta Amazônica (GUARIN NETO & MORAIS, 2003), no entanto suas riquezas e possibilidades ainda são pouco exploradas.

Guazuma ulmifolia Lam. (Sterculiaceae), também conhecida como chico-magro, é uma planta medicinal comum no Cerrado brasileiro. Princípios ativos isolados principalmente

de suas cascas e folhas, têm sido correlacionados com o tratamento de diversas doenças, como diabetes tipo 2, hipertensão, problemas gastrointestinais e obesidade (BATUBARA *et al.*, 2010; CARVALHO, 2007; POTT & POTT, 1994). Como estudos fitoquímicos realizados com a casca revelaram a presença de proantocianidinas, constituídas principalmente de unidades de catequinas e epicatequinas (LOPES *et al.*, 2009a e 2009b; MAGOS *et al.*, 2008), o presente trabalho teve como foco avaliar o potencial antioxidante dessa espécie, bem como fornecer embasamento científico no seu uso popular em relação à redução da gordura corporal.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade e Saúde Pública

Considerada atualmente uma epidemia mundial, a obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal em um nível que acarreta prejuízos a saúde dos indivíduos, elevando os riscos de enfermidades, como diabetes mellitus, dislipidemias, doenças cardiovasculares (DCV), hipertensão arterial e certos tipos de câncer (WHO, 2000; WANDERLEY & FERREIRA, 2010).

O Índice de Massa Corporal (IMC) é o indicador utilizado em estudos epidemiológicos como preditor de sobrepeso e obesidade em humanos, definido como a razão entre o peso (quilogramas) e o quadrado da altura (metros) do indivíduo. Os pontos de corte para adultos são identificados com base na associação entre IMC e doenças crônicas ou mortalidade. A classificação adaptada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), apresentada na tabela 1, baseia-se em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus (WHO, 2000).

Tabela 1 – Classificação da obesidade segundo o Índice de Massa Corporal (IMC) e o Risco de doença.

Classificação	IMC (kg/m ²)	Risco de comorbidades
Baixo peso	< 18,5	Baixo
Peso normal	18,5 a 24,99	Médio
Sobrepeso:	≥ 25	-
Pré-obeso	25,0 a 29,99	Aumentado
Obesidade Grau I	30,0 a 34,99	Moderado
Obesidade Grau II	35,0 a 39,99	Grave
Obesidade Grau III	≥ 40	Muito grave

O excesso de peso está claramente associado com o aumento da morbidade e mortalidade e este risco aumenta progressivamente de acordo com o ganho de peso. Em indivíduos com IMC de 30 a 35 kg/m², a expectativa de vida está reduzida em 2 a 4 anos, (WHITLOCK *et al.*, 2009), e um IMC acima de 25 kg/m² contribui com cerca de 58% do diabetes, 21% das cardiopatias isquêmicas e entre 8% e 42% de certos tipos de câncer (WHO, 2003).

A gordura visceral também está fortemente correlacionada com o desenvolvimento de

DCV, pois possui maior atividade lipolítica, conseqüentemente ocorre aumento da quantidade de ácidos graxos livres na circulação portal, e isto está intimamente relacionado ao desenvolvimento de inúmeras desordens metabólicas, incluindo a intolerância à glicose, complicações cardiovasculares e dislipidemias, uma vez que ocorre elevação na concentração de triglicérides (TC) plasmáticos, colesterol total (CT), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e muito baixa densidade (VLDL), e redução das lipoproteínas de alta densidade (HDL) (CHEIK, 2005).

Nas últimas décadas, a incidência de obesidade e doenças associadas tem aumentando em um ritmo alarmante tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, constituindo uma grave ameaça à saúde pública atual. De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que exista em nível global 1,6 bilhão de adultos com sobrepeso ($IMC \geq 25\text{kg/m}^2$) e mais de meio bilhão de adultos obesos acima de 20 anos ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$) (WHO, 2000; FINUCANE, 2011). Nos EUA, de acordo com a última avaliação nacional (National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES), 32% dos adultos estão obesos e até 2015, estima-se que 75% dos americanos estarão com sobrepeso ou obesidade. (OGDEN *et al.*, 2006; WANG & BEYDOUN, 2007).

No Brasil, o excesso de peso já atinge 49% da população adulta (acima dos 20 anos), sendo que 14,8% dessa amostragem já se encontra obesa. O sobrepeso no sexo masculino triplicou de 18,5% (1974-1975) para 50,1% em 2008-2009 e, nas mulheres, a situação é menos crítica, mas ainda preocupante: passou de 28,7% para 48%. Já a obesidade cresceu mais de quatro vezes entre os homens, de 2,8% para 12,4% e mais de duas vezes entre as mulheres, de 8% para 16,9% (IBGE, 2010).

Existe um consenso de que a etiologia da obesidade apresenta um caráter multifatorial envolvendo alterações genéticas, fisiológicas e metabólicas (WEINSIER *et al.*, 1998; NAMMI *et al.*, 2004). Em sua revisão, Francischi *et al.* (2000) destacam que há forte influência genética no desenvolvimento da obesidade, mas seus mecanismos ainda não estão totalmente esclarecidos. Acredita-se que fatores genéticos possam estar relacionados à eficiência no aproveitamento, armazenamento e mobilização dos nutrientes ingeridos; ao gasto energético, em especial à taxa metabólica basal (TMB); ao controle do apetite e ao comportamento alimentar.

Os mecanismos envolvidos na ingestão de alimentos são regulados por uma interação complexa entre hormônios e neuropeptídeos, incluindo o controle de vias eferentes (leptina, nutrientes, sinais nervosos, entre outros), de mecanismos centrais (neurotransmissores hipotalâmicos) e de vias aferentes (insulina, catecolaminas, sistema nervoso autônomo)

(ABESO, 2009; WANDERLEY & FERREIRA, 2010).

A leptina é um hormônio de natureza protéica produzida predominantemente pelo tecido adiposo branco, identificada em 1994 como uma molécula chave na regulação do peso corpóreo e no balanço de energia. Ela atua em receptores do hipotálamo bloqueando o apetite quando o organismo encontra-se adequadamente suprido de triacilglicerídeos (WEINSIER *et al.*, 1998; FUNAYAMA *et al.*, 2002). Seus níveis plasmáticos se correlacionam com a massa de gordura corporal e sua expressão é regulada transcripcionalmente, com a condição do armazenamento de energia no tecido adiposo e o tamanho dos adipócitos como fatores determinantes. Entretanto, os níveis de leptina encontram-se elevados em indivíduos obesos. Isso ocorre ao menos em parte como consequência a um estado de resistência da ação da leptina (SERPA NETO *et al.*, 2007; LUFT, 2010).

Os avanços na caracterização dos mecanismos de ação da leptina no hipotálamo logo revelaram que a transdução do sinal deste hormônio sofre importante controle por vias paralelas de sinalização celular, sendo que, até o presente momento, a insulina se destaca como o principal modulador do sinal da leptina (VELLOSO, 2006). A quantidade de secreção de insulina reflete o tamanho das reservas lipídicas (adiposidade) e o balanço energético real (nível de glicose sanguínea). Ela atua em seus receptores do hipotálamo inibindo o apetite, provavelmente por estimular o aumento de leptina no plasma; também sinaliza os músculos, fígado e tecidos adiposos a aumentar as reações catabólicas, incluindo a oxidação de ácidos graxos, acarretando a perda de peso (FUNAYAMA *et al.*, 2002).

Pesquisas recentes indicam que indivíduos obesos, a despeito dos altos níveis séricos de leptina, não apresentam respostas esperadas ao estímulo por este hormônio. Observaram-se possíveis defeitos pré e pós-receptor de leptina que podem ter algum papel na resistência hipotalâmica citada acima. A insulina também pode apresentar problemas de transporte em obesos, quadro que somente recentemente foi encontrado em humanos, uma vez que antes só havia sido observado em modelos animais (SERPA NETO *et al.*, 2007).

Acredita-se hoje que falhas em alguns dos componentes deste complexo sistema de controle da homeostase energética possam desempenhar um papel importante no desenvolvimento da obesidade (VELLOSO, 2006). No entanto, as causas do aumento significativo da obesidade nos últimos 20 anos estão predominantemente associadas ao denominado estilo de vida ocidental contemporâneo, que consiste no maior aporte energético da dieta - rica em gorduras, açúcares e alimentos refinados, e reduzida em carboidratos complexos e fibras - e na redução da prática de atividades físicas (MONTEIRO *et al.*, 2000).

O baixo consumo de frutas, verduras e legumes favorece o aumento da prevalência das

doenças crônicas associadas com a obesidade, já que o consumo destes alimentos tem sido apontado como um fator protetor para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (LAMPE, 1999; WHO, 2003). Assim como a alimentação saudável, o exercício físico regular é fundamental para prevenir essas enfermidades, através da melhora na capacidade cardiovascular e respiratória, diminuição na pressão arterial em hipertensos, melhora na tolerância à glicose e na ação da insulina (DENGEL *et al.*, 1998).

Dessa forma, o tratamento atual da obesidade fundamenta-se nas modificações do estilo de vida, incluindo a reeducação alimentar, a prática de atividade física e mudanças comportamentais (ABESO, 2009; THOMPSON *et al.*, 2007). Ou seja, práticas que conduzam à diminuição da gordura corporal por meio de um balanço energético negativo, condição na qual o gasto supera o consumo de energia do indivíduo (CABEÇO, 2008; FRANCISCHI *et al.*, 2000). Para que isso ocorra, devem-se considerar os três componentes da equação (1) de balanço energético,

$$\text{Equação (1): Gasto energético} = \text{TMB} + E_{\text{exercício físico}} + \text{ETA}$$

Onde, a TMB é a taxa metabólica basal, $E_{\text{exercício físico}}$ corresponde à energia gasta nas atividades físicas e ETA é o efeito térmico do alimento (FRANCISCHI *et al.*, 2000).

A taxa metabólica basal, a qual depende da idade, é a energia necessária para processos vitais do corpo, tais como função cardíaca e pulmonar, e representa cerca de 50 a 70% do gasto energético diário do indivíduo. O efeito térmico do alimento, também conhecido por termogênese de indução dietética, deve-se principalmente aos processos de digestão, absorção e distribuição dos nutrientes, e representa 10% do total de energia gasta por um adulto. A energia perdida durante as atividades físicas depende da intensidade e da duração desta, e corresponde ao maior efeito sobre o consumo de energia humana (20% a 30%), já que é possível gerar taxas metabólicas dez vezes superiores aos valores de repouso durante um exercício (ABESO, 2009; CABEÇO, 2008; FRANCISCHI *et al.*, 2000).

Muitos indivíduos acima do peso adotam a restrição da ingestão energética total como uma forma de alcançar o déficit energético e reduzir o peso corporal. Duas estratégias comumente utilizadas são o uso das dietas com valor calórico muito baixo (Very Low Calorie Diets, VLCD), com consumo energético menor de 800 Kcal/dia e restrições energéticas moderadas, com consumo de 1200 Kcal/dia (COWBURN *et al.*, 1997)

Embora esses tratamentos dêem resultados em pouco tempo, a sua manutenção é de difícil estabelecimento. WILLIAMS (1996) cita que pessoas que persistem em dietas de baixa caloria perdem grandes quantidades de peso, em média, 20 Kg em 12 a 16 semanas. Contudo, a maioria destes indivíduos recupera o peso perdido dentro de um curto período de tempo.

Trabalhos recentes mostram que após restrição alimentar, o organismo se modula de forma a se tornar mais eficiente na conversão do que é consumido em estoque energético. De fato, esse fenômeno, conhecido também como crescimento compensatório, resulta em alta ingestão e conseqüente ganho de gordura corporal (HORNICK *et al.*, 2000). Além disso, dietas que restringem severamente o consumo energético, bem como jejuns prolongados, são cientificamente indesejáveis e perigosos para a saúde, resultando em perdas de grandes quantidades de água, eletrólitos, minerais, glicogênio e outros tecidos isentos de gordura, com mínima redução de massa adiposa (AMERICAN..., 1993).

Como já referido, as mudanças no estilo de vida são a base do processo terapêutico da obesidade, que tem por objetivo melhorar o padrão alimentar do indivíduo e estimular a prática de exercício físico. Apenas em casos específicos, a abordagem farmacológica e a intervenção cirúrgica são empregadas como adjuvantes a esta terapêutica.

A cirurgia bariátrica é aceita atualmente como uma ferramenta eficaz no controle e tratamento da obesidade mórbida, sendo indicada para indivíduos com grau de obesidade II e III, ou seja, com $IMC \geq 35\text{kg/m}^2$ com comorbidades associadas (apnéia do sono, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemias e dificuldades de locomoção, entre outras de difícil manejo clínico) e $\geq 40\text{kg/m}^2$ sem comorbidades respectivamente (SEGAL & FANDIÑO, 2002), que não tenham obtido sucesso a longo prazo (5 anos) com os tratamentos clínicos convencionais realizados.

Já a farmacoterapia está indicada quando houver falha do tratamento não farmacológico, por no mínimo 6 meses, em pacientes com IMC igual ou superior a 30 kg/m^2 ou com IMC igual ou superior a 25 kg/m^2 associado a comorbidades, ou com circunferência abdominal maior ou igual a 102 cm (homens) e 88 cm (mulheres) (ABESO, 2010; MANCINI & HALPERN, 2002).

A adesão aos tratamentos convencionais para a perda de peso e seus resultados, entretanto, nem sempre são satisfatórios. Muitos dos medicamentos apresentam efeitos colaterais indesejáveis, como sonolência, nervosismo e distúrbios no trato gastrointestinal, além de possuir alto custo e eficácia limitada. Por isso, as plantas medicinais com possível efeito na redução de peso estão sendo amplamente adotadas pela população como método alternativo.

2.2 Produtos naturais no tratamento da obesidade

Inicialmente utilizadas de forma empírica, fruto do conhecimento repassado entre as gerações, as plantas medicinais tornaram-se, nos últimos anos, alvo de interesse para as pesquisas científicas. Esta tendência está relacionada aos avanços no conhecimento técnico - científico das características de qualidade, segurança e eficácia dos produtos vegetais, bem como à preferência generalizada dos consumidores por produtos de origem natural (LEITE, 2009; SIMÕES, 1989).

As plantas medicinais são utilizadas *in natura* e também de outras formas, tais como chás, cataplasmas, tinturas, unguentos, pomadas, xaropes e cápsulas. Inicialmente, o homem aprendeu a aproveitar o potencial terapêutico dos vegetais pela ingestão de chás, que em muitos casos estavam associados a rituais sagrados. Hoje, essas bebidas continuam a serem recomendadas como uma terapia eficaz e, principalmente pelos seus efeitos sensoriais tais como – cheiro, sabor e sensação agradável de aquecimento do peito, – são muito apreciadas pela população (TREVISANATO & KIM, 2000).

Algumas espécies vegetais como *Camelia sinensis* (chá-verde), *Ilex paraguariensis* (erva-mate), *Citrus aurantium* (laranja-amarga), *Garcinia cambogia* (garcinia) e *Fucus vesiculosus* (alface do mar) são popularmente utilizadas para o tratamento da obesidade. A forma de uso consiste na ingestão de chás e também na elaboração de fitoterápicos. Esta aplicação tem sido comprovada em estudos que relacionam os efeitos antiobesidade à presença de metabólitos secundários bioativos nessas espécies, tais como metilxantinas (cafeína, teobromina e teofilina), flavonóides (catequinas), taninos, ácidos polifenólicos (ácido caféico, ácido clorogênico), aminas adrenérgicas (sinefrina), saponinas, entre outros constituintes químicos, como o ácido hidroxícitrico, iodo, fibras e mucilagens (ARÇARI *et al.*, 2009; HEYMSFIELD *et al.*, 1998; MORO & BASILE, 2000; WOLFRAM *et al.*, 2006; ZHENG *et al.*, 2004).

De acordo com o mecanismo de ação, esses compostos agem como adjuvantes no tratamento da obesidade de forma direta – pela estimulação do metabolismo e modulação do apetite – ou indireta, pelas suas ações diuréticas, antiinflamatórias ou sedativas (MORO & BASILE, 2000).

Outra espécie vegetal que tem se destacado no tratamento alternativo da obesidade é a *Guazuma ulmifolia* Lam. (Sterculiaceae). Entretanto, não há fundamentação científica no uso dessa espécie com tal finalidade. Alguns estudos referentes a esta planta serão abordados a seguir.

2.3 Espécie *Guazuma ulmifolia* Lam.

Guazuma ulmifolia Lam., pertencente a família Sterculiaceae, é popularmente conhecida como mutamba, chico-magro, guaxima macho, fruta-de-macaco e embiribeira. Apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo em toda a América Latina, especialmente em formações de Cerrado e florestas secundárias (MOTTA *et al.*, 2006; NUNES *et al.*, 2005; SOBRINHO & SIQUEIRA, 2008). Segundo Lorenzi (2002), tem ocorrência em quase todo o território brasileiro, desde a Amazônia até o Paraná, principalmente nas florestas latifoliadas semidecíduas.

A espécie *G. ulmifolia* é potencialmente utilizável em projetos de recuperação de áreas degradadas, devido ao seu desenvolvimento rápido e ao fornecimento de frutos que contribuem para a fixação da fauna (Figura 1). Seu fruto adocicado é muito apreciado por diversas espécies de animais do cerrado, entre eles, mamíferos e aves (MARTINS, 2007).

Na alimentação humana, os frutos são consumidos frescos, secos, crus ou cozidos (Figura 1). Quando secos, são utilizados no preparo de chás, sendo considerado um ótimo substituto do chá-mate (CARVALHO, 2007).



