

**AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS DE
PLANTAS SOBRE LIPASE PANCREÁTICA
COM ÊNFASE EM *Baccharis trimera* (Less.) DC.**

STEFÂNIA PRISCILLA DE SOUZA

2009

STEFÂNIA PRISCILLA DE SOUZA

**AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE LIPASE
PANCREÁTICA COM ÊNFASE EM *Baccharis trimera* (Less.) DC.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica,
para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Souza, Stefânia Priscilla de.

Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática
com ênfase em *Baccharis trimera* (Less.) DC / Stefânia Priscilla de
Souza. – Lavras : UFLA, 2009.

84 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Custódio Donizete dos Santos.

Bibliografia.

1. Lipase pancreática. 2. Inibição enzimática. 3. Obesidade. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 583.5504634
583.5504192

STEFÂNIA PRISCILLA DE SOUZA

**AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE LIPASE
PANCREÁTICA COM ÊNFASE EM *Baccharis trimera* (Less.) DC.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 18 de dezembro de 2009.

Profa. Dra. Luciana de Matos Alves Pinto

UFLA

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

UFLA

Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, **Aderson** e **Nilvane** e minha irmã **Alline**, por serem a base forte da minha vida, pela paciência, dedicação e apoio em todos os momentos.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela possibilidade de mais uma existência, com saúde e boas oportunidades.

Ao professor Custódio Donizete dos Santos, por permitir a realização deste projeto, pela orientação e confiança depositada.

Ao professor Raimundo Vicente de Souza, pela orientação no ensaio biológico, consideração e atenção, disponibilizando o laboratório e materiais.

Ao professor Flademir Wouters, pela disponibilidade na avaliação patológica do ensaio biológico.

Ao meu pai, Koquinho, pela coleta do material vegetal e amizade.

A minha irmã Alline, pela substancial ajuda em todos os momentos do trabalho.

A minha mãe, por me aguentar todos os dias e entender todos os momentos de ausência.

À amiga Luciana, pelo apoio, ensinamentos e grande amizade.

Ao funcionário do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia William César Cortez, pela amizade e grande ajuda.

A Estela, pela grande ajuda nos gráficos, exemplo a seguir em disponibilidade para ajudar o próximo.

As amigas Poly, Cris e Estela, pela ajuda estatística.

As minhas grandes amigas Vanessa, Máira, Lu Batista, Fernanda, Alline (mana), Aline e Cris que, perto ou longe, são parte essencial da minha vida.

Aos companheiros e amigos de trabalho, em especial, Rafa, Biju, Poly, Luciana, Crhystian, Estela, Abel e Cris, por todas as experiências divididas.

Aos alunos Renato e Pedro, pela amizade e ajuda no ensaio biológico.

A toda minha família, principalmente minha avó Jô, por estruturar a minha vida.

A minha segunda família, que são meus amigos, em especial Cláudio, Zé Márcio, Vevinha, Keyla, Niel, Zé Maria e Vamilda.

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização de mais essa etapa da minha vida.

***Pela amizade que você me devota,
por meus defeitos que você nem nota***

***Por meus valores que você aumenta,
por minha fé que você alimenta...***

***Pelo silêncio que diz quase tudo,
por este olhar que me reprova mudo***

***Por ser presente, mesmo quando ausente,
por ser feliz quando me vê contente***

***Por este olhar que diz:
"Amigo, vá em frente!"***

***Por ficar triste, quando estou tristonho,
por rir comigo quando estou risonho...***

MUITO OBRIGADA.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO GERAL	iv
GENERAL ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral	1
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 Obesidade e a saúde pública	4
2.2 Triglicerídios e sua digestão	7
2.3 Lipases	10
2.3.1 Lipase pancreática	11
2.3.2 Inibidores de lipase pancreática	12
2.4 Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos	15
2.5 <i>Baccharis trimera</i> (Less) DC – carqueja.....	16
3 Referências Bibliográficas.....	20
CAPÍTULO 2: Prospecção da atividade inibitória da lipase pancreática <i>in vitro</i> por extratos vegetais	28
1 Resumo	28
2 Abstract.....	29
3 Introdução	30
4 Material e Métodos	32
4.1 Seleção das plantas medicinais	32
4.2 Obtenção do material vegetal	32

4.3 Preparo do extrato aquoso a frio	32
4.4 Preparo do extrato metanólico	34
4.5 Ensaio de atividade da lipase pancreática	34
4.6 Ensaio de inibição da lipase pancreática	35
4.7 Simulação da digestão no estômago	36
5 Resultados e Discussão	37
6 Conclusão	41
7 Referências Bibliográficas	42
CAPÍTULO 3: Inibição de lipase pancreática por extratos de <i>Baccharis trimera</i>	
(carqueja): avaliação de antinutrientes e efeito sobre glicosidases.....	
1 Resumo	46
2 Abstract.....	47
3 Introdução	48
4 Material e Métodos	50
4.1 Material vegetal.....	50
4.2 Preparo do extrato metanólico	50
4.3 Preparo do extrato etanólico	50
4.4 Preparo do extrato aquoso à frio	50
4.5 Preparo do infuso de carqueja.....	51
4.6 Obtenção das enzimas.....	51
4.7 Ensaio de atividade da lipase.....	51
4.8 Ensaio de inibição da lipase.....	52
4.9 Fracionamento do extrato metanólico liofilizado.....	53
4.10 Inibição da α -amilase e α e β -glicosidases	54
4.10.1 Inibição de α -amilase	54
4.10.2 Inibição de α -glicosidase e β -glicosidase	54
4.11 Atividade hemolítica	54

4.12 Antinutrientes.....	55
4.12.1 Polifenóis.....	55
4.12.2 Saponinas.....	55
4.12.3 Inibição de tripsina.....	55
5 Resultados e Discussão.....	56
6 Conclusão.....	61
7 Referências Bibliográficas.....	62
CAPÍTULO 4: Efeito do extrato metanólico de <i>Baccharis trimera</i> em ratos hipercolesterolêmicos.....	66
1 Resumo.....	66
2 Abstract.....	67
3 Introdução.....	68
4 Material e Métodos.....	70
4.1 Material vegetal.....	70
4.2 Preparo do extrato metanólico.....	70
4.3 Bioensaio.....	70
4.3.1 Animais e condições do experimento.....	70
4.3.2 Administração do extrato.....	71
4.3.3 Determinação de lipídios plasmáticos.....	72
4.3.4 Término do bioensaio.....	72
4.4 Análises bioquímicas do fígado.....	72
4.5 Análise histológica do fígado.....	73
4.6 Análise estatística.....	73
5 Resultados e Discussão.....	74
6 Conclusão.....	81
7 Referências Bibliográficas.....	82
Considerações Finais.....	84

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPITULO 1	
TABELA 1	Variações no percentual de indivíduos expostos a fatores de risco na população brasileira..... 05
TABELA 2	Fármacos antiobesidade e seus mecanismos de ação principais..... 06
CAPITULO 2	
TABELA 1	Identificação do material vegetal obtido no Horto Medicinal e a parte da planta utilizada..... 33
TABELA 2	Identificação do material vegetal obtido em comércio local e a parte da planta utilizada..... 34
TABELA 3	Ação dos extratos metanólicos das 19 plantas estudadas sobre a atividade da lipase pancreática..... 38
TABELA 4	Atividade da lipase pancreática na presença de extratos metanólicos após simulação da digestão..... 39
CAPITULO 3	
TABELA 1	Atividade da lipase pancreática na presença dos extratos de carqueja..... 56
TABELA 2	Percentual de inibição da lipase após fracionamento com solventes..... 57
TABELA 3	Percentual de inibição causada pelo infuso e extrato metanólico de carqueja sobre enzimas glicolíticas..... 59
TABELA 4	Teores de antinutrientes no extrato metanólico e no chá de carqueja..... 59
CAPITULO 4	
TABELA 1	Composição da dieta experimental..... 71

TABELA 2	Níveis de HDL-c e LDL-c +VLDL-c do soro de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. b p <0,05, quando comparado ao grupo controle, n = 7.....	78
TABELA 3	Peso do fígado, níveis de colesterol total e lipídios totais de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. a1 p<0,05, quando comparado ao grupo controle, n = 7.....	79

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPITULO 1	
FIGURA 1	Papel fisiológico da lipase pancreática na absorção de lipídios... 09
FIGURA 2	Ação da colipase na atividade da lipase pancreática..... 12
FIGURA 3	A Estrutura química da lipstatina. B - estrutura química da tetrahidrolipstatina..... 13
FIGURA 4	Parte aérea da planta carqueja - <i>Baccharis trimera</i> (Less) DC..... 18
CAPITULO 3	
FIGURA 1	Metodologia utilizada no fracionamento do extrato metanólico liofilizado..... 53
CAPITULO 4	
FIGURA 1	Consumo de ração de animais tratados com doses do EMC por 35 dias..... 74
FIGURA 2	Curva de crescimento de animais tratados com doses do EMC por 35 dias..... 75
FIGURA 3	Comparação entre o peso inicial e o peso final de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias..... 75
FIGURA 4	Níveis de colesterol total do sangue de animais tratados com doses do EMC por 35 dias. * p <0,01 quando comparado ao grupo controle, n = 7..... 77
FIGURA 5	Microfotografia de cortes de fígado corado por hematoxilina e eosina, 25x, de animais tratados com doses do EMC por 35 dias..... 80

RESUMO GERAL

SOUZA, Stefânia Priscilla. **Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática com ênfase em *Baccharis trimera* (less.) DC.** 2009. 84p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.^{1*}

Obesidade é um problema de ordem mundial, a busca por agentes antiobesidade é cada vez mais crescente e a inibição de lipase pancreática (LP) é uma alternativa promissora. Investigou-se a potencial inibição de LP por extratos metanólicos de plantas medicinais, com destaque para a carqueja. Foram preparados extratos metanólicos de 19 plantas, dos quais 8 apresentaram atividade inibitória sobre a lipase. O extrato aquoso e o infuso de carqueja não apresentaram atividade inibitória, o etanólico inibiu 16% e o extrato metanólico 78%. O extrato metanólico de carqueja foi selecionado para continuidade dos testes. Este extrato foi submetido a um fracionamento e apenas a fração metanólica continuou inibindo a LP. Como o infuso de carqueja é utilizado popularmente como ferramenta no tratamento antiobesidade e ele não apresentou atividade inibitória sobre a lipase, avaliou-se, então, a inibição do infuso e do extrato metanólico sobre a atividade de glicosidases (α – glicosidase, α -amilase, β – glicosidase). A α -amilase não foi inibida por ambos os extratos, a enzima α -glicosidase foi inibida pelos dois extratos na mesma proporção ($46,9 \pm 0,1$), a β -glicosidase foi inibida em 73% pelo extrato metanólico e em 65% pelo infuso. Investigou-se, então, o efeito emagrecedor e hipolipidêmico do extrato metanólico de carqueja (EMC) em ratos. Foram utilizados 21 ratos, distribuídos aleatoriamente em três grupos, com 7 animais por grupo. A administração do extrato foi realizada via oral, durante 35 dias. O grupo A (controle) recebeu 1 mL de água/dia, o grupo B recebeu uma dose de 0,003g /dia (dose 1) e o grupo C a dose de 0,1g /dia (dose 2). Os ratos tratados sofreram significativa redução de peso em relação ao grupo controle, não diferindo entre as doses. Apesar de apresentarem aumento nos níveis de colesterol, causado por indução da dieta, os ratos que receberam as doses de EMC sofreram um aumento menor, caracterizando um efeito hipocolesterolêmico. Os níveis de LDL foram menores no grupo que recebeu a dose de 0,1g/dia. O teor de lipídios totais no fígado foi maior no grupo controle. No fígado de alguns animais foi observada leve vacuolização, não significativa. Em conclusão, os resultados sugerem que o EMC

¹ Orientador: Custódio Donizete dos Santos – UFLA

tem ação emagrecedora e hipolipidêmica, possivelmente pela ação inibidora da lipase pancreática.

GENERAL ABSTRACT

SOUZA, Stefânia Priscilla. **Inhibitory action of plant extracts on pancreatic lipase with an emphasis on *Baccharis trimera* (less.) DC.** 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.^{2*}

Obesity is a problem of world order, and represents a serious health problem for the individual, generates large expenditures for the country. The search for anti-obesity agents is increasingly growing, and the inhibition of lipase is a promising alternative, to act exclusively in the small intestine. This study investigated the potential inhibition of lipase by methanol extracts of medicinal plants with emphasis on the broom. Were prepared methanol extracts of 19 plants, of these, 8 had an inhibitory activity on the lipase. Extract shrub was selected for continued testing. The aqueous extract and tea shrub, showed no inhibitory activity, the ethanol inhibited 16% and 78% methanol extract. The methanol extract was subjected to a cleaning solvent with different polarity and methanol fraction inhibited the lipase in 72%. As the tea shrub is commonly used as a tool in anti-obesity treatment, and it did not show inhibitory activity on the lipase, then evaluated the inhibition of tea and the methanol extract on the activity of glycosidases (α - glucosidase, α - amylase, β - glucosidase). The α -amylase was not inhibited by both extracts, the enzyme α -glucosidase was inhibited by both extracts in the same proportion (46.9 ± 0.1), the β -glucosidase was inhibited by 73% methanol extract and 65 % for tea. We investigated then the slimming effect and hypolipidemic methanol extract of broom (EMC) in mice. We used 21 rats were randomly divided into three groups with 7 animals per group. The administration of the extract was performed orally for 35 days. Group A (control) received 1 mL of water / day, group B received a dose of 0.003 g / day (dose 1) and group C at a dose of 0.1 g / day (dose 2). Assessments were made weekly levels of cholesterol and triglycerides. The treated mice suffered significant weight reduction compared to the control group did not differ between doses. Despite showing an increase in cholesterol levels caused by induction diet rats given doses of EMC have risen less characterizing a hypocholesterolemic effect. LDL levels were lower in the group receiving the dose of 0.1 g / day. The content of total lipids in the liver was higher in the control group. In the liver of some animals we observed a slight vacuolization,

² Adviser: Custódio Donizete dos Santos - UFLA

not significant. In conclusion the results suggest that EMC has weight loss and hypolipidemic action, possibly by the inhibitory action of pancreatic lipase. Given the absence of mortality and toxic effects are strong evidence that the EMC can be used to aid the treatment of obesity and its side effects, as well as in subjects with hypercholesterolemia.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O metabolismo lipídico é mantido equilibrado para manter a homeostase. Quando o equilíbrio é perdido, desenvolve-se um quadro de obesidade ou hiperlipidemia, levando a uma variedade de doenças graves, incluindo aterosclerose, hipertensão, diabetes e depressão funcional em determinados órgãos (Oliveira et al., 2004). A obesidade já é considerada uma epidemia mundial, independente de condições econômicas e sociais. O Brasil ocupa o 6º lugar no ranking mundial de países com problemas com obesidade. Os gastos diretos com esta doença, o que inclui internações, consultas e medicamentos, chegam a 1,1 bilhão de reais por ano, que equivale a 12% do total de gastos anuais do SUS com internações (Gigante et al., 2009).

Portanto, o controle do metabolismo lipídico por drogas é uma alternativa que pode ser utilizada para prevenir ou tratar a obesidade. Um número crescente de enzimas envolvidas nas vias metabólicas lipídicas está sendo identificado e representa um conjunto rico de alvos terapêuticos potenciais para a obesidade e outros distúrbios metabólicos (Oliveira et al., 2001). Uma das estratégias mais importantes no tratamento da obesidade inclui o desenvolvimento de inibidores da digestão e absorção de nutrientes, em uma tentativa de reduzir a ingestão de energia por meio de mecanismos gastrintestinais, sem alterar qualquer mecanismo do sistema nervoso central. Os lipídios da dieta representam a maior fonte de calorias indesejadas e são compostos de, aproximadamente, 90% de triglicerídios. A enzima lipase pancreática é responsável por sua hidrólise, para sua posterior absorção (Almeida et al., 2009).

Uma nova abordagem para tratamentos de redução de peso é inibir a digestão e a absorção de triglicéridios (inibindo a lipase pancreática). Fitoquímicos identificados a partir de plantas medicinais tradicionais representam excelente oportunidade para o desenvolvimento de terapêuticas antiobesidade (Birari & Bhutani, 2007).

No Brasil, o Ministério da Saúde regulamentou, em 2006, a proposta de Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC-SUS), tendo como objetivos: estabelecer a relação nacional de medicamentos fitoterápicos para atenção básica; incentivar a pesquisa e o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos a partir de plantas medicinais e resgatar, valorizar, embasar cientificamente e validar o conhecimento, a produção e o uso popular de plantas medicinais. O objetivo desta política é garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo a utilização sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (Brasil, 2006).

A etnofarmacologia vem ao encontro desses objetivos, uma vez que tem como finalidade básica, em estudos fitoquímicos e farmacológicos, conciliar as informações adquiridas junto às comunidades locais que fazem uso da flora medicinal, no intuito de fornecer dados para a pesquisa de medicamentos economicamente acessíveis à população mundial, especialmente de países em desenvolvimento.

Nesse contexto, plantas que são popularmente conhecidas como auxiliares na perda de peso tornam-se alvo central de pesquisas que visam o desenvolvimento de fitoterápicos que possam auxiliar no tratamento antiobesidade. *Baccharis trimera* Less (DC), pertencente à família Asteraceae, conhecida popularmente como carqueja, é uma delas, utilizada pela população com diversas finalidades terapêuticas, incluindo as ações redutoras de peso e

hipocolesterolêmica. Porém, estudos que comprovem essa ação não foram ainda realizados (Verdi et al., 2005; Biavatti et al., 2007; Agra et al., 2007, 2008).

Diante do exposto, objetivou-se realizar uma triagem da atividade inibitória da lipase pancreática *in vitro* de plantas medicinais tradicionalmente utilizadas para essa finalidade.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade e a saúde pública

O processo de modernização, industrialização e globalização das sociedades tem possibilitado o desenvolvimento de diferentes padrões de vida que, associados à disponibilidade de serviços, ao sedentarismo e à grande opção de alimentos, de forma isolada ou combinada, contribui para o desenvolvimento do sobrepeso e da obesidade entre os indivíduos (Matsudo et al., 2002; Carneiro et al., 2003).

