

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, EFICÁCIA E
TOXICIDADE DO PÓ COMERCIAL DE
Hoodia gordonii (Apocinaceae) UTILIZADO NO
TRATAMENTO DA OBESIDADE**

CHRYSYTIAN ARAUJO PEREIRA

2010

CHRYSYTIAN ARAUJO PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, EFICÁCIA E TOXICIDADE DO PÓ
COMERCIAL DE *Hoodia gordonii* (Apocinaceae) UTILIZADO NO
TRATAMENTO DA OBESIDADE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora

Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

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

Pereira, Chrystian Araújo.

Caracterização química, eficácia e toxicidade do pó comercial de *Hoodia gordonii* (Apocinaceae) utilizado no tratamento da obesidade / Chrystian Araújo Pereira. – Lavras : UFLA, 2010.
114 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.
Orientador: Angelita Duarte Corrêa.
Bibliografia.

1. Plantas medicinais. 2. Constituinte químico. 3. Inibição de glicosidase. 4. Moderadores de apetite. 5. Redutor de peso. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 615.1901

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais pelo amor e dedicação e a Deus,
por me dar a chance de mostrar-lhes que toda luta
e sacrifício valeram a pena.*

*Aos meus irmãos, familiares e amigos,
pelo carinho e incentivo.*

A minha orientadora, Angelita, pelo apoio e confiança.

*Aos colegas e a todos os demais que contribuíram
na execução do trabalho.*

Em especial, ao AMOR DA MINHA VIDA, Luciana

por não me deixar desaminar,

por me fazer sentir muito mais do que eu sou,

pelo auxílio e participação na execução do trabalho,

pela força em todos os momentos da vida,

*e, principalmente, por não me deixar
viver pela metade e sim por inteiro e pleno
e me fazer feliz a cada instante.*

*Obrigado, pelo PRIVILÉGIO de estar todos os dias
no melhor lugar do mundo: ao seu lado.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Abel Gonzalez Galan (Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Santa Cruz de la Sierra – Bolívia) e às bolsistas de iniciação científica, Priscila M. Batista Braga, Juliana Arriel Torres e Estela Queiroz, pelo auxílio na execução das análises de nutrientes.

Às colegas de Pós-Graduação, Luciana Lopes Silva Pereira e Stefânia Priscilla de Souza, pela colaboração na execução dos ensaios de enzimas.

À Prof. Dra. Nádia Raposo (Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora), pela orientação nos ensaios biológicos e pela gentileza e presteza em disponibilizar o Laboratório de Biofarmácia (FFB/UFJF) e auxiliar na execução das análises.

À técnica Natália Calil, à doutoranda Sandra Ribeiro Bertelli de Castro e aos discentes de graduação César, Evandro, Romário e Carla (UFJF), pela fundamental colaboração diária durante todo o período dos ensaios biológicos.

Ao Prof. Dr. Hans-Gerd Janssen, pela gentileza na doação do padrão geranil tiglato, além da presteza e da disponibilidade no esclarecimento de dúvidas, o que foi essencial para a realização da análise de HPLC.

À Profa. Dra. Adelir Aparecida Saczk, pelas sugestões e colaborações fundamentais para a execução da análise de HPLC.

À Prof. Dra. Maria das Graças Cardoso, pela disponibilização do laboratório e equipamentos e, em especial, à técnica Lidiany Mendonça Zacaroni, pelo acompanhamento, direcionamento e realização da análise de HPLC.

Finalmente, à Capes, pela bolsa e à Fapemig, pelo apoio financeiro ao projeto.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO GERAL	iv
GENERAL ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral.....	1
2 Revisão de Literatura.....	4
2.1 Obesidade	4
2.1.1 Conceito.....	4
2.1.2 Etiologia.....	5
2.1.3 Prevalência e progressão.....	6
2.1.4 Problemas associados	7
2.1.5 Impactos econômicos.....	8
2.1.6 Tratamentos para redução da obesidade	9
2.2 Hormônios envolvidos na regulação neuroendócrina do apetite e saciedade.....	11
2.2.1 Leptina	12
2.2.2 Insulina	13
2.2.3 Grelina	15
2.3 <i>Hoodia gordonii</i> (Apocinaceae)	15
2.3.1 Informações taxonômicas	15
2.3.2 Distribuição.....	16
2.3.3 Histórico	18
2.3.4 Composição química dos extratos de <i>Hoodia</i>	19
2.3.5 Efeitos farmacológicos de extratos de <i>Hoodia gordonii</i>	21
2.3.6 Pesquisas científicas	22

3 Referências Bibliográficas	24
CAPÍTULO 2: Constituintes químicos do pó comercial de <i>Hoodia Gordonii</i> ...	34
1 Resumo	34
2 Abstract.....	35
3 Introdução	36
4 Material e Métodos	38
4.1 Obtenção do pó comercial de <i>Hoodia gordonii</i> (PHG)	38
4.2 Análises.....	38
4.2.1 Composição centesimal	38
4.2.2 Açúcares totais	38
4.2.3 Amido	39
4.2.4 Vitamina C.....	39
4.2.5 β -caroteno	39
4.2.6 Lectinas.....	39
4.2.7 Nitratos	40
4.2.8 Polifenóis	40
4.2.9 Saponinas.....	40
4.2.10 Ácido oxálico.....	40
5 Resultados e Discussão.....	41
6 Conclusão	46
7 Referências Bibliográficas.....	47
CAPÍTULO 3: Inibição de enzimas digestivas por extratos de pó comercial de <i>Hoodia Gordonii</i>	51
1 Resumo	51
2 Abstract.....	52
3 Introdução	53
4 Material e Métodos	55

4.1 Obtenção das amostras do pó comercial de <i>H. gordonii</i> (PHG) e preparo dos extratos.....	55
4.2 Obtenção das enzimas.....	55
4.3 Atividade das enzimas digestivas	56
4.3.1 Atividade de α -amilase	56
4.3.2 Atividade de α -glicosidase.....	56
4.3.3 Atividade de β -glicosidase.....	56
4.3.4 Atividade de lipase.....	57
4.3.5 Atividade de tripsina	57
4.4 Determinação da inibição	57
4.5 Preparo do fluido gástrico simulado	58
5 Resultados e Discussão.....	59
6 Conclusão	62
7 Referências Bibliográficas.....	63
CAPÍTULO 4: Eficácia e toxicidade do pó comercial de <i>Hoodia Gordonii</i> utilizado no combate a obesidade	66
1 Resumo	66
2 Abstract.....	67
3 Introdução	68
4 Material e Métodos	70
4.1 Material.....	70
4.2 Obtenção do pó comercial de <i>H. gordonii</i> (PHG)	70
4.3 Animais.....	71
4.4 Estudo de eficácia e toxicidade.....	71
4.5 Delineamento experimental e análise estatística.....	72
4.6 Crescimento e desenvolvimento	73
4.7 Análises laboratoriais do sangue.....	73
4.8 Histopatologia.....	74

5 Resultados e Discussão.....	75
5.1 Indicadores bioquímicos.....	75
5.2 Indicadores endócrinos.....	76
5.3 Indicadores hematológicos.....	78
5.4 Indicadores do efeito terapêutico: inibição do apetite e da sede.....	79
5.5 Indicadores histopatológicos.....	84
6 Conclusão.....	87
7 Referências Bibliográficas.....	88
CAPÍTULO 5: Cromatografia líquida de alta eficiência do pó comercial de <i>Hoodia Gordonii</i>	91
1 Resumo.....	91
2 Abstract.....	92
3 Introdução.....	93
4 Material e Métodos.....	95
4.1 Reagentes.....	95
4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	95
4.3 Obtenção das amostras comerciais do pó de <i>H. gordonii</i>	96
4.4 Preparo dos extratos do pó comercial de <i>H. gordonii</i>	96
4.5 Preparo da solução padrão e determinação da curva analítica.....	97
4.6 Ensaio de recuperação.....	97
5 Resultados e Discussão.....	99
5.1 Determinação das condições cromatográficas.....	99
5.2 Curva analítica e parâmetros analíticos.....	100
5.3 Análise cromatográfica das amostras do pó comercial de <i>H. gordonii</i>	100
6 Conclusão.....	107
7 Referências Bibliográficas.....	108
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110
PERSPECTIVAS.....	111

ANEXOS	112
--------------	-----

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 2	
TABELA 1 Composição centesimal em g 100 g ⁻¹ de matéria seca (MS) de duas amostras do pó comercial de <i>Hoodia gordonii</i>	41
TABELA 2 Teores de açúcares e de amido em g 100 g ⁻¹ MS, de duas amostras do pó comercial de <i>H. gordonii</i>	42
TABELA 3 Antinutrientes de duas amostras do pó comercial de <i>H. gordonii</i>	44
CAPÍTULO 3	
TABELA 1 Inibição das enzimas digestivas em unidades de enzima inibida (UEI) por extratos do pó comercial de duas amostras de <i>H. gordonii</i> antes e após a exposição ao fluido gástrico simulado.....	59
CAPÍTULO 4	
TABELA 1 Níveis sanguíneos médios de glicose e lipídeos e atividade de gama-GT nos três grupos de tratamento.....	75
TABELA 2 Níveis médios sanguíneos de leptina e insulina nos três grupos de tratamento.	76
TABELA 3 Contagem de glóbulos brancos para os três grupos de tratamento.....	78
TABELA 4 Consumo médio por animal de ração e água por dia durante os 28 dias de experimento para os três grupos de tratamento.....	81
CAPÍTULO 5	
TABELA 1 Esquema de eluição.....	96

TABELA 2	Recuperação do padrão nas duas amostras fortificadas de <i>H. gordonii</i>	104
----------	---	-----

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
FIGURA 1 A planta <i>Hoodia gordonii</i>	17
FIGURA 2 Estrutura do glicosídeo P57.....	20
CAPÍTULO 4	
FIGURA 1 Curva de crescimento dos ratos durante os 28 dias de experimento de cada tratamento.....	79
FIGURA 2 Ganho de peso médio durante os 28 dias de experimento para os três grupos de tratamento.....	80
FIGURA 3 Relações do consumo de ração/peso animal e consumo de água/peso animal durante os 28 dias de experimento para os três grupos de tratamento.....	83
FIGURA 4 Fotomicrografias de coração, fígado e rins (da esquerda para direita), utilizando coloração HE com aumento de 100x: (a) controle; (b) HA; (c) HB.....	85
CAPÍTULO 5	
FIGURA 1 Cromatograma do padrão geranil tiglato na concentração de 2×10^{-4} mol L ⁻¹	99
FIGURA 2 Cromatogramas dos ensaios de recuperação.....	102

RESUMO GERAL

PEREIRA, Chrystian Araújo. **Caracterização química, eficácia e toxicidade do pó comercial de *Hoodia gordonii* (Apocinaceae) utilizado no tratamento da obesidade.** 2010. 114 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