Figura 1 – Fruto da espécie vegetal *Guazuma ulmifolia* e suas sementes
Fonte: Paulo Robson de Souza

As cascas e folhas de *G. ulmifolia* são as partes geralmente empregadas na medicina popular, porém há relatos de que os frutos também são aproveitados (Figura 2) (GALINA *et al.*, 2005). Em diversos países da América do Sul e Central, *G. ulmifolia* é utilizada em casos de problemas gastrintestinais, distúrbios renais, sífilis, elefantíase, alopecia, tosse, asma, febre, entre outros (ALMEIDA *et al.*, 1998; CARVALHO, 2007).



Figura 2 – Espécie vegetal *Guazuma ulmifolia*.

Fonte: Paulo Robson de Souza

No Brasil, o chá das cascas é utilizado como sudorífero, sendo também empregado em infecções respiratórias e doenças hepáticas (ALMEIDA *et al.*, 1998; GALINA *et al.*, 2005; CARVALHO, 2007). As folhas, utilizadas sob a forma de chás, têm ação diaforética e purgativa e, em excesso, são tóxicas, causando náuseas, vômito e disenteria. Os extratos das folhas e dos frutos são ainda usados na produção de xampus, condicionadores, óleos aromáticos e perfumes (ALMEIDA *et al.*, 1998). Há relatos que a casca e o fruto são indicados no tratamento da obesidade (POTT & POTT, 1994, BATUBARA *et al.*, 2010).

Diversos autores demonstraram atividades de extratos de *G. ulmifolia*, como atividade antibacteriana e antifúngica (CAMPORESE *et al.*, 2003; FERNANDES *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2006; VIOLANTE, 2008), antiviral (FELIPE *et al.*, 2006), anti-diabética (ALARCON-AGUILARA *et al.*, 1998; ALONSO-CASTRO & SALAZAR-OLIVO, 2008), anti-hipertensiva (MAGOS *et al.*, 2008; CABALLERO-GEORGE *et al.*, 2002), citotóxica (NASCIMENTO *et al.*, 1990; SEIGLER *et al.*; 2005), antisecretora (HÖR *et al.*, 1995) e gastro-protetora (BERENGUER *et al.*, 2007).

Estudos fitoquímicos realizados com cascas e folhas de *G. ulmifolia* revelaram a presença de alcalóides, flavonóides, taninos, sesquiterpenos, triterpenos, diterpenos, entre outros metabólitos secundários, tais como β -sitosterol e glicosídeos cianogênicos (SEIGLER *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2006; LOPES *et al.*, 2009b).

Pesquisas identificaram em extratos etanólicos e metanólicos de *G. ulmifolia* óleos voláteis em suas folhas e proantocianidinas na casca (HÖR *et al.*, 1996; ARRIAGA *et al.*

1996 *apud* CAMPORESE *et al.*, 2003). Das cascas de *G. ulmifolia* também foram isolados e identificados por Lopes *et al.* (2009b) nove compostos: *ent*-catequina, epicatequina, *ent*-galocatequina, epigalocatequina, epiafzelequina- (4 β →8)-epicatequina, epicatequina-(4 β →8)-catequina (procianidina B1), epicatequina-(4 β →8)- epicatequina (procianidina B2), epicatequina-(4 β →8)-epigalocatequina, e uma nova substância 4'-*O*-metil-epiafzelequina. Além das procianidinas B2 e B5, polissacarídeos, três trímeros [procianidina C1; epicatequina-(4 β → 6)-epicatequina-(4 β → 8)-epicatequina; epicatequina-(4 β → 8)-epicatequina-(4 β → 6)-epicatequina] e um tetrâmero também foram isolados e identificados nos extratos de *G. ulmifolia* (HÖR *et al.*, 1996; LOPES *et al.*, 2009a).

As propriedades antidiabética, hipotensiva, vasodilatadora, antiulcerosa, antibacteriana e antiviral da casca, partes aéreas, frutos, extrato bruto e frações de *G. ulmifolia* são atribuídas às protoantocianidinas, sendo que essas propriedades dependem de sua estrutura e particularmente de seu grau de polimerização (LOPES *et al.*, 2009a; LOPES *et al.*, 2009b).

Proantocianidinas ou taninos condensados são os polifenóis mais abundantes nas plantas após as ligninas, podendo representar até 50% em muitos tipos de casca. Consistem em oligômeros e polímeros formados pela condensação de duas ou mais unidades de flavan-3-ol (Figura 3) (XIE & DIXON, 2005; DIXON *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005). O padrão de hidroxilação (ou substituição) da molécula de flavan-3-ol permite separar as proantocianidinas em várias classes, sendo as principais as procianidinas e prodelfinidinas.

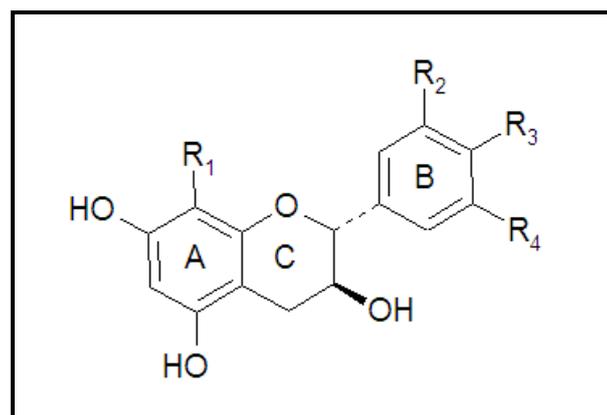


Figura 3 – Estrutura química do núcleo flavan-3-ol.

Quando hidrolisadas, as procianidinas e as prodelfinidinas liberam cianidinas e delfinidinas, respectivamente, sendo que a unidade formadora das procianidinas são catequinas e epicatequinas e das prodelfinidinas, galocatequinas e epigalocatequinas (SUN & SPRANGER, 2005) (Figura 4).

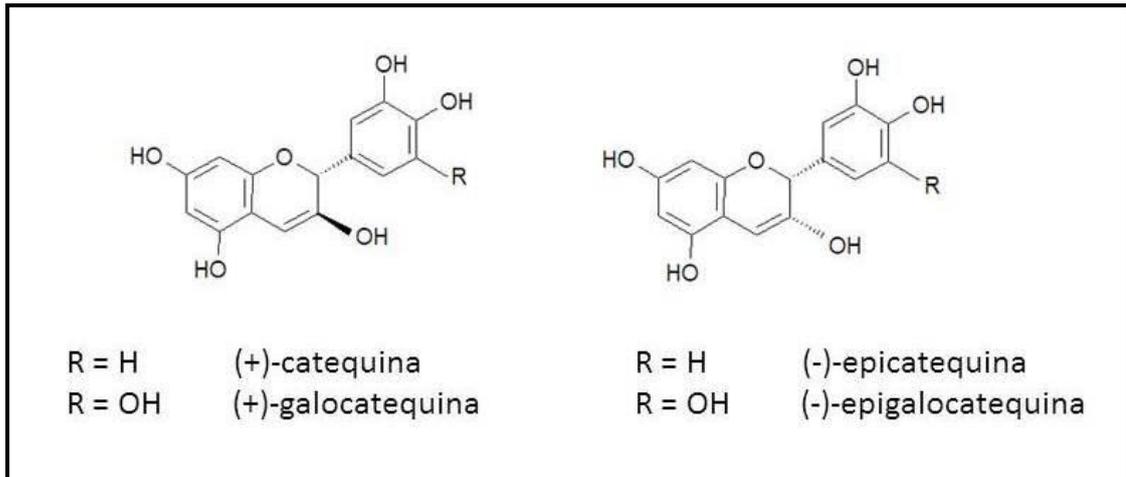


Figura 4 – Unidades monoméricas das principais proantocianidinas.

De acordo com o padrão de ligação entre as unidades monoméricas formadoras das proantocianidinas, pode-se classifica-las em dois tipos: A e B. Nas do tipo B, os monômeros estão unidos principalmente através de ligações do tipo C4-C8 ou C4-C6. Já as do tipo A, apresentam uma ligação extra do tipo C2-O-C7 ou C2-O-C5 (Figura 5) (SUN & SPRANGER, 2005).

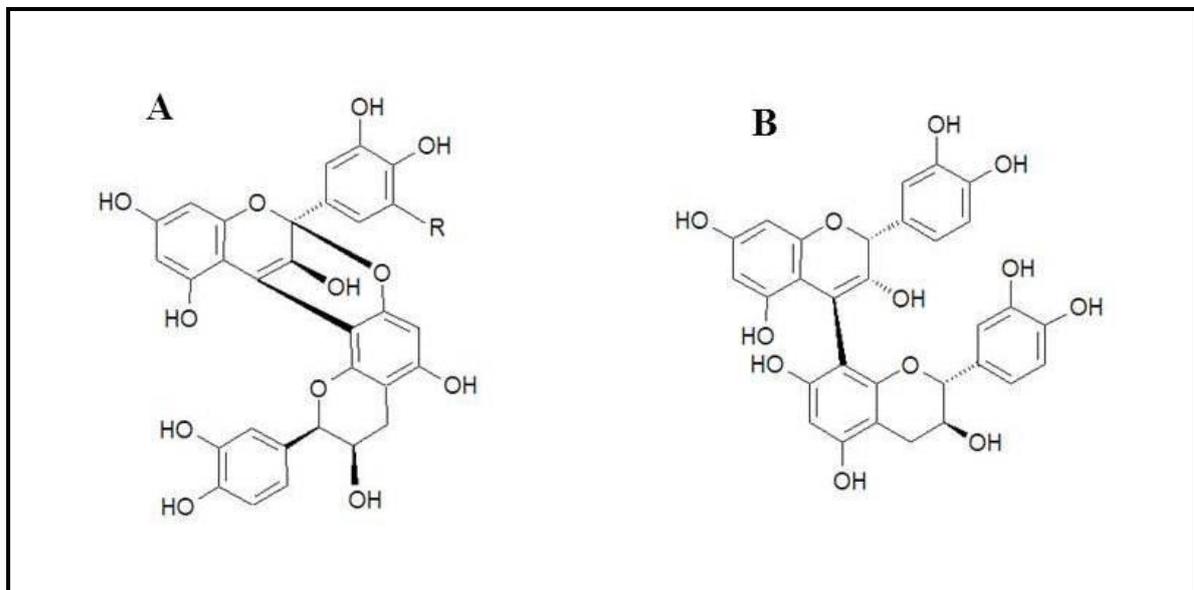


Figura 5 – Exemplo de proantocianidinas do tipo A (A) e do tipo B (B).

Procianidina B2 é universalmente distribuída em plantas e está presente em sementes de uva, maçã, cacau e extrato da casca do pinheiro marítimo (Pycnogenol). Recentemente, a substância foi detectada no plasma humano após o consumo de chocolate rico em flavanol. Diversos estudos demonstraram que a procianidina B2 tem diversas propriedades

farmacológicas que trazem benefícios a saúde humana, como a atividade antioxidante (SAKANO *et al.*, 2005; LOPES *et al.*, 2009a).

2.4 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelos processos de envelhecimento e por doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, inflamatórias, aterosclerose, câncer e diabetes mellitus (MCORD 2000; DRÖGE 2002; RATNAM *et al.*, 2006).

Os radicais livres são moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas, devido à presença de elétrons não pareados em sua órbita externa (HALLIWELL *et al.*, 1995). Alguns exemplos são as espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH^\bullet), o radical peroxila (ROO^\bullet) e espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singlete (1O_2) (SOARES, 2002).

Os organismos aeróbios desenvolveram uma série de mecanismos fisiológicos e biomoleculares de defesa contra os efeitos das ERO, entretanto, quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a sua eliminação por mecanismos de proteção, fenômeno conhecido como estresse oxidativo, eventos deletérios ao organismo podem ocorrer, como a peroxidação dos lipídios de membrana celulares e a agressão às proteínas, enzimas, carboidratos e ao DNA (SIES, 1997; DURACKOVA, 2010; REUTER *et al.*, 2010).

Os agentes antioxidantes funcionam como seqüestradores dos radicais livres e algumas vezes como quelantes de íons metálicos, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, produzindo compostos intermediários relativamente estáveis (SOARES, 2002).

Nas células de organismos fotossintetizantes, os mecanismos de atividade antioxidante estão mais fortemente desenvolvidos em comparação com outras células, uma vez que as membranas fotossintéticas são alvos primários para os efeitos deletérios oxidativos, por conterem lipídeos não saturados como elementos estruturais majoritários. Por essa razão, as plantas vasculares contêm numerosas substâncias antioxidantes e podem, dessa forma, representar uma importante fonte de substâncias antioxidantes naturais tanto para as indústrias alimentícias como para as farmacêuticas (ROCHA *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como flavonóides, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), fenóis simples,

cumarinas, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (ANGELO & JORGE, 2007). Produtos secundários do metabolismo vegetal, os polifenóis, estão envolvidos no mecanismo de defesa dos vegetais, seja contra a radiação ultravioleta ou agressão por patógenos (MANACH *et al.*, 2004). Nos alimentos, contribuem com a cor, características sensoriais (adstringência e aroma) e estabilidade oxidativa (SOARES, 2002; ANGELO & JORGE, 2007).

Muitos estudos têm demonstrado uma relação direta entre a atividade antioxidante e o consumo de alimentos de origem vegetal ricos em compostos fenólicos, como frutas, legumes, cereais, e bebidas como vinho, chá e café (COOK & SAMMAN, 1996; RICE-EVANS *et al.*, 1997; PIETTA, 2000). O potencial antioxidante desses compostos tem sido atribuído às suas propriedades redox, devido à presença em sua estrutura de pelo menos um anel aromático com substituintes hidroxílicos e/ou seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos e outros), desempenhando importante papel na adsorção ou neutralização dos radicais livres (Figura 6) (SIMÕES *et al.*, 2004; ANGELO & JORGE, 2007; DAI & MUMPER, 2010).

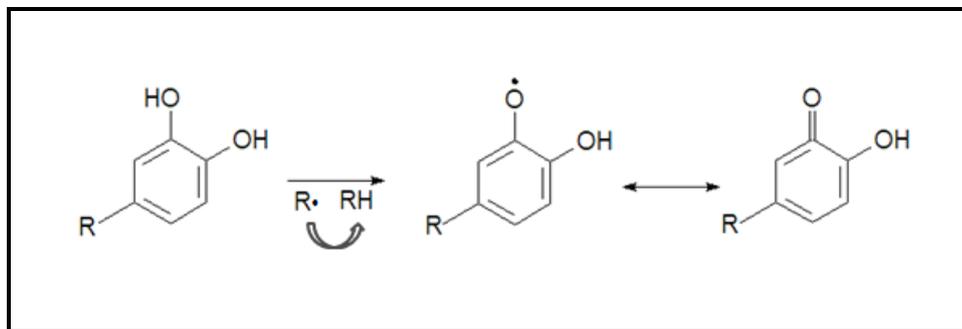


Figura 6 – Mecanismo de redução de compostos fenólicos

Os flavonóides e outros derivados fenólicos são conhecidos por atuarem na captura e neutralização de espécies oxidantes como ânion superóxido, radical hidroxila ou radical peróxido, atuando por sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E. Alguns flavonóides são capazes de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais livres (MARTÍNEZ-FLÓREZ, 2002). Há relatos de que os compostos fenólicos apresentam uma atividade antioxidante *in vitro* superior às referidas vitaminas e ao β -caroteno, podendo contribuir significativamente para o efeito protetor *in vivo* (RICE-EVANS, 1997).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro* em extratos e substâncias isoladas. Um dos métodos mais utilizados consiste em avaliar a

capacidade sequestradora do radical estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil). Após reagir com um antioxidante ou uma espécie radicalar, o DPPH é reduzido a difenil-picril-hidrazina, passando de coloração púrpura a amarela (Figura 7), decoloramento este acompanhado pelo decréscimo da absorbância, determinada espectrofotometricamente na faixa de 515 a 528 nm. (BRAND-WILLIAMS, 1995).

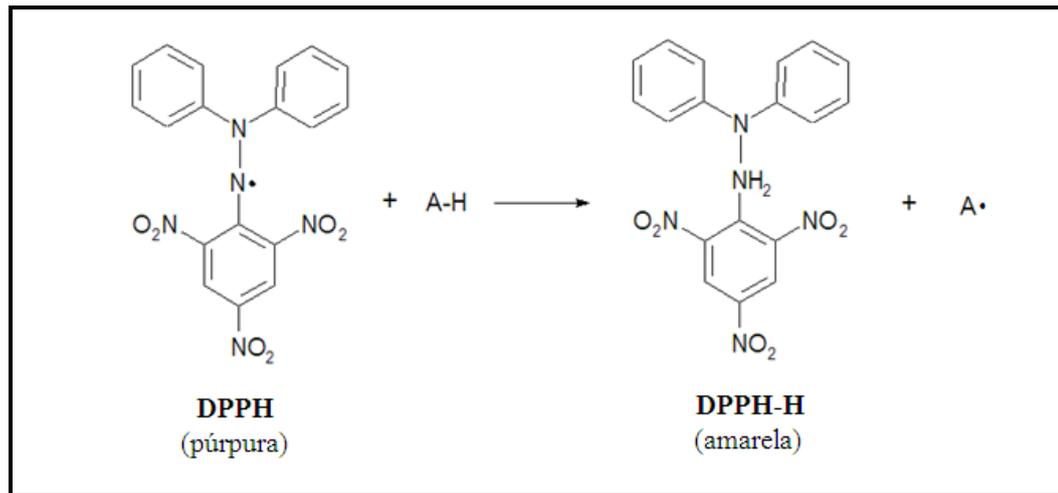


Figura 7 – Estrutura do DPPH antes e depois de reagir com um antioxidante

Navarro *et al.* (2003) testaram a atividade antioxidante de extratos aquosos e metanólicos de cinco espécies de plantas utilizadas na medicina tradicional da Guatemala para tratamento de infecções microbianas, entre elas a espécie *G. ulmifolia*. Os extratos metanólicos obtidos a partir de suas folhas mostraram maior atividade frente ao radical OH ($IC_{50} = 0.25 \text{ mg.mL}^{-1}$), em relação ao radical DPPH ($IC_{50} = 50.21 \text{ mg.mL}^{-1}$) e ao O_2^- ($IC_{50} = 72.8 \text{ mg.mL}^{-1}$). Com exceção do radical OH ($IC_{50} = 1,52 \text{ mg.mL}^{-1}$), os extratos aquosos apresentaram baixa atividade antioxidante ($IC_{50} > 100$).