A obesidade é um dos maiores problemas enfrentados pela saúde pública, na atualidade (Guzik et al., 2006). No Brasil, as mudanças demográficas, sócio-econômicas e epidemiológicas ao longo do tempo permitiram que ocorresse a denominada transição nos padrões nutricionais, com diminuição progressiva da desnutrição e aumento da obesidade (Monteiro & Trugo, 2005; Francisch et al., 2001). Isso se torna um problema, uma vez que as consequências da obesidade para a saúde são muitas e variam do risco aumentado de morte prematura a graves doenças não letais, mas debilitantes que afetam diretamente a qualidade de vida dos indivíduos. Assim, a obesidade é considerada, em países desenvolvidos e em desenvolvimento, um importante problema de saúde pública e, para a Organização Mundial de Saúde (OMS), uma epidemia.

Pesquisas realizadas pelo Ministério da Saúde do Brasil mostram que a obesidade tem aumentado entre os brasileiros. Atualmente (2009), 13% dos adultos são obesos, sendo o índice maior entre as mulheres (13,6%) do que entre os homens (12,4%). Em 2006, quando foi apresentada a primeira edição do estudo Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL), 11,4% dos brasileiros eram obesos. Em 2007,

esse índice subiu para 12,9% (Tabela 1) (Brasil, 2009). O excesso de peso é diagnosticado a partir do índice de massa corporal (IMC), obtido pela razão entre o peso e o quadrado da altura. Se esse índice alcança valor igual ou superior a 25 kg/m², há excesso de peso. A obesidade é diagnosticada quando o índice atinge ou supera os 30 kg/m².

TABELA 1 Variações no percentual de indivíduos expostos a fatores de risco na população brasileira

Variáveis	2006	2007	2008
	%	%	%
Obesidade (total)	11,4	12,9	13,0
Excesso de peso (total)	43,0	43,4	43,3

Embora a redução da ingestão calórica na dieta e o aumento do nível de atividades físicas sejam atitudes bem conhecidas para se obter perda de peso, utilização de drogas para dieta e exercícios com suplemento estão rapidamente ganhando aceitação. O uso racional dos agentes antiobesidade é considerado, atualmente, um coadjuvante indispensável para um grande número de obesos, quando já existe um risco importante para a saúde (Wadden, 1998).

O documento da International Obesity Task Force (IOTF) classifica os agentes disponíveis em três grupos: o primeiro reúne os medicamentos com ação exclusivamente central; o segundo é o de ação periférica e o terceiro é o de ação periférica e central (Tabela 2). Destaca-se, em seguida, a informação sobre a retirada da fenfluramina e da dexfenfluramina do mercado, em setembro de 1997. A fluoxetina e a sertralina são citadas como úteis no tratamento de estados depressivos associados com a obesidade, mas adverte-se que não podem ser

consideradas agentes antiobesidade (International Obesity Task Force, IOTF, 2009).

Ao analisar a evolução da obesidade ao longo dos anos, é certo admitir que o aumento no número de casos determine importantes implicações para a definição de prioridades e de estratégias de ação de saúde pública. Plantas que são popularmente conhecidas como agentes auxiliares na redução de peso tornam-se alvo central de pesquisas que visem o desenvolvimento de fármacos para auxiliar nesse tratamento.

TABELA 2 Fármacos antiobesidade e seus mecanismos de ação principais

Fármaco	Mecanismo de ação principal
	Ação central
Fentermina	Noradrenérgica
Dexfenfluramina/fenfluramina	Serotoninérgica
Fenfluramina + fentermina	Serotoninérgica e noradrenérgica
Sibutramina	Serotoninérgica e noradrenérgica
	Ação periférica
Orlistat	Inibidor da lipase
	Ação periférica e central
Efedrina/caféina	Termogênico e anorético

Nesse contexto, a inibição de enzimas digestivas é uma promissora alternativa, principalmente pelo fato de elas agirem exclusivamente no intestino delgado, sem atuação no sistema nervoso central como atuam os anorexígenos geralmente utilizados.

O estudo da obesidade em humanos provavelmente responderia muitas dúvidas correntes neste tópico. No entanto, pesquisas com humanos têm óbvias limitações éticas e financeiras, além de os estudos em animais permitirem grande quantidade de pesquisas em curto período de tempo. Além disso, animais de laboratório podem ser mantidos em condições rigidamente controladas. O fato de animais de laboratório também se tornarem obesos espontaneamente, se alimentando de ração comercial ou por meio de outras manipulações, resultou na utilização de novas áreas de pesquisa para estudar a obesidade. Estudos sobre as causas e tratamentos da obesidade têm sido desenvolvidos em animais com obesidade induzida por meio de lesão neural, alterações endócrinas, anormalidades genéticas e alterações alimentares (Pereira et al., 2003).

2.2 Triglicerídios e sua digestão

Os lipídeos são um grupo heterogêneo de compostos que, em geral, são praticamente insolúveis na água e solúveis em solventes orgânicos. Uma das mais abundantes classes dos lipídeos são os triacilgliceróis (triglicerídios) (TGs). As gorduras existem sobretudo no tecido adiposo, são os mais importantes componentes lipídicos da dieta e são misturas de diferentes tipos de triglicerídios. Um adulto ingere de 60 a 150g de lipídios por dia e cerca de 90% são triglicerídios. Os triglicerídios são ésteres de ácidos graxos e glicerol. Os ácidos graxos podem ser saturados ou insaturados (contendo duplas ligações que, no caso dos lipídeos naturais, estão principalmente na configuração *cis*).

O processo de digestão dos TGs inicia-se em pequenas quantidades no estômago, catalisada por uma lipase estável em meio ácido, que se origina de glândulas na base da língua (lipase lingual), principalmente TGs com ácidos graxos de cadeia curta ou média (menos de 12 carbonos), seguido pela hidrólise estomacal pela lipase gástrica, que é lenta e pouco eficiente e os triglicerídios progridem praticamente intactos até o intestino delgado. No duodeno, então,

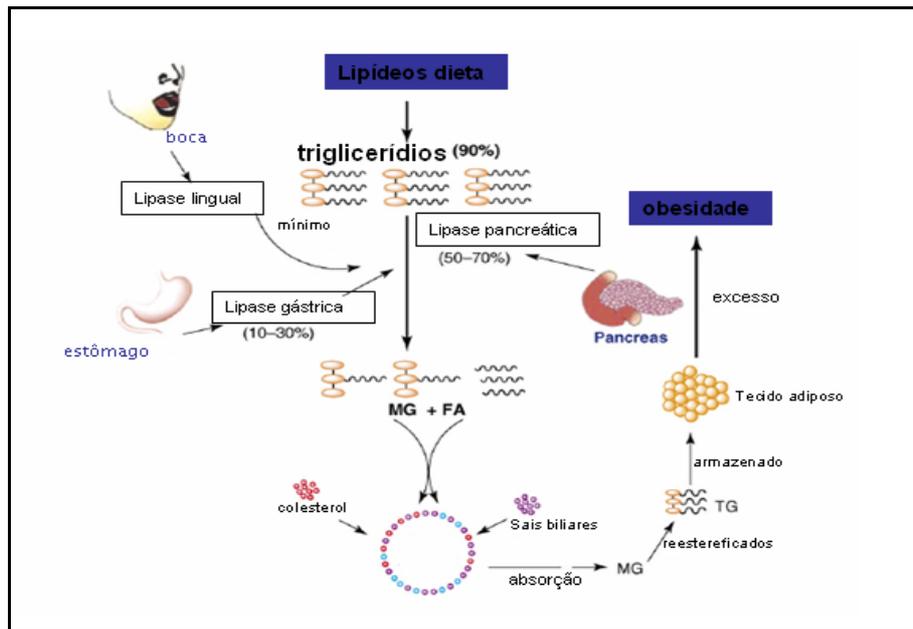
ocorre a liberação de agentes emulsificantes, os sais biliares que são derivados do colesterol, sintetizados no fígado e armazenados na vesícula biliar. A emulsificação ocorre com a soma de dois mecanismos: o uso das propriedades detergentes dos sais biliares e a mistura mecânica devido ao peristaltismo. Isso aumenta a área da superfície das gotículas de lipídios hidrofóbicos, permitindo que a lipase pancreática atue na interface da gotícula e da solução aquosa que a envolve (Figura 1).

A lipase pancreática remove ácidos graxos preferencialmente dos carbonos 1 e 3, liberando ácidos graxos livres e 2-monoacilglicerol, que formam micelas mistas e são absorvidos na borda em escova dos enterócitos. Os ácidos graxos são unidos novamente em triglicerídios.

Por dificuldades de solubilidade, o colesterol e os ácidos graxos, depois de absorvidos e ocorrer a resíntese de TGs, ligam-se a proteínas, formando as lipoproteínas, para serem transportados pelo organismo. As principais lipoproteínas são os quilomicra, as lipoproteínas de baixa densidade (*low density lipoprotein* ou LDL-colesterol, também chamado de "colesterol ruim") e as lipoproteínas de alta densidade (*high density lipoprotein* ou HDL-colesterol, também chamado de "colesterol bom"). O LDL transporta colesterol do fígado até os tecidos periféricos, enquanto o HDL captura colesterol dos tecidos e o transporta até o fígado, onde é convertido a ácidos biliares. Entre outras funções, níveis altos de LDL colesterol estão associados à aterosclerose, que é o acúmulo de depósitos gordurosos ricos em colesterol nas paredes das artérias. Já o excesso de HDL colesterol tem ação contrária, reduzindo o acúmulo de gordura nas artérias (Ridker et al., 2009).

Os triglicerídios absorvidos na borda em escova dos enterócitos, portanto, agregam-se, formando os quilomicra. Os quilomicra se movem através do sistema linfático, onde então são despejados na circulação sanguínea para

serem armazenados e ou oxidados nas diferentes partes do corpo (Davy et al., 2002; Liu et al., 2003; Lima et al., 2004).



Fonte: Birari & Bhutani (2007).

FIGURA 1 Papel fisiológico da lipase pancreática na absorção de lipídios
*Gorduras são principalmente compostas por triglicerídios mistos (90%) (TGs) e são necessariamente hidrolisados para a sua absorção. Das várias lipases, LP é responsável pela hidrólise de 50%-70% das gorduras ingeridas na dieta aos seus respectivos ácidos graxos (FA) e monoglicerídeos (MG). Os MGs e FA formam micelas mistas com os sais biliares, colesterol e são absorvidos nos enterócitos, ocorrendo a resíntese de TGs que são armazenados nos adipócitos como principal fonte de energia

2.3 Lipases

A definição clássica de lipases descreve essas enzimas como triacilglicerol lipase (E.C. 3.1.1.3), que atua sobre ligações ésteres presentes em triglicerídios, liberando ácidos graxos e glicerol (Jaeger & Reetz, 1998), constituindo uma classe especial de carboxilesterases. As carboxilesterases (E.C. 3.1.1.1) são enzimas largamente distribuídas na natureza e sua atividade enzimática está restrita à hidrólise de ligações ésteres em substratos solúveis em água. Sarda & Desnuelle (1958) definiram as lipases a partir de sua característica cinética: a propriedade de ativação na presença de substratos insolúveis em água e emulsionados, ou seja, na presença de uma interface lipídeo/água.

A determinação da estrutura tridimensional das lipases de *Rhizomucor miehei* (Brady et al., 1990), *Geotrichum candidum* (Schrag et al., 1991) e da lipase pancreática humana (Winkler et al., 1990) propiciou uma explicação para o fenômeno da ativação interfacial. O sítio ativo dessas enzimas é recoberto por uma “tampa” hidrofóbica, ou “lid”, que, ao interagir com a interface lipídeo/água, sofre uma mudança conformacional, expondo o sítio ativo. A presença da “tampa” na estrutura da enzima e a propriedade de ativação interfacial passam a ser fatores determinantes para a caracterização de lipases.

As lipases têm sido definidas, nos trabalhos mais recentes, simplesmente como carboxilesterases que hidrolisam triglicerídios de cadeia longa, ou seja, com cadeia acila com mais de 10 átomos de carbono. As lipases pertencem a um grupo de enzimas interessantes, não apenas pela capacidade de atuarem sobre substratos insolúveis em água, mas também pela capacidade de catalisarem diferentes reações, como as de hidrólise, esterificação, interesterificação, alcoólise, acidólise e aminólise (Mukherjee, 2003). A diversidade de propriedades das lipases propicia a utilização dessas enzimas em diferentes campos de aplicação.

2.3.1 Lipase pancreática

Lipase pancreática (LP) é a principal enzima lipolítica sintetizada e secretada pelo pâncreas e desempenha papel fundamental na digestão eficiente dos triglicerídios. Ela remove os ácidos graxos preferencialmente nas posições 1 e 3 dos triglicerídios ingeridos na dieta, liberando 2-monoacilglicerol e ácidos graxos de cadeia longa saturados e poli-insaturados como produtos lipolíticos (Mukherjee, 2003; Shi & Burn, 2004).

A lipase pancreática é responsável pela hidrólise de 50% a 70% do total de gorduras ingeridas na dieta. A estrutura tridimensional de LP humana foi determinada por cristalografia de raios X. A primeira estrutura da LP foi estabelecida por análise de clones de cDNAs isolados de pâncreas humano comparados com uma biblioteca de cDNAs e foi considerada uma glicoproteína de cadeia única de 449 aminoácidos.

A proteína codificada mostra 86% e 68% de homologia com LP suína e canina, respectivamente (Winkler et al., 1990). A cadeia polipeptídica é dividida em duas unidades, o maior domínio N-terminal inclui os aminoácidos 1-336 resíduos e um domínio C terminal com os resíduos 337-449 (Tilbeurgh, 1992). O N-terminal é o domínio catalítico e o C-terminal liga-se à colipase, um cofator necessário para a atividade da LP. Na estrutura da LP humana, His-263, Asp-176 e Ser-152 formam uma tríade, análogo à de serinas proteases, representando o sítio lipolítico. Atividade enzimática mostrou-se diminuída após modificações químicas da Ser 152, localizada no domínio N-terminal, parte da tríade Asp-His-Ser, indicando que Ser-152 é essencial para a atividade catalítica.

Como foi descrito, a LP exige uma proteína pancreática, a colipase, como cofator para a sua atividade enzimática. A colipase liga-se à LP, tornando-se um intermediário que permite a formação do complexo lipase-substrato e contribui para ancorar a lipase na superfície e estabilizá-la na conformação ativa (Figura 2) (Brockman, 2000).

Em conjunto com a colipase, a lipase pancreática age na digestão de lipídios ingeridos na dieta, sendo auxiliada pela emulsificação gerada pelos sais biliares (Howles & Hui, 1998).

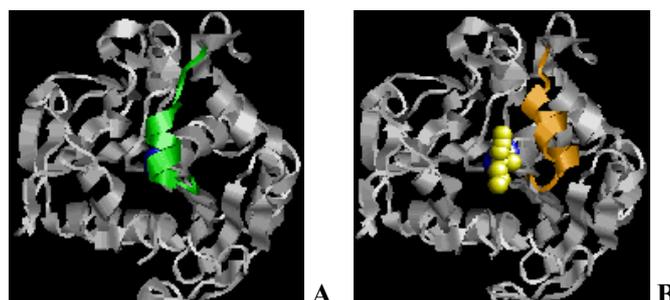


FIGURA 2 Ação da colipase na atividade da lipase pancreática. A: Na água, o acesso ao sítio ativo da lipase está bloqueado por uma hélice; B: Quando se liga à colipase na interface criada pelo seu substrato, a hélice se move, permitindo que o substrato se ligue ao sítio ativo

A LP, portanto, pode limitar o impacto nutricional da absorção de lipídios por meio da sua inibição, que pode resultar da redução da sua atividade. A inibição da LP é um dos mecanismos mais estudados para a determinação da eficácia potencial de produtos naturais como agentes antiobesidade. Orlistat, um dos dois medicamentos clinicamente aprovados para o tratamento da obesidade, atua por meio da inibição da LP. O sucesso do orlistat tem estimulado muitas pesquisas para a identificação de novos inibidores de LP.

2.3.2 Inibidores de lipase pancreática

Agentes antilipase são inibidores de lipases digestivas, como as gástricas e as pancreáticas. Como a hidrólise dos triacilgliceróis ingeridos na dieta

alimentar é essencial para a sua posterior absorção, agentes antilipase agem por meio da redução ou do bloqueio da digestão de gordura (calorias), impedindo assimilação da mesma e, portanto, imitam o efeito da redução da ingestão de alimentos.

Um dos primeiros inibidores potentes da lipase pancreática a serem descritos foi o lipstatina (Figura 3-A), isolado de *Streptomyces toxytricini*. A estrutura beta lactona da lipstatina inibe a lipase pancreática em uma concentração inibitória 50% de 0,14 μ M. Tetrahidrolipstatina (Orlistat), um análogo sintético da lipstatina (Figura 3-B), foi desenvolvido posteriormente e encontra-se atualmente em uso clínico para o tratamento da obesidade.

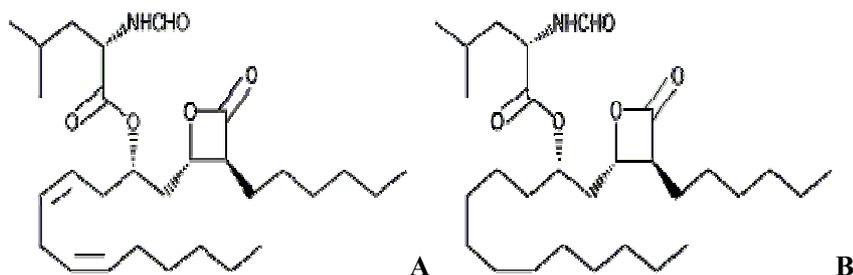


FIGURA 3 A Estrutura química da lipstatina. B - estrutura química da tetrahidrolipstatina

O orlistat exerce sua atividade terapêutica no lúmen do trato gastrointestinal e não tem efeito inibitório significativo sobre outras enzimas digestivas, tais como amilase, tripsina, quimiotripsina e fosfolipase (Guercioli, 1997). Essa droga, ao inibir a lipase pancreática, provoca uma queda de absorção de cerca de 30% das gorduras de cadeias longas, eliminadas nas fezes, causando esteatorreia (Rao et al., 2001). Em doses terapêuticas, o orlistat e seus metabólitos são eliminados por excreção renal e biliar, sendo a via renal menor

que 2% e a excreção completa (fecal e urinária) se dá dentro de 3 a 5 dias (Zhi et al., 1996).