A obesidade alcançou proporções epidêmicas globais, com mais de um bilhão de adultos com excesso de peso, dos quais, 300 milhões apresentam obesidade clínica. No Brasil as taxas de obesidade correspondem a 13% da população, colocando o país no 6^o lugar no *ranking* mundial. Diversos medicamentos são utilizados no tratamento, destacando-se os fitoterápicos devido ao fácil acesso, baixo custo, não exigência de prescrição médica e crença na ausência de efeitos prejudiciais. Nesse contexto ganhou notoriedade a *Hoodia gordonii*, planta nativa do sul do continente africano com ação inibidora do apetite e da sede atribuída ao glicosídeo ativo P57, porém ainda carente de estudos científicos. Portanto, objetivou-se neste trabalho realizar a caracterização química detalhada e ensaios biológicos utilizando duas amostras do pó comercial de *H. gordonii* para buscar elucidar a respeito da sua constituição, eficácia, segurança e mecanismo de ação, ainda pouco estudados. Foram determinados os constituintes químicos, realizados ensaios de inibição de enzimas digestivas, análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e ensaios biológicos para avaliação da atividade farmacológica e toxicidade do pó comercial de *H. gordonii*. Os resultados mostraram altos teores de amido sugerindo a possibilidade de adulteração, baixos níveis de polifenóis e nitratos, insuficientes para não recomendação do uso e ausência de ácido oxálico, lectinas e saponinas. Os ensaios de inibição enzimática demonstraram atividade somente para α e β glicosídeos, indicando por sua vez que as mesmas podem ter participação nos propostos efeitos de emagrecimento, até então atribuídos somente ao glicosídeo ativo P57. Os ensaios biológicos com ratos submetidos ao tratamento durante 28 dias indicaram que doses equivalentes a 20 vezes aquelas recomendadas para humanos são incapazes de promover inibição do apetite e da sede, perda de peso, alterações de parâmetros sanguíneos ou quaisquer efeitos tóxicos. Finalmente as análises por CLAE revelaram que as amostras analisadas apresentam o glicosídeo ativo P57 em sua constituição, atestando a presença de espécies do gênero *Hoodia*, sem contudo, excluir a possibilidade de adulteração

*Orientador: Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa - UFLA

dos pós com outras espécies ou mesmo amido. No entanto, os níveis encontrados estão abaixo do limite de quantificação e considerados insuficientes para exercer os propostos efeitos de inibição do apetite e da sede nas doses recomendadas para humanos e até mesmo em doses 20 vezes maiores como observado nos ensaios biológicos. Conclui-se portanto, a necessidade de implantação de procedimentos de padronização, fiscalização e controle de produtos a base de *H. gordonii* antes que os mesmos possam ser novamente liberados para o consumo humano. Tais procedimentos devem visar a certificação da autenticidade, a determinação dos teores de glicosídeo ativo P57 e principalmente a padronização das doses efetivas a serem utilizadas.

Palavras-chave: *Hoodia*, constituinte químico, inibição de glicosidase, eficácia, toxicidade.

GENERAL ABSTRACT

PEREIRA, Chrystian Araújo. **Chemical characterization, efficacy and toxicity of *Hoodia gordonii* commercial powder (Apocinaceae) used in the treatment of obesity**. 2010. 114 p. Thesis (Ph.D. in Agricultural Chemistry) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

Obesity has reached epidemic proportions globally, with more than one billion adults are overweight, of who 300 million are clinically obese. In Brazil obesity rates correspond to 13% of the population, putting the country on 6th place in the world ranking. Several drugs are used in treatment, especially herbal medicines due to their easy availability, low cost, not requiring a prescription and belief in the absence of harmful effects. In this context notoriety to *Hoodia gordonii*, a plant native to southern Africa with inhibiting appetite and thirst attributed to the active glycoside P57, but still lacking in scientific studies. Therefore, this study aimed to perform detailed chemical and biological assays using two samples of commercial powder *H. gordonii* to seek clarifications about its creation, effectiveness, safety and mechanism of action, still poorly studied. Chemical constituents were determined, following tests of inhibition of digestive enzymes, analysis by high performance liquid chromatography (HPLC) and biological assays to evaluate the pharmacological activity and toxicity of commercial powder *H. gordonii*. The results showed high levels of starch, suggesting the possibility of tampering, low levels of polyphenols and nitrates, enough to not recommend the use and absence of oxalic acid, lectins and saponins. The enzyme inhibition tests showed activity only for α and β glycosidases, indicating in turn that they can have participation in the proposed effects of weight loss, so far attributed only to the active glycoside P57. The biological tests with rats subjected to treatment for 28 days, indicate that doses equivalent to 20 times those recommended for humans are unable to promote inhibition of appetite and thirst, weight loss, changes in blood parameters or any toxic effects. Finally the analyses for HPLC had disclosed that the analyzed samples present the active glycoside P57 in its constitution, certifying the presence of species of the *Hoodia* sort, without however, to exclude the possibility of adulteration of the ones after with other species or same starch. However, the levels found were below the limit of quantification and deemed insufficient to carry the proposed effects of inhibition of appetite and thirst in recommended doses for humans and even in doses 20 times higher as observed in biological assays. It is therefore the need to

* Adviser: Profa. Dra. Angelita Duarte Corrêa - UFLA

implement procedures for standardization, monitoring and control products based on *H. gordonii* before they can be re-released for human consumption. Such procedures shall seek certification of authenticity, determining the levels of active glycoside P57 and particularly the standardization of effective doses to be used.

Keywords: *Hoodia*, chemical constituent, glycosidase inhibition, efficacy, toxicity.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), existem, atualmente, no mundo, aproximadamente um bilhão de adultos com excesso de peso, dos quais trezentos milhões são obesos. Esses números levaram à constatação de que a obesidade configura-se como uma grande epidemia global, atingindo países em todos os estágios de desenvolvimento. No Brasil, cerca de 13% da população já é considerada obesa e estimativas sugerem que, em 2025, o país será o quinto do mundo em número de obesos (Brasil, 2009a; Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS, 2003).

Apesar de não ser considerada uma doença fatal, a obesidade acarreta diversos problemas debilitantes, como hipertensão arterial, cardiopatias, osteoartrites, dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2 e câncer, entre outros que caracterizam a chamada síndrome metabólica. Além disso, vários estudos demonstram que os impactos econômicos causados pela obesidade têm crescido progressivamente, elevando os custos com saúde coletiva e onerando gastos de governos e da sociedade.

Considerando que a obesidade é uma desordem multifatorial, isto é, diversos fatores estão envolvidos na sua ocorrência, incluindo fatores culturais, genéticos, psicológicos, metabólicos, endócrinos e ambientais, o tratamento e a abordagem terapêutica também devem ser realizados de maneira multidisciplinar.

Diversos tratamentos, como dieta balanceada, prática regular de exercícios físicos e mudança de hábitos alimentares têm sido propostos, mas a terapia medicamentosa também é utilizada na maioria dos casos. Inibidores da recaptção de serotonina, inibidores de lipases, agentes serotoninérgicos,

antidepressivos e inibidores de apetite estão entre os mais comumente utilizados. Além destes, vários fitoterápicos, como alcachofra, glucomanan, aloína, espinheira-santa, cáscara-sagrada e sene são auxiliares no tratamento da obesidade.

Embora alguns fitoterápicos sejam recomendados no tratamento, inúmeros produtos naturais são utilizados de maneira indiscriminada para prevenir, reduzir ou retardar o ganho de peso, sem que existam estudos sobre sua eficácia e segurança terapêutica. Dentre eles, destaca-se o pó de *Hoodia gordonii*, planta originária da África, com suposta ação inibidora de apetite atribuída ao glicosídeo ativo P57, que foi comercializado livremente, até proibição pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em fevereiro de 2007, em função da inexistência de comprovações científicas sobre sua eficácia e segurança.

Nos últimos anos, cresceu o interesse pela planta, refletido no surgimento de inúmeros produtos comerciais à base de *H. gordonii* sob diversas apresentações. No entanto, o binômio oferta/demanda gerou uma situação de desequilíbrio, devido a pouca disponibilidade em relação ao grande consumo da planta, ocasionando a preocupante possibilidade de adulterações, principalmente pelo cactus *Opuntia ficus*, popularmente conhecido como palma forrageira.

Diante da inexistência de estudos científicos relacionados aos constituintes químicos presentes no pó de *Hoodia gordonii* e sua eficácia e toxicidade, este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar os constituintes químicos, realizar ensaios de inibição de enzimas digestivas, investigar a presença do glicosídeo ativo e realizar ensaios biológicos com o pó comercial de *H. gordonii*. Buscou-se avaliar a eficácia e a segurança no uso diário desse fitoterápico, bem como esclarecimentos sobre o seu mecanismo de ação na inibição do apetite e da sede por meio da investigação da hipótese de sua

possível relação com os hormônios leptina e insulina, envolvidos na regulação neuroendócrina do apetite e da saciedade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Obesidade

2.1.1 Conceito

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal no indivíduo. Para o diagnóstico em adultos, o parâmetro mais comumente utilizado é o do índice de massa corporal (IMC), que é calculado dividindo-se o peso do paciente pela sua altura elevada ao quadrado. É o padrão utilizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que identifica o peso normal quando o resultado do cálculo do IMC está entre 18,5 e 24,9. Para ser considerado obeso, o IMC deve estar acima de 30.

A obesidade é fator de risco para uma série de doenças. O obeso tem mais propensão a desenvolver problemas como hipertensão, doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2, entre outras (Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica - ABESO, 2009; Organização Mundial da Saúde - OMS, 2010; Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia - SBEM, 2009).

Embora o IMC seja um marcador útil para avaliar a situação, análises do Relatório para Saúde no Mundo 2002 revelaram que aproximadamente 58% do diabetes e 21% das cardiopatias isquêmicas, bem como de 8% a 42% de certos tipos de câncer, eram atribuíveis a valores de IMC superiores a 21, no mundo inteiro (OPAS, 2003). Por isso, outros parâmetros têm sido adotados nos últimos anos, juntamente com o IMC, para auxiliar na avaliação de sobrepeso e obesidade, como circunferência abdominal, relação cintura-quadril e, recentemente, a circunferência cervical (OMS, 2010; Visscher et al., 2001).

Dessa forma, o sobrepeso e a obesidade na população são definidos, atualmente, como “um peso que está acima do que é considerado saudável para

uma altura específica” (Centers for Disease Control and Prevention - CDC, 2008), utilizando os diversos parâmetros antropométricos disponíveis para a avaliação.

A obesidade é, portanto, uma doença crônica de prevalência crescente no mundo inteiro, frequentemente acompanhada de múltiplas comorbidades que ocasionam, principalmente, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (Apovian, 2010).

2.1.2 Etiologia

A obesidade não é uma desordem singular e, sim, um grupo heterogêneo de condições com múltiplas causas que, em última análise, resultam no fenótipo de obesidade (Francischi et al., 2000).

São muitas as suas causas. O excesso de peso pode estar ligado ao patrimônio genético da pessoa, a maus hábitos alimentares ou, por exemplo, a disfunções endócrinas (SBEM, 2009). Considerando-se que o patrimônio genético da espécie humana não pode ter sofrido mudanças importantes neste intervalo de poucas décadas, certamente os fatores ambientais devem explicar essa epidemia. Quando se avalia clinicamente um paciente obeso, entretanto, deve-se considerar que diversos fatores predisponentes genéticos podem estar desempenhando um papel expressivo no desequilíbrio energético determinante do excesso de peso (Coutinho, 2007).

Porém, considera-se que a principal causa do problema é o consumo crescente de dietas com alta densidade energética, ricas em gorduras saturadas e açúcares, além de atividade física reduzida ou inexistente (OPAS, 2003).