Em 2010, em estudo realizado com plantas medicinais da Indonésia, também foi verificada uma baixa atividade antioxidante do extrato metanólico das folhas de *G. ulmifolia* frente ao radical DPPH ($IC_{50} = 112,31 \text{ mg.mL}^{-1}$) (BATUBARA *et al.*, 2010).

Assim, como já foi confirmada a presença de compostos fenólicos na espécie *G. ulmifolia*, decidiu-se verificar se há fundamento no uso popular do chá dessa planta no tratamento da obesidade, bem como avaliar o potencial antioxidante de seus frutos e casca, visto que só foram encontrados na literatura trabalhos com extratos obtidos de suas folhas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar o efeito da casca e do fruto da espécie *G. ulmifolia* sobre os parâmetros morfométricos e séricos de ratos Wistar induzidos à obesidade.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a matéria-prima quanto à composição centesimal e energética.
- Quantificar o teor de compostos fenólicos e avaliar a atividade antioxidante da casca e fruto da espécie *G. ulmifolia*.
- Avaliar o efeito da ingestão de chá da casca e do fruto sobre o consumo de ração e ganho de peso de ratos Wistar.
- Determinar o potencial hipolipemiante e hipoglicemiante do fruto e da casca da espécie *G. ulmifolia* em ratos Wistar obesos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Os objetos de estudo foram o fruto e a casca da espécie *Guazuma ulmifolia*. Os frutos maduros foram coletados em regiões do Cerrado e do Pantanal do Estado de Mato Grosso do Sul, no período de agosto a outubro de 2009, e a casca coletada no município de Campo Grande, durante o mês de agosto de 2010.

Os frutos coletados foram selecionados, descartando-se os deteriorados e os danificados. Fruto e casca foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar, triturados em moinho multi-uso (Tecnal, TE-631), acondicionados em sacos plásticos e mantidos sob refrigeração até o momento das análises.

O material foi processado no laboratório do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (DTA/UFMS), e a exsicata n° 29217 encontra-se depositada no herbário CGMS localizado no Departamento de Biologia da UFMS.

4.2 Caracterização da matéria-prima

A composição centesimal do fruto e da casca foi realizada determinando-se o teor de umidade por dessecação em estufa à 105°C (método gravimétrico), segundo método descrito nas normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 2005). A quantificação de proteína foi feita pelo conteúdo de nitrogênio total, segundo método de micro Kjeldahl (AOAC, 1995), usando o fator 6,25 para conversão do nitrogênio em proteínas. Lipídios e cinzas (resíduo mineral fixo) foram determinados conforme descrito na AOAC (1995). A determinação de fibra bruta foi realizada pelo método da fibra detergente neutro (AOAC, 1995) e os açúcares de acordo com o Ministério da Saúde (BRASIL, 2005).

Os resultados dessas determinações foram expressos em grama/100 g da amostra integral e a energia total proveniente dos nutrientes expressa em kilocalorias (kcal), estimada a partir dos fatores de conversão de Atwater: $\text{kcal} = (4 \times \text{g proteína}) + (4 \times \text{g carboidratos}) + (9 \times \text{g lipídios})$ (USP, 2009).

4.3 Preparo dos extratos

Para determinação do teor de compostos fenólicos e para a avaliação da atividade antioxidante, realizaram-se três extrações: aquosa, etanólica e acetônica, baseadas na metodologia proposta por Saito (2007).

Para obtenção do extrato aquoso de *G. ulmifolia*, pesaram-se 7g e 5g do fruto e da casca, respectivamente, em erlenmeyer, onde foram adicionados 100 mL de água aquecida a 80°C, mantendo sob agitação mecânica por 20 minutos em chapa de aquecimento. Em seguida, as soluções foram centrifugadas a 2.500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi filtrado e o resíduo lavado três vezes com 5 mL de água. Os filtrados foram armazenados em frascos âmbar e congelados até sua utilização.

A extração etanólica foi realizada com 100 mL de uma solução etanol-água (80:20 V/V), a qual foi adicionada 7g do fruto e 5g da casca, extraídos em banho de ultrassom por 30 minutos. Os extratos foram concentrados em rota-evaporador a 40°C e armazenados sob refrigeração em frascos âmbar para análise posterior.

Para o preparo do extrato acetônico procedeu-se como descrito na obtenção do extrato etanólico, utilizando-se 100 mL de acetona:água (3:1 V/V).

Os mesmos procedimentos foram adotados para o preparo dos extratos de folhas de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) para efeito comparativo.

4.4 Determinação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos totais foram quantificados através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON & ROSSI, 1965), utilizando o ácido gálico como padrão de referência. Esse método envolve uma reação de oxido-redução, em meio alcalino, na qual o íon fenolato é oxidado e o complexo fosfotúngstico-fosfomolibdico presente no reagente é reduzido a uma mistura de óxidos de tungstênio e de molibdeno, de coloração azul.

A partir dos extratos aquosos, etanólicos e acetônicos, foram preparadas soluções metanólicas das amostras com concentrações que variaram de 0,625 a 10 mg sólidos.mL⁻¹. De acordo com Roesler *et al.* (2007), à 0,5mL de cada amostra foram adicionados 2,5 mL de reagente aquoso de Folin-Ciocalteu a 10% e 2 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 7,5%. Em seguida, os tubos testes contendo as soluções foram incubados por 5 minutos em banho-maria a 50°C. Resfriadas as alíquotas, as absorbâncias foram lidas a 760 nm em

espectrofotômetro utilizando o metanol como branco. Cada amostra foi analisada em triplicata. Os extratos de alecrim, obtidos através do mesmo procedimento de extração, foram avaliados para efeito comparativo.

O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração de ácido gálico (0,024 a 0,105 mg.mL⁻¹) segundo Miliukas *et al.* (2004), e expressos como equivalente de ácido gálico (GAE: mg de ácido gálico por g de extrato seco), utilizando para o cálculo a seguinte equação (2):

$$\text{Equação (2): } \text{GAE} = C \times V/m$$

Onde GAE = equivalentes de ácido gálico em mg.g⁻¹, C = concentração de ácido gálico em mg.mL⁻¹, V = volume de extrato usado no teste em mL e m = massa do extrato em g.

4.5 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada através da capacidade em sequestrar radicais livres utilizando o radical estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), segundo YAMAGUCHI *et al.* (1998), com modificações.

Em microplaca de 96 poços, adicionou-se 100 µL de uma solução etanólica de DPPH (200 µg.mL⁻¹) a 100 µL de soluções das amostras dissolvidas em etanol, resultando em um volume final de 200 µL. A concentração final dos extratos após diluições sucessivas foi de 3,125 a 200 µg.mL⁻¹. O controle negativo do teste foi etanol adicionado do mesmo volume de DPPH. As microplacas foram agitadas e incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente no escuro. Decorrido o tempo, as absorbâncias foram determinadas a 517 nm em leitora automática TP-Reader (Equipar). Todo ensaio foi realizado em triplicata e o ácido caféico foi utilizado como controle positivo.

O cálculo da atividade sequestrante de DPPH, expressa como percentual de inibição, foi calculado de acordo com a equação (3):

$$\text{Equação (3): } \% \text{ Inibição} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{EXTR}})/A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

Onde: A_{DPPH} = absorbância do controle negativo (solução de DPPH sem antioxidante) e A_{EXTR} = absorbância da amostra a ser testada.

A partir dos resultados da % Inibição foi elaborado um gráfico para cada uma das amostras analisadas, representado pela Figura 8. Por meio da análise de regressão linear entre o percentual de inibição de oxidação e a concentração da amostra, obtiveram-se diferentes

equações, do tipo $y = ax + b$, com as quais foi determinada a IC_{50} , ou seja, concentração da amostra ou padrão necessária para reduzir em 50% o radical DPPH.

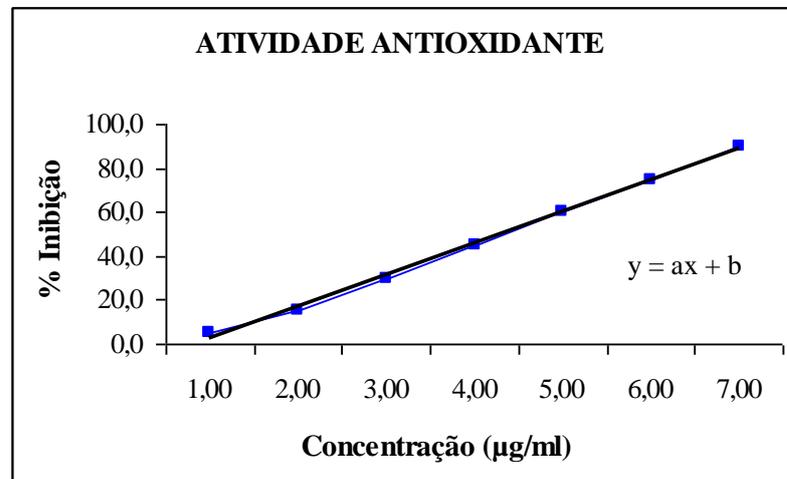


Figura 8 – Percentual de inibição de oxidação em função da concentração da amostra.

4.6 Ensaio biológico

4.6.1 Animais e condições experimentais

Para realização do ensaio biológico foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus* var. albinus), obtidos após desmame, com peso médio inicial de $62,08 \text{ g} \pm 21,26$, procedentes do Biotério de Criação e Experimentação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Os animais permaneceram alojados em caixas de polipropileno, em estantes ventiladas (Figura 9), mantidos sob condições de ciclo de luz controlado (12 horas claro e 12 horas escuro) com temperatura $24 \pm 1^\circ\text{C}$ e, consumindo água e dieta sob o sistema de livre acesso.



Figura 9 – (A) Caixa de polipropileno com água e ração sob o sistema de livre acesso. (B) Estante ventilada com circulação de ar e temperatura controlada.

O ensaio biológico foi aprovado pelo Comitê de Ética (Anexo A – Certificado de Aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA/UFMS), e todos os procedimentos adotados seguiram as normativas de experimentação animal preconizada pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (CARDOSO, 2009).

4.6.2 Preparo das dietas

As dietas utilizadas no estudo foram preparadas conforme preconizado pelo Instituto Americano de Nutrição (AIN-93) (REEVES *et al.*, 1993), e com algumas modificações, para elaboração da dieta hiperlipídica (ARÇARI *et al.*, 2009; PANG & CHOI, 2008; PRZYGODDA *et al.*, 2010). A Tabela 2 apresenta as formulações das dietas preparadas.

Após o preparo das dietas, realizou-se a determinação da composição centesimal com o intuito de confirmar sua constituição. As rações em forma de pellets foram, então, acondicionadas em sacos de polietileno, devidamente rotulados e armazenados, até a finalização do experimento.

Tabela 2 – Formulações das dietas preparadas para os ratos Wistar durante o ensaio biológico

Ingredientes	Dieta Padrão (g/kg)	Dieta Hiperlipídica (g/kg)
Amido de milho	397,5	247,5
Caseína	200	200
Sacarose	100	100
Amido dextrinizado	132	132
Banha de porco	-	195
Óleo de soja	70	25
Celulose	50	50
Minerais	35	35
Vitaminas	10	10
L-cistina	3	3
Colina	2,5	2,5
Terc-butil-hidroquinona*	0,014	0,044
Total	1000	1000
Valor energético total (Kcal/Kg dieta)	3948	4698

*Agente antioxidante: 0,01 g/50 g lipídios

4.6.3 Preparo do chá

Os chás foram preparados pelo método de decocção, que consiste na ebulição da droga vegetal em água potável por tempo determinado. Esse método é indicado para partes de drogas vegetais com consistência rígida, tais como cascas, raízes, rizomas, caules, sementes e folhas coriáceas (BRASIL, 2010).

Foram adicionados 100 mL de água a 7g do fruto e a 5g da casca, permanecendo durante 10 minutos em chapa de aquecimento, após a ebulição. Depois de resfriados, os chás foram centrifugados a 2.500 rpm por 10 minutos e os sobrenadantes armazenados em frascos âmbar até administração aos animais.

4.6.4 Delineamento experimental

O estudo compreendeu a indução de obesidade no primeiro período e, no segundo período, a avaliação da ingestão de chá da casca e chá do fruto de *G. ulmifolia* sobre os parâmetros bioquímicos e morfométricos (ganho de peso).

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro diferentes grupos (n=10 animais/grupo) conforme Tabela 3. Um grupo recebeu dieta padrão e três grupos receberam dieta hiperlipídica durante dez semanas (1° período). No segundo período, foram subdivididos conforme a intervenção escolhida e receberam chá ou água (grupo controle) por mais oito semanas. Anteriormente à divisão em grupos, todos os animais receberam dieta padrão por cinco dias para adaptação do aparelho digestório à ração sólida.

Tabela 3 – Delineamento experimental em função dos grupos e das dietas

GRUPO	1° PERÍODO (10 SEMANAS)	2° PERÍODO (8 SEMANAS)
G1	Dieta padrão	Dieta padrão + água
G2	Hiperlipídica	Hiperlipídica + água
G3	Hiperlipídica	Hiperlipídica + chá do fruto
G4	Hiperlipídica	Hiperlipídica + chá da casca

Antes da administração do chá, os animais permaneciam em jejum por 5 horas, e então recebiam 1mL/100 g de peso corpóreo do chá do fruto ($47,67 \text{ mg.mL}^{-1} \pm 8,78$), da casca ($22 \text{ mg.mL}^{-1} \pm 8,95$) ou de água, conforme os grupos. A intervenção foi realizada por gavagem, com auxílio de uma cânula orogástrica (Figura 10), três vezes por semana. Os grupos G1 e G2 receberam água para avaliar a possibilidade de interferência do estresse da manipulação e/ou gavagem no estudo.



Figura 10 – Administração do chá com cânula orogástrica.

Ao final do experimento, os animais sofreram eutanásia através de dose excessiva do anestésico Zoletil[®] 50 (Virbac), cujo princípio ativo é tiletamina-zolazepan.

4.6.5 Ganho de peso

Os animais foram pesados uma vez por semana em balança semi-analítica (Marte A5000) para avaliação do ganho de peso.

4.6.6 Consumo alimentar

Cada grupo de animais recebeu quantidade conhecida de ração, fornecida em dias alternados, podendo assim avaliar o consumo alimentar médio (g/dia) através da quantidade restante de alimento em cada caixa, por animal.

4.6.7 Parâmetros bioquímicos

Os lipídios e a glicose sérica foram analisados após o período de indução da obesidade e ao final do período experimental, após jejum de 12h. A coleta de sangue foi realizada a partir do seio orbital (HRAPKIEWICZ *et al.*, 1997) (Figura 11), após os animais serem anestesiados com Zoletil[®] 50 (Virbac). As amostras de sangue foram coletadas em tubos heparinizados, centrifugadas e armazenadas a -20° C para análises.



Figura 11 – Coleta de sangue a partir do seio orbital.

Os parâmetros bioquímicos colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e glicose foram avaliados por meio de kits específicos para cada substância e, a leitura foi realizada em sistema automatizado Cobas Integra® 400 plus (Roche), no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Farmácia Bioquímica da UFMS.

4.6.7.1 Glicose

O princípio do teste para determinação de glicose envolve um método enzimático onde a hexoquinase (HK) catalisa a fosforilação da glicose pela adenosina-5-trifosfato (ATP), dando origem a glicose-6-fosfato e adenosina difosfato (ADP). Para prosseguir a reação, uma segunda enzima, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), é utilizada para catalisar a oxidação de glicose-6-fosfato pela nicotinamida adenosina dinucleotídeo fosfato (NADP⁺), dando origem ao NADPH (Figura 12).

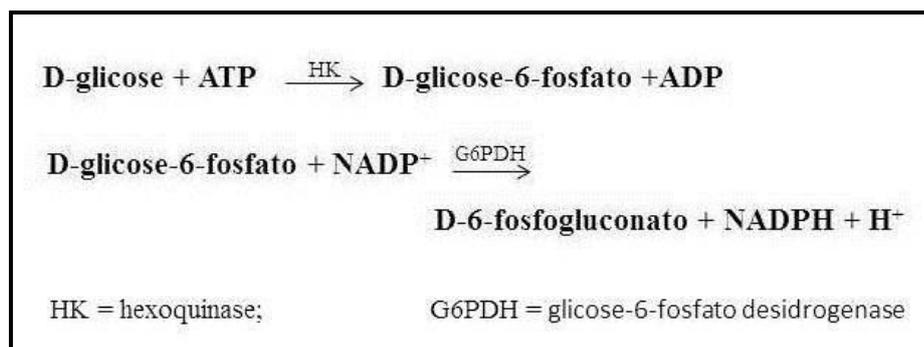


Figura 12 – Princípio do método para determinação de glicose.

A concentração de NADPH formado é diretamente proporcional à concentração de glicose, determinada pelo aumento da absorvância a 340 nm.