Em um estudo controlado para avaliar a eficácia e a tolerabilidade do orlistat em promover a perda de peso e impedir a recuperação do peso em pacientes obesos, o orlistat, ingerido com uma dieta adequada, promove, clinicamente, significativa perda de peso e reduz a recuperação do peso em pacientes obesos, durante um período de 2 anos (Sjostrom et al., 1998).

Quando adicionado à dieta de ratas, o medicamento reduziu a atratividade da dieta. Portanto, ele pode ser efetivo na redução da absorção da gordura ingerida, tanto pela inibição da lipase pancreática quanto pela redução do consumo (Ackroff & Sclafani, 1996).

É sabido que a droga exerce ação tóxica no estômago e no intestino delgado, com absorção sistêmica reduzida, sendo considerada uma droga segura e efetiva no tratamento da obesidade. Apesar disso, alguns efeitos adversos já foram descritos, dentre eles necrose hepatocelular, constipação, poliúria e polidipsia (Lau & Chan, 2002; Packard et al., 2002).

Outros inibidores sintéticos da lipase têm sido estudados, dentre esses 2-oxo amida triacilglicerol análogos e derivados de α -ceto amida de cadeia longa (Weibel et al., 1987; Haputman et al., 1992; Toplak & Marhardt, 1998; Kotsovolou et al., 2001; Chiou et al., 2001).

Além dos compostos químicos sintéticos, um extrato da erva *Cassia nomame* L. apresentou capacidade de inibir a lipase pancreática suína *in vitro* e de causar redução do ganho de peso corporal sem afetar a ingestão alimentar em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura (Yamamoto et al., 2000).

A procura por produtos naturais com ação inibitória sobre a lipase tem sido alvo de muitos estudos. Têm sido encontradas em plantas moléculas inibidoras pertencentes a diversas classes de compostos, como saponinas, polifenóis e terpenos (Birari & Bhutani, 2007; Sharma et al., 2005).

2.4 Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos

Historicamente, a medicina e os produtos naturais têm sido associados por meio do uso tradicional de medicamentos e poções naturais (Butler, 2004). O uso de fontes naturais, predominantemente plantas, como medicamento, desenvolveu-se a partir do início do século XIX, quando foram registrados os primeiros estudos sobre plantas, já então conhecidas por conterem princípios ativos eficazes, tais como morfina, pilocarpina, quinino e taxol, as quais, até hoje, ainda são empregadas no tratamento de certas doenças.

A investigação desses conhecimentos milenares do uso de plantas com finalidades medicinais, por determinados grupos étnicos, com o propósito de oferecer elementos práticos para outros investigadores, favorecendo a descoberta de novos medicamentos, é, entre outros, um dos objetivos da etnobotânica (Albuquerque, 2002).

Os resultados de pesquisas com plantas medicinais podem ter desdobramentos em vários níveis. Em âmbito individual, a descoberta de drogas protótipo pode determinar a melhoria da qualidade de vida de pacientes com doenças crônicas ou a própria sobrevivência do mesmo. Na esfera social, a descoberta de fontes naturais de compostos químicos que substituam os importados e ou o desenvolvimento de fitoterápicos de fabricação nacional pode ter efeitos econômicos significativos, além de possibilitar a autonomia de cada país no gerenciamento de suas políticas de saúde. Por parte do setor empresarial, a indústria farmacêutica movimenta importantes volumes de capital e a procura por drogas protótipo envolve milhões de dólares. No aspecto ecológico, esse crescimento do interesse medicinal aumenta a importância da conservação da biodiversidade, salvaguardando e perpetuando a dependência de plantas como fonte de medicamentos (Elisabetsky & Costa-Campos, 1996).

O uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos tempos. Dados da OMS mostram que cerca de 80% da

população mundial fez uso de algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total, pelo menos 30% deu-se por indicação médica. A utilização de plantas medicinais tem, inclusive, recebido incentivos da própria OMS. São muitos os fatores que vêm colaborando com o desenvolvimento de práticas de saúde que incluem as plantas medicinais, principalmente econômicos e sociais.

Atualmente, os estudos realizados no intuito de descobrir novas substâncias naturais com atividades biológicas de interesse para o desenvolvimento de fármacos são intensos. O Brasil é um país privilegiado, pois conta com a maior biodiversidade genética vegetal do mundo, existindo mais de 55.000 espécies catalogadas. Porém, muitas plantas brasileiras, frequentemente utilizadas pela população, ainda não foram estudadas e os seus princípios ativos ainda não foram identificados para validá-las como medicamentos ou para aproveitá-las economicamente (Simões et.al., 2003).

2.5 *Baccharis trimera* (Less) DC – carqueja

O gênero *Baccharis*, pertencente à família Asteraceae, possui cerca de 500 espécies. No Brasil, estão descritas cerca de 120, com a maior parte delas localizada na região sudeste do país (Verdi et al., 2005). As espécies do gênero *Baccharis* são tradicionalmente utilizadas como uma fonte terapêutica para o tratamento de diversos distúrbios relacionados à saúde do homem (Jakupovic et al., 1990; Ruiz et al., 2008) e apresentam diversas utilidades. Cerca de 120 espécies deste gênero foram estudadas quimicamente e, entre estas, em torno de 30 apresentam estudos de atividade biológica. Flavonoides e terpenoides são considerados os grupos de maior ocorrência no gênero *Baccharis*. Nos estudos de atividades biológicas destacam-se os efeitos alelopáticos, antimicrobianos, citotóxicos e anti-inflamatórios. Entre as espécies mais pesquisadas quanto à composição química e/ou atividade biológica encontram-se *B. megapotamica*, *B.*

incarum, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. dracunculifolia*, *B. grisebachii* e *B. tricuneata* (Spring, 2000; Baggio et al., 2003; Verdi et al., 2005).

A carqueja (Figura 4), *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae), pertence à família Asteraceae e apresenta-se como um subarbusto ereto, ramoso e glabro, com até 80 cm de altura. Originária da América do Sul, é cultivada principalmente no Brasil, na Argentina, no Paraguai e no Uruguai.

É uma espécie vegetal característica de regiões tropicais e possui como sinônimos botânicos: *Baccharis genistelloides* var. *trimera* (Less.) Baker., *Baccharis trimera* Person, (= *Molina trimera* Less.) e outros nomes populares dependendo da região, como bacanta, bacárida, cacaia-amarga, cacália-amarga, cacália-margosa, cacália-doce, cuchi-cuchi, carque, carqueja-amarga, carqueja-margosa, carqueja-do-mato, carquejinha, condamina, iguape, quina-de-condomiana, tiririca-de-babado, tiririca-de-balaio, tiririca-de-bêbado, três-espigas e vassoura.

Seu chá é popularmente utilizado para problemas do fígado e vesícula biliar, úlcera, gastrite, má-digestão, diabetes, agindo na diminuição dos açúcares, gripe, resfriados, diarreias, garganta inflamada, hipercolesterolemia, além de ser também considerado eficaz para diminuir a pressão e como agente redutor de peso (Verdi et al., 2005; Biavatti et al., 2007; Agra et al., 2007, 2008; Ruiz et al., 2008).



FIGURA 4 Parte aérea da planta carqueja - *Baccharis trimera* (Less) DC

Vários efeitos biológicos de extratos de carqueja têm sido relatados, tais como gastroprotetor (Gonzales et al., 2000; Baggio et al., 2003), espasmolítico (Weimann et al., 2002), antimicrobiano (Feresin et al., 2003), antivirais (Abad et al., 1999; Sanchez-Palomino et al., 2002), antioxidante (Oliveira et al., 2003), relaxante do músculo liso vascular (Torres et al., 2000), hepatoprotetor (Soicke & Leng-Peschlow, 1987), anti-inflamatório (Gene et al., 1996), antimutagênico (Nakasugi & Komai, 1998), antiúlcera (Dias et al., 2009), hipoglicemiante (Matos & Lorenzi, 2002; Barbosa-Filho et al., 2005) e antiartrítico (Coelho et al., 2004).

O principal efeito tóxico relatado para *B. trimera* é a indução de aborto, relatada popularmente e comprovada experimentalmente em animais, sendo atribuída a uma ação uterotônica (Gupta, 1995; Alonso, 1998). Esses relatos reforçam a necessidade de um maior conhecimento sobre as plantas medicinais utilizadas popularmente, não apenas para a confirmação das atividades descritas

pelo uso tradicional, mas também para que o uso seguro dessas plantas seja estabelecido.

Tendo em vista o uso popular de carqueja como agente redutor de peso e a disponibilidade do material vegetal na região, a carqueja foi selecionada como planta alvo deste estudo de atividade inibitória sobre a lipase pancreática.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J.; BERNEJO, P.; GONZALES, E.; IGLESIAS, I.; IRUTZUM, A.; CARRASCO, L. Antiviral activity of Bolivian plant extracts. **General Pharmacology**, Oxford, v.32, n.4, p.449-503, Apr. 1999.
- ACKROFF, K.; SCLAFANI, A. Effects of the lipase inhibitor orlistat on intake and preference for dietary fat in rats. **American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v.271, n.1, p.R48-R54, 1996.
- AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.17, n.1, p.114-140, jan./mar. 2007.
- AGRA, M.F.; SILVA, K.N.; BASÍLIO, I.J.L.D.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.3, p.472-508, jul./set. 2008.
- ALBUQUERQUE, U.P. **Introdução à etnobotânica**. Recife: Interciência, 2002. p.17-27.
- ALMEIDA, J.C.; MELLO, V.D.; CANANI, L.H.; GROSS, J.L.; AZEVEDO, M.J. Papel dos lipídeos da dieta na nefropatia diabética. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia Metabolismo**, São Paulo, v.53, n.5, p.634-645, jul. 2009.
- ALONSO, J.R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: ISIS Ediciones S.R.L, 1998. p.350-354.
- BAGGIO, C.H.; FREITAS, C.S.; RIECK, L.; MARQUES, M.C. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacology Research**, Bressanone, v.47, n.1, p.93–98, Jan. 2003.
- BARBOSA-FILHO, J.M.; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTAL, M.; OLIVEIRA, R.A.G.; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.15, p.392-413, Oct./Dec. 2005.

BIAVATTI, M.; MARENSI, V.; LEITE, S.N.; REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.17, p.640-653, Oct./Dec. 2007.

BIRARI, R. B.; BHUTANI, K. K. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. **Drug Discovery Today**, London, v.12, n.19/20, p.879-889, Oct. 2007.

BRADY, L.; BRZOZOWSKI, A. M.; DEREWENDA, Z.S.; DODSON, E.; DODSON, G.; TOLLEY, S.; TURKENBURG, J.P.; CHRISTIANSEN, L.; HUGE-JENSEN, B.; NORSKOV, L.; THIM, L.; MENGE, U. A serine protease triad forms the catalytic center of a triacylglycerol lipase. **Nature**, Washington, v.343, n.6260, p.767-770, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. **13% dos brasileiros adultos são obesos: dados e tendências**. Disponível em: <www.Saude.gov.br>. Acesso em: 10 nov. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS**. Brasília, 2006. 92p.

BROCKMAN, H.L. Kinetic behaviour of the pancreatic lipase–colipase–lipid system. **Biochimie**, Paris, v.82, n.11, p.987–995, 2000.

BUTLER, M.S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**, Washington, v.67, p.2141-2153, 2004.

CARNEIRO, G.; FARIA, A.N.; GUIMARÃES, A.; LERÁRIO, D.; ZANELLA, M.T. Influência da distribuição da gordura corporal sobre a prevalência de hipertensão arterial e outros fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v.49, n.3, p.306-311, jun. 2003.

CHIOU, A.; VERGER, R.; KOKOTOS, G. Synthetic routes and lipase-inhibitory activity of long chain α -keto amides. **Lipids**, Champaign, v.36, p.535–542, 2001.

COELHO, M.G.P.; REIS, P.A.; GAVA, V.B.; MARQUES, P.R.; GAYER, C.R.; LARANJA, G.A.T.; FELZENSALB, I.; SABINO, K.C.C. Anti-arthritic effect and subacute toxicological evaluation of *Baccharis genistelloides* aqueous extract. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.154, n.1-2, p.69–80, 2004.

DAVY, B.M.; DAVY, K.P.; HO, R.C.; BESKE, S.D.; DAVRATH, L.R.; MELBY, C.L. High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men. **American Journal of Clinical Nutrition**, London, v.76, n.2, p.351-358, 2002.

DIAS, L.F.T.; MELO, E.S.; HERNANDES, L.S.; BACCHI, E.M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.19, n.1B, p.309-314, jan./mar. 2009.

ELISABETSKY, E.; COSTA-CAMPOS, L. Medicinal plant genetic resources and international cooperation: the Brazilian perspective. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.51, p.111-119, 1996.

FERESIN, G.E.; TAPIA, A.; GIMENEZ, A.; RAVELO, A.G.; ZACCHINO, S.; SORTINO, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.89, n.1, p.73–80, 2003.

FRANCISCH, R.P.; PEREIRA, L.O.; LANCHI, JR. A.H. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. **Revista Brasileira de Educação Física**, Curitiba, v. 15, n. 2, p.117-40, jul./dez. 2001.

GENE, R.M.; CARTAÑA, C.; ADZET, T.; MARIN, E.; PARELLA, T.; CAÑIGUERAL, S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. **Planta Medica**, Stuttgart, v.62, n.3, p. 232-235, June 1996.

GIGANTE, D.P.; MOURA, E.C.; SARDINHA, L.M.V. Prevalência de excesso de peso e obesidade e fatores associados, Brasil, 2006. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.43, n.2, p.83-89, jan. 2009.

GONZALES, E.; IGLESIAS, I.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Gastric cytoprotection of Bolivian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.70, p.329-333, 2000.

GUERCIOLINI, R. Mode of action of orlistat. **International Journal Of Obesity And Related Metabolic Disorders**, New York, v.21, n.3, p.12-23, 1997.

GUPTA, M.P. **270 plantas medicinales iberoamericanas**. Santafé de Bogotá: Presencia, 1995. 79p.

GUZIK, T.J.; MANGALAT, D.; KORBUT, R. Adipocytokines - novel link between inflammation and vascular function? **Journal of Physiology and Pharmacology**, Leipzig, v.57, p.505-528, 2006.

HAPUTMAN, J.B.; JEUNET, F.S.; HARTMANN, D. Initial studies in human with the novel gastrointestinal lipase inhibitor Ro 18-0647 (tetrahydrolipstatin). **American Journal of Clinical Nutrition**, London, v.55, p.3095-3135, 1992.

HOWLES, P.N.; HUI, D.Y. Cholesterol esterase. In: MANSBACH, C.; TSO, P. KUKSIS, A. (Ed.). **Intestinal lipid metabolism**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1998. p.119-134.

INTERNATIONAL OBESITY TASK FORCE. **Dados e tendências**. Disponível em: <www.iotf.org/media.asp>. Acesso em: 10 nov. 2009.

JAEGER, K.E.; REETZ, M. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, Warwick, v.16, p.396-403, 1998.

JAKUPOVIC, J. Sequi and diterpenes from *Baccharis* species. **Phytochemistry**, Oxford, v.29, p.2217-2222, 1990.

KOTSOVOLOU, S.; CHIOU, A.; VERGER, R.; KOKOTOS, G. Bis-2-oxo amide triacylglycerol analogues: a novel class of potent human gastric lipase inhibitors. **Journal of Organic Chemistry**, Manchester, v.66, p.962-967, 2001.

LAU, G.; CHAN, C.L. Massive hepatocellular [correction of hepatocellular] necrosis: was it caused by Orlistat? **Medicine, Science and the Law**, New York, v.42, n.4, p.309-312, 2002.

LIMA, S.C.V.C.; ARRAIS, R.F.; ALMEIDA, M.G. Perfil lipídico e peroxidação de lipídeos no plasma em crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade. **Journal of Pediatrics**, St. Louis, v.80, n.1, p.23-28, Jan./Feb. 2004.

LIU, S.; WILLETT, W.C.; MANSON, J.E.; HU, F.B.; ROSNER, B.; COLDITZ, G. Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. **American Journal of Clinical Nutrition**, London, v.78, n.5, p.920-927, 2003.

MATOS, F.J.A.; LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 234p.

MATSUDO, S.M.; MATSUDO, V.R.; ARAUJO, T. Nível de atividade física da população do estado de São Paulo: análise de acordo com o gênero, idade, nível socioeconômico, distribuição geográfica e de conhecimento. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Brasília, v.10, p.41-50, oct. 2002.

MONTEIRO, M.C.; TRUGO L.C. Determinação de compostos bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.4, p.637-41, jul./aug. 2005.

MUKHERJEE, M. Human digestive and metabolic lipases: a brief review. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Oxford, v.22, p.369–376, 2003.

NAKASUGI, T.; KOMAI, K. Antimutagens in the Brazilian folk medicinal carqueja (*Baccharis trimera* Less). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, p.2560-3564, 1998.

OLIVEIRA, C.L.; MELLO, M.T.; CINTRA, I.P.; FISBERG, M. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.17, n.2, p.237-245, 2004.

OLIVEIRA, S.Q.; DAL-PIZZOL, F.; GOSMANN, G.; GUILLAUME, D.; MOREIRA, J.C.; SCHENKEL, E.P. Antioxidant activity of *Baccharis articulata* extracts: isolation of a new compound with antioxidant activity. **Free Radical Research**, Oxford, v.37, p.555–559, 2003.

OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PEREIRA, W.L.; PINTO, A.S.; STRINGHETA, P.C. Efeito hipolipidêmico e sinérgico da naringina, clorofila e monascus em ratos (*ratus norvegicus*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.12, n.1, p.95-102, set. 2001.

PACKARD, K.A.; WURDEMAN, R.L.; REYES, A.P. Constipation, polyuria, polydipsia, and edema associated with orlistat. **The Annals of Pharmacotherapy**, London, v.36, n.7, p.1168-1170, 2002.

PEREIRA, L.; FRANCISCHI, R.P. de; LANCHI, A.H. Jr. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v.47, n.2, p. 111-127, abr. 2003.