Além disso, sabe-se, hoje, a partir da investigação da fisiologia e da regulação neuroendócrina do apetite e da saciedade, que a epidemia de obesidade é resultado da combinação de fatores raciais, genéticos e culturais, criando o chamado ambiente obesogênico (Apovian, 2010).

2.1.3 Prevalência e progressão

A obesidade alcançou proporções epidêmicas globais, com mais de um bilhão de adultos com excesso de peso, dos quais 300 milhões apresentam obesidade clínica. As taxas de obesidade triplicaram, comparadas com dados de 1980, colhidos nos países da América do Norte, do Reino Unido, da Europa Oriental, do Oriente Médio, das Ilhas do Pacífico, da Austrália e da China. No entanto, o aumento dessas taxas é mais rápido nos países em desenvolvimento do que no mundo desenvolvido (OPAS, 2003).

Nos Estados Unidos, as taxas de adultos obesos subiram de 14,25%, em 1978, para 31%, em 2000. No Reino Unido, subiram de 6%, entre os homens e 8%, entre as mulheres, em 1980, para 21% e 23,5%, respectivamente, em 2001. As formas extremas de obesidade estão crescendo mais rapidamente que qualquer outra epidemia. Nos Estados Unidos, por exemplo, o percentual de mulheres negras com IMC>40 (obesidade mórbida) dobrou em menos de uma década, atingindo os 15%, elevando para 6,3% o total de mulheres com obesidade mórbida (Deitel, 2003).

No último levantamento periódico realizado nos Estados Unidos, a Pesquisa Nacional para Exame da Nutrição e Saúde (NHANES), foi demonstrado que as taxas de obesidade entre adultos são de 32,2% em homens e de 35,5% em mulheres (Flegal et al., 2010). Vários estudos apresentam os Estados Unidos como o país de maiores taxas de obesidade entre a população (Ogden et al., 2006; Fabricatore et al., 2008; Houston et al., 2008), entretanto, dados recentes apontam que outros países já superaram as taxas norte-americanas, como a China, entre crianças e Austrália e Reino Unido, entre mulheres (Popkin, 2010).

O Brasil tem cerca de 18 milhões de pessoas consideradas obesas. Somando o total de indivíduos acima do peso, o montante chega a 70 milhões, o dobro de há três décadas (SBEM, 2009).

Em pesquisa realizada em 2002 e 2003, com indivíduos acima de 15 anos de idade, relacionou-se o grau de escolaridade com IMC>25 considerado como excesso de peso. Nas capitais das regiões sudeste (Belo Horizonte, Vitória, Rio de Janeiro e São Paulo), sul (Curitiba, Florianópolis e Porto Alegre), centro-oeste (Campo Grande e Distrito Federal), nordeste (Recife e Aracaju) e norte (Manaus) observou-se maior prevalência no grupo de menor escolaridade. Em Belém (norte), Natal e João Pessoa (nordeste), ao contrário, a maior prevalência de excesso de peso foi encontrada na população de maior escolaridade. Apenas em Fortaleza as prevalências foram iguais entre os dois grupos (Brasil, 2005).

Dados recentes revelam que, atualmente, no Brasil, aproximadamente 13% dos adultos são obesos, sendo o índice maior entre as mulheres (13,6%) do que entre os homens (12,4%). Esses dados revelam grande preocupação, já que, desde a primeira avaliação, em 2006, as taxas apresentam crescimento a cada ano (Brasil, 2009a).

2.1.4 Problemas associados

O excesso de peso está associado a inúmeros problemas, como cardiovasculares (hipertensão arterial, doença coronariana, doença cerebrovascular, varizes, trombose venosa), respiratórios (dispneia, apneia do sono, síndrome de hipoventilação), gastrintestinais (hérnia de hiato, colelitíase, esteatose e cirrose hepática, hemorroidas, hérnias, câncer colo-retal), metabólicos (dislipidemia, insulino-resistência, diabetes mellitus tipo 2), gravidez (complicações obstétricas, macrossomia fetal), mamas (câncer, ginecomastia), uterinas (câncer de endométrio e cervical), urológicos (câncer de próstata, incontinência urinária), pele (dermatites por sudorese, micoses, linfedema, celulite), ortopédicos (osteoartrite, gota), endócrinos (hipercortisolismo, ovário policístico, hiperandrogenismo, irregularidade menstrual) e renais (proteinúria) (ABESO, 2009; SBEM, 2009).

A obesidade e o excesso de peso produzem efeitos metabólicos adversos sobre a pressão arterial, os níveis de colesterol e de triglicérides no sangue e a resistência à insulina. Os problemas de saúde não são fatais, mas extremamente debilitantes. Em relatório da OMS de 2002 estimou-se que, no mundo inteiro, 2,5 milhões de pessoas morrem, por ano, devido ao excesso de peso (OPAS, 2003).

A obesidade está relacionada a algumas das mais prevalentes doenças na sociedade moderna, sendo o maior risco associado ao desenvolvimento de diabetes mellitus. Além disso, o risco de mortalidade agrava-se ainda mais para pessoas obesas fumantes (Francischi et al., 2000). Outros problemas médicos, como doenças biliares, osteoartrites, doenças do coração e alguns tipos de câncer, também apresentam relação com a obesidade (Bray, 2004; Thande et al., 2009).

2.1.5 Impactos econômicos

A obesidade é responsável por 2% a 7% do custo total de atenção à saúde nos países em desenvolvimento. Os verdadeiros custos dessa epidemia são indubitavelmente muito mais altos, uma vez que nem toda enfermidade associada à obesidade está incluída nos cálculos (OPAS, 2003).

O que essas estatísticas não transmitem é o fato de que todos, e não apenas as pessoas obesas, serão afetados pela epidemia. A elevação da prevalência da obesidade aumentará as taxas de diabetes, hipertensão, câncer, doenças cardíacas e outras doenças crônicas. A epidemia da obesidade elevará os custos de atenção à saúde e empregadores e órgãos governamentais irão repassar, no mínimo, alguns desses custos aos consumidores (Kottke et al., 2003).

Dados revelam que, nos Estados Unidos, em 1998, as despesas médicas relacionadas à obesidade, incluindo pacientes hospitalizados ou ambulatoriais e

prescrições de medicamentos ficaram em torno de 78,5 bilhões de dólares, estimando-se ainda terem alcançado US\$ 147 bilhões no ano de 2008 (Finkelstein et al., 2009).

O Brasil ocupa o 6^o 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).

2.1.6 Tratamentos para redução da obesidade

Muitos estudos demonstram que a redução da quantidade de massa corporal, em especial de gordura, melhora a qualidade de vida e diminui a morbidade e a mortalidade de pacientes obesos. A literatura é extensa quanto aos diferentes tratamentos para a obesidade, porém, ainda não foi possível alcançar uma conclusão definitiva (Cowburn et al., 1997; Halpern & Mancini, 2005).

Os tratamentos envolvem dieta balanceada, prática de exercícios físicos com frequência, terapia medicamentosa e mudança comportamental relacionada aos hábitos alimentares (Francischi et al., 2000). Sugestões para a reversão da epidemia da obesidade incluem campanhas de saúde pública, programas médicos comunitários e mudanças na alimentação apoiadas pela indústria, visando alterações nos padrões alimentares e estilo de vida. Programas comunitários estruturados de atividade física fora e dentro do trabalho podem também auxiliar num estilo de vida cotidiano mais saudável (Apovian, 2010).

O tratamento medicamentoso dos transtornos alimentares (TA) geralmente exige uma abordagem multidisciplinar em que a farmacoterapia é adjuvante de abordagens psicológicas e nutricionais. Psicotrópicos são indicados para a maioria dos pacientes com TA para tratar as comorbidades e também os demais sintomas. Progressos importantes estão ocorrendo nos últimos anos (Appolinario & Bacaltchuk, 2002).

Opções terapêuticas para esses pacientes incluem diversos agentes promotores da perda de peso. As principais drogas estudadas são sibutramina (inibidor da recaptção de serotonina) e orlistat (inibidor de lipase), agentes catecolaminérgicos (dietilpropiona ou anfepramona, femproporex, mazindol e combinação efedrina-cafeína), drogas serotoninérgicas (fenfluramina, fluoxetina) e outras drogas com alguma ação na perda de peso (metformina, topiramato e bupropiona) (Halpern & Mancini, 2005).

Recentemente, os medicamentos disponíveis para o tratamento da obesidade foram classificados em três grupos, segundo documento da International Obesity Task Force (IOTF): o primeiro reúne os medicamentos com ação exclusivamente central (fentamina), o segundo é o de ação periférica (orlistat) e o terceiro é o de ação periférica e central (efedrina/cafeína) (International Obesity Task Force - IOTF, 2009).

Além desses, percebe-se que a automedicação com “produtos naturais” emagrecedores tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, visto que a população, em geral, acredita que esses medicamentos não trarão danos à saúde. Os fitoterápicos de referência utilizados são: alcachofra (*Cynara scolymus*), aloína (*Aloe vera*), boldo (*Peumus boldus*), carqueja (*Baccharis* sp.), cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana*), centella-asiática, citrin extract (*Garcinia* sp.), clorela (*Chorella pyrenoidosa*), espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), espirulina (*Spirulina maxima*), *Fucus* sp., guaraná (*Paullinia cupana*), ginseng-falso (*Pfaffia paniculata*), glucomanan (*Amorphophallus konjac*), jurubeba (*Solanum paniculatum*), maracujá (*Passiflora alata*) e sene (*Cassia angustifolia*) (Azeredo et al., 2005). Além destes, outros produtos, como a *Hoodia gordonii*, têm sido consumidos para a mesma finalidade, sem, no entanto, terem a comprovação científica de sua eficácia e segurança.

A estratégia terapêutica da obesidade tem sofrido profundas modificações nos últimos anos. 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. Por outro lado, documento do Consenso Latino-Americano em Obesidade cita formas de tratamento muito utilizadas no nosso meio como não recomendadas para o tratamento da obesidade, pela absoluta falta de evidências científicas de eficácia. Estão citadas neste grupo a acupuntura, os cremes para celulite e obesidade, a fitoterapia, a mesoterapia, a yoga, a hipnoterapia, as fórmulas magistrais ditas naturais, os diuréticos e os laxativos (Coutinho & Cabral, 2000).

No entanto, com a recente implantação do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que visa inserir com segurança, eficácia e qualidade, plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS), as plantas medicinais voltaram a ganhar importância no tratamento de diversas enfermidades, entre elas a obesidade. Das 71 espécies vegetais inicialmente incluídas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Renuis), 5 (*Allium sativum*, *Baccharis trimera*, *Bauhinia forficata*, *Syzigium cumini* e *Vernonia condensata*) são destinadas ao tratamento da obesidade e problemas associados (Brasil, 2009b, 2009c).

Finalmente, a percepção atual da célula de gordura como um órgão endócrino, além das contribuições do intestino e do pâncreas, nos ajuda a compreender as origens da regulação neuroendócrina do apetite e da saciedade por substâncias como leptina, insulina e grelina, representando um campo de possibilidades no tratamento da obesidade (Apovian, 2010).