4.6.7.2 Colesterol total

Para determinação do colesterol total utilizou-se um método colorimétrico enzimático, no qual os ésteres de colesterol são clivados através da ação da colesterol esterase (CE), produzindo colesterol livre e ácidos graxos. A colesterol oxidase (CO) catalisa a oxidação do colesterol para colest-4-en-3-ona e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Em presença da peroxidase (POD), o peróxido de hidrogênio formado afeta o acoplamento oxidativo do fenol e da 4-aminoantipirina, formando um corante vermelho de quinona-imina (Figura 13).

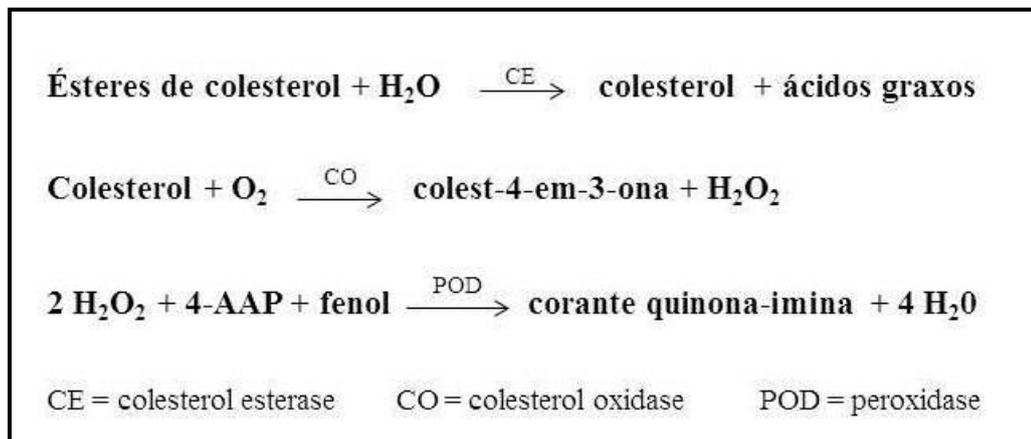


Figura 13 - Princípio do método para determinação de colesterol total.

A intensidade da cor do corante formado é diretamente proporcional à concentração de colesterol, determinada pelo aumento da absorvância a 512 nm.

4.6.7.3 Triglicerídeos

O método para determinação de triglicerídeos baseia-se na utilização de uma lipase lipoproteína (LPL) de microrganismos para a hidrólise rápida e completa dos triglicerídeos para glicerol, seguida de oxidação para fosfato de di-hidroxiacetona e peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O peróxido de hidrogênio produzido reage posteriormente com 4-aminofenazona e 4-clorofenol sob a ação catalítica da peroxidase, para formar um corante vermelho. A

intensidade cromática do corante vermelho formado é diretamente proporcional à concentração de triglicéridos, podendo ser determinada fotometricamente (Figura 14).

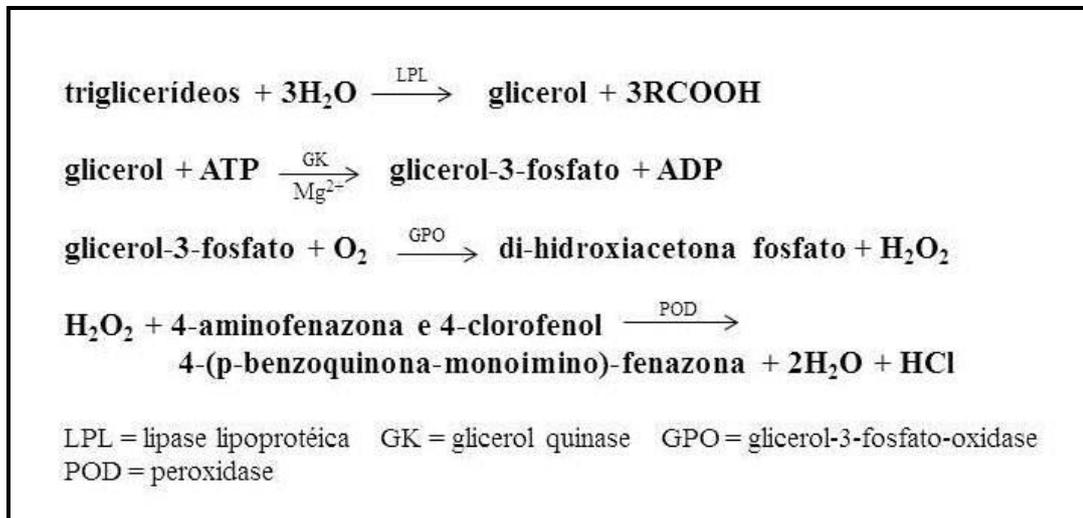


Figura 14 – Princípio do método para determinação de triglicéridos.

4.6.7.4 Lipoproteína de alta densidade (HDL)

A Figura 15 representa o princípio do método para quantificação de HDL. Na presença de sulfato de magnésio e sulfato de dextrano, formam-se complexos solúveis em água com LDL, VLDL e quilomícrons que são resistentes às enzimas modificadas pelo polietilenoglicol (PEG). A concentração do colesterol HDL é determinada enzimaticamente pela colesterol esterase e colesterol oxidase acopladas com PEG aos grupos amino (cerca de 40%). Sob a influência da colesterol esterase, os ésteres de colesterol são quantitativamente decompostos em colesterol livre e ácidos graxos. Na presença de oxigênio, o colesterol é oxidado pela colesterol oxidase em Δ^4 -colestenona e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A intensidade da cor do corante formado quinoneimina é diretamente proporcional à concentração de colesterol HDL, determinado medindo o aumento da absorbância a 583 nm.

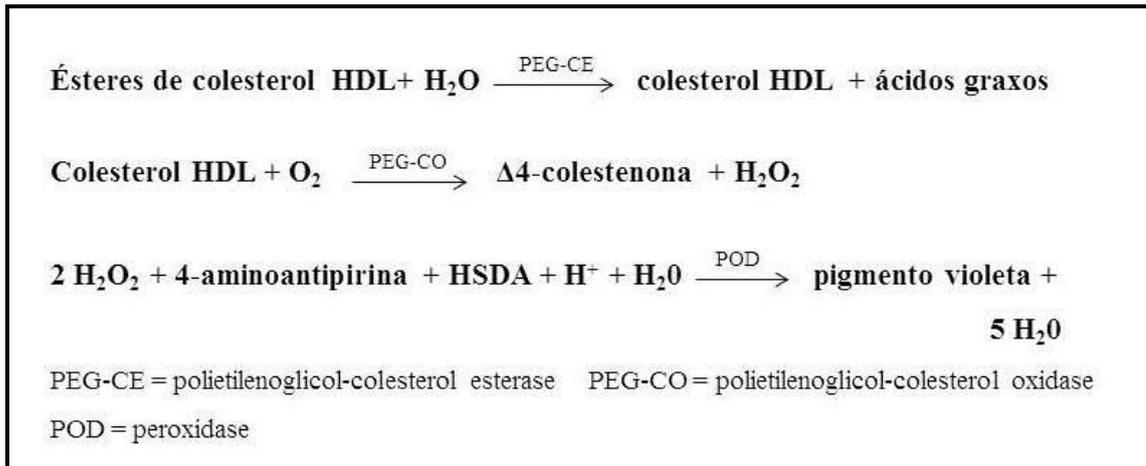


Figura 15 – Princípio do método para determinação de lipoproteína de alta densidade (HDL).

4.6.7.5 Lipoproteína de baixa densidade (LDL)

O método para determinação de LDL envolve a solubilização micelar seletiva do colesterol LDL por um detergente não-iônico, a interação de um composto de açúcar e as lipoproteínas (VLDL e quilomícrons). Quando se inclui um detergente no método enzimático de determinação do colesterol (reação de acoplamento da colesterol esterase – colesterol oxidase), as reatividades relativas do colesterol nas frações de lipoproteínas aumentam pela seguinte ordem: HDL < quilomícrons < VLDL < LDL. Na presença de Mg^{++} , um composto de açúcar diminui claramente a reação enzimática da determinação do colesterol em VLDL e quilomícrons. A combinação de um composto de açúcar com um detergente possibilita a determinação seletiva do colesterol LDL no soro. Na presença de oxigênio, o colesterol é oxidado pela colesterol oxidase em $\Delta 4$ -colesteno e peróxido de hidrogênio (Figura 16). A intensidade da cor do corante quinoneimina formado é diretamente proporcional à concentração de colesterol LDL, determinado pelo aumento da absorbância a 583nm.

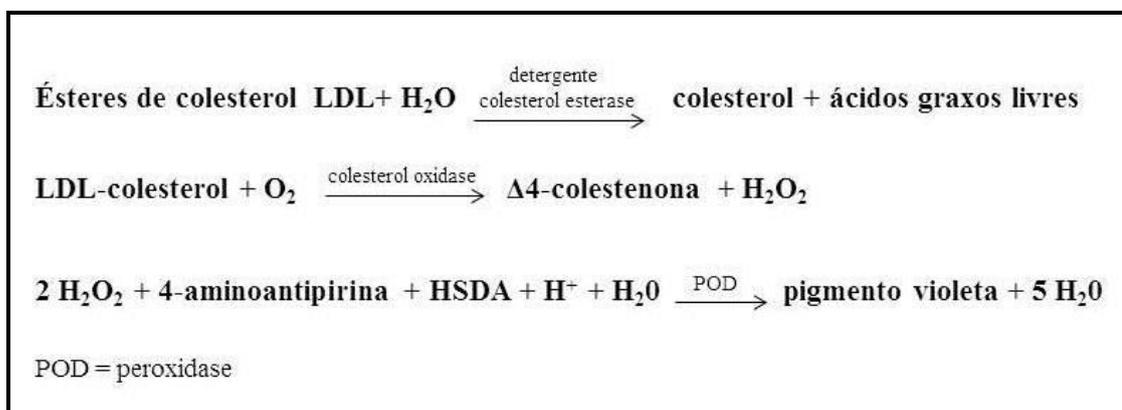


Figura 16 – Princípio do método para determinação de lipoproteína de baixa densidade (LDL).

4.6.7.6 Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL)

A determinação de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) foi determinada através do método de Friedewald (1972), utilizando para cálculo a seguinte equação (4):

$$\text{Equação (4): } \text{VLDL} = 0,2 \times \text{TG}$$

Onde VLDL = Fração VLDL em mg.dL^{-1} e TG = triglicerídeos em mg.dL^{-1} .

4.7 Análise estatística

Para todos os resultados foi calculada a média, o desvio padrão e variância para análise descritiva. Os dados do delineamento experimental foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (GOMES, 1990), utilizando o programa BioEstat 5.0, ao nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal

5.1.1 Matéria-prima

O resultado da composição centesimal do fruto e da casca de *G. ulmifolia* encontra-se na Tabela 4. A porcentagem de proteína no fruto ($6,19 \pm 0,26$) foi próxima à encontrada por Centro (1986) *apud* Carvalho (2007), que foi de 7% e apresentando boa digestibilidade *in vitro*. O teor considerável de carboidratos totais no fruto de 30,63 % ($\pm 1,53$) pode ser devido à mucilagem de coloração verde-negra presente em seu interior, que segundo Lorenzi & Matos (2002) é muito utilizada no nordeste do país na fabricação de rapadura, como agente clarificante do caldo de cana.

Tabela 4 – Composição centesimal das matérias-primas fruto e casca, expressas em g.100g⁻¹ de amostra integral*

Determinações	Matéria-prima	
	Fruto	Casca
Umidade	11,58 ± 0,25	8,31 ± 0,03
Resíduo mineral fixo	3,65 ± 0,06	6,56 ± 0,09
Lipídios	2,30 ± 0,02	0,66 ± 0,02
Proteínas	6,19 ± 0,26	4,22 ± 0,19
Carboidratos	30,63 ± 1,53	22,84 ± 1,35
Fibras	41,21 ± 0,62	40,28 ± 3,00
Valor calórico total kcal/100g	167,98	114,11

*Valores obtidos por meio da média \pm desvio padrão de pelo menos três replicatas.

Tanto o fruto como a casca apresentou elevada porcentagem de fibra, 41,21% e 40,28%, respectivamente. Muitos estudos demonstram que as dietas ricas em fibras podem prevenir ou auxiliar no tratamento da obesidade. As fibras solúveis tais como gomas, pectinas e mucilagens, têm sido utilizadas no tratamento da obesidade pelo fato de que, no estômago tendem a formar géis, causando uma diminuição na absorção de nutrientes, reduzindo o aporte energético e aumentando o volume do bolo alimentar, causando uma sensação de saciedade e a subsequente redução da ingestão (EUFRÁSIO, 2003). De acordo com Howarth *et al.* (2001), 14g de fibra/dia por mais de 2 dias está associado com uma diminuição de 10% no consumo de energia e com uma perda de peso de 1,9 Kg após 3,8 meses.

5.1.2 Dietas elaboradas

Os valores da composição centesimal das dietas elaboradas para utilização no ensaio biológico estão descritos na Tabela 5. Nota-se um maior aporte energético da dieta hiperlipídica, devido à adição de banha de porco, com a finalidade de induzir os animais à obesidade.

Tabela 5 – Composição centesimal das dietas experimentais padrão e hiperlipídica, expressas em g.100g⁻¹ de amostra integral

Determinações	Dieta	
	Padrão	Hiperlipídica
Umidade	7,93 ± 0,63	6,72 ± 0,33
Resíduo mineral fixo	2,50 ± 0,04	2,50 ± 0,07
Lipídios	6,69 ± 0,35	20,58 ± 1,14
Proteínas	18,31 ± 2,38	16,59 ± 0,30
Carboidratos	55,92 ± 1,76	49,73 ± 0,32
Fibras	4,80 ± 0,05	5,52 ± 0,54
Valor calórico total kcal/100g	357,16	450,54

*Valores obtidos por meio da média ± desvio padrão de pelo menos três replicatas.

O modelo de obesidade exógena, onde é oferecido ao animal uma dieta de alta densidade energética, através de uma sobrecarga de carboidratos e/ou lipídios, é o mais simples modelo de indução de obesidade e possivelmente um dos que mais se assemelha a realidade da obesidade em humanos (VON DIEMEN *et al.*, 2006). Porém, de acordo com a literatura, o uso de dietas com alto teor de gordura e pobres em carboidratos é mais eficaz do que as dietas de alto teor de carboidrato e baixo de gordura na indução da obesidade (HARIRI & THIBAUT, 2010). Estudos em ratos demonstram que, quando os animais são alimentados desde o nascimento com grande quantidade de gordura, existe uma maior predisposição a se tornarem obesos posteriormente, assim como já demonstrado em humanos que possuem uma alimentação semelhante na infância (PEREIRA *et al.*, 2003).

5.2 Teores de compostos fenólicos

As concentrações de compostos fenólicos expressas em mg de ácido gálico.g⁻¹ de extrato seco (GAE) apresentam-se na Tabela 6.

Tabela 6 – Teores de compostos fenólicos totais, expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE)*

Amostras	Parte utilizada	Compostos fenólicos totais (mg GAE.g ⁻¹ es)		
		Extração		
		Aquosa	Etanólica	Acetônica
<i>G. ulmifolia</i>	Fruto	6,12 ± 0,07	8,09 ± 0,18	13,00 ± 0,16
<i>G. ulmifolia</i>	Casca	98,63 ± 0,97	105,45 ± 0,66	108,32 ± 0,48
<i>R. officinalis</i>	Folha	79,55 ± 0,240	115,44 ± 1,49	96,64 ± 1,56

*Valores obtidos por meio da média ± desvio padrão de uma triplicata; GAE = ácido gálico equivalente; es = extrato seco.

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, como os compostos fenólicos. A extração com solventes orgânicos (como água, etanol, metanol e acetona) é um dos métodos mais tradicionais, porém pode sofrer influência de diversos fatores como a natureza do vegetal, o solvente empregado, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (ANDREO & JORGE, 2006; SAITO, 2007).

As concentrações de compostos fenólicos encontradas no fruto de *G. ulmifolia* foram de 6,12 a 13,00 mg GAE.g⁻¹ extrato seco, enquanto na casca, variou de 98,63 a 108,32 mg GAE.g⁻¹ extrato seco. A casca mostrou teor significativo de compostos fenólicos quando comparada ao extrato da folha de *R. officinalis* (alecrim) (79,55 a 115,44 mg GAE.g⁻¹ extrato seco), utilizado como referência por ser rico em polifenóis e desempenhar excelente atividade antioxidante (ASOLINI *et al.*, 2006; GENENA *et al.*, 2008). Este resultado foi semelhante ao encontrado por Asolini *et al.* (2006), cuja concentração em extrato aquoso foi em torno de 82,5 mg GAE.g⁻¹ folha seca.

Além do extrato de alecrim, Asolini *et al.* (2006) avaliaram as propriedades antioxidantes de compostos fenólicos de outras plantas utilizadas como chás, tais como *Ilex paraguariensis* (erva-mate), *Ruta graveolens* (arruda), *Matricaria chamomilla* (camomila), *Achyrocline satureioides* (macela), *Cynara scolymus* (alcachofra), *Plantago major* (tanchagem), *Malva silvestris* (malva), *Salvia officinalis* (sálvia), e *Cymbopogon citratus* (capim-limão). A quantidade de compostos fenólicos totais nos extratos aquosos dos chás variou de 18 a 145 mg EAG.g⁻¹ de folha seca, sendo o menor valor apresentado pela malva e o maior, pela erva-mate. Já nos extratos etanólicos, as concentrações variaram de 15 a 56 mg EAG.g⁻¹ folha seca, sendo a maior quantidade detectada nos extratos de tanchagem e erva-mate (> 55 mg EAG.g⁻¹).

Os resultados obtidos indicam que existe uma grande variação na concentração dos compostos fenólicos nos diversos tipos de chás analisados e nos diferentes métodos de extração. No presente trabalho, tanto para a casca como para o fruto de *G. ulmifolia*, a

extração com solventes orgânicos (etanol e acetona) assistida por ultrassom foi mais eficiente que o sistema de extração por decocção a 80°C por 20 minutos.