RAO, C.V.; HIROSE, Y.; INDRANIE, C.; REDDY, B.S. Modulation of experimental colon tumorigenesis by types and amounts of dietary fatty acids. **Cancer Research**, Heidelberg, v.61, n.5, p.1927-1933, 2001.

RIDKER, P.M.; MACFADYEN, J.G.; FONSECA, F.A.H.; GENEST, J.; GOTTO, A.M.; KASTELEIN, J.J.P.; KOENIG, W.; LIBBY, P.; LORENZATTI, A.J.; NORDESTGAARD, B.G.; SHEPHERD, J.; WILLERSON, J.T.; GLYNN, R.J. Number needed to treat with rosuvastatin to prevent first cardiovascular events and death among men and women with low low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity c-reactive protein. **Circulation: cardiovascular quality and outcomes**, São José do Rio Preto, v.22, n.1, p. 123-135, 2009.

RUIZ, A.L.T.G.; TAFFARELLO, D.; SOUZA, V.H.S.; CARVALHO, J.E. Farmacologia e toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, p.295-300, abr./jun. 2008.

SANCHEZ-PALOMINO, S.; ABAD, M.J.; BEDOYA, L.M.; GARCIA, J.; GONZALES, E.; CHIRIBOGA, X.; BERMEJO, P.; ALCAMI, J. Screening of South American plants against human immunodeficiency virus: preliminary fractionation of aqueous extract from *Baccharis trinervis*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v.25, p.1147-1150, 2002.

SARDA, I.; DESNUELLE, P. Action de la lipase pancreatique sur les esters en emulsion. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.30, p.513-521, 1958.

SCHRAG, J.D.; LI, Y.; WU, S.; CYGLER, M. Ser-His-Glu triad form the catalytic site of the lipase from *Geotrichum candidum*. **Nature**, Washington, v.351, p.761-764, 1991.

SHARMA, N.; SHARMA, V. K.; SEO, S. Y. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.97, p.453-456, 2005.

SHI, Y.; BURN, P. Lipid metabolic enzymes: Emerging drug targets for the treatment of obesity. **Nature Reviews Drug Discovery**, Washington, v.3, p.695–710, 2004.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003. Cap.1, p.13-28.

SJOSTROM, L.; RISSANEN, A.; ANDERSEN, T.; BOLDRIN, M.; GOLAY, A.; KOPPESCHAAR, H.P.F.; KREMPEF, M. Randomised placebocontrolled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients. **The Lancet**, London, v.352, n.9123, p.167–172, 1998.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterization of flavonoids from *Baccharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Medica**, Stuttgart, v.53, p.37-39, 1987.

SPRING, O. Chemotaxonomy based on metabolites from glandular trichomes. **Advance in Botanical Research**, v.31, p.153-174, 2000.

TILBEURGH, H.V. Structure of the pancreatic lipase-procolipase complex. **Nature**, Washington, v.359, p.159–162, 1992.

TOPLAK, H.; MARHARDT, K. Reduction of obesity and improvement in metabolic parameters by inhibition of intestinal lipases: current results with Orlistat. **Acta Medical Australian**, v.25, p.142–145, 1998.

TORRES, L.M.B.; GAMBERINI, M.T.; ROQUE, N.F.; LANDMAN, M.T.L.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.I. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, n.6, p.617-619, 2000.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; PIZZOLATTI, M.C. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, São Paulo, v.28 p.85-94, jan./feb. 2005.

WADDEN, T.A. New goals of obesity treatment: a healthier weight and other ideals. **Primary Psychiatry**, v.5, p.45-54, 1998.

WEIBEL, E.K.; HADVARY, P.; HOCHULI, E.; KUPFER, E.; LENGSELD, H. Lipstatin, an inhibitor of pancreatic lipase, produced by *Streptomyces toxytricini*. I. Producing organism, fermentation, isolation and biological activity, **Journal of Antibiotics**, Tokyo, v.40, p.1081–1085, 1987.

WEIMANN, C.; GORANSSON, U.; PONGPRAYOON-CLAESON, P.; BOHLIN, L.; RIMPLER, H.; HEINRICH, M. Spasmolytic effects of *Baccharis conferta* and some of its constituents. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, Belfast, v.54, n.1, p.99–104, 2002.

WINKLER, F.K.; D'ARCY, A.; HUNZIKER, W. Structure of human pancreatic lipase. **Nature**, Washington, v.343, p.771-774, 1990.

YAMAMOTO, M.; SHIMURA, S.; ITOH, Y.; OHSAKA, T.; EGAWA, M.; INOUE, S. Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, *Nomame herba*, on rats fed a high-fat diet. **Journal of Obesity**, London, v.24, p.758–764, 2000.

ZHI, J.; MELIA, A.T.; FUNK, C.; VIGER-CHOUGNET, A.; HOPFGARTNER, G.; LAUSECKER, B.; WANG K.; FULTON, J.S.; GABRIEL, L.; MULLIGAN, T.E. Metabolic profiles of minimally absorbed orlistat in obese/overweight volunteers. **Journal of Clinical Pharmacology**, v.36, n.11, p.1006-1011, 1996.

CAPÍTULO 2

PROSPECÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA LIPASE PANCREÁTICA *IN VITRO* POR EXTRATOS VEGETAIS

1 RESUMO

Muitas plantas da flora brasileira são utilizadas pela população como emagrecedoras, porém, existem poucos estudos que comprovem tal fato. Objetivou-se avaliar a atividade inibitória de plantas tradicionalmente conhecidas como agentes redutores de peso sobre a lipase pancreática. Foram preparados extratos metanólicos de dezenove plantas medicinais. Os extratos foram concentrados e ressuspensos em água na proporção de 1:10 (p/v) e testados como inibidores da lipase pancreática *in vitro*. Foram realizados ensaios cinéticos em quatro períodos de tempo com ausência e presença do extrato inibidor. Com os extratos que apresentaram maior inibição avaliou-se a ação do fluido gástrico simulado sobre a atividade de inibição dos mesmos. Dos 19 extratos avaliados, 8 apresentaram atividade inibitória sobre a lipase, sendo: 24,1% (114,7 ALI/g) - *Malus communis* Poir.; 17% (131,5 ALI/g) - *Equisetum arvense* L.; 68,6% (142 ALI/g) - *Cynara cardunculus* subsp. *scolymus*; 53,2% (145 ALI/g) - *Coffea arabica* L.; 85,4% (176 ALI/g) - *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli; 40% (249 ALI/g) - *Costus spicatus* (Jacq.) S.W.; 82% (390 ALI/g) - *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf; 78% (241 ALI/g) - *Baccharis trimera* (Less.) DC. Após o teste da ação do fluido gástrico, o extrato das folhas de *Coffea arabica* perdeu sua ação inibitória, os extratos de *Cynara cardunculus*, *Cymbopogon citratus* e *Baccharis trimera* sofreram redução na atividade inibitória, não deixando de ser significativas e a atividade inibitória dos extratos de *Echinodorus grandiflorus* e *Costus spicatus* não sofreu alterações. Os extratos apresentam um potencial como adjuvante no tratamento da obesidade e de dislipidemias, uma vez que inibem a lipase pancreática antes e após a simulação da digestão gástrica.

Palavras-chave: lipase, inibição enzimática, obesidade.

EXPLORATION OF THE INHIBITORY ACTIVITY OF PANCREATIC LIPASE IN VITRO BY PLANT EXTRACTS

2 ABSTRACT

Many plants of the flora are used by the population as weight loss, but there are few studies that prove this fact. Aimed to evaluate the inhibitory activity of plants traditionally known as weight reducing agents on pancreatic lipase. Methanol extracts were prepared from 19 medicinal plants. The extracts were concentrated and resuspended in water at a ratio of 1:10 (w / v) and tested as inhibitors of pancreatic lipase in vitro. Kinetic experiments were performed in four periods with absence and presence of the inhibitor extract. With the extracts that showed greater inhibition evaluated the action of simulated gastric fluid on the activity of inhibiting them. Of the 19 extracts evaluated, 8 showed inhibitory activity on the lipase was: 24.1% (114.7 ALI / g) - *Malus communis* Poir., 17% (131.5 ALI / g) - *Equisetum arvense* L., 68, 6% (142 ALI / g) - *Cynara cardunculus* subsp. *scolymus*; 53.2% (145 ALI / g) - *Coffea arabica* L.; 85.4% (176 ALI / g) - *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli, 40% (249 ALI / g) - *Costus spicatus* (Jacq.) SW, 82% (390 ALI / g) - *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, 78% (241 ALI / g) - *Baccharis trimera* (Less.) DC. After testing the action of gastric fluid extract of the leaves of *Coffea arabica* lost their inhibitory effect, extracts of *Cynara cardunculus*, *Cymbopogon citratus* and *Baccharis trimera* had a reduction in inhibitory activity, it no longer significant and the inhibitory activity of extracts from *Echinodorus grandiflorus* and *Costus spicatus* unchanged. The extracts have potential as an adjunct in the treatment of obesity and dyslipidemia, since they inhibit pancreatic lipase before and after simulation of gastric digestion.

Key words: lipase, enzyme inhibition, obesity.

3 INTRODUÇÃO

Para a Organização Mundial de Saúde (OMS), o uso de plantas medicinais é uma importante alternativa para tratamento de doenças, principalmente nos países em desenvolvimento, atendendo aos cuidados primários com a saúde. Durante o período da industrialização e urbanização, esse conhecimento tradicional, em nosso país, foi deixado de lado, mas o interesse pela fitoterapia novamente vem sendo despertado com as recentes tendências globais, preocupadas com a biodiversidade e com o desenvolvimento sustentável (Simões et al., 2002; Maciel et al., 2009).

Nos últimos anos, têm sido realizados inúmeros ensaios farmacológicos e clínicos com extratos à base de plantas medicinais (Cunha, 2003). Hoje, a fitoterapia deixou de se fundamentar no uso tradicional, passando a estar cada vez mais apoiada nos aspectos da qualidade, eficácia e segurança. A etnofarmacologia vem ao encontro desse objetivo, uma vez que tem como finalidade básica os estudos fitoquímicos, a formulação de hipóteses quanto às atividades farmacológicas e as substâncias ativas responsáveis pelas ações terapêuticas relatadas pelas populações, no intuito de fornecer dados para a produção de medicamentos economicamente acessíveis (Simões et al., 2002).

O efeito da gordura ingerida na dieta sobre a hiperlipidemia é bem conhecido (Grundy & Denke, 1990; Velásquez et al., 2006), uma vez que ela está diretamente ou indiretamente associada a diversas doenças, como obesidade, diabetes, hipertensão e problemas cardiovasculares (Kopelman, 2000). A eficiência da absorção dos triglicerídios é um dos principais fatores que contribuem para o nível destes no sangue e essa absorção só é possível após a hidrólise dos triglicerídios em ácidos graxos livres e glicerol. Essa hidrólise é realizada pela enzima lipase pancreática [EC 3.1.1.3] (Verger, 1997). Assim, um

inibidor da lipase pancreática que ajuda a limitar a absorção intestinal de gordura na fase inicial pode revelar-se útil como um medicamento para o tratamento da hiperlipidemia e um promissor agente antiobesidade.

Atualmente, a mais comum das drogas antiobesidade disponíveis no mercado é o Xenical®, cujo princípio ativo é o orlistat (tetra-hidrolipstatina), um derivado da lipstatina hidrogenado obtido a partir de *Streptomyces toxitricini*. É relatado como um potente inibidor das lipases gástricas e pancreáticas (Hadvay et al., 1988) e revelou-se eficaz para o tratamento de obesidade em humanos (Hauptman et al., 1992; Drent et al., 1995; Sjostrom et al., 1998). A presença de inibidores da enzima também foi relatada em algumas fontes naturais, como algas marinhas (Bitou et al., 1999), *Glycine max* (L.) Merr. (soja) (Gargouri et al., 1984; Satouchi et al., 1998), *Triticum* spp. (trigo) (Borel et al., 1989; Tani et al., 1995), citros (Kawaguchi et al., 1997), *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá oolong) (Han et al., 2001) e extrato aquoso de algumas plantas medicinais (Shimura et al., 1992).

No presente estudo, objetivou-se investigar a ação inibitória de extratos de plantas medicinais sob a lipase pancreática.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção das plantas medicinais

Foram selecionadas plantas medicinais com indicação de uso tradicional como agentes redutores de peso e hipocolesterolêmicas, com base em dados da literatura (Albuquerque et al., 2007; Dickel et al., 2007; Mendes & Carlini, 2007; Brandão et al., 2008). Nas Tabelas 1 e 2 estão relacionadas as plantas selecionadas para o estudo e sintetizados os dados sobre elas.

4.2 Obtenção do material vegetal

Os materiais vegetais frescos das espécies *Medicago sativa* L., *Equisetum arvense* L., *Cassia angustifolia* Vahl., *Cassia fistula* L., *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltld.) Micheli., *Arctium lappa*, *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym., *Coffea arabica* L., *Plectranthus barbatus* (Andr.), *Costus spicatus* (Jacq.) S.W., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Baccharis trimera* (Less.) DC e as informações etnobotânicas foram obtidos da coleção do Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (Tabela 1). As demais amostras foram obtidas no comércio local na forma desidratada, constituindo drogas vegetais pulverizadas (Tabela 2).

4.3 Preparo do extrato aquoso a frio

O material vegetal fresco (Tabela 1) foi lavado, fracionado em pedaços de aproximadamente 1 cm² e triturado em grau de porcelana. Em seguida, foi preparado um extrato aquoso por maceração dinâmica na proporção 1:10 (p/v). Utilizou-se um agitador horizontal por 30 minutos, em banho de gelo. Em seguida, a amostra foi centrifugada, a 1.700 x g, por 10 minutos, a 4°C. O

sobrenadante foi recolhido e o extrato aquoso obtido foi utilizado nos ensaios de inibição da lipase pancreática.

O material vegetal seco (Tabela 2) foi pesado, adicionou-se água na proporção de 1:10 (p/v) e preparou-se o extrato aquoso por maceração dinâmica, nas mesmas condições já descritas.

TABELA 1 Identificação do material vegetal obtido no Horto Medicinal e a parte da planta utilizada*

Nome científico	Nome popular	Parte utilizada	Família
<i>Arctium lappa</i> L.	Bardana	Folhas	Asteraceae
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC	Carqueja	Hastes	Asteraceae
<i>Cassia angustifolia</i> Vahl.	Sene	Folhas	Fabaceae
<i>Cassia fistula</i> L	Chuva-de-ouro	Folhas	Fabaceae
<i>Coffea arabica</i> L.	Café	Folhas	Rubiaceae
<i>Cordia salicifolia</i> Cham.	Porangaba	Inteira	Boraginaceae
<i>Costus spicatus</i> (Jacq.) S.W.	Cana-do-brejo	Folhas	Zingiberaceae
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf	Capim-limão	Folhas	Poaceae
<i>Cynara cardunculus</i> subsp. <i>scolymus</i>	Alcachofra	Inteira	Asteraceae
<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. & Schltld.) Micheli.	Chapéu-de-couro	Folhas	Alismatáceas
<i>Equisetum arvense</i> L.	Cavalinha	Inteira	Equisetaceae
<i>Medicago sativa</i> L.	Alfafa	Inteira	Fabaceae
<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nym.	Salsa	Inteira	Apiaceae
<i>Plectranthus barbatus</i> (Andr.)	Boldo	Folhas	Monimiaceae

* material vegetal empregado na forma fresca.

TABELA 2 Identificação do material vegetal obtido em comércio local e a parte da planta utilizada*.

Nome científico	Nome popular	Parte utilizada	Família
<i>Fucus vesiculosus L.</i>	Fucus	Inteira	Fucaceae
<i>Malus communis Poir.</i>	Maçã	Casca	Rosaceae
<i>Polymnia sonchifolia Poepp.</i>	Yacon	Raiz	Fabaceae
<i>Prosopis juliflora (Sw) DC</i>	Algaroba	Folhas	Fabaceae
<i>Humulus lupulus</i>	Lúpulo	Inteira	Cannabaceae

*material vegetal empregado na forma desidratada.

4.4 Preparo do extrato metanólico

O material vegetal fresco foi lavado e fragmentado em pedaços de, aproximadamente, 1 cm². Em seguida, foi preparado um extrato metanólico por maceração estática, durante 24 horas. O extrato foi filtrado em malha de náilon de 100µm e deixado em banho-maria, a 45°C, até a completa evaporação do solvente. Após a evaporação do solvente, foi adicionada água ao resíduo, na proporção 1:10 (p/v). Para as análises de inibição, alguns foram diluídos, devido à intensa coloração do extrato. O extrato de *Costus spicatus* foi diluído cinco vezes e os extratos de *Coffea arabica* e *Cymbopogon citratus*, diluídos três vezes. Esse extrato foi centrifugado, a 1.700 x g, por 10 minutos e o sobrenadante utilizado como inibidor nas análises de atividade enzimática (Kwon et al., 2003). O material vegetal seco foi pesado e preparou-se o extrato metanólico na proporção de 1:10 (p/v), nas mesmas condições já descritas.

4.5 Ensaio de atividade da lipase pancreática

A enzima lipase pancreática suína (tipo II, SIGMA), na concentração de 10g L⁻¹, foi preparada em tampão Tris-HCl 0,05 mol L⁻¹, pH 8,0 (contendo CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹ e NaCl 0,025 mol L⁻¹). O p-nitrofenilpalmitato (substrato da lipase) 0,008mol L⁻¹ foi dissolvido em Triton-X 100, 0,5% (p/v), a 37°C.

Todas as análises foram feitas em triplicata. Em cada análise, a mistura de reação (100 µL de enzima, 50 µL de água e 50 µL de substrato) foi incubada por, pelo menos, quatro diferentes períodos de tempo. Controles sem enzima (branco substrato) e sem substrato (branco enzima) foram incubados do mesmo modo que os tubos experimentais. O p-nitrofenol (produto da ação da lipase sobre o p-nitrofenolpalmitato) de coloração amarela no pH do ensaio foi lido a 410nm. A inclinação da reta do gráfico, absorbância x tempo, foi calculada e utilizada como referência para o cálculo da % de inibição e da atividade de lipase inibida.