2.2 Hormônios envolvidos na regulação neuroendócrina do apetite e saciedade

A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública da atualidade, apresentando etiologia multifatorial. Entre os determinantes fisiológicos do controle de peso e do apetite, estão fatores neuronais, endócrinos,

adipocitários e intestinais. A leptina e a insulina são hormônios secretados em proporção à massa adiposa e atuam estimulando o catabolismo. No sistema nervoso central, a insulina e a leptina interagem com receptores hipotalâmicos, favorecendo a saciedade. Indivíduos obesos têm maiores concentrações séricas desses hormônios e apresentam resistência à sua ação (Halpern et al., 2004). Além dos avanços no estudo da célula adiposa, foi descoberto, recentemente, um novo hormônio relacionado ao metabolismo, a grelina, um peptídeo produzido nas células do estômago e envolvido diretamente na regulação do balanço energético a curto prazo (Romero & Zanesco, 2006).

2.2.1 Leptina

A leptina (do grego *leptos* = magro) é uma proteína composta por 167 aminoácidos, com uma estrutura semelhante às citocinas, sendo produzida principalmente no tecido adiposo (Reseland et al., 2001). É responsável pelo controle da ingestão alimentar, atuando em células neuronais do hipotálamo no sistema nervoso central. A ação da leptina no hipotálamo em mamíferos promove a redução da ingestão alimentar e o aumento do gasto energético, além de regular a função neuroendócrina e o metabolismo energético (Friedman & Halaas, 1998).

A leptina reduz o apetite a partir da inibição da formação de neuropeptídeos relacionados ao apetite, como o neuropeptídeo Y (NPY) e também da expressão de neuropeptídeos anorexígenos: hormônio estimulante de α -melanócito (α -MSH), hormônio liberador de corticotropina (CRH) e substâncias sintetizadas em resposta à anfetamina e à cocaína (CART) (Elmqvist et al., 1998; Friedman & Halaas, 1998). Assim, altos níveis de leptina reduzem a ingestão alimentar, enquanto baixos níveis induzem hiperfagia (Romero & Zanesco, 2006).

Contudo, níveis sanguíneos de leptina muito aumentados (hiperleptinemia), encontrados principalmente em pessoas obesas, podem indicar uma condição de leptino-resistência, estado similar à insulino-resistência que ocorre no diabetes melitus. Nesse quadro, a elevada leptinemia está associada à hiperfagia e à obesidade (Considini et al., 1996; Myers et al., 2008).

Em estudos com ratos foi demonstrado que a leptina ativa um canal de potássio ATP-sensível, indicando que esse canal pode funcionar como alvo molecular do hormônio nos neurônios hipotalâmicos (Spanswick et al., 1997). Além disso, sabe-se que a leptina estimula receptores de citocinas e que a transdução leptínica é feita por um mecanismo também utilizado pelos receptores dos inteferons e fatores de crescimento, os chamados sistemas em cascata JAK/STAT (janus quinase/transdutor de sinal e ativador de transcrição) (Auwerx & Staels, 1998). Esse é um dos principais mecanismos pelos quais os receptores de citocinas realizam a transdução de sinais intracelulares e é a via que media importantes efeitos no sistema nervoso central, induzidos pela leptina (Bays, 2004).

2.2.2 Insulina

A insulina é uma proteína formada por duas cadeias (A e B) com 21 aminoácidos em cada uma, interligadas por duas pontes dissulfeto. A composição em aminoácidos é variável para diferentes animais, mas, em cada cadeia, dez resíduos são comuns, sendo apenas alguns essenciais para a atividade biológica. A molécula de insulina existe como um monômero apenas em baixas concentrações (<0,1 mM ou ~0,6 mg/mL). Em condições fisiológicas, a insulina é normalmente mantida à concentração inferior a 10^{-3} mM, para assegurar sua circulação e exerce sua atividade biológica como molécula monomérica. Para concentrações superiores a 0,1 mM, a insulina dimeriza (Chien, 1996).

É o hormônio anabólico mais conhecido e essencial para a manutenção da homeostase de glicose, do crescimento e da diferenciação celular. A insulina regula a homeostase de glicose em vários níveis, reduzindo sua produção hepática (via diminuição da gliconeogênese e glicogenólise) e aumentando sua captação periférica, principalmente nos tecidos muscular e adiposo. A insulina também estimula a lipogênese no fígado e nos adipócitos e reduz a lipólise, bem como aumenta a síntese e inibe a degradação proteica (Carvalho et al., 2002).

A insulina é produzida pelas células beta do pâncreas e sua concentração sérica também é proporcional à adiposidade (Halpern et al., 2004). Com seu efeito anabólico, a insulina aumenta a captação de glicose e a queda da glicemia é um estímulo para o aumento do apetite (Woods et al., 1998). A descoberta recente de receptores para a insulina no cérebro demonstrou sua função essencial no sistema nervoso central para estimular a saciedade e o gasto energético, além de regular a ação da leptina (Schwartz, 2000; Hallschmid & Schultes, 2009).

O receptor de insulina pertence a uma família de receptores de fatores de crescimento que têm atividade tirosina quinase intrínseca (Patti & Kahn, 1998). Após a ligação da insulina, o receptor sofre autofosforilação em múltiplos resíduos de tirosina, o que resulta na ativação da quinase do receptor e na consequente fosforilação em tirosina de uma família de substratos do receptor de insulina (IRS). De forma similar a outros fatores de crescimento, a insulina usa fosforilação e interações proteína-proteína como ferramentas essenciais para transmitir o sinal. Estas interações proteína-proteína são fundamentais para transmitir o sinal do receptor em direção ao efeito celular final, tais como translocação de vesículas contendo transportadores de glicose (GLUT4) do *pool* intracelular para a membrana plasmática, ativação da síntese de glicogênio e de proteínas, e transcrição de genes específicos (Carvalho et al., 2002; White, 1998).

2.2.3 Grelina

A grelina (do inglês *grow* = crescimento) é um hormônio gastrointestinal identificado no estômago de ratos que tem como uma de suas principais funções o aumento da secreção do hormônio do crescimento (GH) (Kojima et al., 1999, 2001). É um peptídeo composto de 28 aminoácidos, produzido predominantemente pelas células Gr do trato gastrointestinal (Bednarek et al., 2000; Kojima et al., 1999).

A grelina está diretamente envolvida na regulação a curto prazo do balanço energético e é um dos mais importantes sinalizadores para o início da ingestão alimentar. Sua concentração mantém-se alta nos períodos de jejum e nos períodos que antecedem as refeições, caindo imediatamente após a alimentação, o que sugere um controle neural. Além de aumentar o apetite, também estimula as secreções digestivas e a motilidade gástrica (Nakazato et al., 2001; Konturek et al., 2004).

Estudos com animais indicam que esse hormônio desempenha importante papel na sinalização dos centros hipotalâmicos que regulam a ingestão alimentar e a adiposidade, sugerindo sua participação no estímulo para iniciar uma refeição (Nakazato et al., 2001; Romero & Zanesco, 2006).

A concentração plasmática da grelina diminui após refeições ricas em carboidratos, simultaneamente à elevação da insulina, enquanto níveis aumentados são encontrados após refeições ricas em proteína animal e lipídeos, acompanhados por discretos aumentos de insulina (Erdmann et al., 2004; Salbe et al., 2004).

2.3 *Hoodia gordonii* (Apocinaceae)

2.3.1 Informações taxonômicas

Hoodia é uma planta da ordem Gentianales, família Apocinaceae, subfamília Asclepiadaceae. Esta família é constituída, principalmente, de plantas

medicinais (ervas) e arbustos com seiva branca, compreendendo em torno de 250 gêneros e 2.000 espécies, algumas das quais possuindo talos suculentos e espinhos, semelhantes aos cactus, com folhas pequenas (University of Hawaii, 2006; Heerden, 2008). O gênero *Hoodia* apresenta várias espécies, destacando-se *H. gordonii*, *H. pilífera*, *H. lugardii* e *H. ruschii* como principais objetos de pesquisas (Archer & Victor, 2003; MacLean & Luo, 2004; Chow et al., 2005).

Em comum com outras espécies do gênero, *Hoodia gordonii* é uma planta suculenta e carnuda, apresentando várias hastes cilíndricas e eretas, de coloração variando do verde-acinzentado ao cinza-marrom e flores em forma de coroa, com cerca de 100 mm. Os tubérculos são proeminentes, fundidos em suas metades inferiores em 11-17 hastes em ângulos obtusos, tendo cada ponta um espinho muito acentuado de 6-12 mm (Bruyns, 2005).

Devido à sua aparência espinhosa, a planta *H. gordonii* é, muitas vezes, chamada de cactus ou cactus-do-deserto, pela imprensa, embora, na realidade, não possa ser caracterizada como um cactus verdadeiro, pertencente à família Cactaceae (Heerden, 2008).

Existem, atualmente, treze espécies (*H. alstonii*, *H. currorii*, *H. dregei*, *H. flava*, *H. gordonii*, *H. juttae*, *H. mossamedensis*, *H. officinalis*, *H. parviflora*, *H. pedicellata*, *H. pilifera*, *H. ruschii* e *H. triebneri*), sendo *H. gordonii* a de principal interesse, devido às suas propriedades anorexígenas (Avula et al., 2007; Heerden et al., 2007).

2.3.2 Distribuição

A planta *Hoodia* é nativa do continente africano, sendo encontrada nos desertos da Namíbia e de Kalahari. A espécie *Hoodia gordonii* (Figura 1) é cultivada principalmente na África do Sul, Namíbia, Botswana e Angola, pelo povo San, uma tribo indígena cujos habitantes são conhecidos como Bushmen. Esses indígenas chamam a planta de xhoba (Wise, 2003).



FIGURA 1 A planta *Hoodia gordonii*.
Fonte: Hübner & Tränkle (2004).

Na África do Sul, as espécies de *Hoodia* são protegidas e autorizações de órgãos oficiais são exigidas para a colheita, cultivo, transporte ou exportação de plantas. Por se tratarem de plantas de crescimento lento e difícil cultivo, seu número limitado disponível não pode sustentar um mercado intenso que dependerá, futuramente, de plantas cultivadas para fins de comercialização (Heerden, 2008).

Atualmente, a *H. gordonii* é listada como uma espécie com risco de extinção e sua exportação é rigidamente controlada pelo governo sul-africano e por acordos internacionais de proteção de espécies vegetais (Avula et al., 2008).

2.3.3 Histórico

Há milhares de anos, o povo San, um dos mais antigos habitantes da região sul do continente africano, consome pedaços de *H. gordonii* picados, durante as caçadas. Por vários dias de caça, sem alimento e água, eles ingerem apenas a planta para saciar a fome, inibir o apetite e manter a disposição (Wise, 2003). Aparentemente, a seiva da planta alivia a sensação de fome durante as longas viagens dos indígenas à procura de caça (Bruyns, 1993).

Esse efeito de supressão de apetite despertou o interesse científico e na década de 1960, o Conselho para Pesquisa Industrial e Científica (CSIR), situado na África do Sul, isolou e patenteou uma molécula supressora do apetite presente na *H. gordonii*, denominada de P57. Mais tarde, em 1997, o CSIR licenciou os direitos da molécula P57 à companhia britânica Phytopharm. Após testes iniciais, a droga pareceu promissora e a Phytopharm vendeu parte dos direitos à indústria farmacêutica Pfizer por 21 milhões de dólares. As empresas esperavam que a droga revolucionasse o mercado de produtos para emagrecimento que movimentava cerca de 9,5 bilhões de dólares na época. No entanto, um protesto internacional acusou as empresas de biopirataria e deu início a uma longa batalha judicial entre as empresas e o CSIR, de um lado e o povo San, do outro, pela divisão dos lucros provenientes da exploração e comercialização da *Hoodia* (Wise, 2003).