Silva (2010), estudando frutos do Cerrado e do Pantanal, também verificou que o comportamento das amostras com relação aos compostos fenólicos foi diferenciado para cada procedimento realizado. Observou que, para algumas amostras como casca e polpa de laranjinha de pacu (*Pouteira glomerata* (Miq.) Radlk); casca, semente e polpa de araçá (*Psidium guineense* SW.); semente de pateiro (*Couepia uiti*); polpa e semente de saputá (*Salacia elliptica* G. Don.), o maior teor de compostos fenólicos foi obtido através da extração com etanol. Enquanto que, para a semente de laranjinha de pacu; semente de caraguatá (*Bromelia balansae* Mez.); polpa e semente de tarumã (*Vytex cymosa* Bert), a maior concentração de compostos fenólicos foi apresentada pelo extrato aquoso. Já Soares *et al.* (2008) concluíram que a acetona é melhor que o etanol para a extração desses compostos em bagaço de maçã. Em estudo realizado por Melo *et al.* (2008), no entanto, verificou-se que o uso da água (100%) no processo de extração de diversas frutas possibilitou a obtenção de um maior teor de polifenóis do que no processo de extração com acetona.

Estas divergências demonstram que não existe um sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de compostos fenólicos em alimentos, pois, além de englobarem uma gama enorme de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas), eles são, na maioria das vezes, de grande polaridade, muito reativos, e suscetíveis à ação de enzimas (SOARES, 2002; ANDREO & JORGE, 2006). Dessa forma, por não existir um método de extração universal de antioxidantes naturais, é necessário selecionar o processo mais adequado para cada tipo de composto a ser extraído (MELO *et al.*, 2008).

Estudos recentes afirmam que os compostos fenólicos, além de antioxidantes naturais, podem ser considerados agentes “anti-obesidade”. Ikeuchi *et al.* (2007) investigaram a suplementação da dieta hiperlipídica com astaxantina (carotenóide) em ratos obesos e verificaram inibição do aumento de ganho de peso dos animais e redução dos níveis de triglicerídios e colesterol total. O mesmo ocorreu em estudo realizado por Momm (2007), que avaliou a interação do bagaço da maçã com os parâmetros bioquímicos e variação de peso corporal em ratos Wistar induzidos à obesidade. A suplementação da dieta com bagaço de maçã, considerado rico em compostos fenólicos, não interferiu na glicemia dos animais obesos, mas acarretou uma descontinuidade no ganho de peso corporal, redução da trigliceridemia e colesterolemia, sugerindo efeito sinérgico desses compostos ao das fibras. Nakazato *et al.* (2006) demonstraram que as fibras e os compostos fenólicos podem acentuar a

redução de tecido adiposo. Através do estudo do efeito dos polifenóis da maçã sobre a ingestão energética, peso corporal e deposição de gordura em ratos, observaram redução de tecido adiposo retroperitoneal e tendência de menor deposição de gordura no tecido adiposo epididimal e mesentérico.

5.3 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi realizada através de medidas espectrofotométricas do consumo do radical DPPH, por ser um método amplamente utilizado e relativamente rápido quando comparado a outras técnicas (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Quando reduzido por substâncias antioxidantes, o elétron do DPPH se torna emparelhado e a sua absorção se extingue, resultando em uma alteração da coloração violeta para amarelo, sendo a intensidade da coloração proporcional à concentração da substância com potencial antioxidante (TREVISAN, 2010).

Os resultados das determinações, apresentados na Tabela 7, foram expressos pelo valor de IC₅₀, que representa a porcentagem de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Quanto menor for esse valor, maior é a capacidade antioxidante da substância.

Tabela 7 – Determinação da atividade antioxidante, expressa em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ do extrato capaz de causar inibição de 50% (IC₅₀)

Amostras	Parte utilizada	IC ₅₀ *		
		Extração		
		Aquosa	Etanólica	Acetônica
<i>G. ulmifolia</i>	Fruto	22,17 ± 0,08	28,06 ± 0,06	17,89 ± 0,10
<i>G. ulmifolia</i>	Casca	7,45 ± 0,26	4,34 ± 0,52	3,97 ± 0,53
<i>R. officinalis</i>	Folha	8,13 ± 0,24	5,24 ± 0,46	6,07 ± 0,43
Ácido caféico (padrão)		n.d	2,71 ± 0,48	n.d

*Valores de IC₅₀ foram obtidos através da equação da reta de cada amostra em triplicata ± desvio Padrão; n.d = não determinado.

O valor de IC₅₀ para o fruto de *G. ulmifolia* variou de 17,89 a 28,06 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e para a casca de 3,97 a 7,45 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo que para ambas as partes, a extração acetônica foi a mais eficiente. Todos os extratos da casca de *G. ulmifolia* apresentaram valores de IC₅₀ menores que dos extratos de alecrim (5,24 a 8,13 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), analisado juntamente com as amostras em teste para efeito comparativo, por desempenhar excelente atividade antioxidante (GENENA *et al.*, 2008).

Melo *et al.* (2008) definiram uma classificação para atividade antioxidante de acordo com os percentuais de inibição obtidos, onde os extratos de baixa atividade antioxidante seriam aqueles com percentual de inibição da oxidação abaixo de 50%, os extratos de atividade antioxidante moderada seriam aqueles que apresentassem entre 50 e 70%, já os extratos acima de 70% de inibição, seriam considerados com forte capacidade de seqüestro. Dentro deste contexto e de acordo com a aplicação da equação (3), apresentada anteriormente no capítulo 4, item 4.5, o extrato acetônico da casca de *G. ulmifolia* pode ser considerado um potente antioxidante, por ter apresentado percentual de inibição de 94,75% na maior concentração testada, resultado próximo ao encontrado para o padrão ácido caféico (95,10%) (Tabela 8), o qual apresenta um elevado potencial antioxidante *in vitro*, sendo comparado à vitamina E, C e ao β -caroteno (SOARES, 2002). Quanto aos extratos aquosos e etanólicos da casca, a percentagem de inibição, considerando-se a maior concentração testada, foi de 52,56% e 94,44%, respectivamente. Já para o fruto, as percentagens de inibição foram de 14,03 % para o extrato aquoso, 14,25% para o etanólico e 19,49% para o extrato acetônico, sendo considerado de baixo poder antioxidante.

Tabela 8 – Percentual de inibição de oxidação em função da concentração das amostras analisadas

Amostra	Parte utilizada	Extração	% Inibição						
			Concentração ($\mu\text{g/ml}$)						
			3,125	6,25	12,5	25	50	100	200
<i>G. ulmifolia</i>	Fruto	Aquosa	-1,58	-0,94	2,05	3,60	5,88	8,80	14,00
		Etanólica	3,48	3,52	3,97	5,92	7,56	10,57	14,25
		Acetônica	-2,02	1,95	3,30	3,67	8,25	11,05	19,49
<i>G. ulmifolia</i>	Casca	Aquosa	1,95	4,45	6,06	15,14	27,16	42,63	52,56
		Etanólica	1,43	7,15	12,58	34,63	63,92	92,73	94,44
		Acetônica	8,06	14,17	25,94	43,03	74,62	96,21	94,75
<i>R. officinalis</i>	Folha	Aquosa	-0,14	1,21	11,46	12,84	24,84	40,94	48,75
		Etanólica	5,04	7,49	9,24	19,76	37,71	62,85	87,99
		Acetônica	1,92	4,64	7,53	14,71	23,42	33,47	89,82
Ácido caféico		Etanólica	16,32	31,40	52,90	90,24	94,22	94,36	95,07

Através dos resultados encontrados, observou-se uma correlação positiva entre os teores de compostos fenólicos e a atividade antioxidante dos extratos analisados, uma vez que

os maiores teores de compostos fenólicos foram acompanhados de menores valores de IC₅₀, exceto para extrato etanólico do fruto de *G. ulmifolia*. Porém, nem sempre existe uma forte correlação positiva entre compostos fenólicos e a capacidade em sequestrar radicais livres.

Sousa (2007), ao determinar o conteúdo de fenóis totais de cinco plantas medicinais, observou uma correlação positiva entre os fenóis totais e a IC₅₀ dos extratos de *Terminalia brasiliensis* (casca e folha), *Cenostigma macrophyllum* (folha) e *Copernicia prunifera* (raiz), no entanto os extratos de *Terminalia fagifolia* (folha) e *Qualea grandiflora* (folha) não seguiram o mesmo comportamento. O mesmo foi constatado por Silva (2010), que ao avaliar o potencial antioxidante de diversas frações de frutos da região do Cerrado e do Pantanal, demonstrou que na maior parte das amostras avaliadas, os menores valores de IC₅₀ não foram acompanhados dos maiores teores de compostos fenólicos. Já Roesler *et al.* (2007) encontraram uma forte correlação positiva entre os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de frações diversas de frutas do cerrado brasileiro, como o araticum (*Annona crassiflora*), a lobeira (*Solanum lycocarpum*), a cagaita (*Eugenia dysenterica*), o pequi (*Caryocar brasiliense*) e a banha de galinha (*Swartzia langsdorfii*), sendo os extratos etanólicos das cascas e sementes as melhores fontes de compostos antioxidantes. Em trabalho realizado por Asolini *et al.* (2006), o extrato de erva-mate apresentou uma grande quantidade de compostos fenólicos totais, com atividade antioxidante acima de 95%. No entanto, ambos extratos aquoso e etanólico da alcachofra apresentaram baixos teores de compostos fenólicos totais (32,27 e 40,03 mg GAE.g⁻¹ respectivamente), com atividade antioxidante acima de 85%.

Esses dados sugerem que provavelmente a atividade antioxidante de um extrato não pode ser explicada apenas com base em seu teor de fenólicos totais. Além da presença de outros fitoquímicos nos extratos, a estrutura química do componente ativo tem influência sobre a eficácia do antioxidante natural, uma vez que a posição e o número de hidroxilas presentes na molécula dos polifenóis é um fator relevante para esta atividade (ASOLINI *et al.*, 2006; MELO *et al.*, 2008). Outro fator a ser considerado, é a influência do sistema de solvente extrator empregado sobre a composição de fitoquímicos com capacidade antioxidante. Por sua vez, o teor destes fitoquímicos é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta (ROCKENBACH *et al.*, 2008; MELO *et al.*, 2006).

Em trabalhos realizados com extratos metanólicos da folha de *G. ulmifolia* foram encontrados valores de IC₅₀ maiores que 50.21 mg.mL⁻¹ (NAVARRO *et al.*, 2003; BATUBARA *et al.*, 2010), confirmando haver divergências entre os métodos de extração, ou

ainda maior concentração de substâncias antioxidantes em determinada parte da planta (ANDREO & JORGE, 2006; SILVA, 2010).

Possivelmente, a elevada capacidade antioxidante da casca de *G. ulmifolia* pode ser atribuída à presença de protoantocianidinas poliméricas, constituídas de unidades de epicatequina e catequina, conforme já descrito na literatura (HÖR *et al.*, 1995; ARRIAGA *et al.* 1996 *apud* CAMPORESE *et al.*, 2003; LOPES *et al.*, 2009a e 2009b). Além das propriedades antioxidantes, a procianidina B2 possui várias propriedades farmacológicas benéficas à saúde humana, tais como efeito anti-tumoral, redução da oxidação da LDL *in vitro* e promoção do crescimento capilar. No entanto, o mecanismo detalhado de seus efeitos protetores ainda devem ser esclarecidos. (SAKANO *et al.*, 2005; LOPES *et al.*, 2009 a e 2009b).

5.4 Ensaio biológico

5.4.1 Consumo alimentar e ganho de peso

No início do experimento, os animais pertencentes aos grupos submetidos à dieta padrão (DP) apresentavam um peso corpóreo médio de 95,34 g (\pm 8,86) e os animais submetidos à dieta hiperlipídica (DH) um peso corpóreo médio de 87,34 g (\pm 24,53), sem diferença estatística significativa entre eles ($p=0,46$). A Figura 17 representa a evolução do peso corpóreo dos animais durante o 1º período experimental. Ao final desse período, nota-se significância estatística entre a média do peso corpóreo dos grupos submetidos às diferentes dietas ($p<0,0001$), podendo distingui-los entre obesos (404,97 g \pm 29,92) e não obesos (336,83 g \pm 14,15).

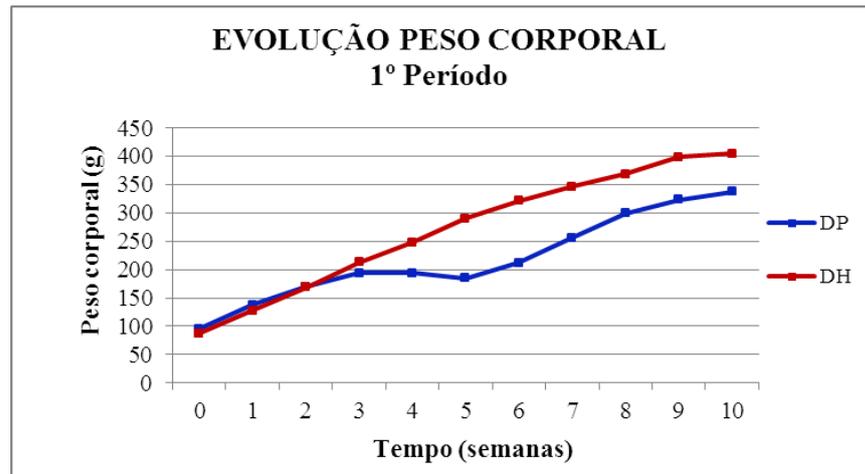


Figura 17 – Evolução do peso corpóreo dos animais submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) durante o 1º período experimental

Em modelos animais, a obesidade pode ser avaliada em ganho de peso, índice de Lee e/ou aumento do teor de gordura corporal. O índice de Lee é o índice de massa corpórea para ratos, semelhante ao índice para humanos (IMC). No entanto, de acordo com Stephens (1980), esse índice é um parâmetro biométrico criado para indicar o estado nutricional do animal, mas que não se correlaciona adequadamente com o percentual de gordura em ratos normais. Por isso, a maioria dos estudos determina o grau de obesidade em animais comparando o grupo alimentado com dieta rica em gordura com o grupo controle, no qual os animais são alimentados com dieta padrão ou de baixo teor de gordura (HARIRI & THIBAUT, 2010), como foi realizado no presente trabalho.

Quando se compara dietas isocalóricas, hiperlipídica e hiperglicídica observa-se que os animais apresentam maior percentual de gordura quando alimentados com dieta rica em gordura, pois o aumento na ingestão de lipídios não estimula a sua oxidação, como ocorre com os carboidratos e proteínas. Além disso, a eficiência com que o lipídio da dieta é estocado como gordura corporal é muito alta, cerca de 96% (WARWICK & SCHIFFMAN, 1992; WHO, 2000). Outros trabalhos mostram que as dietas suplementadas com gordura, principalmente com banha de porco, são bastante deletérias aos animais (BRAY *et al.*, 2002, BUETTNER *et al.*, 2006). Para as células beta pancreáticas, o efeito também é negativo, podendo, a longo prazo, levar ao diabetes nos animais (WANG *et al.*, 2003). No pâncreas de ratos que receberam dieta rica em banha de porco e colesterol houve deposição de gordura, diminuição da microcirculação, aumento do estresse oxidativo e diminuição das defesas antioxidantes (YAN *et al.*, 2006).

Acredita-se que dietas hiperlipídicas conduzam a hiperfagia, ou causem efeitos metabólicos independentemente desta (WEST & YORK, 1998), como redução na atividade

lipolítica do tecido adiposo (LLADÓ *et al.*, 2002), redução na secreção de leptina (AINSLIE *et al.*, 2000) e/ou limitação na sua capacidade de atuação (FREDERICH *et al.*, 1995). O motivo pelo qual os lipídios da dieta podem conduzir a hiperfagia deriva das suas propriedades organolépticas, tais como alta palatabilidade e textura característica (ROBERTS *et al.*, 2002).

Apesar da alta palatabilidade da dieta preparada para o experimento, principalmente relacionada à textura e ao odor, não houve diferença estatística significativa entre o consumo de ração pelos diferentes grupos, uma vez que no 1º período, os animais do grupo DP ingeriram em média 14,68 g (\pm 3,56) de ração por dia, enquanto o grupo DH, 14,03 g (\pm 2,64). Esses resultados estão de acordo com Duarte *et al.* (2006), que verificaram que mesmo sem alterar o padrão de consumo, a dieta rica em lipídios aumentou significativamente o ganho de peso corporal nos ratos, promovendo a obesidade.

No segundo período, quando os animais foram subdivididos em quatro diferentes grupos, G1 (controle) mantido com dieta padrão, G2 (controle da obesidade), G3 (chá da casca) e G4 (chá do fruto) com dieta hiperlipídica, observou-se diferença na evolução do peso corpóreo dos mesmos (Figura 18).