4.6 Ensaio de inibição da lipase pancreática

Os extratos vegetais aquosos a frio e metanólico, preparados conforme os itens 4.3 e 4.4, foram submetidos a ensaios de inibição da lipase. A inibição foi obtida a partir da inclinação da reta do gráfico absorbância x tempo dos ensaios na ausência do extrato (A), na ausência do extrato e da enzima (branco substrato - a), na presença do extrato, enzima e substrato (B) e na ausência da enzima (branco extrato + substrato - b) da mesma forma que o ensaio de atividade da lipase (100 µL de enzima, 50 µL de extrato e 50 µL de substrato). Em cada análise, os extratos foram pré-incubados com a enzima por 10 minutos antes da adição do substrato e início da contagem do tempo. A porcentagem de inibição (I) foi calculada pela equação:

$$I\% = \frac{(A - a) - (B - b)}{(A - a)} \times 100$$

A atividade de lipase inibida foi calculada a partir da diferença entre as inclinações na ausência do inibidor (A-a) e na presença do inibidor (B-b). Os resultados foram expressos em atividade de lipase inibida por grama de planta (ALI/g) que corresponde a 1 µmol de p-nitrofenol que deixou de ser produzido por minuto, devido à presença do inibidor nas condições de ensaio.

4.7 Simulação da digestão no estômago

Os extratos que apresentaram inibição significativa sobre a lipase foram incubados com o fluido gástrico simulado preparado segundo a USP (1995), por 1 hora, em banho-maria, a 37°C. Após esse período, foram neutralizados com bicarbonato de sódio puro até pH 8 e a inibição da enzima determinada novamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum dos dezenove extratos vegetais aquosos testados apresentou atividade inibitória sobre a lipase pancreática. Por outro lado, das dezenove espécies vegetais avaliadas, oito inibiram a atividade da lipase quando seus extratos metanólicos foram avaliados (Tabela 3).

O resultado expresso em porcentagem de inibição é relativo à atividade da enzima nas condições do ensaio, por isso os resultados foram transformados em atividade de lipase inibida por grama de planta (ALI/g), um resultado absoluto.

Observou-se ativação da enzima nas avaliações com os extratos aquosos. Essa ativação tem sido descrita na literatura sem detalhar quais moléculas teriam essa ação (Maggio, 1956; Kato & Tosa, 1983; Jahromi & Anil, 1993; Nagem et al., 1994; Nagem et al., 1995).

Dentre as oito espécies que inibiram a lipase pancreática citam-se *Malus communis* Poir. – 114,7 ALI/g, *Equisetum arvense* L. – 131,5 ALI/g, *Cynara cardunculus* subsp. *scolymus* – 68,6 ALI/g, *Coffea arabica* L.- 145 ALI/g, *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltld.) Micheli. – 176 ALI/g, *Costus spicatus* (Jacq.) S.W. – 249 ALI/g, *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf – 355 ALI/g e *Baccharis trimera* (Less.) DC. – 241 ALI/g.

TABELA 3 Ação dos extratos metanólicos das dezenove plantas estudadas sobre a atividade da lipase pancreática.

Nº	Nome científico	%inibição **	Atividade de lipase inibida (ALI/g)**
1	<i>Arctium lappa</i> L.	0	0
2	<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC	78±0,06	241±0,1
3	<i>Cassia angustifolia</i> Vahl.	*	0
4	<i>Cassia fistula</i> L.	*	0
5	<i>Coffea arabica</i> L.	53,2±0,2	145±0,4
6	<i>Cordia salicifolia</i> Cham.	*	0
7	<i>Costus spicatus</i> (Jacq.) S.W.	40±0,1	249±0,2
8	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf	82±0,1	355±0,1
9	<i>Cynara cardunculus</i> subsp. <i>scolymus</i>	68,6±0,2	142±0,09
10	<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. & Schltdl.) Micheli.	85,4±0,3	176±0,6
11	<i>Equisetum arvense</i> L.	17±0,14	131,5±0,3
12	<i>Fucus vesiculosus</i> L.	*	0
13	<i>Humulus lupulus</i>	0	0
14	<i>Malus communis</i> Poir.	24,1±0,08	114,7±0,1
15	<i>Medicago sativa</i> L.	*	0
16	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nym.	0	0
17	<i>Peumus boldus</i>	0	0
18	<i>Polymnia sonchifolia</i> Poepp.	*	0
19	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw) DC	*	0

*extratos que aumentaram a atividade da enzima; ** média de três repetições ± desvio padrão.

Considerando a expressiva inibição da enzima na presença dos extratos de *Coffea arabica*, *Costus spicatus*, *Cynara cardunculus*, *Echinodorus grandiflorus*, *Cymbopogon citratus* e *Baccharis trimera*, estes foram submetidos a um teste da possível ação do fluido gástrico sobre a atividade inibitória dos extratos (Tabela 4).

O extrato de *Coffea arabica*, após a simulação, perdeu sua atividade, o que indica que o inibidor presente não é resistente à passagem pelo fluido gástrico que pode acarretar modificações na molécula do inibidor em decorrência do pH ácido do estômago ou da presença das proteinases, inativando-o. A ação inibitória dos extratos de *Cymbopogon citratus*, *Cynara cardunculus* e *Baccharis trimera* diminuiu após a simulação da digestão, não deixando de serem significativas. Os inibidores presentes nos extratos de *Costus spicatus* e *Echinodorus grandiflorus* mantiveram-se após a simulação, apresentando alta inibição sob a atividade da lipase.

TABELA 4 Atividade da lipase pancreática na presença de extratos metanólicos após simulação da digestão

Planta	% inibição após simulação*	Atividade de lipase inibida (ALI/g)*
<i>Baccharis trimera</i>	51±0,05	225±0,1
<i>Coffea arabica</i>	0	0
<i>Costus spicatus</i>	40±0,2	247±0,14
<i>Cymbopogon citratus</i>	65±0,3	297±0,4
<i>Cynara cardunculus</i>	40±0,07	88±0,2
<i>Echinodorus grandiflorus</i>	84±0,08	175±0,18

* média de 3 repetições ± desvio padrão.

Agbafor & Akubugwo (2007) investigaram a ação hipocolesterolêmica do extrato etanólico de *Cymbopogon citratus* em ratos albinos e observaram que os níveis de colesterol foram reduzidos nos animais tratados com o extrato. Esses resultados concordam com os dados encontrados neste estudo, já que a inibição da lipase pancreática diminui a absorção de triglicerídios, podendo reduzir também os níveis de colesterol.

Não foram encontrados outros estudos científicos que relatassem a inibição de lipase pancreática pelas plantas descritas no presente estudo. Os resultados de inibição sugeriram que essas plantas (*Baccharis trimera*, *Costus spicatus*, *Cymbopogon citratus* e *Echinodorus grandiflorus*) podem revelar uma boa fonte de inibidores de lipase extraídos de produtos naturais, podendo ser eficaz no auxílio do tratamento da obesidade causada por uma elevada taxa de gordura na dieta. Estudos complementares serão realizados visando à purificação desses inibidores. A presença de inibidores após incubação com fluido gástrico simulado é forte evidência de que o resultado se repetirá em ensaios *in vivo*.

6 CONCLUSÃO

Os extratos metanólicos de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), alcachofra (*Cynara cardunculus*), cana-do-brejo (*Costus spicatus*), chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*) e carqueja (*Baccharis trimera*) apresentam potencial como adjuvante no tratamento da obesidade e de dislipidemias, uma vez que inibem a lipase pancreática antes e após a simulação da digestão gástrica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGBAFOR, K.N.; AKUBUGWO, E.L. Hypocholesterolaemic effect of ethanolic extract of fresh leaves of *Cymbopogon citrates* (lemongrass). **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.6, n.5, p.596-598, 2007.
- ALBUQUERQUE, U.P.; MONTEIRO, J.M.; RAMOS, M.A.; AMORIM, E.L.C. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.110, p.76–91, 2007.
- BITOU, N.; NINOMIYA, M.; TSUJITA, T.; OKUDA, H. Screening of lipase inhibitors from marine algae. **Lipids**, Champaign, v.34, n.5, p.441–445, 1999.
- BOREL, P.; LAIRON, D.; TERMINE, E.; GRATAROLI, R.; LAFONT, H. Isolation and properties of lipolysis inhibitory proteins from wheat germ and wheat bran. **Plant Foods and Human Nutrition**, New York, v.39, n.4, p.339–348, 1989.
- BRANDÃO, M.G.L.; ZANETTI, N.N.S.; OLIVEIRA, P.; GRAEL, C.F.F.; SANTOS, A.C.P.; MONTE-MÓRE, R.L.M. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.120, p.141-148, 2008.
- CUNHA, A. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Lisboa: Fundação Colouste Gulbenkian, 2003. 702p.
- DRENT, M.L.; LARSSON, I.; WILLIAM-OLSSON, T.; QUADE, F.; CZUBAYKO, F.; VON BERGMANN, K.; STROBEL, W.; SJÖSTRÖM, L.; VAN DER VEEN E.A. Orlistat (RO 18-0647), a lipase inhibitor, in the treatment of human obesity: a multiple dose study. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, London, v.19, n.4, p.221–226, 1995.
- DICKEL, M.L.; RATES, S.M.K.; RITTER, M.R. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.109, p.60–71, 2007.

- GARGOURI, Y.; JULIEN, R.; SUGIHARA, A.; VERGER, R.; SARDA, L. Inhibition of pancreatic and microbial lipases by proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.795, n.2, p.326–331, 1984.
- GRUNDY, S.M.; DENKE, M.A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **Journal of Lipid Research**, v.31, p.1149–1172, 1990.
- HADVAY, P.; LENGSELD, H.; WOLFER, H. Inhibition of pancreatic lipase in vitro by covalent inhibitor tetrahydrolipstatin. **Biochemical Journal**, Auckland, v.256, n.2, p.357–361, 1988.
- HAN, L.K.; KIMURA, Y.; KAWASHIMA, M.; TAKAKU, T.; TANIYAMA, T.; HAYASHI, T.; ZHENG, Y-N.; OKUDA, H. Antiobesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. **International Journal of Obesity**, London, v.25, n.10, p.1459–1464, 2001.
- HAUPTMAN, J.B.; JEUNT, F.S.; HARTMANN, D. Initial studies in humans with the novel gastrointestinal lipase inhibitor Ro 18-0647 (tetrahydrolipstatin). **American Journal of Clinical Nutrition**, London, v.55, p.309s–313s, 1992.
- JAHROMI, M.A.F.; ANIL, A.B. Antiherlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. **Journal of Natural Products**, Washington, v.56, n.7, p.989-994, July 1993.
- KATO, N.; TOSA, N. Effects of dietary quercetin on serum lipids. **Agricultural Biological Chemistry**, Tokyo, v.47, n.9, p.2119-2120, 1983.
- KAWAGUCHI, K.; MIZUNO, T.; AIDA, K.; UCHINO, K. Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.61, n.1, p.102–104, 1997.
- KOPELMAN, P.G. Obesity as a medical problem. **Nature**, Washington, v.404, n.6778, p.635–643, 2000.
- KWON, C.S.; SOHN, H.Y.; KIM, S.H.; KIM, J.H.; SON, K.H.; LEE, J.S.; LIM, J.K.; KIM, J-S. Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase inhibitory activity in rodents. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.67, n.7, p.1451-1456, 2003.

MACIEL J.M.; CABRAL, P.C.; LIRA, P.I.C.; FLORÊNCIO, T.M.M.T. Fatores socioeconômicos associados ao excesso de peso em população de baixa renda do Nordeste brasileiro. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.59, n.1, p.22-29, 2009.

MAGGIO, G.D. Azione della Quercetina sull andamento di alcuni processi patologici sperimentali correlati alla Mallatia arteriosclerotica. **Rivista Italiano de Science Famacologche**, Hamburgo, p.28-37, 1956.

MENDES, F.R.; CARLINI, E. A. Brazilian plants as possible adaptogens: An ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 109, p. 493–500, 2007.

NAGEM, T.J.; ALBUQUERQUE, T.T.O.; MIRANDA, L.C.G.; PEREIRA, C.A.S. Efeito de flavonóides sobre lipídeos em ratos e sobre enzimas metabolizadoras de drogas. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.37, n.3, p.471-482, jul. 1994.

NAGEM, T.J.; OLIVEIRA, T.T.; SILVA, M.C.; MIRANDA, L.C.G. Efeitos de derivados flavonoídicos sobre lipídeos em ratos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.38, n.3, p.859-868, jan. 1995.

SATOUCHI, K.; HIRANO, K.; FUJINO, O.; IKOMA, M.; TANAKA, T.; KITAMURA, K. Lipoxygenase-1 from soybean seed inhibiting the activity of pancreatic lipase. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.62, n.8, p.1498–1503, 1998.

SHIMURA, S.; TSUZUKI, W.; KOBAYASHI, S.; SUZUKI, T. Inhibitory effect on lipase activity of extracts from medicinal herbs. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v.56, n.3, p.1478–1479, 1992.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS UFSC, 2002.

SJOSTROM, L.; RISSANEN, A.; ANDERSEN, T.; BOLDRIN, M.; GOLAY, A.; KOPPESCHAAR, H.P.F.; KREMPEF, M. Randomised placebocontrolled trial of orlistat for weight loss and prevention of weight regain in obese patients. **Lancet**, London, v.352, n.9123, p.167–172, 1998.

TANI, H.; OHISHI, H.; WATANABE, K. Wheat flour lipase inhibitor decrease serum lipid levels in male rats. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Tokushima, v.41, n.6, p.699–706, 1995.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **The National Formulary NF 18 (Pharmacopeial Convention Ing)**. Rockvile, 1995.

VELÁSQUEZ, E.; BARON, M.A.; SOLANO, L.; PÁEZ, M.; LLOVERA, D.; PORTILLO, Z. Perfil lipídico en preescolares venezolanos según nivel socioeconómico. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.56, n.1, p.22-28, 2006.

VERGER, R. Interfacial activation of lipases: facts and artifacts. **Trends in Biotechnology**, Warwick, v.15, n.1, p.32–37, 1997.

CAPÍTULO 3

INIBIÇÃO DE LIPASE PANCREÁTICA POR EXTRATOS DE *Baccharis trimera* (CARQUEJA): AVALIAÇÃO DE ANTINUTRIENTES E EFEITO SOBRE GLICOSIDASES

1 RESUMO

A fim de comprovar o uso tradicional de carqueja (*Baccharis trimera* Less (DC)) como agente redutor de peso, extratos da planta foram avaliados em relação à atividade da lipase pancreática (LP), enzima responsável pela hidrólise dos triacilgliceróis da dieta para sua posterior absorção. O extrato aquoso e o infuso não apresentaram atividade inibitória sobre a LP, o etanólico inibiu 16% (66 ALI/g) e o extrato metanólico inibiu 78% (241 ALI/g). O extrato metanólico de carqueja (EMC) foi submetido a uma lavagem com solventes com polaridade decrescente (hexano, acetato de etila e metanol) e somente a fração metanólica inibiu a lipase em 72% (230 ALI/g). Avaliou-se a atividade inibitória do EMC e do infuso sobre as enzimas α -amilase e α e β -glicosidases. A α -amilase não foi inibida por ambos os extratos, a enzima α -glicosidase foi inibida pelos dois extratos na mesma proporção ($46,9 \pm 0,1$) e a β -glicosidase foi inibida em 73% pelo extrato metanólico e em 65% pelo infuso. Avaliou-se também a presença de antinutrientes nos mesmos. Foi detectada a presença de saponinas, polifenóis e inibidores de tripsina nas duas amostras. Ensaio realizados *in vivo* poderão avaliar em qual concentração terapêutica a presença desses antinutrientes pode ser prejudicial à saúde.

Palavras-chave: obesidade, lipase pancreática, *Baccharis trimera*, antinutrientes.

INHIBITION OF PANCREATIC LIPASE BY EXTRACTS *Baccharis trimera* (CARQUEJA): ASSESSMENT AND EFFECT ON ANTINUTRIENTS GLUCOSIDASE

2 ABSTRACT

In order to confirm the traditional use of broom (*Baccharis trimera* Less (DC)) for the reduction of weight, plant extracts were evaluated on the activity of pancreatic lipase (LP), an enzyme responsible for hydrolysis of triacylglycerols in the diet for its subsequent absorption. The aqueous extract and infused did not show inhibitory activity on the LP, the ethanol inhibited 16% (66 ALI / g) and methanol extract inhibited 78% (241 ALI / g). The methanol extract of broom (EMC) was subjected to a wash with decreasing solvent polarity (hexane, ethyl acetate and methanol) and only the methanol fraction inhibited the lipase in 72% (230 ALI / g). We evaluated the inhibitory activity of EMC and infused on the enzymes α -amylase and α and β -glucosidases. The α -amylase was not inhibited by both extracts, the enzyme α -glucosidase was inhibited by both extracts in the same proportion (46.9 ± 0.1) and β -glucosidase was inhibited by 73% methanol extract and 65% by infused. We also evaluated the presence of anti-nutrients in them. We detected the presence of saponins, polyphenols and trypsin inhibitors in the two samples. Tests performed in vivo able to assess which therapeutic concentration the presence of anti-nutrients can be harmful to health.

Keywords: obesity, pancreatic lipase, *Baccharis trimera*, anti-nutrients.

3 INTRODUÇÃO

O potencial das plantas como fonte de novas drogas oferece grande campo para investigação científica, pois, das cerca de 250.000 a 500.000 espécies conhecidas, uma pequena porcentagem já foi investigada fitoquimicamente e apenas uma fração já foi avaliada quanto ao potencial farmacológico (Rates, 2001). Mesmo entre as plantas com uso medicinal tradicional ainda há um grande percentual que não foi objeto de estudo visando à comprovação da eficácia e da segurança de seu uso (Cordell & Colvard, 2005).

Baccharis trimera Less (DC), popularmente conhecida como carqueja, pertence à família Asteraceae e apresenta-se como um subarbusto ereto, ramoso e glabro, com até 80 cm de altura. Originária da América do Sul, é cultivada principalmente no Brasil, na Argentina, no Paraguai e no Uruguai (Ruiz et al., 2008). O chá é utilizado popularmente no tratamento de problemas hepáticos, digestivos, malária, úlceras, diabetes, anemia, diarreia, inflamações urinárias, amigdalite, verminoses, mal de Hansen, redução do peso (Verdi et al., 2005; Biavatti et al., 2007; Agra et al., 2007, 2008), hipercolesterolemia, disfunção erétil, infertilidade feminina e reumatismo (Alonso, 1998), além do uso como agente abortivo (Matos & Lorenzi, 2002).