Em 2002, a Pfizer liberou os direitos sobre a *Hoodia*, alegando que o desenvolvimento do P57 havia sido suspenso em razão da dificuldade na sua síntese e indícios de efeitos colaterais em cobaias, causados por outros componentes do extrato que não podiam ser facilmente removidos (Bindra, 2005). Segundo Jasjit Bindra, chefe de pesquisas da *Hoodia* na Pfizer, *certamente, a Hoodia tem um longo caminho a seguir, antes que possa receber a aprovação do Conselho de Alimentos e Medicamentos Norte Americano*

(FDA). Até que fórmulas seguras sejam desenvolvidas, pessoas interessadas na dieta devem evitar seu uso.

Finalmente, em março de 2003, após anos de negociação, um acordo foi firmado entre as partes. Segundo os termos do acordo, o CSIR deverá repassar ao povo San 8% de todos os pagamentos recebidos do licenciamento à Phytopharm, bem como 6% de todos os royalties que o CSIR receber da droga disponível comercialmente. Espera-se que, no futuro, o repasse seja de 10 a 12 milhões de dólares por ano (WHO, 2006).

Hoje, o grande interesse pelas propriedades inibidoras do apetite da *Hoodia* proporciona uma intensa demanda por produtos à base da planta. Estima-se que somente no mercado norte-americano estejam disponíveis para comercialização mais de 100 produtos em diversas apresentações (tabletes, cápsulas, géis, sucos, pós, chás e outros) que contenham a planta em sua composição (Avula et al., 2008). Assim, a intensa procura, em contraposição à escassa oferta, criou um cenário em que a adulteração de produtos por outras espécies como *Opuntia ficus*, e mesmo outras espécies do gênero *Hoodia*, tornou-se uma possibilidade real (Avula et al., 2007, 2008; Rader et al., 2007; Heerden et al., 2008).

2.3.4 Composição química dos extratos de *Hoodia*

Vários componentes ativos foram isolados pelos pesquisadores do CSIR e têm sido revelados em recentes patentes (Heerden et al., 2004; Bronner, 2005; Rifkin, 2005; Gardiner & Heuer, 2006; MacLean, 2006; Raskin et al., 2007; Verdegem et al., 2008). Porém, o suposto componente ativo presente nos extratos de *H. gordonii* é um glicosídeo esteroide trirabinosídeo, 14-OH, 12-tigloilpregnano (PM = 1.008), denominado P57 (Figura 2), responsável pela supressão do apetite (MacLean & Luo, 2004).

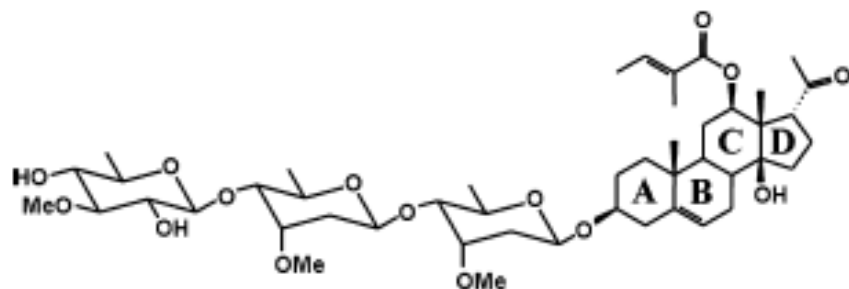


FIGURA 2 Estrutura do glicosídeo P57.
Glicosídeo esteroidal trirabinosídeo, 14-OH, 12-tigloilpregnano
(Janssen et al., 2008).

O glicosídeo P-57 apresenta, em sua estrutura, um esqueleto esteroidal homólogo ao dos glicosídeos cardíacos, particularmente com relação à substituição 14-OH (MacLean & Luo, 2004). O glicosídeo não é exclusivo da *H. gordonii*, sendo também encontrado em outras espécies do gênero, como *H. currori*, *H. macranth*, *H. parviflora*, *H. pilifera* e *H. ruschii* (Avula et al., 2007, 2008; Heerden et al., 2007).

Recentemente, dez novos derivados C(21)-esteroidais, denominados gordonisídeos, foram isolados a partir de extratos clorofórmicos obtidos da parte aérea de *H. gordonii*. Os novos compostos são baseados no 3-beta,14-beta-dihidroxi-pregn-5-en-17-betaona (Dall'acqua & Innocenti, 2007).

Também da parte aérea, foram isolados onze novos oxipregnanos, glicosídeos com estrutura básica 12-O-beta-tigloil isoramanona, denominados hoodigosídeos. Suas estruturas foram determinadas por evidências químicas e ressonância magnética nuclear (Pawar et al., 2007).

Informações relacionadas à constituição química (proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas, fibras, polifenóis, nitrato, ácido oxálico,

lectinas, saponinas e inibidores de enzimas digestivas eventualmente presentes na *H. Gordonii*) são escassas e, em alguns casos, inexistentes. Considerando a importância nutricional e os efeitos benéficos de proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas e fibras, além de eventuais efeitos deletérios como complexação e indisponibilização de proteínas (polifenóis), potencial carcinogênico (nitrato), diminuição da disponibilidade de minerais (ácido oxálico), ligação aos enterócitos provocando interferência na absorção e utilização de nutrientes (lectinas), hemólise (saponinas) e digestão ineficiente de proteínas (inibidores de tripsina) atribuídos aos citados antinutrientes, justifica-se a investigação da constituição química do pó de *H. gordonii*.

2.3.5 Efeitos farmacológicos de extratos de *Hoodia gordonii*

Ensaio biológico de longo prazo não publicados pela empresa Phytopharm e Pfizer, com extratos secos da seiva da planta, que continham não apenas o P57, mas também múltiplos componentes, foram realizados com ratos Zucker obesos diabéticos. Os resultados demonstraram atividade anoréxica e reversão do diabetes, mantidos durante o período de administração das doses. Outros ensaios revelaram que a inibição da alimentação e a perda de peso são independentes do conteúdo de nutrientes da dieta e também ocorrem em animais superalimentados com uma dieta altamente palatável. Em adição, a Phytopharm divulgou estudos de curto prazo em humanos, durante os quais o extrato de *H. gordonii* foi bem tolerado (MacLean & Luo, 2004).

Larvas de *Trichoplusia ni* alimentadas com dieta contendo látex de *H. gordonii* (1.000 ppm) não apresentaram nenhuma inibição do crescimento e mantiveram reprodução inalterada em relação às larvas tratadas com dieta controle (Chow et al., 2005).

Injeções intracerebroventriculares do glicosídeo esteroidal P57AS3 (P57), isolado e purificado de extratos de *H. gordonii* em ratos, demonstraram

que o composto apresenta um provável mecanismo de ação no sistema nervoso central. Os resultados revelaram que o composto aumentou o conteúdo de ATP nos neurônios hipotalâmicos em até 150% e, nas 24 horas subsequentes, houve redução da ingestão de alimentos em até 60% (MacLean & Luo, 2004).

Trabalhos utilizando ratos demonstraram que o tratamento com extratos purificados de *H. gordonii* contendo glicosídeos ativos administrados na ração ou por gavagem foram eficazes na diminuição do peso (Tulp et al., 2001, 2002; Heerden et al., 2007).

Estudos com mamíferos, incluindo seres humanos revelaram que o composto P57 foi capaz de reduzir a secreção gástrica de ácido, possibilitando seu uso em formulações para tratamento de desordens e enfermidades relacionadas à secreção gástrica exacerbada (Hakkinen et al., 2004).

Por outro lado, a suplementação da ração de frangos de corte com pó de *H. Gordonii*, em concentrações de 0 a 500 mg/animal/dia, não revelou qualquer alteração no consumo de ração, durante 30 dias de experimento (Mohlapo et al., 2009).

Segundo Holt (2006), formulações contendo *H. gordonii* e outros fitoterápicos são hábeis no controle da obesidade e na inibição do apetite, além do auxílio no tratamento de desordens do metabolismo associadas à obesidade.

O povo San, há milhares de anos, consome *H. Gordonii*, devido aos supostos efeitos de inibição da fome e da sede (WHO, 2006).

2.3.6 Pesquisas científicas

Apesar do grande interesse comercial pela *H. gordonii*, evidenciado pelo grande consumo na forma de cápsulas, existem poucos relatos científicos sobre a planta. Alguns buscaram a elucidação dos componentes ativos (Dall'Acqua & Innocenti, 2007; Pawar et al., 2007; Shukla et al., 2009), enquanto outros

dedicaram-se à compreensão do mecanismo de supressão do apetite (MacLean & Luo, 2004).

Atualmente, em função da grande possibilidade de fraudes e adulterações de produtos comercializados como *H. gordonii*, a maioria dos estudos estão voltados para o desenvolvimento de métodos analíticos, utilizando, principalmente, cromatografia líquida de alta eficiência, para a identificação de glicosídeos característicos e confirmação da autenticidade de amostras comerciais (Avula et al., 2006, 2007, 2008; Janssen et al., 2008).

No que se refere aos efeitos colaterais e crônicos decorrentes da ingestão de *H. gordonii*, não existem relatos na literatura. Tal fato levou à proibição da propaganda e manipulação do produto no Brasil (ANVISA, 2007).

Nos estudos a que foi submetida a planta *Hoodia gordonii* não foi constatada sua eficácia e segurança. Por isso, o produto não possui registro como medicamento em nenhum país do mundo. Não há como assegurar a ação do produto, tampouco a ausência de riscos para quem consumir o vegetal (ANVISA, 2007).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RE n.º 424, de 15 de fevereiro de 2007**. Dispõe sobre a proibição da manipulação e comercialização, em todo o território nacional, da substância *Hoodia gordonii*, como medida de segurança por não atender às exigências regulamentares desta agência. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br>>. Acesso em: 25 mar. 2007.

APOVIAN, C. M. The causes, prevalence, and treatment of obesity revisited in 2009: what have we learned so far? **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 91, n. 1, p. 277–279, Nov. 2010. Supplement.

APPOLINARIO, J. C.; BACALTCHUK, J. Tratamento farmacológico dos transtornos alimentares. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 54-59, set. 2002. Suplemento.

ARCHER, R. H.; VICTOR, J. E. *Hoodia pilifera* subs *pillansii*, Apocyanaceae: Asclepiadoideae. **Curtis's Botanical Magazine**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 219-224, Nov. 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br>>. Acesso em: 12 fev. 2010.

AUWERX, J.; STAELS, B. Leptin. **The Lancet**, London, v. 351, n. 9104, p. 737-742, Mar. 1998.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; KHAN, I. A. Chemical fingerprinting of *Hoodia* species and related genera: chemical analysis of oxypregnane glycosides using high-performance liquid chromatography with UV detection in *Hoodia gordonii*. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 90, n. 6, p. 1526-1531, Nov. 2007.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; KHAN, I. A. Determination of the appetite suppressant P57 in *Hoodia gordonii* plant extracts and dietary supplements by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (LC-MSD-TOF) and LC-UV methods. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 89, n. 3, p. 606-611, May/June 2006.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; SMILLIE, T. J.; KHAN, I. A. A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera and dietary supplements using UPLC-UV-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 722-731, Nov. 2008.