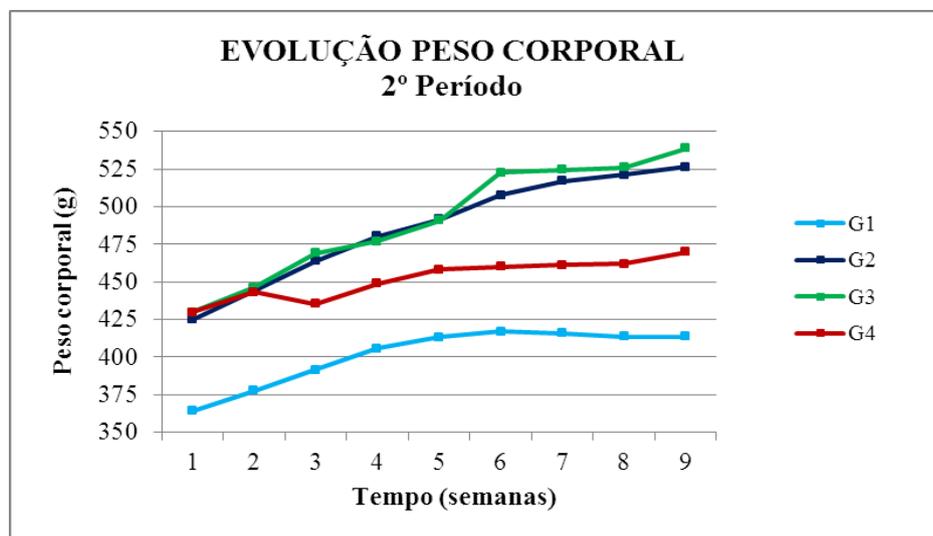


Figura 18 – Evolução do peso corpóreo dos animais dos grupos G1 (DP + água), G2 (DH + água), G3 (DH + chá do fruto) e G4 (DH + chá da casca) durante o 2º período experimental.

Os dados de ganho de peso dos animais após intervenção encontram-se descritos na Tabela 8. Em relação aos grupos que receberam dieta hiperlipídica durante todo o experimento (G2, G3 e G4), os resultados do presente trabalho indicam que a média de ganho de peso semanal dos animais que receberam intervenção com o chá da casca de *G. ulmifolia* (G4) foi significativamente menor à dos animais que receberam água (G2) e chá do fruto da

mesma espécie vegetal (G3). O grupo G3 foi o que obteve maior ganho de peso por semana (14,65 g \pm 4,33) em comparação aos demais, embora não tenha havido diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre ele e o grupo G2 (12,82 g \pm 5,79). Também não houve diferença no ganho de peso de G4 (5,39 g \pm 5,08) e G1 (5,45 g \pm 6,22), o qual recebeu dieta padrão durante todo o experimento e água por gavagem durante o 2º período.

Tabela 9 – Ganho de peso e média dos pesos corpóreos inicial e final dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e dieta hiperlipídica (DH) durante o 2º período experimental*

(g)	G1 (DP + água)	G2 (DH + água)	G3 (DH + fruto)	G4 (DH + casca)
Peso corpóreo inicial	364,36 \pm 17,55 ^a	425,00 \pm 30,04 ^b	429,64 \pm 30,93 ^b	429,82 \pm 29,10 ^b
Peso corpóreo final	413,81 \pm 43,58 ^a	526,51 \pm 47,13 ^b	538,53 \pm 56,83 ^b	469,66 \pm 42,04 ^{ab}
Variação de peso**	49,45	101,51	108,89	39,84
Ganho de peso/semana	5,45 \pm 6,22 ^{ac}	12,82 \pm 5,79 ^b	14,65 \pm 4,33 ^b	5,39 \pm 5,08 ^c

*Valores obtidos por meio da média \pm desvio padrão.

** Valores obtidos pela diferença entre as médias do peso final e do peso inicial.

***Valores com letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença estatística significativa entre as médias ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Nota-se ainda que, no início do 2º período, o peso corpóreo de G1 diferia estatisticamente dos grupos submetidos à DH ($p < 0,01$), validando o modelo de obesidade induzido por dieta. Após a intervenção, ao final desse período, G1 manteve essa diferença apenas em relação a G2 e G3, e apresentou uma variação de peso (49,45 g) próxima a de G4 (39,84 g). Conforme esses dados, a intervenção com o chá da casca de *G. ulmifolia* resultou em um menor ganho de peso por esses animais quando comparado aos grupos G2 e G3, os quais obtiveram uma maior variação de peso: 101,51 g e 108,89 g, respectivamente.

A diferença no ganho de peso entre os grupos pode ser explicada pela quantidade de ração ingerida. Durante o 2º período experimental, o consumo de ração pelos animais dos grupos submetidos à dieta hiperlipídica, demonstrou diferença estatística significativa a partir da quarta semana de experimento ($p < 0,05$) (Figura 19). Já o grupo G1 (DP + água) manteve praticamente a mesma média de consumo do período anterior (14,76 g).

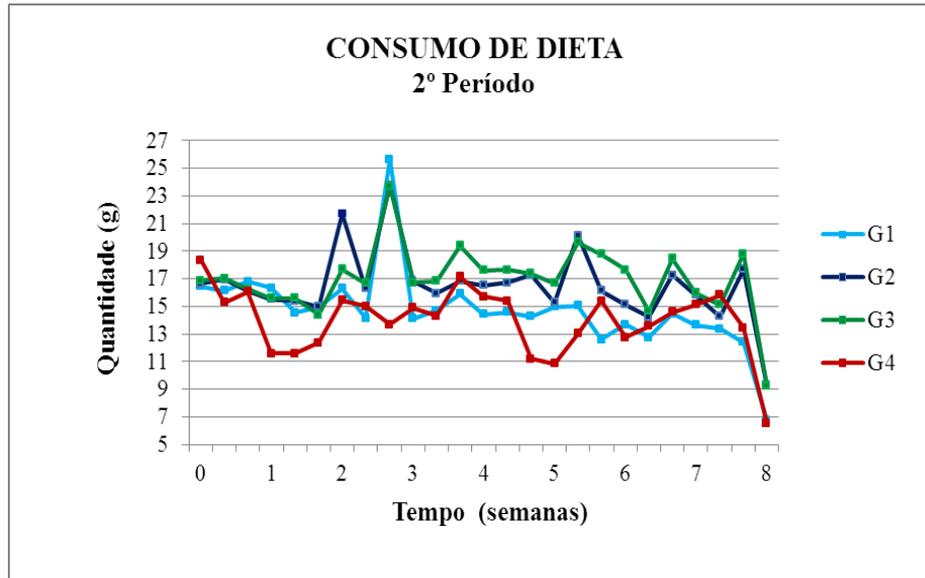


Figura 19 – Consumo de dieta padrão pelo grupo G1 (água) e hiperlipídica pelos grupos G2 (água), G3 (chá do fruto) e G4 (chá da casca) durante o 2º período experimental.

O grupo G4, o qual recebeu o chá da casca de *G. ulmifolia*, foi o que ingeriu menor quantidade de ração em relação ao demais, com uma média de 13,96 g por dia, equiparando-se estatisticamente ao grupo G1 ($p > 0,05$). O consumo de G2 (16,50 g) e G3 (16,98 g) foi bem maior comparado ao do grupo G4 ($p < 0,01$), enquanto que entre eles não houve diferença estatística significativa (Tabela 5).

Tabela 10 – Ingestão alimentar diária dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) durante o 2º período experimental*

	G1 (DP + água)	G2 (DH + água)	G3 (DH + fruto)	G4 (DH + casca)
Quantidade ingerida (g)	14,76 ± 2,95 ^{ac}	16,50 ± 2,59 ^{ab}	16,98 ± 2,45 ^b	13,96 ± 2,38 ^c

* Valores obtidos por meio da média ± desvio padrão.

** Valores com letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença estatística significativa entre as médias ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Esses resultados sugerem que consumo de ração pode ter refletido diretamente na alteração do peso corpóreo dos animais após a intervenção com o chá, uma vez que o grupo G3 consumiu maior quantidade de ração e obteve maior ganho de peso semanal, enquanto que o grupo G4 consumiu menor quantidade de ração e obteve menor ganho de peso. A hipótese de que a técnica de gavagem tenha influenciado na ingestão alimentar não pode ser afirmada, já que o grupo controle (G1) manteve a média de consumo durante os dois períodos experimentais e os procedimentos de intervenção foram iguais para todos os grupos. Também

não foram observadas alterações comportamentais decorrentes da contenção e da gavagem em nenhum dos grupos.

O fato do grupo G4 ter apresentado menor consumo de ração em relação a G2 e G3, e conseqüentemente, menor média de ganho de peso, indica a possibilidade dos compostos biologicamente ativos, como os polifenóis e a cafeína, presentes na casca de *G. ulmifolia*, conforme já descrito na literatura (HÖR *et al.*, 1995; ARRIAGA *et al.* 1996 *apud* CAMPORESE *et al.*, 2003; LOPES *et al.*, 2009a e 2009b), atuarem no controle da obesidade.

Vários estudos têm investigado a relação entre o consumo de chá verde (*Camellia sinensis*), rico em polifenóis, principalmente catequinas, e a redução da gordura corporal. Além das quatro principais catequinas [(-)-epicatequina (EC), (-)-3-galato de epicatequina (GEC), (-)-epigallocatequina (EGC) e 3-galato de epigallocatequina (GEGC)], o chá contém cafeína, taninos e vitaminas (ZHENG *et al.*, 2004; LAMARÃO & FIALHO, 2009).

Para elucidar os mecanismos anti-obesidade de três componentes do chá verde (catequinas, cafeína e tanino) sozinhos ou em combinação, Zheng *et al.* (2004) realizaram um estudo com ratos onde os resultados indicaram que a cafeína e o tanino foram responsáveis por suprimir o aumento de peso e o acúmulo de gordura. Além disso, catequinas e cafeína mostraram efeito sinérgico na atividade anti-obesidade, reduzindo em 76,8% o tecido adiposo intraperitoneal dos animais comparado ao grupo controle. Já Choo (2003) concluiu que o efeito inibidor promovido pelo chá no ganho de gordura corporal de ratos alimentados com uma dieta hiperlipídica (30% de gordura) foi resultante, em parte, da redução na digestibilidade e do incremento da termogênese e do conteúdo protéico no tecido adiposo marrom pela ativação do β -adrenoreceptor. Ashida *et al.* (2004), também investigando os mecanismos da ação anti-obesidade do chá verde *in vivo*, concluíram que o mesmo modula o sistema da glicose no tecido adiposo e músculo esquelético e suprime a expressão e /ou ativação da adipogênese.

Outros estudos sugerem que o galato de epigallocatequina (GEGC), o principal polifenol do chá verde, possa reduzir o apetite e aumentar o catabolismo de gorduras, além de modular a produção de ações biológicas de andrógenos e outros hormônios (LIAO, 2001; LAMARÃO & FIALHO, 2009). Kao *et al.* (2000) estudando os efeitos agudos de GEGC no sistema endócrino de ratos, mostraram que injeções intraperitoneais contendo 15 mg de GEGC causaram severa perda de peso, com valores em torno de 50%. Tais efeitos não foram encontrados quando se utilizou epicatequina (EC), 3-galato de epicatequina (GEC) e epigallocatequina (EGC) e quando a administração de GEGC foi suspensa, os animais readquiriram o peso perdido. A atuação da GEGC nos diferentes parâmetros endócrinos pode

ser explicada pelo seu efeito secundário na ingestão alimentar. Por exemplo, a diminuição na concentração de leptina circulante em ratos tratados com esta catequina poderia ter sido causada pela redução da gordura estocada, que se deu pela baixa ingestão alimentar. Portanto, a GEGC pode interagir especificamente com um componente do receptor independentemente da via de controle do apetite, ou seja, da saciedade e, conseqüentemente, reduzir a ingestão alimentar.

No entanto, nem todos os trabalhos atribuem a perda de peso corporal à redução do consumo alimentar, como no estudo de Choo (2005) citado anteriormente, no qual não houve modificação na ingestão energética.

Da mesma forma, Arçari *et al.* (2009) avaliando o efeito anti-obesidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica, verificaram que as alterações no peso corpóreo dos animais tratados com o chá mate, não foram atribuídas a uma possível inibição do apetite, pois, não houve alteração na quantidade de ração ingerida após a intervenção com o chá. Entretanto, a ingestão de chá-mate influenciou de maneira positiva alguns parâmetros bioquímicos associados à obesidade, como glicemia, resistência à insulina, níveis de colesterol e triacilglicerol. Os efeitos benéficos observados foram concedidos à presença de vários fitoquímicos presentes no extrato aquoso de *Ilex paraguariensis*, como as xantinas, a cafeína, a teobromina, as saponinas e os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos. Em estudo semelhante, Melo *et al.* (2007) demonstraram que, após intervenção com a erva-mate, ratos da linhagem Wistar induzidos à obesidade apresentaram tendência a menor evolução ponderal quando comparados aos grupos que receberam água. Esta tendência de menor ganho de peso foi atribuída ao aumento da taxa de metabolismo basal ocasionada pela cafeína, que provoca um aumento na atividade da noradrenalina. Outra justificativa é o seu efeito lipolítico, aumentando a mobilização dos ácidos graxos livres dos tecidos ou dos estoques intramusculares, provocado indiretamente pelo aumento de catecolaminas na circulação.

5.4.2 Análises bioquímicas

Os resultados referentes aos parâmetros de glicose, colesterol total (CT), triglicerídios (TG), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) obtidos após o final do 1º período, acham-se descritos na Tabela 10.

Tabela 11 – Parâmetros bioquímicos dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) ao final do 1º período experimental*

Parâmetros (mg.dL ⁻¹)	DP (n = 9)	DH (n = 18)
Glicemia	110,11 ± 15,34 ^a	124,50 ± 22,09 ^a
Colesterol total	66,22 ± 10,08 ^a	45,67 ± 5,48 ^b
Triglicerídeos	80,00 ± 21,48 ^a	82,61 ± 13,16 ^a
HDL	54,67 ± 7,87 ^a	40,94 ± 5,17 ^b
LDL	10,78 ± 2,04 ^a	7,22 ± 2,26 ^b
VLDL	15,56 ± 3,64 ^a	16,16 ± 2,69 ^a

HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; VLDL= lipoproteína de muito baixa densidade.

*Valores obtidos por meio da média ± desvio padrão.

** Valores com letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença estatística significativa entre as médias ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Não foram encontradas alterações significativas nos parâmetros séricos dos animais durante o 1º período de experimento. Os *Rattus norvegicus*, variedade *Albinus*, da linhagem Wistar, são modelos muito utilizados para indução de obesidade, avaliação do acúmulo de gordura no fígado e depósito de gordura visceral, no entanto, para se obter resultados deletérios quanto ao perfil lipídico e glicose sérica, é necessário um período maior de intervenção com dieta rica em gordura (MORAES, 2009). Este modelo animal também é bastante resistente em desenvolver hipercolesterolemia, possivelmente pelo aumento da conversão de colesterol em ácidos biliares no fígado (MACHADO *et al.*, 2003). Esta resistência foi confirmada no presente estudo, onde os ratos alimentados com dieta hiperlipídica por 10 semanas apresentaram uma média de CT de 45,67 mg.dL⁻¹, valor abaixo do encontrado para os animais do grupo padrão (66,22 mg.dL⁻¹).

Os resultados dos testes bioquímicos obtidos ao final do 2º período estão descritos na Tabela 11. O grupo que recebeu DP durante todo o período experimental mostrou resultado médio de glicemia de 149,90 mg.dL⁻¹, valor próximo ao do grupo controle da obesidade (G2), que recebeu água durante o 2º período (149,86 mg.dL⁻¹). Os grupos G3 e G4 apresentaram resultados um pouco superiores aos dos grupos G1 e G2, embora sem diferença estatística significativa entre os grupos. Os resultados estão em concordância com Duarte *et al.* (2006), que não registraram diferença estatística significativa na glicemia basal em jejum de ratos Wistar tratados com dieta padrão e dieta hiperlipídica durante quinze semanas de experimento. Apesar das alterações morfológicas do pâncreas, a manutenção da normoglicemia dos ratos tratados com dieta rica em lipídio, provavelmente, deveu-se à capacidade preservada de suas ilhotas em secretar insulina. Valle (2009) também demonstrou que células beta de ratos Wistar se adaptaram para compensar os efeitos da dieta

suplementada com banha de porco; as ilhotas isoladas dos animais não apresentaram estresse oxidativo e demonstraram menos morte celular que os animais controle, sugerindo que a dieta hiperlipídica por apenas três meses não causou efeito deletério para as células beta.

Tabela 12 – Parâmetros bioquímicos dos grupos submetidos à dieta padrão (DP) e à dieta hiperlipídica (DH) ao final do 2º período experimental*

Parâmetros (mg.dL ⁻¹)	G1 (DP + água)	G2 (DH + água)	G3 (DH + fruto)	G4 (DH + casca)
Glicemia	149,90 ± 29,30 ^a	149,86 ± 14,05 ^a	191,14 ± 61,51 ^a	174,50 ± 39,18 ^a
Colesterol total	71,00 ± 7,39 ^a	81,43 ± 5,50 ^{ab}	88,43 ± 16,32 ^b	70,00 ± 9,59 ^a
Triglicerídeos	111,20 ± 54,27 ^a	181,14 ± 69,34 ^b	134,29 ± 39,33 ^{ab}	79,67 ± 18,67 ^a
HDL	58,60 ± 6,50 ^a	61,57 ± 5,74 ^a	68,86 ± 13,23 ^a	59,50 ± 8,02 ^a
LDL	8,49 ± 3,44 ^a	6,24 ± 4,97 ^a	8,74 ± 4,96 ^a	7,50 ± 1,02 ^a
VLDL	22,10 ± 10,86 ^a	36,14 ± 13,69 ^b	27,14 ± 7,73 ^{ab}	16,00 ± 3,69 ^{ac}

HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL= lipoproteína de baixa densidade; VLDL= lipoproteína de muito baixa densidade.

* Valores obtidos por meio da média ± desvio padrão.

** Valores com letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença estatística significativa entre as médias ao nível de 5% ($p < 0,05$).

Em relação aos animais que receberam intervenção com o chá, a concentração de glicemia dos animais obesos tratados com chá da casca de *G. ulmifolia*, foi menor quando comparada aos que receberam chá do fruto da mesma espécie vegetal (G3), contudo, valores estatisticamente diferentes não foram encontrados.