Ensaio biológicos objetivando atribuir ações farmacológicas para esta espécie foram desenvolvidos, evidenciando efeito anti-inflamatório e analgésico (Gené et al., 1996), antimutagênico (Nakasugi & Komai, 1998), antiúlcera (Dias et al., 2009), vasorrelaxante da musculatura lisa (Torres et al., 2000), hipoglicemiante (Matos & Lorenzi, 2002; Barbosa-Filho et al., 2005), antiviral (Abad et al., 1999), gastroprotetor (Gonzales et al., 2000), hepatoprotetor (Soicke & Leng-Peschlow, 1987) e antiartrítico (Coelho et al., 2004).

A obesidade está se tornando uma das maiores ameaças para a saúde mundial neste milênio, com mais de 1 bilhão de adultos com excesso de peso (Harrold et al., 2003; Arbeeny, 2004). Descobertas na compreensão dos mecanismos moleculares que regulam o peso do corpo deram oportunidades potenciais para intervenção com fins terapêuticos e trouxeram esperança renovada para o desenvolvimento de drogas antiobesidade (Foster-Schubert & Cummings 2006). O mercado desses medicamentos é enorme e é responsável por 2% a 6% das despesas totais com a saúde, em vários países desenvolvidos.

Atualmente, o potencial de produtos naturais para o tratamento da obesidade é ainda largamente inexplorado e pode ser uma excelente alternativa para o desenvolvimento seguro e eficaz de drogas antiobesidade (Bhutani et al., 2007). Neste contexto, foi investigada a inibição de lipase pancreática, α -amilase e α e β -glicosidases por diferentes extratos de carqueja e a presença de antinutrientes nos mesmos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Hastes de *Baccharis trimera* Less (DC) (carqueja) foram coletadas no município de Lavras (MG, Brasil) e conduzidas ao Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde teve início o seu processamento. Sua exsicata está depositada no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA, sob registro nº 873.

4.2 Preparo do extrato metanólico

O material vegetal fresco foi lavado e cortado em fragmentos de, aproximadamente, 1 cm². Em seguida, 1.238 g deste material foram macerados em metanol, durante 48 horas. A mistura foi, então, filtrada em algodão, resultando na obtenção de uma fase líquida que foi seca em evaporador rotatório e liofilizador. Após a liofilização, obtiveram-se 105,78 g de um pó verde-escuro, que foi armazenado em freezer.

4.3 Preparo do extrato etanólico

O extrato etanólico (96,0°G) foi preparado como descrito no item 4.2, porém, foram utilizados 10,16 g de material embebido em etanol durante 48 horas. Após liofilização, obtiveram-se 0,768 g de um pó verde-claro, que foi armazenado em freezer.

4.4 Preparo do extrato aquoso à frio

O material vegetal fresco foi lavado, fracionado em pedaços de aproximadamente 1 cm² e triturado em graal, com pistilo. Em seguida, foi preparado um extrato aquoso na proporção 1:10 (p/v), em banho de gelo,

utilizando agitador horizontal por 30 minutos. Decorrido esse tempo, a amostra foi centrifugada, a 1700 x g, por 10 minutos, a 4°C.

4.5 Preparo do infuso de carqueja

Hastes de carqueja fresca foram secas em estufa ventilada a 30°C, moídas em moinho de facas tipo Wiley e armazenadas à temperatura ambiente. Para o preparo do infuso, 2 g do pó foram pesados e colocados em infusão com 50 mL de água fervente, por 10 minutos (condições de uso pela população). Após o resfriamento, o chá foi filtrado em tecido organza e armazenado a 4°C.

4.6 Obtenção das enzimas

As enzimas foram adquiridas na forma de padrões industrializados: lipase pancreática suína tipo II, SIGMA; α -amilase pancreática de porco tipo VI B, SIGMA e tripsina pancreática de porco, MERCK.

As α e β -glicosidases foram obtidas a partir de duodeno suíno, cedido pelo Departamento de Zootecnia, de animais destinados ao abate. O tecido foi colocado em homogeneizador mecânico com água, filtrado em malha de náilon de 100 μ m e centrifugado, a 1700 x g, por 10 minutos, a 4°C. O sedimento foi recolhido e utilizado como extrato enzimático.

4.7 Ensaio de atividade da lipase

A enzima lipase pancreática, na concentração de 10 g L⁻¹, foi preparada em tampão Tris-HCl 0,05 mol L⁻¹, pH 8,0 (contendo CaCl₂ 0,010 mol L⁻¹ e NaCl 0,025 mol L⁻¹). O p-nitrofenilpalmitato (substrato da lipase) 0,008 mol L⁻¹ foi dissolvido em Triton-X 100, 0,5% (m/v), a 37 °C.

Todas as análises foram feitas em triplicata. Em cada análise, a mistura de reação (100 μ L de enzima, 50 μ L de água e 50 μ L de substrato) foi incubada por, pelo menos, quatro diferentes períodos de tempo. Controles sem enzima

(branco substrato) e sem substrato (branco enzima) foram incubados do mesmo modo que os tubos experimentais. O p-nitrofenol (produto da ação da lipase sobre o p-nitrofenilpalmitato) de coloração amarela no pH do ensaio foi lido a 410 nm, sem interrupção da reação. A inclinação da reta do gráfico, absorvância x tempo, foi calculada e utilizada como referência para o cálculo da atividade da lipase.

4.8 Ensaio de inibição da lipase

Para o ensaio de inibição, foram testados os extratos metanólico, etanólico na proporção de 1g de extrato/10mL de água, o extrato aquoso (1g/10mL) e o infuso de carqueja (0,4g/100mL). A inibição da lipase foi obtida a partir dos ensaios na ausência dos extratos (atividade sem inibidor - A), na ausência dos extratos e da enzima (branco substrato - a), na presença dos extratos de carqueja, enzima e substrato (atividade com inibidor - B) e na ausência da enzima (branco inibidor + substrato - b), da mesma forma que o ensaio de atividade da lipase (100 µL de enzima, 50 µL de extrato e 50 µL de substrato). Em cada análise, os extratos foram pré-incubados com a enzima por 10 minutos, antes da adição do substrato e início da contagem do tempo.

A atividade de lipase inibida foi calculada a partir da diferença entre a inclinação de reta do gráfico absorvância x tempo do ensaio na ausência do inibidor (A-a) e na presença do inibidor (B-b). Os resultados foram expressos em atividade de lipase inibida por grama de planta (ALI/g), que corresponde a 1 µmol de p-nitrofenol que deixou de ser produzido devido à presença do inibidor.

A porcentagem de inibição (I) foi calculada pela equação:

$$I\% = \frac{(A - a) - (B - b)}{(A - a)} \times 100$$

4.9 Fracionamento do extrato metanólico liofilizado

Em um erlenmeyer, colocaram-se 15,0 g do extrato metanólico e, em seguida, adicionaram-se 100 mL de hexano. A mistura foi tampada com papel alumínio e deixada sob constante agitação, por 30 minutos. Após esse tempo, colocou-se a mistura para decantação das partículas e o líquido sobrenadante filtrou-se em algodão. Esse procedimento foi repetido por quatro vezes. A fração solúvel em hexano foi evaporada em um evaporador rotatório e o resíduo liofilizado por três dias. Ao resíduo insolúvel em hexano adicionaram-se 100 mL de acetato de etila e procedeu-se da mesma forma como para o hexano. Ao resíduo insolúvel em acetato de etila adicionaram-se 100 mL de metanol e realizou-se o mesmo procedimento utilizado com os demais solventes. As massas obtidas em cada fração foram ressuspensas em água, na proporção 1g extrato/10mL água, para a realização dos ensaios de inibição da lipase (Figura 1).

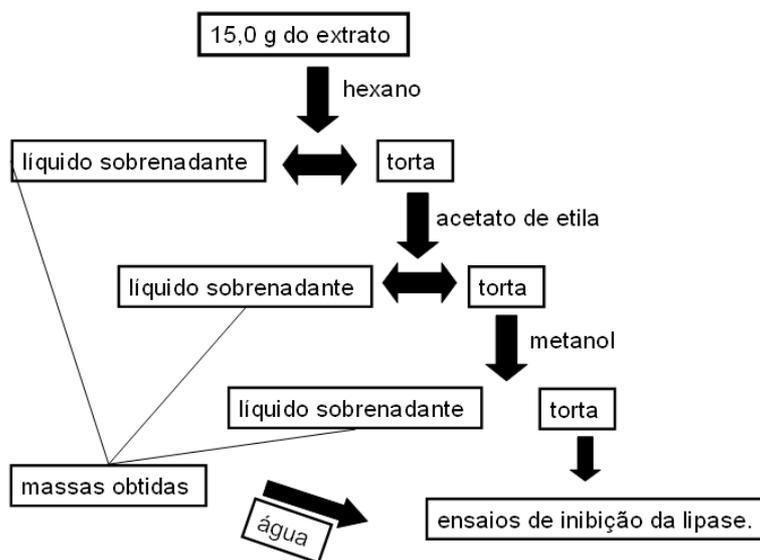


FIGURA 1 Metodologia utilizada no fracionamento do extrato metanólico liofilizado.

4.10 Inibição da α -amilase e α e β -glicosidases

As análises de atividade enzimática e inibição foram realizadas de forma análoga ao descrito nos itens 4.7 e 4.8, com o extrato metanólico e o infuso de carqueja.

4.10.1 Inibição de α -amilase

A inibição de α -amilase foi determinada utilizando-se amido 0,5% como substrato. Os açúcares redutores formados foram quantificados segundo Noelting & Bernfeld (1948), utilizando como referência uma curva padrão de glicose.

4.10.2 Inibição de α -glicosidase e β -glicosidase

A inibição dessas enzimas foi determinada segundo o método proposto por Kwon et al. (2006), com modificações: o substrato utilizado foi o *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo 0,005 mol L⁻¹, preparado em tampão citrato-fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0. Na determinação da β -glicosidase, o substrato utilizado foi o *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo. As atividades foram calculadas a partir de uma curva padrão de *p*-nitrofenol.

4.11 Atividade hemolítica

As saponinas foram extraídas com uma solução salina (NaCl 0,85 g 100 mL⁻¹) tamponada com tampão fosfato pH 7,4, com agitação, à temperatura ambiente, por 3 horas. Utilizou-se uma placa de microtitulação, à qual se adicionaram diluições na base 2 do extrato. Em seguida, adicionou-se uma suspensão de eritrócitos a 2% de sangue humano tipo A Rh+. Após 1 hora, verificou-se qual a maior diluição capaz de promover a ocorrência de hemólise (Barca et al., 1985).

4.12 Antinutrientes

4.12.1 Polifenóis

A dosagem de polifenóis do extrato metanólico e do infuso foi feita segundo metodologia de Folin-Denis, utilizando ácido tânico como padrão (Goldstein & Swain, 1963; Association of Official Analytical Chemists, AOAC, 2005).

4.12.2 Saponinas

As saponinas do extrato metanólico e do infuso de carqueja foram extraídas com etanol, sob agitação, por 1 hora, à temperatura ambiente. O teor de saponina foi determinado pela reação da saponina com o anisaldeído e a digitonina usada como padrão (Baccou et al., 1977).

4.12.3 Inibição de tripsina

A inibição de tripsina foi determinada utilizando-se o N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA), em tampão Tris 0,05 mol L⁻¹, pH 8,2, como substrato. As atividades foram calculadas segundo Erlanger et al. (1961). A inibição foi calculada como descrito no item 2.8.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato aquoso e o infuso de carqueja não inibiram a LP *in vitro*. O extrato etanólico apresentou pequena inibição (16%). Já o extrato metanólico inibiu consideravelmente a atividade da LP, cuja porcentagem de inibição foi de cerca de 78% (Tabela 1).

TABELA 1 Atividade da lipase pancreática na presença dos extratos de carqueja.

Extratos	%inibição*	Atividade de lipase inibida (ALI/g)*
Infuso	0	0
Aquoso	0	0
Etanólico	16±0,08	66±0,10
Metanólico	78±0,34	241±0,17

*média de 3 repetições ± desvio padrão.

Diante desse resultado, o extrato metanólico foi selecionado para iniciar os estudos de caracterização do inibidor de lipase. O extrato metanólico foi fracionado com hexano, acetato de etila e metanol, para avaliar a característica de polaridade dos inibidores. A fração hexânica (3,9% da massa do extrato metanólico) e a fração acetato de etila (42,6% da massa do extrato metanólico) não apresentaram inibição sobre a lipase, enquanto a fração metanólica (53,5% da massa do extrato metanólico) (Tabela 2) inibiu a lipase na mesma ordem de grandeza que o extrato sem fracionar (Tabela 1).

Os trabalhos descritos na literatura mostram que, nos extratos alcoólicos de plantas (principalmente metanol), têm-se isolado inibidores de lipase. Entre esses trabalhos, pode-se citar o de Sharma et al. (2005), que estudaram extratos metanólico de três plantas, *Eriochloa villosa* (Thunb.) Kunth, *Orixá japonica* Thunb. e *Setaria italica* (L.) Palib., que exibiram forte atividade antilipase *in vitro* (acima de 80%). Além disso, uma molécula inibidora de lipase foi isolada da fração metanólica de *Salvia officinalis* L. (Ninomiya et al., 2004) e um efeito hipocolesterolêmico foi verificado em ratos que receberam doses do extrato etanólico de *Cymbopogon citratus*, evidenciando a presença de inibidores de lipase (Agbafor & Akubugwo, 2007). Do extrato metanólico de *Ilex paraguariensis* também foi isolado um inibidor de lipase (Sugimoto et al., 2009). Esses trabalhos, bem como os resultados encontrados neste estudo, sugerem que os compostos orgânicos solúveis em metanol apresentam alguma característica estrutural que tem a capacidade de ligar e inibir a lipase pancreática.

TABELA 2 Percentual de inibição da lipase após fracionamento com solventes.

Fração	Massa obtida (g)	%inibição*	Atividade de lipase inibida (ALI/g)*
hexano	0,574	0	0
acetato de etila	6,226	0	0
metanol	7,826	72±0,05	230±0,2

* média de 3 repetições ± desvio padrão.

Como o infuso de carqueja é utilizado popularmente como ferramenta no tratamento antiobesidade e o mesmo não apresentou atividade inibitória sobre a lipase, avaliou-se, então, a inibição do infuso e do extrato metanólico liofilizado

sobre a atividade de glicosidases digestivas (α -amilase, α e β -glicosidases). Os resultados encontrados mostraram inibição sobre α e β -glicosidases, enquanto a amilase não foi inibida por nenhum dos extratos (Tabela 3). Essa inibição causada pelo infuso de carqueja sugere que este pode, sim, ser um coadjuvante no tratamento da obesidade, comprovando, desse modo, o uso popular dessa planta.

Essa inibição enzimática das glicosidases (α e β) (Tabela 3) tem sido relacionada com a presença de compostos fenólicos nas plantas, devido à característica estrutural comum a todos eles que é a presença de um anel aromático hidroxilado, que se assemelha à estrutura dos açúcares, substratos naturais das glicosidases (Kwon et al., 2006). O mesmo não ocorre com amilase, possivelmente por possuir um sítio de ligação mais específico que as glicosidases.

Oliveira et al. (2005) avaliaram o efeito dos extratos etanólico, butanólico e aquoso de carqueja sobre a glicemia de ratos diabéticos e não diabéticos e constataram que apenas a fração aquosa de *Baccharis trimera* (2000 mg/kg, duas vezes por dia) reduziu a glicemia após um tratamento de sete dias. Esses resultados podem ser explicados pela alta inibição das enzimas β -glicosidase e α -glicosidase responsáveis pela digestão final dos carboidratos, impedindo que sejam absorvidos. No entanto, como mostrado neste trabalho, o extrato aquoso e o extrato metanólico apresentaram inibição sobre a α e β -glicosidases (Tabela 3), porém, quando o extrato foi obtido utilizando como solvente o metanol, a inibição sobre as glicosidases continuou sendo observada, além da alta inibição sobre a lipase pancreática, aumentando muito a capacidade do extrato metanólico na função antiobesidade.

TABELA 3 Percentual de inibição causada pelo infuso e extrato metanólico de carqueja sobre enzimas glicolíticas

Enzimas	% de inibição*	
	Extrato metanólico	Infuso
α -glicosidase	47,3 \pm 0,5	46,6 \pm 0,3
β -glicosidase	73 \pm 0,23	65 \pm 0,06
α -amilase	0	0

* média de três repetições \pm desvio padrão da média.

Considerando as diretrizes atuais referentes à qualidade, à eficácia e à segurança dos medicamentos fitoterápicos, é imprescindível a avaliação de antinutrientes presentes no extrato (Tabela 4).

Foi verificada inibição da tripsina pelas duas amostras, extrato metanólico e infuso (Tabela 4). A inibição da tripsina pode ocasionar uma diminuição da digestibilidade proteica. Essa inibição pode não ser benéfica para o organismo, sendo necessários estudos *in vivo* para a determinação dessa ação.

TABELA 4 Teores de antinutrientes no extrato metanólico e no infuso de carqueja.

Extrato	Antinutrientes ¹		
	Saponinas (g/100g MS)	Tripsina (%)	Polifenóis (mg ácido tânico/100g MS)
Infuso	0,23 \pm 0,7	57 \pm 0,2	45,25 \pm 0,6
Metanólico	0,75 \pm 0,3	71 \pm 0,7	42,75 \pm 0,4

¹Médias de três determinações \pm desvio padrão.

O teor de polifenóis foi semelhante entre ambos (Tabela 4); a principal classe de metabólitos secundários encontrados nas espécies do gênero *Baccharis* é a dos polifenóis e muitos estudos têm considerado essas substâncias como compostos bioativos porque, apesar de poderem provocar danos à saúde, muitas apresentam capacidade antioxidante ou terapêutica (Barcelos, 2004; Verdi et al., 2005).

Saponinas foram encontradas em maior quantidade no extrato metanólico. As saponinas possuem ação lipofílica, que facilita a complexação das saponinas com esteroides, proteínas e fosfolipídeos das membranas celulares, alterando sua permeabilidade ou causando sua destruição, determinando manifestações sistêmicas, entre as quais, a hemólise (Borella et al., 2006). Não foi detectada hemólise no ensaio realizado com o extrato metanólico e o infuso, resultado que pode indicar baixa toxicidade das saponinas presentes nas amostras.