AZEREDO, F. S.; GUIMARÃES, R. I.; PAULA, J. R.; CUNHA, L. C. Validação de técnica analítica em cromatografia em camada delgada comparativa para identificação de fármacos anorexígenos sintéticos em produtos fitoterápicos. **Infarma**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 17-24, 2004.

BAYS, H. E. Current and investigational antiobesity agents and obesity therapeutic treatment targets. **Obesity Research**, Silver Spring, v. 12, n. 8, p. 1197-1211, Aug. 2004.

BEDNAREK, M. A.; FEIGNER, S. D.; PONG, S. S.; MCKEE, K. K.; HRENIUK, D. L.; SILVA, M. V. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 43, n. 23, p. 4370-4376, Nov. 2000.

BINDRA, J. A popular pill's hidden danger. **New York Times**, New York, 26 abr. 2005. Disponível em: <<http://query.nytimes.com/gst/fullpage.html?res=9505E3D71231F935A15757C0A9639C8B63>>. Acesso em: 16 jan. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **13% dos brasileiros adultos são obesos: dados e tendências**. Brasília, 2009a. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/default.cfm>>. Acesso em: 10 nov. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Fitoterapia**. Brasília, 2009b. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1336>. Acesso em: 23 set. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009c. 136 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **A vigilância, o controle e a prevenção das doenças crônicas não-transmissíveis: DCNT no contexto do Sistema Único de Saúde Brasileiro**. Brasília: Ministério da Saúde/OPAS, 2005. 80 p.

BRAY, G. A. Medical consequences of obesity. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Baltimore, v. 89, n. 6, p. 2583-2589, June 2004.

BRONNER, J. S. **Appetite-suppressing, lipase-inhibiting herbal composition**. United States n. PI 20050276869, 14 June 2004, 15 Dec. 2005.
Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/20050276869.html>>. Acesso em: 10 jan. 2010.

BRUYNS, P. V. **Stapeliads of southern Africa and Madagascar**. Pretoria: Umdaus, 2005. v. 1.

CARVALHEIRA, J. B. C.; ZECCHIN, H. G.; SAAD, M. J. A. Vias de sinalização da insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 419-425, 2002.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Geórgia, 2008.
Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/defining.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2010.

CHIEN, Y. W. Human insulin: basic sciences to therapeutic uses. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 22, n. 8, p. 753-789, Aug. 1996.

CHOW, J. K.; AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. The effects of larval experience with a complex plant latex on subsequent feeding and oviposition by the cabbage looper moth: *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Chemoecology**, Basel, v. 15, n. 3, p. 129-133, Sept. 2005.

CONSIDINI, R. V.; SINHA, M. K.; HEIMAN, M. L.; KRIAUCIUNAS, A.; STEPHENS, T. W.; NYCE, M. R. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 334, n. 5, p. 292-295, Feb. 1996.

COUTINHO, W. Etiologia da obesidade. **Revista ABESO**, São Paulo, v. 7, n. 30, maio 2007. Disponível em:
<<http://www.abeso.org.br/pdf/Etiologia%20e%20Fisiopatologia%20-%20Walmir%20Coutinho.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2010.

COUTINHO, W.; CABRAL, M. D. A farmacoterapia da obesidade nos consensos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 91-94, fev. 2000.

COWBURN, G.; HILLSDON, M.; HANKEY, C. R. Obesity management by life-style strategies. **British Medical Bulletin**, London, v. 53, n. 2, p. 389-408, Jan. 1997.

DALL'ACQUA, S.; INNOCENTI, G. Steroidal glycosides from *Hoodia gordonii*. **Steroids**, San Francisco, v. 72, n. 6/7, p. 559-568, Mar. 2007.

DEITEL, M. Overweight and obesity worldwide now estimated to involve 1,7 billion people. **Obesity Surgery**, New York, v. 13, n. 3, p. 329-330, June 2003.

ELMQUIST, J. K.; MARATOS-FLIER, E.; SAPER, C. B.; FLIER, J. S. Unraveling the central nervous system pathways underlying responses to leptin. **Nature Neuroscience**, New York, v. 1, n. 6, p. 445-450, Oct. 1998.

ERDMANN, J.; TOPSCH, R.; LIPPL, F.; GUSSMANN, P.; SCHUSDZIARRA, V. Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Baltimore, v. 89, n. 6, p. 3048-3054, June 2004.

FABRICATORE, A. N.; WADDEN, T. A.; ROHAY, J. M.; PILLITTERI, J. L.; SHIFFMAN, S.; HARKINS, A. M.; BURTON, S. L. Weight loss expectations and goals in a population sample of overweight and obese US adults. **Obesity**, Silver Spring, v. 16, n. 11, p. 2445-2450, Nov. 2008.

FINKELSTEIN, E. A.; TROGDON, J. G.; COHEN, J. W.; DIETZ, W. Annual medical spending attributable to obesity: payer-and service-specific estimates. **Health Affairs**, Millwood, v. 28, n. 5, p. 822-831, July 2009.

FLEGAL, K. M.; CARROLL, M. D.; OGDEN, C. L.; CURTIN, L. R. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. **JAMA**, Chicago, v. 303, n. 3, p. 235-241, Jan. 2010.

FRANCISCHI, R. P. P.; PEREIRA, L. O.; FREITAS, C. S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R. C.; VIEIRA, P.; LANCHÁ JÚNIOR, A. H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 17-28, jan./abr. 2000.

FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, London, v. 395, n. 22, p. 763-770, Oct. 1998.

GARDINER, P. T.; HEUER, M. A. **Diet supplement for causing rapid weight loss, controlling appetite, managing stress, supporting relaxation, combating fatigue and supporting mental well-being.** United States n. PI 11/453159, 13 June 2006, 21 Dec. 2006. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/20060286183.html>>. Acesso em: 12 jan. 2010.

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

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica.** 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HAKKINEN, J.; HORAK, R. M.; MAHARAJ, V. **Gastric acid secretion.** United States n. PI 6808723B2, 26 Oct. 2004. Disponível em: <www.google.com/patents>. Acesso em: 11 jan. 2010.

HALLSCHMID, M.; SCHULTES, B. Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders? **Diabetologia**, New York, v. 52, n. 11, p. 2264-2269, Nov. 2009.

HALPERN, A.; MANCINI, M. C. Diabetes: are weight loss medications effective? **Treatments in Endocrinology**, Auckland, v. 4, n. 2, p. 65-74, May 2005.

HALPERN, Z. S. C.; RODRIGUES, M. D. B.; COSTA, R. F. Determinantes fisiológicos do controle do peso e apetite. **Revista de Psiquiatria Clínica**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 150-153, jul. 2004.

HEERDEN, F. R. van. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 119, n. 3, p. 434-437, Oct. 2008.

HEERDEN, F. R. van; HORAK, R. M.; MAHARAJ, V. J.; VLEGGAR, R.; SENABE, J. V.; GUNNING, P. J. An appetite suppressant from *Hoodia* species. **Phytochemistry**, New York, v. 68, n. 20, p. 2545-2553, Oct. 2007.

HEERDEN, F. R. van; VLEGGAR, R.; HORAK, R. M.; LEARMONTH, R. A.; MAHARAJ, V.; WHITTAL, R. D. **Use of extracts from *Hoodia gordonii* and *Hoodia lugardii* for the preparation of a medicament for use in the suppression of appetite.** European n. PI 1438965, 15 Apr. 1998, 21 July 2004. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/EP1438965.html>>. Acesso em: 15 fev. 2010.

HOLT, S. **Herbal compositions containing *Hoodia*.** United States n. PI WO2006079055A1, 20 Jan. 2006, 20 July 2006. Disponível em: <www.wipo.org>. Acesso em:

HOUSTON, D. K.; CAI, J.; STEVENS, J. Overweight and obesity in young and middle age and early retirement: the ARIC study. **Obesity**, Silver Spring, v. 17, n. 1, p. 143-149, Jan. 2008.

HÜBNER, F.; TRÄNKLE, U. Asclepidarium. 2004. Disponível em: <<http://www.asclepidarium.de/Fotoausstellung%20Bilder%20Hoodia.htm>>. Acesso em: 21 maio 2010.

INTERNATIONAL OBESITY TASK FORCE. **Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults.** London, 2009. Disponível em: <<http://www.ietf.org/popout.asp?linkto=http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/>>. Acesso em: 11 fev. 2010.

JANSSEN, H.; SWINDELLS, C.; GUNNING, P.; WANG, W.; GRÜN, C.; MAHABIR, K.; MAHARAJ, V. J.; APPS, P. J. Quantification of appetite suppressing steroid glycosides from *Hoodia gordonii* in dried plant material, purified extracts and food products using HPLC-UV and HPLC-MS methods. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, n. 1/2, p. 200-207, June 2008.

KOJIMA, M.; HOSODA, H.; DATE, Y. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, London, v. 402, n. 6762, p. 656-660, Dec. 1999.

KOJIMA, M.; HOSODA, H.; MATSUO, H.; KANGAWA, K. Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth-hormone secretagogue receptor. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, New York, v. 12, n. 3, p. 118-122, Apr. 2001.

KONTUREK, S. J.; KONTUREK, J. W.; PAWLIK, T.; BRZOZOWKI, T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Ottawa, v. 55, n. 1/2, p. 137-154, Mar. 2004.

KOTTKE, T. E.; WU, L. A.; HOFFMAN, R. S. Economic and psychological implications of the obesity epidemic. **Mayo Clinic Proceedings**, Rochester, v. 78, n. 1, p. 92-94, Jan. 2003.

MACLEAN, D. B. **Modulation of ATP production or content in the hypothalamus**. United States n. PI 20060233861, 16 Feb. 2004, 19 Oct. 2006. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/20060233861.html>>. Acesso em: 12 fev. 2010.

MACLEAN, D. B.; LUO, L. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1020, n. 1/2, p. 1-11, Sept. 2004.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Potafos, 1997. 201 p.

MOHLAPO, T. D.; NG'AMBI, J. W.; NORRIS, D.; MALATJE, M. M. Effect of *Hoodia gordonii* meal supplementation at finisher stage on productivity and carcass characteristics of Ross 308 broiler chickens. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 41, n. 7, p. 1591-1596, Oct. 2009.

MYERS, M. G.; COWLEY, M. A.; MUNZBER, G. H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v. 70, p. 537-556, Mar. 2008.

NAKAZATO, M.; MURAKAMI, N.; DATE, Y.; KOJIMA, M.; MATSUO, H.; KANGAWA, K. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. **Nature**, London, v. 409, n. 6817, p. 194-198, Jan. 2001.

OGDEN, C. L.; CARROLL, M. D.; CURTIN, L. R. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004. **JAMA**, Chicago, v. 295, n. 13, p. 1549-1555, Apr. 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Genebra, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/en/>>. Acesso em: 12 jan. 2010.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Doenças crônico-degenerativas e obesidade:** estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. Brasília: OPAS/OMS, 2003. 60 p.

PATTI, M. E.; KAHN, C. R. The insulin receptor--a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, Tel Aviv, v. 9, n. 2/4, p. 89-109, 1998.

PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; KHAN, S. I.; AVULA, B. New oxypregnane glycosides from appetite suppressant herbal supplement *Hoodia gordonii*. **Steroids**, San Francisco, v. 72, n. 6/7, p. 524-534, Mar. 2007.

POPKIN, B. M. Recent dynamics suggest selected countries catching up to US obesity. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 91, n. 1, p. 284-288, Jan. 2010. Supplement.

RADER, J. I.; DELMONTE, P.; TRUCKSESS, M. W. Recent studies on selected botanical dietary supplement ingredients. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 389, n. 1, p. 27-35, Sept. 2007.

RASKIN, I.; O'NEAL, III; JOSEPH, M. **Appetite-suppressing compositions and methods**. United States n. PI 20060084638, 7 Apr. 2005, 4 Sept. 2007. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/20060084638.html>>. Acesso em: 11 fev. 2010.

RESELAND, J. E.; ANDERSSSEN, S. A.; SOVOLL, K.; HJERMANN, I.; URDAL, P.; HOLME, I. Effect of long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 2, p. 240-245, Feb. 2001.

RIFKIN, C. H. **Appetite satiation and hydration beverage**. United States n. PI 20050276839, 9 June 2005, 15 Dec. 2005. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/20050276839.html>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

ROMERO, C. E. M.; ZANESCO, A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 85-91, jan/fev. 2006.

SALBE, A. D.; TSHOP, M. H.; DELPARIGI, A.; VENTI, C.; TATARANNI, P. A. Negative relationship between fasting plasma ghrelin concentrations and ad libitum food intake. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Baltimore, v. 89, n. 6, p. 2951-2956, June 2004.

SCHWARTZ, M. V. Staying slim with insulin in mind. **Science**, Washington, v. 289, n. 5487, p. 2066-2067, Sept. 2000.

SHUKLA, Y. J.; PAWAR, R. S.; DING, Y.; LI, X.; FERREIRA, D.; KHAN, I. A. Pregnane glycosides from *Hoodia gordonii*. **Phytochemistry**, New York, v. 70, n. 5, p. 675-683, Mar. 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em:

<<http://www.endocrino.org.br/busca/obesidade>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

SPANSWICK, D.; SMITH, M. A.; GROPP, V. E.; LOGAN, S. D.; ASHFORD, M. L. J. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. **Nature**, London, v. 390, n. 4, p. 521-525, Dec. 1997.

THANDE, N. K.; HURSTAK, E. E.; SCIACCA, R. E.; GIARDINA, E. V. Management of obesity: a challenge for medical training and practice. **Obesity**, Silver Spring, v. 17, n. 1, p. 107-113, Jan. 2009.

TULP, O. L.; HARBI, N. A.; MIHALOV, J.; DERMARDEROSIAN, A. Effect of *Hoodia* plant on food intake and body weight in lean and obese LA/Ntul/-cp rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 15, n. 4, p. 404-409, Mar. 2001.

TULP, O. L.; HARBI, N. A.; MIHALOV, J.; DERMARDEROSIAN, A. Effect of *Hoodia* plant on weight loss in congenic obese LA/Ntul/-cp rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 16, n. 4, p. 654, Mar. 2002.

UNIVERSITY OF HAWAII. Pearl City, 2006. Disponível em: <<http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/asclepiad.htm>>. Acesso em: 15 jul. 2007.

VERDEGEM, P. J. E.; HUGHES, S. F.; HEDGES, C. A.; BANGERTER, P. G. **Method and composition for providing controlled delivery of biologically active substances**. United States n. PI 20080305096, 12 Nov. 2008. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/2008030509.html>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

VISSCHER, T. L.; SEIDELL, J. C.; MOLARIUS, A.; KUIP, D. van der; HOFMAN, A.; WITTEMAN, J. C. A comparison of body mass index, waist-hip ratio and waist circumference as predictors of all-cause mortality among the elderly: the Rotterdam study. **International Journal of Obesity**, London, v. 25, n. 11, p. 1730-1735, Nov. 2001.

WISE, J. Hunter-gatherers win profit-sharing deal for obesity drug. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 81, n. 5, p. 382, May 2003.

WHITE, M. F. The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. **Molecular and Cellular Biochemistry**, The Hague, v. 182, n. 1/2, p. 3-11, May 1998.

WOODS, S. C.; SEELEY, R. J.; PORTE JÚNIOR, D.; SCHWARTZ, M. W. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. **Science**, Washington, v. 280, n. 5368, p. 1378-1383, May 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Protecting traditional knowledge: the San and hoodia. **Bulletin of the world health organization**, Geneva, v. 84, n. 5, p. 345, May 2006.

CAPÍTULO 2

CONSTITUINTES QUÍMICOS DO PÓ COMERCIAL DE *HOODIA GORDONII*

1 RESUMO

Hoodia gordonii (Masson) Sweet ex Decne é uma planta suculenta nativa de regiões áridas do continente africano, consumida há séculos por tribos de nativos, devido às suas supostas propriedades de supressão da fome e da sede. A possibilidade de um agente antiobesidade natural tem despertado grande interesse da população e de empresas no mundo todo, a despeito da escassa literatura científica insuficiente para sustentar seu uso. Objetivou-se, com este estudo, determinar os constituintes químicos de pós comerciais de *H. gordonii* (PHG) para fornecer informações até agora desconhecidas, a respeito da presença desses constituintes nessas amostras. Para tanto, duas amostras de PHG adquiridas em farmácias de manipulação foram submetidas a análises de composição centesimal, amido, vitamina C, β -caroteno e antinutrientes. Na composição centesimal, destacaram-se os elevados teores de ENN (acima de 90 g 100 g⁻¹ MS) confirmados pela dosagem de amido que revelou teores em torno de 50 g 100 g⁻¹ MS, semelhantes aos encontrados no seu principal adulterante. Entre os antinutrientes analisados foram detectados apenas polifenóis e nitratos, mas, em níveis considerados seguros para o consumo. Os teores de ENN e amido são sugestivos, mas insuficientes para afirmar que as amostras foram adulteradas, o que deve ser investigado por análises cromatográficas para determinação da presença do glicosídeo ativo P57. Em algumas análises, houve variações entre as duas amostras, reforçando a necessidade de fiscalização e padronização desse fitoterápico, para garantir a uniformidade no consumo independente do local, fornecedor ou época de comercialização.

Palavras-chave: *Hoodia*, nutriente, antinutriente.

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE *HOODIA GORDONII* COMMERCIAL POWDER

2 ABSTRACT

Hoodia gordonii (Masson) Sweet ex Decne is a succulent native plant from arid regions of Africa has been consumed for centuries by tribes of natives because of its supposed properties to suppress hunger and thirst. The possibility of a natural anti-obesity agent has aroused great interest of the people and companies worldwide, despite the scarce scientific literature insufficient to support its use. This study aimed to determine the chemical constituents of commercial powders of *H. gordonii* (PHG) to provide information unknown so far about the presence of these constituents in these samples. For this, two samples of PHG purchased in dispensing pharmacies were analyzed for proximate composition, starch, vitamin C, β -carotene and anti-nutrients. In the proximate composition the high levels of ENN (above 90 g 100 g⁻¹ DM) confirmed by measuring levels of starch content revealed that around 50 g 100 g⁻¹ DM, similar to those found in the main adulterant. Among the anti-nutrients analyzed were detected only polyphenols and nitrates, but at levels considered safe for consumption. The contents of ENN and starch are suggestive but not enough to say that the samples were adulterated, which should be investigated by chromatographic analysis to determine the presence of active glycoside P57. In some analyzes there were variation between the samples, reinforcing the need for supervision and standardization of herbal medicine to ensure uniformity in the consumption regardless of local, supplier or time marketing.

Key words: *Hoodia*, nutrient, anti-nutrient.

3 INTRODUÇÃO

A *Hoodia gordonii* (Masson) Sweet ex Decne é uma planta suculenta nativa de regiões áridas do continente africano (Janssen et al., 2008). Há séculos, tribos de nativos do deserto de Kalahari, no sul da África, conhecidos como Bushmen consomem a *H. gordonii in natura* durante longas caçadas e caminhadas para suprimir a fome e a sede (MacLean & Luo, 2004). Tais efeitos despertaram o interesse de cientistas e pesquisas realizadas pelo Council of Scientific and Industrial Research (CSIR), na África do Sul, levaram ao isolamento de um glicosídeo denominado P57, que foi imediatamente patenteado devido à sua ação supressora do apetite (Heerden et al., 1998).

A perspectiva de um agente supressor de apetite natural e seguro tem despertado grande interesse na população em geral e em empresas comerciais de todo o mundo. Atualmente, existem mais de 20 pedidos de patentes internacionais com *H. gordonii* e muitas preparações comerciais contendo a planta estão disponíveis no mercado (Heerden, 2008). A demanda por produtos para perda de peso contendo *H. gordonii* aumenta acentuadamente e dados recentes indicam que existem mais de 100 produtos comercializados somente nos Estados Unidos em diversas apresentações como tabletes, cápsulas, géis, biscoitos, sucos, pós, “shakes” proteicos, chás e cafés (Avula et al., 2008).

Apesar disso, até o momento, existem poucas informações a respeito da composição química da *H. gordonii* (Rader et al., 2007), as quais limitam-se ao isolamento de glicosídeos ativos (Dall’Acqua & Innocenti, 2007; Heerden et al., 2007; Pawar et al., 2007; Shukla et al., 2009). Em adição, a possibilidade de adulteração de produtos comercializados como *H. gordonii* é significativa e fundamenta-se na incompatibilidade entre limitado suprimento e aumento da demanda internacional pela planta (Avula et al., 2008; Rader et al., 2007), além

da falta de referências para comparação, já que não existem estudos sobre a composição química de qualquer uma das treze espécies já descritas do gênero *Hoodia*.

No Brasil, produtos à base de *H. gordonii* foram comercializados livremente, sem a necessidade de prescrição médica, em farmácias de manipulação, drogarias, lojas de suplementos dietéticos e, até mesmo, pela internet durante alguns anos até que, finalmente, em 2007, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária proibiu sua comercialização, manipulação e consumo por falta de regulamentação e informações científicas que garantissem sua eficácia e segurança (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2004).

Diante do exposto, fica clara a necessidade de estudos científicos para a elucidação da composição química de extratos de *H. gordonii*, visando à obtenção de informações que subsidiem a avaliação de sua qualidade, procedência e regulamentação junto aos órgãos oficiais de controle.

Dessa forma, o presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar os constituintes químicos de pós comerciais de *H. gordonii* (PHG), para fornecer informações até agora desconhecidas a respeito desses constituintes nessas amostras.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção do pó comercial de *Hoodia gordonii* (PHG)

Duas amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* (denominadas HA e HB) foram adquiridas em farmácias de manipulação dos municípios de Lavras e Juiz de Fora, ambos em Minas Gerais, acompanhadas de laudos de análises de controle de qualidade realizadas por fornecedores de matérias-primas nacionais, porém de procedência informada da China.

4.2 Análises

4.2.1 Composição centesimal

As umidades das amostras foram determinadas por dessecação em estufa, a 105°C, até peso constante. O extrato etéreo foi determinado utilizando-se extrator contínuo tipo Soxhlet. A proteína bruta foi dosada pelo método Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão 6,25 ($N \times 6,25$). A fibra alimentar segundo Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2000). A cinza, resíduo mineral fixo, foi obtida pela incineração (550°C) em forno tipo mufla, de uma quantidade definida do PHG, determinando-se a porcentagem do resíduo (AOAC, 2000). O extrato não nitrogenado foi calculado pela diferença de cem menos o somatório dos demais constituintes.