No entanto, Alarcon-Anguilara *et al.* (1998), estudando o efeito de 28 plantas medicinais utilizadas no tratamento de diabetes mellitus 2 (DM2), verificaram que entre elas, a que apresentou maior efeito antiglicemiante foi o chá da folha de *G. ulmifolia* administrado intragastricamente a coelhos hiperglicêmicos. Como essa planta é extensivamente utilizada no México para tratamento de DM2, em 2008, Alonso-Castro e Salazar-Olivo resolveram estudar os mecanismos anti-diabéticos de extratos aquosos da casca (EAC) e verificaram que a mesma exerce suas propriedades anti-diabéticas estimulando o influxo de glicose nos adipócitos, tanto nos responsivos quanto nos resistentes aos efeitos da insulina, sem afetar o desenvolvimento do tecido adiposo. A habilidade do EAC para induzir o influxo de glicose em adipócitos resistentes à insulina, em acréscimo ao seu leque de efeitos pro-adipogênicos ou anti-adipogênico, sugere que o EAG poderia ser muito útil no tratamento de DM2.

Dentro desse contexto, não é possível afirmar que, no presente trabalho, os chás da casca e do fruto de *G. ulmifolia* não possuem atividade antiglicemiante, visto que algumas plantas antidiabéticas somente mostram atividade quando avaliadas em estudos crônicos,

provavelmente porque a substância hipoglicemiante mantém níveis plasmáticos adequados no organismo (ALARCON-ANGUILARA *et al.*, 1998).

Quanto ao perfil lipídico, a média de concentração de colesterol total dos animais do grupo G4 foi de 70,00 mg.dL⁻¹, não diferindo estatisticamente do grupos G1 e G2, cujas médias foram de 71,00 mg.dL⁻¹ e de 81,43 mg.dL⁻¹, respectivamente. Já a concentração de CT para o grupo G3 foi de 88,43 mg.dL⁻¹, com diferença estatística significativa entre G1 e entre G4 (p<0,05).

Em relação aos níveis de triglicerídeos, o menor valor encontrado foi para o grupo G4 (79,67 mg.dL⁻¹), o qual apresentou diferença estatística (p<0,01) em relação ao seu controle, G2 (181,14 mg.dL⁻¹), indicando que a intervenção com o chá da casca interferiu de maneira positiva no perfil lipídico dos animais obesos. Os animais do grupo G3 também apresentaram valores de TG menores que de G2, porém sem diferença estatística entre eles.

Nenhum dos grupos mostrou diferença estatística significativa entre as médias em relação às frações HDL e LDL, diferindo apenas nos níveis de VLDL. Observaram-se menores concentrações de VLDL para os animais do grupo G4, com diferença estatística significativa (p < 0,01) em relação aos ratos do grupo G2, os quais também apresentaram diferença estatística (p < 0,05) quando comparados ao grupo G1.

Em estudo com chá verde, Yang & Koo (2000) demonstraram que o consumo do chá por ratos induzidos à hiperlipidemia, não alterou os níveis de HDL, porém reduziu os níveis de colesterol total e triglicerídeos. Ashida *et al.* (2004) verificaram que houve redução significativa do tecido adiposo de ratos Wistar jovens que consumiram chá verde por três semanas. Apesar do peso corporal, ingestão de alimentos e líquidos não serem alterados pelo chá, houve diminuição dos níveis plasmáticos de ácidos graxos livres e colesterol total, indicando que o chá verde modifica benéficamente o perfil lipídico dos animais. Outros trabalhos demonstram que os níveis plasmáticos de colesterol, glicose, insulina e leptina, diminuíram com a ingestão de catequinas do chá verde, apresentando um comportamento dose-dependente (KAO *et al.*, 2000; MURASE *et al.*, 2002).

Em 2010, Przygodda *et al.* demonstraram que a ingestão de erva-mate atua na redução dos níveis séricos de glicose, colesterol total e triglicerídeos de ratos Wistar alimentados com dietas hiperlipídicas e hiperglicídicas. Resultados semelhantes foram encontrados por Arçari *et al.*, (2009), onde a intervenção com *I. paraguariensis* em camundongos mantidos com dieta rica em gordura mostrou melhoria em vários parâmetros como peso corporal, glicemia, resposta à insulina, colesterol, triglicerídeos, LDL e aumento do HDL, exercendo uma influencia positiva em vários marcadores bioquímicos relacionados à obesidade.

Trabalhos sugerem que o mecanismo pelo qual estes marcadores influenciam os processos fisiológicos está relacionado à ação de saponinas, que interferem no metabolismo do colesterol e reduzem a absorção de gorduras derivadas da dieta, atuando principalmente através da inibição da lipase pancreática (HAN *et al.*, 2002; BASTOS *et al.*, 2007). Outros autores acreditam que o ácido clorogênico pode reduzir a glicemia por inibir a ação da glicose-6-fosfatase (HERLING *et al.*, 1999; BASSOLI *et al.*, 2008). Enzima esta envolvida na via final da gliconeogênese e glicogenólise, resultando em glicose livre que é exportada a corrente sanguínea, regulando sua homeostase (ARÇARI *et al.*, 2009). Além disso, polifenóis presentes na erva-mate podem interferir na absorção intestinal de glicose reduzindo a expressão gênica do transportador de glicose sódio-dependente tipo 1 (SGLT-1), devido a dissipação de íons de sódio na membrana intestinal (HOSSAIN *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2008). Mais especificamente, os flavonóides podem reduzir a absorção de glicose através da competição pela ligação no sítio da SGLT-1, impedindo o transporte de glicose (KNOW *et al.*, 2007).

Sabe-se que a absorção intestinal de glicose é realizada principalmente por seus transportadores específicos, como SGLT-1, GLUT-2 e GLUT-5 expressos nas células do epitélio intestinal (ARAÚJO & MARTEL, 2009). Vários estudos demonstram que os polifenóis presentes no chá verde estão envolvidos nessa inibição, sendo que as catequinas representam o papel principal. Experimentos utilizando vesículas da membrana da borda em escova obtidas do intestino delgado de coelhos demonstraram que galato de epicatequina (GEC) inibe o SGLT-1 de forma competitiva, entretanto o GEC por si só não foi transportado através dos transportadores de glicose. Esses resultados sugerem que as catequinas do chá poderiam desempenhar um papel de controle na absorção da glicose da dieta no trato intestinal e possivelmente contribuir com a homeostase sanguínea da glicose (CHEN *et al.*, 2007; SHIMIZU *et al.*, 2000; KOBAYASHI *et al.*, 2000).

Estudos *in vitro* também indicaram que as catequinas do chá verde, particularmente o GEC, interferem com a emulsificação, digestão e solubilização de lipídios em micelas, etapas críticas envolvidas na absorção intestinal da gordura, colesterol e outros lipídios da dieta. Baseado em observações, é possível que o chá verde ou suas catequinas diminuam a absorção e o acúmulo tecidual de outros compostos orgânicos lipofílicos. A informação disponível sugere fortemente que o chá verde ou suas catequinas podem ser utilizados com segurança e efetividade como agentes terapêuticos redutores de lipídios (KOO & NOH, 2007).

O controle do processo de regulação da absorção intestinal de glicose com objetivo de manter a homeostase da glicemia sérica, possui um potencial fator de proteção em patologias

como obesidade, diabetes tipo 2 e dislipidemias. Devido a isso, a elucidação dos mecanismos que modulam, aguda e cronicamente, o transporte intestinal de glicose, possibilitará desenvolver o campo da prevenção e da terapêutica de tais doenças (ARAÚJO & MARTEL, 2009). Dessa forma, o recente conhecimento de que a atividade e expressão do SGLT1 e do GLUT-2 apical ao nível intestinal são reguladas por uma série de fatores, abre uma gama de novas possibilidades, como o desenvolvimento de inibidores do SGLT1 semelhantes à floridzina (polifenol isolado da maçã) e inibidores do GLUT2, objetivando atenuar o aumento da glicemia pós-prandial. (JOHNSTON *et al.*, 2005; KOBAYASHI *et al.*, 2000; SHIMIZU *et al.*, 2000).

Estudos demonstram que alguns polifênóis (catequinas, quercetina, miricetina, ácido clorogênico, ácido cafeico, neospiridina, entre outros), devido ao potente efeito inibitório na captação intestinal de glicose podem, eventualmente, fazer parte dessa linha de pesquisa (SONG *et al.*, 2002; KOBAYASHI *et al.*, 2000; SHIMIZU *et al.*, 2000) como novas terapias que atuam nestes mecanismos ou de outra forma, quer modulando os fatores de transcrição intestinais do SGLT1 e GLUT2, para em última instância aumentar ou diminuir a sua expressão, quer modulando as vias de sinalização intracelular responsáveis pelo recrutamento do GLUT2 (ARAÚJO & MARTEL, 2009).

O mecanismo pelo qual o chá da casca de *G. ulmifolia* possa diminuir o ganho de peso ainda não está elucidado. Porém, existem várias hipóteses relacionadas aos polifenóis, principalmente às catequinas, como importantes fatores envolvidos no quadro de melhora de obesidade, suas comorbidades e marcadores bioquímicos. Dessa forma, os compostos biologicamente ativos presentes na espécie *G. ulmifolia* são uma alternativa na terapêutica das doenças crônicas não-transmissíveis descritas, devendo ainda ser realizadas pesquisas futuras para esclarecimento desse potencial, bem como intensa investigação científica quanto à dose e a forma de apresentação desses compostos para o tratamento ou a prevenção de obesidade em humanos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o presente trabalho demonstram que o chá da casca de *Guazuma ulmifolia* pode auxiliar no tratamento da obesidade, devido à presença de fitoquímicos que estimulam o metabolismo e modulam o apetite.

A capacidade em sequestrar radicais livres da espécie *G. ulmifolia* apontam os extratos da casca como dotados de atividade antioxidante mais potente do que os extratos obtidos do fruto. Essa ação foi associada ao teor mais elevado de compostos fenólicos apresentados pelos extratos da casca.

No ensaio biológico observou-se que a ingestão de chá da casca influenciou o consumo de ração pelos animais, os quais demonstraram menor tendência de ganho de peso e melhora parcial nos parâmetros bioquímicos relacionados à obesidade. Em relação aos animais que receberam intervenção com chá do fruto, não houve diminuição no ganho de peso e no consumo de ração quando comparados ao controle da obesidade.

Deste modo, o presente estudo sugere que a ingestão do chá da casca de *G. ulmifolia* pode contribuir para diminuir o risco de desenvolvimento de doenças crônicas relacionadas a processos oxidativos, tais como a aterosclerose e câncer, assim como de doenças associadas à obesidade.

REFERÊNCIAS

Ainslie DA, Proietto J, Fam BC, Thorburn AW. Short-term, high-fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. *Am J Clin Nutr* 2000;71:438–42.

Alarcon-Aguilara FJ, Romam Ramos R, Perez-Gutierrez S, Aguilar-Contreras A, Contreras-Weber CC, Flores-Saenz JL. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as Antidiabetics. *J Ethnopharmacol*. 1998; 61:101–110.

Almeida SP, Proença CEB, Sano SM, Ribeiro JF. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 1998; 464p.

Alonso-Castro AJ, Salazar-Olivo LA. The anti-diabetic properties of *Guazuma ulmifolia* Lam are mediated by the stimulation of glucose uptake in normal and diabetic adipocytes without inducing adipogenesis. *J Ethnopharmacol*. 2008; 118:252-256.

American Heart Association. AHA Scientific Statement. Dietary guidelines. Revision 2000. A statement for health care professionals from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation*. 2000; 102:2284-99.

American College of Sports Medicine. Position stand: proper and improper weight loss programs. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Baltimore. 1993; 15:9-13.

Andreo D, Jorge N. Antioxidantes Naturais: Técnicas de Extração. B.CEPPA, Curitiba. 2006; 24(2):319-336.

Angelo PM, Jorge N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 2007, 66(1): 232-240.

Araújo JR, Martel F. Regulação da Absorção Intestinal de Glicose: Uma Breve Revisão. *Arq Med*. 2009; 23(2):35-43.

Arçari DP, Bartchewsky W, dos Santos TW, Oliveira KA, Funck A, Pedrazzoli J, de Souza MF, Saad MJ, Bastos DH, Gambero A, Carvalho Pde O, Ribeiro ML. Antiobesity Effects of yerba maté Extract (*Ilex paraguariensis*) in High-fat Diet–induced Obese Mice Obesity. 2009; 17(12):2127-2133.

Ashida H, Furuyashiki T, Nagayasu, H. et al. Anti-obesity actions of green tea: Possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. *Biofactors*. 2004; 22:135-140.

Asolini FC, Tedesco AM, Carpes ST, Ferraz C, Alencar SM. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. *Braz J Food Technol*. 2006; 9: 209-215.

Association of official analytical chemists - AOAC. Official methods of analysis. 16 edição, v.1. Arlington: AOAC, 1995.

ABESO — Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes brasileiras de obesidade 2009/2010. 3.ed. - Itapevi, SP : AC Farmacêutica, 2009.

ABESO — Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Atualização das Diretrizes para o Tratamento Farmacológico da Obesidade e do Sobrepeso. Posicionamento Oficial da ABESO/ SBEM – 2010.

Avidos MFD, Ferreira LT. Frutos do cerrado. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. 2000; 3(15). [Acesso em 03 mar 2010]. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio15/frutos.pdf>

Bassoli BK, Cassolla P, Borba-Murad GR, Constantin J, Salgueiro-Pagadigorria CL, Bazotte RB, da Silva RS, de Souza HM. Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycemia. *Cell Biochem Funct*. 2008; 26(3):320-8.

Bastos DHM, Saldanha LA. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules* (Basel). 2007; 12: 423-432.

Batubara I, Darusman L K, Mitsunaga T; *et al.* Potency of Indonesian Medicinal Plant Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *Jornal of Biological Sciences*. 2010; 10(2):138-144.

Berenguer B, Trabadela C, Sanchez-Fidalgo S, Quilez A, Mino P, De La Puerta R, Martín-Calero MJ. The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. protect against NSAID-induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol*. 2007; 114:153-160.

Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm-wiss Technol*. 1995; 28:25-30.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 10, de 09 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de março de 2010, Seção 1.*

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. Brasília: Ministério da Saúde, 1018p, 2005.

Bray GA, Lovejoy JC, Smith SR, DeLany JP, Lefevre M, Hwang D, *et al.* The influence of different fats and fatty acids on obesity, insulin resistance and inflammation. *J Nutr*. 2002; 132(9):2488-91.

Buettner R, Parhofer KG, Woenckhaus M, Wrede CE, Kunz-Schughart LA, Schölmerich J, *et al.* Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol*. 2006; 36:485-506.

Caballero-George C, Vanderheyden PM, De Bruyne T, Shahat AA, Van Den Heuvel H, Solis PN, *et al.* In vitro inhibition of [3H]-angiotensin II binding on the human AT1 receptor by proanthocyanidins from *Guazuma ulmifolia* bark. *Planta Med*. 2002; 68(12):1066-71.

Cabeço, L C. Flexibilidade fenotípica do trato gastrointestinal de ratos propensos e resistentes a obesidade submetidos a restrição alimentar [Dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2008.

Camporese A, Balick M J, Arvigo R, Esposito RG, Morsellino N, De Simone F, *et al.* Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). *J Ethnopharmacol.* 2003; 87:103–107.

Cardoso CVP. Leis Referentes à Experimentação Animal no Brasil – Situação Atual. In: COBEA. Disponível em: <http://vsites.unb.br/ib/ceua/COBEA.htm> Acesso em: 07 mar 2009.

Carvalho PER. Mutamba – *Guazuma ulmifolia*. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 13p.

Cheik N C. Efeitos de diferentes intervenções nutricionais e do exercício físico sobre a regulação hormonal da ingestão alimentar e do metabolismo lipídico em ratos [Dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2005.

Chen CH, Hsu HJ, Huang YJ, Lin CJ. Interaction of flavonoids and intestinal facilitated glucose transporters. *Planta Med.* 2007; 73(4):348-54.

Choo JJ. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through beta-adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. *J Nutr Biochem.* 2003; 11:671-676.

Cook NC, Samman S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem.* 1996; 7(2):66-76.

Cowburn G, Hillsdon M, Hankey CR. Obesity management by life-style strategies. *British M.d.col Buffttin* 1997; 3(2):389-408.

Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* 2010, 15, 7313.

Dengel DR, Hagberg JM, Pratley RE, Rogus EM, Golderg AP. Improvements in blood pressure, glucose metabolism, and lipoprotein lipids after aerobic exercise plus weight loss in obese, hypertensive middle-aged men. *Metabolism*. 1998; 47(9):1075-1082.

Dixon RA, Xie DY, Sharma SB. Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research. *New Phytologist*. 2005; 165: 9-28.

Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Phys Rev*. 2002; 82:47-95.

Duarte ACGO, Fonseca DF; Manzoni MSJ; Camila Frenedozo Soave CF; Sene Fiorese M; Damaso AR; Cheik NC. Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev Nutr [online]*. 2006; 19(3):341-348.

Durackova Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010; 59:459-469.

Eufrazio MR. Ação de diferentes tipos de fibras sobre frações lipídicas do sangue e fígado de ratos [Dissertação]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2003.

Felipe AMM, Rincão VP, Benati FJ, Linhares REC, Galina KJ, Toledo CEM, *et al*. Antiviral Effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on Poliovirus and Bovine Herpesvirus. *Biol Pharm Bull*. 2006; 29(6):1092-1095.

Fernandes TF, Fernandes Dos Santos AT, Pimenta FC. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Revista de Patologia Tropical*. 2005; 34(2):113-122.

Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, *et al*. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9•1 million participants. *Lancet* 2011.

Francischi RPP, Pereira LO, Freitas CS, Klopfer M, Santos RC, Vieira P, Lancha-Junior AH. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. *Rer Nutr.* 2000;13(1):17-28.

Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Lollmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet- induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1995; 1:1311-1314.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.

Funayama S, Riella ACM, Gugelmin C, Silva CJ, Borsari AP. Leptina - expectativas de uso no tratamento da obesidade. *Ciência e Cultura.* 2002; 26: 59-68.

Galina KJ, Sakuragui CM, Borguezam Rosa JC, Lorenzatti ER, Palazzo De Mello JC. Contribuição ao Estudo Farmacognóstico da mutamba (*Guazuma ulmifolia* - Sterculiaceae). *Acta Farm Bonaerense.* 2005; 24 (2): 25-33.

Genena AK, Hense H, Smania Junior A, Souza SM. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2008; 28(2):463-469.

Gomes FP. Curso de estatística experimental. Piracicaba, SP. Nobel, 1990. 468p.

Guarim Neto G, Morais RG. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. *Acta Bot Bras.* 2003; 17(4):561-584.

Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. The Characterization of Antioxidants. *Food Chem Toxicol.* 1995; 33(7):601-617.

Han S, Zheng Z, Ren D. Effect of *Salvia miltiorrhiza* on left ventricular hypertrophy and cardiac aldosterone in spontaneously hypertensive rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2002; 22(4):302-4.

Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev.* 2010; 230:270–299.

Herling AW, Burger H, Schubert G, Hemmerle H, Schaefer H, Kramer W. Alterations of carbohydrate and lipid intermediary metabolism during inhibition of glucose-6-phosphatase in rats. *Eur J Pharmacol.* 1999; 386(1):75-82.

Heymsfield SB, Allison DB, Vasseli Jr et al. *Garcinia cambogia* (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *JAMA,* 1998; 280(18):1596-1600.

Hör M, Rimpler H, Heimrich M. Inhibition of intestinal chloride secretion by proanthocyanidins from *Guazuma ulmifolia*. *Planta Med.* 1995; 61(3):208-12.

Hör M, Heimrich M, Rimpler H. Proanthocyanidin polymers with antisecretory activity and proanthocyanidin oligomers from *Guazuma ulmifolia* bark. *Phytochemistry.* 1996; 42(1):109-119

Hornick JL, Van Eenaeme C, Gerad O, Dufrasne I, Istasse L. Mechanisms of reduced and compensatory growth. *Domest Anim Endocrin.* 2000; 19:121-132.

Hossain SJ, Kato H, Aoshima H, Yokoyama T, Yamada M, Hara Y. Polyphenol-induced inhibition of the response of na(+)/glucose cotransporter expressed in *Xenopus* oocytes. *J Agric Food Chem.* 2002; 50(18):5215-9.

Howarth NC, Saltzman E, Roberts SB. Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev.* 2001; 59(5):129-39.

Hrapkiewicz K, Medina L, Holmes DD. *Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction*, 2nd Ed. Iowa State University Press, Ames, IA. 1997.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil*. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

Ikeuchi M, Koyama T, Takahashi J, Yazawa K. Effects of Astaxanthin in Obese Mice Fed a High-Fat Diet. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2007; 71(4):893-899.

Johnston K, Sharp P, Clifford M, Morgan L. Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett* 2005; 579:1653-7.

Kao YH, Hiipakka RA, Liao S, Dulloo AG. Modulation of obesity by a green tea catechin. *American Society for Clinical Nutrition*. 2000; 72:1232-41.

Kobayashi Y, Suzuki M, Satsu H, et al. Green Tea Polyphenols Inhibit the Sodium-Dependent Glucose Transporter of Intestinal Epithelial Cells by a Competitive Mechanism. *J Agric Food Chem* 2000; 48:5618-23.

Koo SI, Noh SK. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *J Nutr Biochem*. 2007; 18(3):179-83.

Kwon O, Eck P, Chen S, Corpe CP, Lee JH, Kruhlak M, Levine M. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. *FASEB J*. 2007; 21(2):366-77.

Lamarão RC, Fialho E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. *Rev Nutr*. 2009; 22(2):257-269.

Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr*. 1999; 70 (suppl) :475S–90S.

Leite JPV. Fítoterapia: bases científicas e tecnológicas. São Paulo: Atheneu; 328 p, 2009.

Liao S. The medicinal action of androgens and green tea epigallocatechin gallate. HKMJ. 2001; 7(4).

Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Santana AEG, Genet JP, *et al.* Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2006; 105:137-147.

Lladó I, Rodríguez-Cuenca S, Pujol E, Monjo M, Estrany ME, Roca P, Palou A. Gender effects on adrenergic receptor expression and lipolysis in white adipose tissue of rats. *Obes Res.* 2002; 10(4):296-305.

Lopes GC, Bruschi ML, Mello JCP. RP-LC-UV Determination of proanthocyanidins in *Guazuma ulmifolia*. *Chromatographia* 2009a; 69:S175-81.

Lopes GC, Rocha JCB, Almeida GC, Mello JCP. Condensed Tannins from the Bark of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Sterculiaceae). *J Braz Chem. Soc.* 2009b; 20(6):1103-1109.

Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

Luft VC. Obesidade e Diabetes: Contribuição de Processos Inflamatórios e Adipocitonas, e a Potencial Importância de Fatores Nutricionais [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010.

Magos GA, Mateos JC, Páez E, Fernandez G, Lobato C, Marquez C, Enriquez RG. Hypotensive and vasorelaxant effects of the procyanidin fraction from *Guazuma ulmifolia* bark in normotensive and hypertensive rats. *J Ethnopharmacol.* 2008; 177(1):58-68.

Martins SV. Recuperação de Matas Ciliares. 2ª ed Viçosa – MG: Ed. Aprenda fácil, 2007

McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000; 108:652-9.

Machado DF, Ferreira CLLF, Costa NMB, Oliveira TT. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido fólico. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2003; 23(2):270-275.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79:727-47.

Mancini M, Hapern A. Tratamento Farmacológico da Obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2002; 46(5).

Martinez-Florez S, Gallego JG, Culebras NJM, Tunon MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp.* 2002; XVII(6)271-278.

Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Leal FLL, Caetano ACS, Nascimento RJ. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2006; 26(3):639-644.

Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Nascimento RJ. Capacidade antioxidante de frutas. *Rev Bras Cienc Farm.* 2008; 44(2):193-201.

Melo SS, Nunes NSI, Baumgarten C, Tressoldi C, Faccin G, Zanuzo K, Michels MK, Da Cunha N, Specht S, Da Silva MW. Efeito da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil) sobre o perfil metabólico em ratos alimentados com dietas hiperlipídicas. *Alim Nutr.* 2007; 18:439-447.

Miliaukas G, Venskutonis PR, Van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 2004; 85:231-37.

Momm NA. Efeito do bagaço da maçã sobre a glicemia, lipidemia, peroxidação de lipídeos e peso corporal em ratos obesos [Dissertação]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2007.

Monteiro CA, Mondini L, Costa RBL. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Rev Saude Publica*. 2000; 34:3.

Moraes VB. Efeito de resíduo da moagem a seco de milho micropulverizado no metabolismo lipídico, na glicemia e na composição corporal em ratos alimentados com dieta de cafeteria [Dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2009.

Moro CO, Basile G. Obesity and medicinal plants. *Fitoterapia*. 2000; 71 (Suppl 1):S73-82.

Motta MS, Davide AC, Ferreira RB. Longevidade de sementes de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. -Sterculiaceae) no solo em condições naturais. *Revista Brasileira de Sementes*. 2006; 28(2):07-14.

Murase T, Nagasawa A, Suzuki J, Hase T, Tokimitsu I. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002; (11):1459-64.

Nakazato K, Song H, Waga T. Effects of dietary apple polyphenol on adipose tissues weights in Wistar rats. *Exp Anim*. 2006; 55(4):383-9.

Nammi S, Koka S, Chinnala KM, Boini KM. Obesity: An overview on its current perspectives and treatment options. *Nutr J*. 2004; 3(3):1-8.

Nascimento SC, Chiappeta AA, Lima RMOC. Antimicrobial and cytotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. *Fitoterapia*. 1990; 61(4):353-355.

Navarro MC, Montilla MP, Cabo MM. Antibacterial, Antiprotozoal and Antioxidant Activity of Five Plants Used in Izabal for Infectious Diseases. *Phytotherapy Research*. 2003; 17:325-329.

Nunes YR, Fagundes M, Santos RM, Domingues EBS, Almeida HS, Gonzaga APD. Atividades fenológicas de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) em uma floresta estacional decidual no norte de Minas Gerais. *Lundiana*. 2005; 6(2):99-105.

Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*. 2006; 295(13):1549-1555.

Oliveira DM, Freitas H, Souza MFF, Ribeiro ML, Carvalho PO, Araçatri DP, Bastos DHM. Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) aqueous extract decreases intestinal SGLT1 gene expression but does not affect other biochemical parameters in alloxan-diabetic Wistar rats. *J Agric Food Chem*. 2008; 56:10527-10532.

Pang Y, Choi T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2008; 476:178-185.

Pereira LO, Francischi RP, Lancha Júnior AH. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2003; 47(2).

Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*. 2000; 63:1035-42.

Pott A, Pott VJ. Plantas do Pantanal. Corumbá: EMBRAPA - CPAP / Brasília: EMBRAPA - SPI, 1994.

Przgodda F, Martins ZN, Castaldelli APA, Minella TV, Vieira LP, Cantelli K, Fronza J, *et al.* Effect of erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) on serum cholesterol, triacylglycerides and glucose in Wistar rats fed a diet supplemented with fat and sugar. *Rev Bras Farmacogn*. 2010; 20(6).

Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 2006; 113(3):189-207.

Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GCJr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and HocWriting Committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11): 1939-1951.

Reuter S, Gupta SC, Chaturvedli MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med.* 2010; 49(11):1603-16.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidants properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 1997; 2(4):152–159.

Roberts SB, McCrory MA, Saltzman E. The Influence of Dietary Composition on Energy Intake and Body Weight. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21(2): 40S-145S.

Rocha FD, Pereira RC, Kaplan MAC, Teixeira VL. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. *Rev Bras Farmacogn.* 2007; 17: 631-639.

Rockenbach II, Silva GL, Rodrigues E, Kuskoski EM, Fett R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2008; 28:238-44.

Roesler R, Malta LG, Carrasco LC, Holanda RB, Souza CAS, Pastore GM. Atividade Antioxidante de frutas do cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2007; 27(1):53-60.

Ross JA; Kasum CM. Dietary Flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev Nutr.* 2002. 22:19-34.

Saito ST. Estudo químico e avaliação da atividade antioxidante do chá-verde brasileiro (*C. sinensis* var. *assamica*) Cultivar IAC-259 [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.

Sakano K, Mizutani M, Murata M, Oikawa S, Hiraku Y, Kawanishi. Procyanidin B2 has anti- and pro-oxidant effects on metal-mediated DNA damage. *Free Radical Biology & Medicine*. 2005; 1041-1049.

Segal A, Fandiño J. Indicações e contra-indicações para realização das operações bariátricas. *Rev Bras Psiquiatr*. 2002; 24(Supl III):68-72.

Seigler DS, Pauli GF, Fro-Hlich R, Wegelius E, Nahrstedt A, Glander KE, et al. Cyanogenic glycosides and menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata*, and *Tiquilia canescens*. *Phytochemistry*. 2005; 66, 1567-1580.

Serpa Neto A, Saheb GCB, Arantes BS. Fatores ambientais, comportamentais e neuroendocrinológicos envolvidos na gênese da epidemia da obesidade. *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*. 2007; 33(1):44-53.

Shimizu M, Kobayashi Y, Suzuki M, Satsu H, Miyamoto Y. Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. *Biofactors* 2000; 13:61-5.

Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997; 82(2): 291-295.

Silva CJ, Ferreira HD, Ferri PH, Nunes WB, Pereira DG, Carvalho S. Ausência de atividade mutagênica de *Guazuma ulmifolia* Lamb. (mutamba) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *Rev Biol Neotrop*. 2006; 3(2): 163-168.

Silva GM. Potencial antioxidante de frutos do Cerrado e do Pantanal, no Estado de Mato Grosso do Sul [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2010.

Simões CMO. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. 3. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 1989. 173 p.

Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2004.

Singleton VL, Rossi RJA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amer J Enol Viticult. 1965; 16:144-58.

Soares SE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. Rev Nutr. 2002; 15(1):71-81.

Soares M, Welter L, Gonzaga L, Lima A, Mancini-Filho J, Fett R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2008; 28(3): 727-732.

Sobrinho SP, Siqueira AG. Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. – Sterculiaceae). Revista Brasileira de Sementes. 2008; 30(1):114-120.

Song J, Kwon O, Chen S, Daruwala R, Eck P, Park JB, Levine M. Flavonoid Inhibition of Sodium-dependent Vitamin C Transporter 1 (SVCT1) and Glucose Transporter Isoform 2 (GLUT2), Intestinal Transporters for Vitamin C and Glucose. J Biol Chem. 2002; 277(18):15252-60.

Sousa CMM, Silva HR, Vieira-Jr. GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Química Nova. 2007; 30(2):351-355.

Stephens DN. Does the Lee obesity index measure general obesity? Physiology & Behavior. 1980; 25(2): 313-315.

Sun B, Spranger MI. Revisão: Extração e análise de proantocianidinas e estilbenos da uva e do vinho. Ciência Téc. Vitiv. 2005; 20(2):59-89.

Thompson WG, Cook DA, Clark MM, Bardia A, Levine JA. Treatment of obesity. *Mayo Clin Proc.* 2007; 82(1):93-101.

Trevisan RR. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent Ulmaceae [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2010.

Trevisanato S, Kim Y. *Nutrition Reviews* #169; International Life Sciences Institute. 2000; 58(1):1-10.

USP. Universidade de São Paulo. Tabela de composição de alimentos: projeto integrado de composição de alimentos. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela>>. Acesso em: 10 dez 2009.

Valle MMR. A expressão e atividade da NAD(P)H oxidase em ilhotas pancreáticas de ratos tratados com dieta hiperlipídica [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.

Velloso LA. O Controle Hipotalâmico da Fome e da Termogênese – Implicações no Desenvolvimento da Obesidade. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006; 50(2).

Violante IMP. Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies vegetais do cerrado da região centro-oeste [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul; 2008.

Von Diemen V, Trindade EN, Trindade MRM. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cir Bras.* 2006; 21(6):425-429.

Xie DY, Dixon RA. Proanthocyanidin biosynthesis – still more questions than answers?. *Phytochemistry.* 2005; 66(18):2127-44.

Wanderley EN; Ferreira VA. Obesidade: uma perspectiva plural. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2010; 15(1):185-194.

Wang Y, Beydoun MA. The obesity epidemic in the united states gender, age, socioeconomic, racial/ethnic, and geographic characteristics: a systematic review and meta-regression analysis. *Epidemiol Ver.* 2007; (1):6-28.

Wang Y, Wang PY, Qin LQ, Davaasambuu G, Kaneko T, Xu J, *et al.* The development of diabetes mellitus in Wistar rats kept on a high-fat/low-carbohydrate diet for long periods. *Endocrine.* 2003; 22(2):85-92.

Warwick ZS, Schiffman SS. Role of dietary fat in calorie intake and weight gain. *Neuroscience & Biobehav Rev.* 1992;16(4):585-96.

Weinsier RL, Hunter GR, Heini AF, Goran MI, Sell SM. The etiology of obesity: relative contribution of metabolic factors, diet, and physical activity. *Am J Med.* 1998; 105(2):145-50.

West DB, York B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. *American Society for Clinical Nutrition*, 1998; 67(suppl):505S-12S.

Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, Halsey J, *et al.* Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet.* 2009; 373 (9669):1083-1096.

Williams GC, Grow VM, Freedman ZR, Ryan RM, Deci EL. Motivational predictors of weight loss and weight-loss maintenance. *J Pers Soc Psychol.* 1996; 70(1):115-26.

WHO — World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series, No. 894. Geneva: WHO; 2000.

WHO — World Health Organization. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series No. 916. Geneva: WHO; 2003.

Wolfram S, Wang Y, Thielecke F. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Mol Nutr Food Res*. 2006; 50(2):176-87.

Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC Method for Evaluation of the Free Radical- scavenging Activity of Foods by using 1,1 Diphenyl-2 picrylhydrazyl. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1998; 62 (6):1201-1204.

Yan MX, Li YQ, Meng M, Ren HB, Kou Y. Long-term high-fat diet induces pancreatic injuries via pancreatic microcirculatory disturbances and oxidative stress in rats with hyperlipidemia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 347(1):192-9.

Yang TTC, Koo MWL. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation. *Atherosclerosis*. 2000; 148:67-73

Zhang XY, Li WG, Wu YJ, Zheng TZ, Li W, Qu SY, Liu NF. Proanthocyanidin from grape seeds potentiates anti-tumor activity doxorubicin via immunomodulatory mechanism. *Int Immunopharmacol*. 2005; 5(7-8):1247-57.

Zheng G, Sayama K, Ohkubo Z, Juneza LR, Oguni I. Anti-obesity Effects of Three Major Components of Green Tea, Catechins, Caffeine and Theanine, in Mice. *In Vivo*. 2004; 18(1):55-62.

ANEXO A

Certificado de Aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA/UFMS



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 225/2009 da Mestranda Fabiana Mesquita Roese, sob a Orientação da Profª Maria Isabel Lima Ramos, referente ao projeto de pesquisa "**Atividade antioxidante, toxicidade e efeito sobre as concentrações de lipídeos e glicose plasmática do fruto chico-magro (*Guazuma ulmifolia*)**", está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião de 25 de agosto de 2009.

Campo Grande (MS), 28 de agosto de 2009.


Dr. Maria Araújo Teixeira
Presidente da CEUA