6 CONCLUSÃO

Diante da comprovação *in vitro* da presença de antinutrientes no extrato metanólico e no infuso de carqueja, avaliações *in vivo* serão necessárias para que a concentração terapêutica que venha a compor o fitoterápico seja insuficiente para ocasionar danos à saúde.

O extrato metanólico liofilizado, além de inibir as glicosidases, tem alta ação inibitória sobre a lipase pancreática, sendo promissor na elaboração de um medicamento fitoterápico auxiliar no tratamento da obesidade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J.; BERNEJO, P.; GONZÁLES, E.; IGLESIAS, I.; IRUTZUM, A.; CARRASCO, L. Antiviral activity of Bolivian plant extracts. **General Pharmacology**, Oxford, v.32, p.449-503, 1999.
- AGBAFOR, K.N.; AKUBUGWO, E.I. Hypocholesterolaemic effect of ethanolic extract of fresh leaves of *Cymbopogon citratus* (lemongrass). **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.6, p.596-598, 2007.
- AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.17, p.114-140, 2007.
- AGRA, M.F.; SILVA, K.N.; BASÍLIO, I.J.L.D.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.18, p.472-508, 2008.
- ALONSO, J.R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: ISIS Ediciones S. R. L., 1998.
- ARBEENY, C.M. Addressing the unmet medical need for safe and effective weight loss therapies. **Obesity Research**, London, v.12, p.1191–1196, 2004.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 18.ed. Maryland, 2005.
- BACCOU, J.C.; LAMBERT, F.; SAUVAIRE, Y. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. **Analyst**, Cambridge, v.102, p.458-465, 1977.
- BARBOSA-FILHO, J.M.; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTA, L. M.; OLIVEIRA, R.A.G.; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.15, p.392-413, 2005.

BARCA, A.M.C. de LA.; OCHOA, J.L.; VALENCIA, M.E. Effect of extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leucocarpus* seeds. **Journal of Food Science**, v.50, p.1770-1772, 1985.

BARCELOS, M.F.P. **Substâncias tóxicas naturais em alimentos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 116p. 2004.

BHUTANI, K.K.; BIRARI, R.; KAPAT, K. Potential anti-obesity and lipid lowering natural products: a review. **Natural Products Communications**, Westerville, v.2, p.331-348, 2007.

BIAVATTI, M.; MARENSI, V.; LEITE, S.N.; REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.17, p.640-653, 2007.

BORELLA, J.C.; DUARTE, D. P.; NOVARETTI, A. A.G.; MENEZES, A. JR.; FRANÇA, S. C.; RUFATO, C. B.; SANTOS, P.A.S.; VENEZIANI, R.C.S.; LOPES, N.P. Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera*(Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 6, p.557-561, 2006.

COELHO, M.G.P.; REIS, P.A.; GAVA, V.B.; MARQUES, P.R.; GAYER, C.R.; LARANJA, G.A.T.; FELZENSALB, I.; SABINO, K.C.C. Anti-arthritis effect and subacute toxicological evaluation of *Baccharis genistelloides* aqueous extract. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v.154, p.69–80, 2004.

CORDELL, G.A.; COLVARD, M.D. Some thoughts on the future of ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.100, p.5-14, 2005.

DIAS, L.F.T.; MELO, E.S.; HERNANDES, L.S.; BACCHI, E.M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.19, p.309-314, 2009.

ERLANGER, B.F.; KOKOWSKY, N.; COHEN, W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Maryland Heights, v.95, p.271-278, 1961.

FOSTER-SCHUBERT, K.E.; CUMMINGS, D.E. Emerging therapeutic strategies for obesity. **Endocrine Reviews**, Chevy Chase, v.27, p.779–793, 2006.

GENÉ, R.M.; CARTAÑÁ, C.; ADZET, T.; MARIN, E.; PARELLA, T.; CAÑIGUERAL, S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its active constituents. **Planta Medica**, Stuttgart, v.62, p.232-235, 1996.

GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v.2, p.371-383, 1963.

GONZALES, E.; IGLESIAS, I.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Gastric cytoprotection of Bolivian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.70, p.329-333, 2000.

HARROLD, J.A.; WILLIAMS, G.; WONG, S. Neuroendocrine targets for the treatment of obesity: physiological roles and unrealized opportunities. **Current Medicinal Chemistry - Central Nervous System Agents**, Sharjah, v.3, p.141-155, 2003.

KWON, Y.I.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. Inhibitory potential of wine and tea against α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. **Journal of Food Biochemistry**, Malden, v.32, p.15-31, 2006.

MATOS, F.J.A.; LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 234p. 2002.

NAKASUGI, T.; KOMAI, K. Antimutagens in the Brazilian folk medicinal carqueja (*Baccharis trimera* Less). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, p.2560-3564, 1998.

NINOMIYA, K.; MATSUDA, H.; SHIMODA, H.; NISHIDA, N.; KASAJIMA, N.; YOSHINO, T.; MORIKAWA, T.; YOSHIKAWA, M. Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Maryland Heights, v.14, p.1943-1946, 2004.

NOELTING, G.; BERNFELD, P. Sur les enzymes amylolytiques III-La b amylase: dosage d'activité et contrôle de l'absence d'amylase. **Helvetica Chimica Acta**, Malden, v.31, p.286-290, 1948.

OLIVEIRA, A.C.P.; ENDRINGER, D.C.; AMORIM, L.A.S.; BRANDÃO, M.G.L.; COELHO, M.M. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.102, p.465-469, 2005.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, New York, v.39, p.603-613, 2001.

RUIZ, A.L.T.G.; TAFFARELLO, D.; SOUZA, V.H.S.; CARVALHO, J.E. Farmacologia e Toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, p.295-300, 2008.

SHARMA, N.; SHARMA, V.K.; SEO, S.Y. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v.97, p.453-456, 2005.

SOICKE, H.; LENG-PESCHLOW, E. Characterization of flavonoids from *Baccharis trimera* and their antihepatotoxic properties. **Planta Medica**, Stuttgart, v.53, p.37-39, 1987.

SUGIMOTO, S.; NAKAMURA, S.; YAMAMOTO, S.; YAMASHITA, C.; ODA, Y.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M. Brazilian Natural Medicines. III. Structures of triterpene oligoglycosides and Lipase inhibitors from Mate, Leaves of *Ilex paraguariensis*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v.57, p.257-261, 2009.

TORRES, L.M.B.; GAMBERINI, M.T.; ROQUE, N.F.; LANDMAN, M.T.L.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.I. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, p.617-619, 2000.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I. M.C.; PIZZOLATTI, M.C. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, São Paulo, v.28, p.85-94, 2005.

CAPÍTULO 4

EFEITO DO EXTRATO METANÓLICO DE *Baccharis trimera* EM RATOS HIPERCOLESTEROLÊMICOS

1 RESUMO

O presente estudo foi desenvolvido para investigar o efeito emagrecedor e hipolipidêmico do extrato metanólico de carqueja (EMC). Foram utilizados 21 ratos machos da linhagem *Wistar*. Esses ratos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, com sete animais por grupo. A administração do extrato foi realizada via oral, durante 35 dias. O grupo A (controle) recebeu 1 mL de água/dia; o grupo B recebeu uma dose de 0,002g /dia (dose 1) e o grupo C, a dose de 0,1g/dia (dose 2). Foram feitas análises de lipídeos do sangue, colesterol total e frações e triglicérides no soro, ganho de peso, consumo alimentar, análises de peso, extrato etéreo, colesterol total e estudo histopatológico do fígado, após 35 dias. Procedeu-se a análise de variância (ANOVA) e utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os ratos tratados sofreram significativa redução de peso em relação ao grupo controle, não diferindo entre as doses. Não foi observada modificação nos níveis de triglicerídios entre o grupo controle e os grupos tratados com EMC. Apesar de apresentar um aumento nos níveis de colesterol, causado por indução da dieta, os ratos que receberam as doses de EMC sofreram um aumento menor, caracterizando um efeito hipocolesterolemico. A dose de 0,1g/dia causou redução dos níveis de HDL, indicando que doses menores devem ser administradas. Em conclusão, os resultados sugerem que o EMC tem ação emagrecedora e hipolipidêmica, possivelmente pela ação inibidora da lipase pancreática. Diante da ausência de mortalidade e de efeitos tóxicos diretos, principalmente nos animais que receberam a dose de 0,002g/dia, são fortes as evidências de que o EMC pode ser utilizado como auxiliar no tratamento da obesidade suas complicações e seus efeitos colaterais, bem como a hipercolesterolemia.

Palavras-chave: *Baccharis trimera* (Less.) DC, obesidade, hipocolesterolemia.

EFFECT OF THE METHANOL EXTRACT OF *Baccharis trimera* IN HYPERCHOLESTEROLEMIC RATS

2 ABSTRACT

This study was designed to investigate the slimming effect and hypolipidemic methanol extract of broom (EMC). We used 21 male rats Wistar. These were randomized into three groups with 7 animals per group. The administration of the extract was performed orally for 35 days. Group A (control) received 1 mL of water / day, group B received a dose of 0.002 g / day (dose 1) and group C at a dose of 0.1 g / day (dose 2). An analysis was made of blood lipids, total cholesterol and triglyceride in serum triglycerides, weight gain, food consumption, analysis of weight, lipids, total cholesterol and liver histopathology after 35 days. There has been analysis of variance (ANOVA) and used the Tukey test at 5% probability. The treated mice suffered significant weight reduction compared to the control group did not differ between doses. No change was observed in triglyceride levels between the control group and groups treated with EMC. Despite showing an increase in cholesterol levels caused by induction diet rats given doses of EMC have risen less characterizing a hypocholesterolemic effect. The dose of 0.1 g / day caused decreased levels of HDL, indicating that lower doses should be administered. In conclusion the results suggest that EMC has weight loss and hypolipidemic action, possibly by the inhibitory action of pancreatic lipase. Given the absence of mortality and direct toxic effects, especially in animals that received the dose of 0.002 g / day are strong evidence that the EMC can be used to aid and assist in the treatment of obesity treatment complications and side effects, and hypercholesterolemia.

Keywords: *Baccharis trimera* Less (DC.), obesity, hipocolesterolêmia.

3 INTRODUÇÃO

A obesidade é, atualmente, um dos problemas mais graves da saúde pública. Sua prevalência cresceu acentuadamente nas últimas décadas, inclusive nos países em vias de desenvolvimento, o que a elevou à categoria de epidemia global. Dos estudos epidemiológicos realizados em populações latino-americanas surgiram dados alarmantes. À medida que se consegue erradicar a miséria nos setores mais pobres da população, a obesidade aparece como um problema mais frequente e grave que a desnutrição. É o fenômeno da transição nutricional que sobrecarrega nosso sistema de saúde com o aumento de demanda de atenção por doenças crônicas relacionadas com a obesidade, como o diabetes tipo 2, a doença coronariana, a hipertensão arterial e diversos tipos de câncer (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, ABESO, 2009).

O sucesso do tratamento da obesidade inclui melhora da dieta, exercício físico, modificação no comportamento e terapêutica farmacológica. Nesse contexto, inibidores de enzimas digestivas, como o orlistat (120 mg/cápsulas), apresentam características mais seguras no tratamento, por não agirem sobre o sistema nervoso central como atuam os anorexígenos geralmente utilizados.

Muitas plantas são utilizadas pela população como auxiliares no controle de peso. A carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) DC) é uma delas, porém, ainda não foram realizados estudos que comprovem essa ação (Verdi et al., 2005; Biavatti et al., 2007; Agra et al., 2007; Agra et al., 2008). Testes laboratoriais revelaram que o extrato metanólico de carqueja tem alta ação inibitória sobre a lipase pancreática.

Neste trabalho, avaliou-se o efeito no ganho de peso e a ação anti-hipercolesterolêmica do extrato metanólico de carqueja em ratos com dieta hipercolesterolêmica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Hastes de *Baccharis trimera* Less (DC) (carqueja) foram coletadas no município de Lavras (MG, Brasil) e conduzidas ao Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde teve início o seu processamento. Sua exsicata está depositada no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia da UFLA, sob registro nº 873.

4.2 Preparo do extrato metanólico

O material vegetal fresco foi lavado e cortado em fragmentos de aproximadamente 1 cm². Em seguida, 1.238 g deste material foram macerados em metanol, durante 48 horas. A mistura foi, então, filtrada em algodão, resultando na obtenção de uma fase líquida que foi seca em evaporador rotatório e liofilizador. Após a liofilização, obtiveram-se 105,78 g de um pó verde-escuro, que foi armazenado em freezer.

4.3 Bioensaio

4.3.1 Animais e condições do experimento

No planejamento e na execução da pesquisa, foram obedecidas as recomendações da Comissão de Bioética na utilização de animais da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizados 21 ratos machos albinos (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar, provenientes do Biotério do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA, em fase de crescimento e com peso médio inicial de 129,3±8,87 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em sala com temperatura de 25±3°C (ciclo claro/escuro 12 horas) e com acesso à ração e água *ad libitum*, por um período de 35 dias. A dieta

experimental foi preparada de acordo com AIN-93G com modificações (Tabela 1), para indução de hipercolesterolemia nos animais. Durante todo o experimento, realizou-se, em dias intercalados, o controle do peso corporal e do consumo de ração pelos animais para a elaboração da curva de crescimento e acompanhamento do desenvolvimento.

TABELA 1 Composição da dieta experimental

Componentes	g/100g dieta
Amido de milho	52
Caseína	20
Celulose	5
Sacarose	10
Óleo de soja	7
Colesterol	1
Colato de sódio	0,25
Metionina	0,4
Colina	0,2
Mistura mineral *	3,5
Mistura vitamínica**	1
Vitamina E	0,01
Butil-hidroxitolueno (BHT)	0,01

*: Composição, em mg/kg. Minerais essenciais: ferro, 35; cálcio, 5000; fósforo, 1561; potássio, 3600; enxofre, 300; sódio, 1019; cloro, 1571; magnésio, 507; zinco, 30; manganês, 10; cobre, 6; iodo, 0,2; molibdênio, 0,15; selênio, 0,15. Minerais potencialmente benéficos: silício, 5; cromo, 1; flúor, 1; níquel, 0,5; bório, 0,5; lítio, 0,1; vanádio, 0,1.

** : Composição, em mg/kg: ácido nicotínico, 30; pantotenato, 15; piridoxina, 6; tiamina, 5; riboflavina, 6; ácido fólico, 2; composição em mg: vitamina k, 750; D-biotina, 200; vitamina B12, 25; vitamina A, 4000; vitamina D3, 1000; vitamina E, 75.

4.3.2 Administração do extrato

Os animais foram pesados e distribuídos aleatoriamente em três grupos com sete animais cada. A administração do extrato foi realizada com auxílio de uma cânula orogástrica. O grupo A (controle) recebeu 1 mL de água/dia, o grupo

B recebeu uma dose de 0,002 g/dia, que corresponde a 1 g/70 kg/dia (dose 1) e o grupo C a dose de 0,1 g/dia, correspondente a 50g/70 kg/dia (dose 2). O extrato foi pesado e dissolvido em 1 mL de água, antes da administração, uma vez ao dia, durante 35 dias.

4.3.3 Determinação de lipídios plasmáticos

Foram coletadas amostras de sangue (200 µL) semanalmente, por meio de incisão na cauda dos animais, em tubos tipo Eppendorfes® com EDTA. As amostras foram centrifugadas a 1.700 x g, por 20 minutos, para a obtenção do plasma, que foi usado para as análises de colesterol total e triglicerídios plasmáticos utilizando os kits Celm® e Labtest®, respectivamente.

4.3.4 Término do bioensaio

Ao término do experimento, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (35 mg/kg), o sangue foi retirado dos grandes vasos abdominais e, em seguida, centrifugado para a obtenção do soro. Avaliaram-se HDL, LDL, colesterol total e triglicerídios plasmáticos por meio de ensaios colorimétricos com kits Celm® e Labtest®. O fígado foi retirado por meio de laparotomia mediana, lavado em solução salina 0,9%, pesado e estocado, a -25°C, para posteriores análises de peso, extrato etéreo, colesterol total e estudo histopatológico.

4.4 Análises bioquímicas do fígado

A análise de extrato etéreo foi determinada utilizando-se a metodologia proposta pela AOAC (6). Para a quantificação de colesterol total, as amostras de fígado liofilizados foram submetidas à extração lipídica com clorofórmio e metanol (2:1), conforme Folch et al. (1957), e a dosagem foi feita pelo método da colesterol oxidase, utilizando-se o kit enzimático-colorimétrico Bioclin®.

4.5 Análise histológica do fígado

Para o estudo histológico, um fragmento de fígado de cada rato foi fixado em formalina tamponada a 10% e processados por métodos convencionais para exames histológicos e corados por hematoxilina e eosina. A avaliação foi realizada por microscopia óptica.

4.6 Análise estatística

Procedeu-se a análise de variância (ANOVA) e utilizou-se o teste de Tukey, a 5% e a 1 % de probabilidade, para comparação entre as médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais consumiram, em média, $15,06 \pm 8,65$ g/dia de ração, no período experimental. O consumo médio semanal de ração pelos animais é apresentado na Figura 1. Não houve alteração significativa no consumo durante o experimento, indicando que a administração das doses do EMC não alterou o consumo de alimento pelos animais. A curva de crescimento dos animais está demonstrada na Figura 2 e a comparação entre o peso inicial e o peso final dos animais, observando o efeito redutor de peso das doses de EMC, na Figura 3. Os ratos tratados sofreram significativa redução de peso, não diferindo entre as doses.

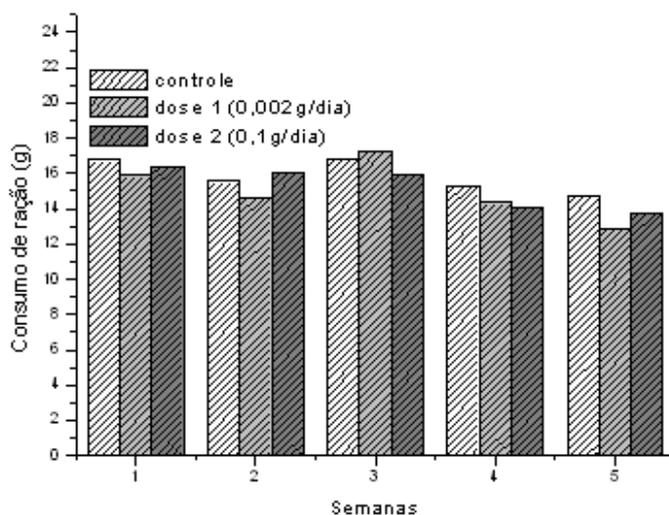


FIGURA 1 Consumo de ração de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias.

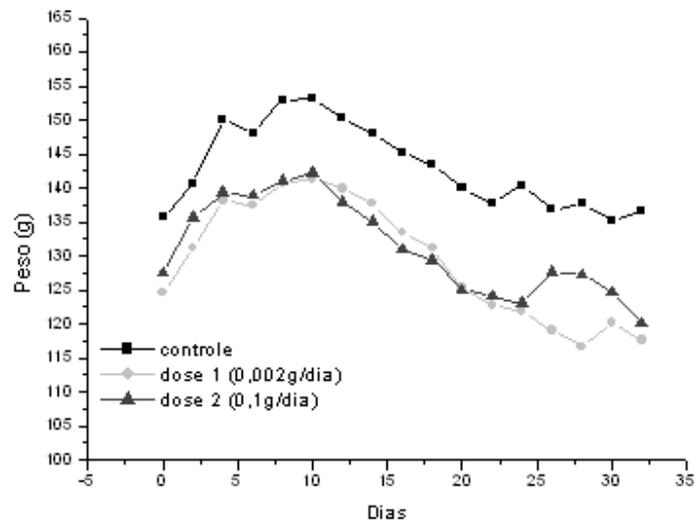


FIGURA 2 Curva de crescimento de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias

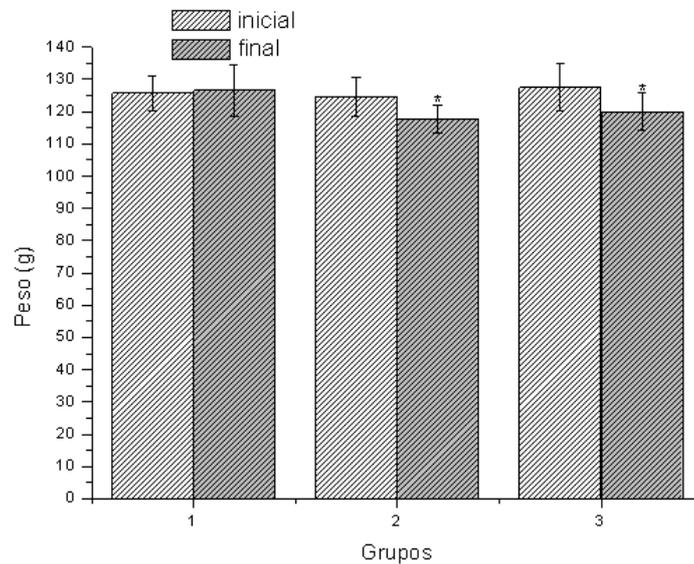


FIGURA 3 Comparação entre o peso inicial e o peso final de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. * $p < 0,01$, $n = 7$

Os resultados do presente estudo mostraram que as doses do EMC [1g/70 kg/dia (dose 1) e a dose de 50g/70 kg/dia (dose 2)], administradas por 35 dias, para ratos com uma dieta hipercolesterolêmica, tiveram ação anti-hipercolesterolêmica e causaram redução de peso. As doses foram determinadas com base na dose do extrato de carqueja usualmente ingerido para efeito de perda de peso em humanos, que é de 500 a 1000 mg/dia. Sendo assim, testou-se uma dose de 1.000 mg e uma dose 50 vezes maior para avaliar possíveis ações tóxicas (Londrina, 2006).

Os grupos que receberam doses do EMC tiveram redução do peso (Figura 3). Em estudos anteriores, foi verificada inibição *in vitro* da lipase pancreática, sendo um dos mecanismos que podem ter causado a redução do peso pela menor absorção de triglicerídios, além da inibição *in vitro* das glicosidases relatada no capítulo 3.

Os níveis de colesterol medidos durante o experimento estão demonstrados na Figura 4. Os animais estavam em fase de crescimento e receberam uma dieta hipercolesterolêmica para induzir aumento de níveis lipídêmicos. O aumento nos níveis de colesterol demonstrou que a dieta foi eficiente na indução da hipercolesterolemia. Nos ratos que receberam as doses de EMC, observou-se menor aumento nos níveis de colesterol, caracterizando um efeito anti-hipercolesterolêmico.

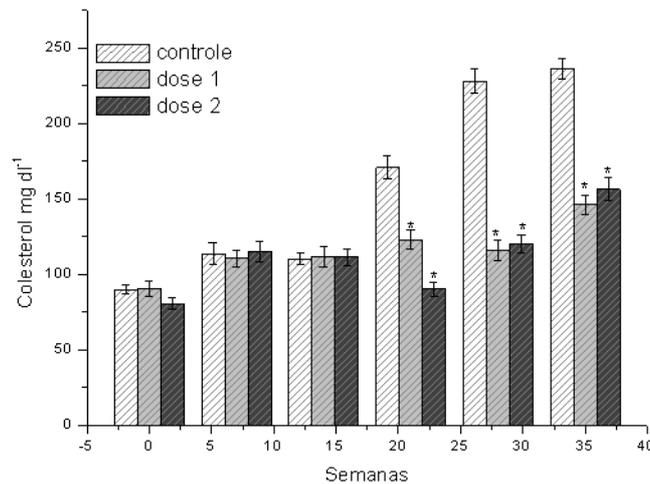


FIGURA 4 Níveis de colesterol total do sangue de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. * $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle, $n = 7$

Existe relação direta entre quantidade de triglicerídios e colesterol. Quanto maior a disponibilidade de Acetil-CoA, que é obtido a partir de triglicerídios e carboidratos em excesso convertidos em triglicerídios, maior a síntese de colesterol. O colesterol é sintetizado principalmente no fígado e distribuído para o organismo. Como era esperada ação inibitória do EMC sobre a lipase pancreática, o menor teor de colesterol sérico dos animais que receberam o EMC pode ser explicado por essa ação inibitória (Arslan et al., 2005).

Ao final dos 35 dias de experimento, os níveis de triglicérides dos animais foram de $23,11 \pm 4,67$ no grupo controle, $23,03 \pm 5,12$ no grupo que recebeu a dose 1 (0,002g/dia) e $18,59 \pm 6,73$ no grupo que recebeu a dose 2 (0,1g/dia). Os níveis de triglicérides entre o grupo controle e os grupos tratados com EMC foram estatisticamente iguais. Os animais receberam ração sem restrições e é recomendado que a medição de triglicerídios no sangue seja feita

após um período mínimo de três horas de jejum, esse pode ser o motivo da ausência de alterações (Lima et al., 2002).

Os níveis séricos das lipoproteínas LDL-c + VLDL-c e HDL-c foram determinados no último dia de experimento (Tabela 2). Os níveis de colesterol-HDL (HDL-c) sofreram uma redução no grupo que recebeu a dose 2 e os níveis de colesterol-LDL + colesterol-VLDL (LDL-c + VLDL-c) menor para os dois grupos tratados em relação ao controle.

A dose maior (0,1g/dia) causou uma redução dos níveis da lipoproteína HDL-c, resultado não desejado, caracterizando essa dose como prejudicial à saúde. A diminuição da lipoproteína LDL-c foi observada nos dois grupos tratados. Essas reduções dos níveis das lipoproteínas LDL e HDL estão, possivelmente, relacionadas à menor absorção de triglicerídios nos ratos tratados com doses do extrato inibidor de lipase pancreática (EMC). Em outros estudos, nos quais foi observada redução dos níveis de colesterol, o mesmo ocorreu com as lipoproteínas (Mertens & Holvoeti, 2001; Frank et al., 2002; Weggemans & Trautwein, 2003).

TABELA 2 Níveis de HDL-c e LDL-c +VLDL-c do soro de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. b p <0,05, quando comparado ao grupo controle, n = 7

Grupos	HDL-c mg/dl	LDL-c + VLDL-c mg/dL
Controle	118,10±8,09 a	126,48±10,4 a
Dose 1	98,96±7,07 b a	48,55±8,56 b
Dose 2	70,43±5,32 b	80,98±7,32 b

*dose 1 = 0,002g/dia; dose 2 = 0,1g/dia

O peso do fígado do grupo que recebeu a dose 1 foi menor em relação aos outros e o teor de lipídios totais maior no grupo controle (Tabela 3).

TABELA 3 Peso do fígado, níveis de colesterol total e lipídios totais de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. a1 p <0,05, quando comparado ao grupo controle, n = 7

Grupos	Peso fígado (g)	Colesterol fígado mg/g	Lipídios totais fígado (g/1g de fígado)
Controle	6,79±2,1 a2	182,37±3,2 a1	0,30±0,06 a2
Dose 1	5,83±1,3 a1	142,38±1,4 a1	0,24±0,1 a1
Dose 2	6,73±1,8 a2	192,22±2,2 a1	0,20±0,04 a1

*dose 1 = 0,002g/dia; dose 2 = 0,1g/dia

Para averiguar possíveis ações tóxicas no fígado pelo EMC, foi feita a avaliação histológica (Figura 5). Nos animais que receberam a dose 2 foi observada uma leve vacuolização no citoplasma dos hepatócitos, que pode ser indicio do início de esteatose ou de maior acúmulo de glicogênio no fígado. O fígado desses animais também apresentou maior peso em relação ao grupo que recebeu a dose 1. Como os animais receberam uma dieta hipercolesterolemica, sugere-se que o fígado esteja maior devido ao acúmulo de colesterol (Kotronen et al., 2009).

A chamada “doença gordurosa do fígado”, também conhecida como esteatose ou esteato-hepatite, está presente em indivíduos obesos, com colesterol ou triglicérides elevados ou com diabetes (Sharma et al., 2003; Zhang et al., 2009; Wang et al., 2009). Pode-se inferir que houve um início de acúmulo de gordura no fígado. No grupo controle foram encontrados maiores níveis de lipídios totais, reforçando a ideia que o EMC inibe a lipase pancreática.

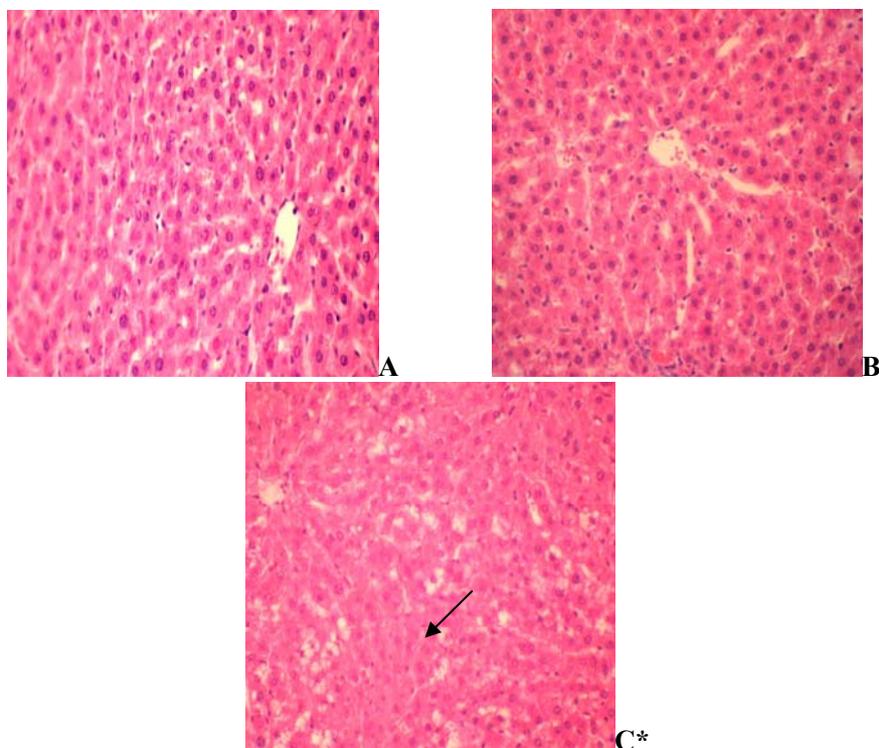


FIGURA 5 Microfotografia de cortes de fígado corados por hematoxilina e eosina, 25x, de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. (A= controle; B = dose 1; C = dose 2.) * leve vacuolização do citoplasma dos hepatócitos (seta)

A inibição de lipase foi verificada em ratos que receberam doses do extrato de *Cassia nomame* pela observação dos mesmos parâmetros analisados. Inibição de lipase também foi verificada em ratos que receberam doses do extrato de *Paliurus cyclocarya* e foram encontrados resultados semelhantes, embasando as ideias propostas neste estudo (Yamamoto et al., 2000; Kurihara et al., 2003).

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados sugerem que o EMC tem ação emagrecedora e hipolipidêmica, possivelmente pela ação inibidora da lipase pancreática. A dose de 0,1 g/dia causou redução dos níveis de HDL, indicando que doses menores devem ser administradas. Diante da ausência de mortalidade e de efeitos tóxicos, principalmente nos animais que receberam a dose de 0,002 g/dia, são fortes as evidências de que o EMC pode ser utilizado como auxiliar no tratamento da obesidade e suas complicações, bem como a hipercolesterolemia.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Síndrome metabólica**. Disponível em: <www.abeso.org.br>. Acesso em: 15 out. 2009.

BIAVATTI, M.; MARENSI, V.; LEITE, S.N.; REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.17, p.640-653, 2007.

AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.17, p.114-140, 2007.

AGRA, M.F.; SILVA, K.N.; BASÍLIO, I.J.L.D.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v.18, p.472-508, 2008.

ARSLAN, N.; BÜYÜKGEBİZ, B.; OZTÜRK, Y.; ÇAKMAKÇI, H.; TURK J. Fatty liver in obese children: prevalence and correlation with anthropometric measurements and hyperlipidemia. **Journal of Pediatrics**, Cincinnati, v.47, p.23-27, 2005.

FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE-STANLEY, G.H.A. Simple method for isolation and purification of total lipids from animals tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.226, p.407-411, 1957.

FRANK, M.; SACKS, J.; ANDREW, M.; TONKIN, A.S.; TIMOTHY, C.Y.J.; MARC, A.; SHEPHERD, J.; KEECH, A.; FURBERG, C.D.; BRAUNWALD, E. Coronary heart disease in patients with low LDL-cholesterol benefit of pravastatin in diabetics and enhanced role for HDL-Cholesterol and Triglycerides as Risk Factors Circulation. **American Heart Association**, Dallas, v.105, p.1424, 2002.

KOTRONEN, A.; LINDROOS, A.S.; VEHKAVAARA, S.; BERGHOLM, R.; FRAYN, K.N.; FIELDING, B.A.; HANNELE, Y-J. Liver fat and lipid oxidation in humans. **Liver International**, Calgary, v.29, p.1439-1446, 2009.

KURIHARA, H.; ASAMI, S.; SHIBATA, H.; FUKAMI, H.; TANAKA, T. Hypolipemic Effect of *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja in Lipid-Loaded Mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v.26, p.383-385, 2003.

LIMA, J.G.; NÓBREGA, L.H.C.; NÓBREGA, M.L.C.; BANDEIRA, F.; SOUSA, A.G.P. Dislipidemia Pós-Prandial Como Achado Precoce em Indivíduos Com Baixo Risco Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v.46, p.249-254, 2002.

LONDRINA. Prefeitura do Município. Autarquia Municipal de Saúde. **Fitoterapia: protocolo**. Londrina, 2006.

MERTENS, A.; HOLVOETI, P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. **The FASEB Journal**, New York, v.15, p.2073-2084, 2001.

SHARMA, S.B.; NASIR, A.; PRABHU, K.M.; MURTHY, P.S.; DEV, G. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extracts of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. **Journal Ethnopharmacology**, Lausanne, v.85, p.201–206, 2003.

VERDI, L.G.; BRIGHENTE, I.M.C.; PIZZOLATTI, M.C. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, São Paulo, v.28, p.85-94, 2005.

YAMAMOTO, M.; SHIMURA, S.; ITOH, Y.; OHSAKA, T.; EGAWA, M.; INOUE, S. Anti-obesity effects of lipase inhibitor CT-II, an extract from edible herbs, Nomame Herba, on rats fed a high-fat diet. **International Journal of Obesity**, London, v.24, p.758-764, 2000.

WEGGEMANS, R.M.; TRAUTWEIN, E.A. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. **European Journal of Clinical Nutrition**, Hampshire, v.57, p.940–946, 2003.

ZHANG, R.; HU, Y.; YUANU, J.; WU, D. Effects of Puerariae radix extract on the increasing intestinal permeability in rat with alcohol-induced liver injury. **Journal Ethnopharmacology**, Lausanne, v.126, p.207-214, 2009.

WANG, H.; FENG, F.; ZHUANG, B-Y.; SUN, Y. Evaluation of hepatoprotective effect of Zhi-Zi-Da-Huang decoction and its two fractions against acute alcohol-induced liver injury in rats. **Journal Ethnopharmacology**, Lausanne, v.126, p.273-279, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos metanólicos das plantas *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltl.) Micheli. (chapéu-de-couro), *Costus spicatus* (Jacq.) S.W. (cana-do-brejo), *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (capim-limão), e *Baccharis trimera* (Less.) DC (carqueja) possuem alta ação inibitória sobre a enzima lipase pancreática e podem ser auxiliares no tratamento de perda de peso.

As plantas em questão são naturais do Brasil, de fácil plantio e fácil obtenção. Tal fato diminui consideravelmente o custo do possível medicamento a ser produzido, já que o único produto existente para esse fim é importado e vendido por um valor que o torna inacessível para a maior parte da população. Apesar de observarmos algumas patentes de compostos inibidores de lipase, muitas não apresentam resultados de testes *in vivo* e possuem processos complicados de purificação da molécula inibidora.

Com o extrato metanólico de *Baccharis trimera* (Less.) DC (carqueja) foram realizados ensaio biológico e testes de toxicidade. O presente estudo apresenta resultados que podem levar a liberação do uso do extrato de carqueja como agente fitoterápico com ação inibidora de lipase.