4.2.2 Açúcares totais

Os açúcares solúveis totais foram extraídos pelo método de Lane-Enyon (AOAC, 2000) e determinados pelo método de Somogy adaptado por Nelson (1944), no qual a redução de íons cobre em meio alcalino por açúcares redutores leva à formação de um produto azul com absorvância em 510 nm, cuja

intensidade da coloração é proporcional à quantidade de açúcares redutores presentes na amostra.

4.2.3 Amido

O amido foi determinado pelo método de Somogy adaptado por Nelson (1944) que consiste na hidrólise ácida do amido e posterior dosagem de açúcares redutores.

4.2.4 Vitamina C

A extração da amostra foi realizada de acordo com Strohecker & Henning (1967) e a determinação por CLAE segundo Silva et al. (2009), utilizando uma curva padrão de ácido ascórbico e detector UV.

4.2.5 β -caroteno

Para a determinação de β -caroteno, o PHG foi homogeneizado com uma mistura de acetona e hexano (4:6) e levado para leitura de absorbância em espectrofotômetro a quatro comprimentos de onda: 453; 505; 645 e 663 nm (Nagata & Yamashita, 1992). O teor de β -caroteno em mg/100 mL foi, então, calculado segundo a fórmula:

$$(0,216 \times \text{Abs } 663) - (1,22 \times \text{Abs } 645) - (0,304 \times \text{Abs } 505) + (0,452 \times \text{Abs } 453)$$

4.2.6 Lectinas

A atividade de hemaglutinação foi realizada nos extratos dissolvidos em solução salina tamponada segundo metodologia descrita por Calderon de La Barca et al. (1985), empregando placa de microtitulação para diluições sucessivas da amostra com salina tamponada seguidas de incubação com solução

de hemácias a 2%. A leitura foi realizada após 60 e 120 minutos, para a detecção de aglutinação visível.

4.2.7 Nitratos

O teor de nitrato foi obtido segundo Cataldo et al. (1975), empregando-se KNO_3 como padrão. Um complexo formado pela nitração do ácido salicílico, lido em 410 nm apresenta absorvância proporcional à quantidade de nitrato na amostra.

4.2.8 Polifenóis

Foram dosados segundo metodologia descrita por Goldstein & Swain (1963), utilizando ácido tânico como padrão. O método colorimétrico baseia-se na medida espectrofotométrica em 760 nm da intensidade da cor azul produzida na redução do reagente de Folin-Denis por polifenóis presentes na amostra.

4.2.9 Saponinas

Segundo Baccou et al. (1977), utilizando como padrão a digitonina. A saponina extraída com etanol por agitação contínua é determinada pela reação com anisaldeído em meio ácido, produzindo um composto vermelho com absorvância máxima em 430 nm.

4.2.10 Ácido oxálico

Segundo Loures & Jokl (1990), utilizando titulação do extrato de ácido oxálico com permanganato de potássio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal (Tabela 1) dos PHG estudados revelou diferenças entre as amostras em todos os constituintes analisados, exceto para o extrato etéreo.

TABELA 1 Composição centesimal em g 100 g⁻¹ de matéria seca¹ (MS) de duas amostras do pó comercial de *Hoodia gordonii*.

Amostra ²	Extrato etéreo	Proteínas	Fibra alimentar		Cinza	ENN ³
			Solúvel	Insolúvel		
HA	0,24±0,03	1,72±0,18	1,03±0,26	2,8±0,08	2,76±0,08	91,45±0,30
HB	0,21±0,03	1,21±0,16	0,90±0,12	0,5±0,05	1,94±0,03	95,24±0,20

¹Dados são a média de triplicatas±desvio padrão.

²Umidade, em g 100 g⁻¹: amostra HA = 5,07±0,57; amostra HB = 0,95±0,09.

³ENN: extrato não nitrogenado.

Os níveis dos constituintes da composição centesimal dos PHG para as duas amostras foram baixos, à exceção do extrato não nitrogenado (ENN) que se mostrou elevado. Considerando que o ENN corresponde, em sua maior parte, aos carboidratos totais (Cecchi, 2003), os teores encontrados para os PHG são próximos aos presentes no cactus *Opuntia ficus* (palma forrageira), cujos teores variaram de 77,89 a 87,96 g 100 g⁻¹ MS (Wanderley et al., 2002; Silva et al., 2005; Tosto et al., 2008;). Já para o cacto do gênero *Pereskia* (ora-pro-nóbis), os níveis situam-se em torno de 30 a 40 g 100 g⁻¹ MS (Rocha et al., 2008). Vale

ressaltar aqui que das 13 espécies descritas do gênero *Hoodia* (Muller & Albers, 2002) não existem relatos a respeito da composição centesimal.

Na Tabela 2 são apresentados os níveis de açúcares e amido no PHG de duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii*. Observa-se que, para ambas, os teores são muito próximos.

TABELA 2 Teores de açúcares e de amido em g 100 g⁻¹ MS¹, de duas amostras do pó comercial de *H. gordonii*.

Amostra ²	Açúcares			
	Totais	Redutores	Não-redutores	Amido
HA	6,31±0,59	4,61±0,41	2,14±0,30	48,25±0,75
HB	6,90±0,40	4,37±0,33	2,32±0,26	49,19±0,44

¹Dados são a média de triplicatas±desvio padrão.

²Umidade, em g 100 g⁻¹: amostra HA = 5,07±0,57; amostra HB = 0,95±0,09.

A dosagem de açúcares e amido nos PHG foi realizada em função dos elevados teores de ENN que são, a princípio, controversos, por se tratar de um extrato com suposta ação auxiliar no emagrecimento. No entanto, considerando a dose recomendada diariamente do PHG de 1.600 mg/adulto 70 kg, os teores de açúcares presentes nessa dose não representam quantidades significantes em termos calóricos.

A análise de amido dos PHG também revelou teores semelhantes aos descritos na literatura para *O. ficus* em torno de 50 a 60 g 100 g⁻¹ MS (Wanderley et al., 2002; Silva et al., 2005; Tosto et al., 2008).

A pouca disponibilidade de plantas nativas e a escassez do cultivo comercial aliadas à recente popularidade mundial da *H. gordonii* como suplemento dietético tornaram a adulteração dos extratos comercializados um

grande problema (Heerden, 2008). A limitada oferta e a crescente demanda pela planta aumentam significativamente a possibilidade de adulteração dos produtos comercializados como *H. gordonii*, configurando-se o gênero *Opuntia* como um dos principais e possíveis adulterantes (Rader et al., 2007).

Outra hipótese a ser considerada com relação ao amido é a investigação de sua presença no PHG como constituinte natural do extrato ou como ingrediente inativo adicionado no momento do preparo e manipulação do extrato, com a função de complementar o volume das cápsulas.

Tal possibilidade fundamenta-se no fato de que, comumente, são utilizados na produção de medicamentos (industrializados ou manipulados) os chamados excipientes ou ingredientes inativos que são substâncias destituídas de poder terapêutico, utilizadas para assegurar a estabilidade e as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos (Oliveira & Storpirtis, 1999). Dessa forma, o amido, a lactose, a celulose, o talco e outras substâncias atuam como diluentes em formulações farmacêuticas.

Assim, o desenvolvimento e a utilização de técnicas analíticas para análises quantitativas do princípio ativo P57 são cruciais para o monitoramento da composição e segurança de uso de produtos que contenham *H. gordonii*, bem como essenciais na prevenção e detecção de possíveis adulterações (Rader et al., 2007; Heerden, 2008).

Adicionalmente, foram realizadas análises de vitamina C e β -caroteno, não sendo detectada a presença de ambos.

Os resultados encontrados são sugestivos, porém, insuficientes para afirmar que as amostras analisadas estão em desacordo com as indicações terapêuticas propostas ou, mesmo, que se tratam de casos de adulterações. Tais hipóteses devem ser investigadas e esclarecidas, com o auxílio de técnicas analíticas, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), capazes de determinar a presença do princípio ativo nas amostras em questão.

Por outro lado, foram realizadas análises de antinutrientes para investigar a presença dessas substâncias potencialmente deletérias nas amostras comerciais de *H. gordonii*. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 Antinutrientes¹ de duas amostras do pó comercial de *H. gordonii*.

Amostra ²	Polifenóis	Nitratos	Lectinas	Saponinas	Ácido oxálico
	mg 100g ⁻¹ MS	g kg ⁻¹ MS	UH	µg digitonina	g 100g ⁻¹ MS
HA	0,10±0,004	2,14±0,08	ND	ND	ND
HB	0,08±0,003	2,34±0,12	ND	ND	ND

¹Dados são a média de triplicatas±desvio padrão.

²Umidade, em g 100 g⁻¹: amostra HA = 5,07±0,57; amostra HB = 0,95±0,09.

³ND = Não detectada.

Observa-se que as duas amostras analisadas revelaram quantidades não detectadas de lectinas, saponinas e ácido oxálico e baixos teores de polifenóis que corrigidos e expressos em mg 100g⁻¹ de matéria integral, correspondem a 0,09 e 0,07, respectivamente. Esses teores são muito menores que os encontrados por Faller & Fialho (2009) na mesma unidade, em frutas como abacaxi (85,1), manga (110,5), laranja (114,6) e tangerina (134,1) e hortaliças, como cenoura (45,1), repolho (66,9) e brócolis (68,0). Dessa forma, pode-se dizer que as amostras de *H. gordonii* não apresentam os potenciais efeitos prejudiciais de interação com proteínas alimentares (Deshpande et al., 1986) relacionados aos polifenóis.

Com relação aos nitratos, os níveis encontrados estão próximos aos citados por Araújo (1995) em alimentos reconhecidamente ricos nesse

antinutriente como espinafre (2,50 g/kg) e rabanete (2,60 g/kg). No entanto, considerando a dose diária usual de *H. gordonii* (1.600 mg/dia), o peso corporal médio de um adulto (70 kg) e os níveis médios de nitratos encontrados (em torno de 2 g kg⁻¹), a ingestão diária de nitratos provenientes da *H. gordonii* por um indivíduo adulto seria em torno de 0,05 mg/kg peso corporal, valor cem vezes menor que o máximo recomendado pela Organização Mundial de Saúde (Sgarbieri, 1987) para o nitrato diariamente.

6 CONCLUSÃO

Os valores de ENN e amido são sugestivos, mas insuficientes para afirmar que as amostras foram adulteradas ou são desprovidas do efeito terapêutico proposto. Tais hipóteses devem ser investigadas com auxílio de ensaios para a determinação da presença do princípio ativo P57 por CLAE e ensaios biológicos para avaliação da toxicidade e eficácia após uso crônico dos extratos. Com relação aos antinutrientes, os teores detectados não representam risco para o consumo.

Os resultados encontrados indicam diferenças entre as amostras comerciais de PHG em algumas das análises realizadas e, apesar de se tratarem de apenas dois fornecedores, tais diferenças podem ser ainda maiores considerando o grande universo de fornecedores que comercializavam o produto antes da sua proibição. Além disso, reforçam a necessidade de fiscalização e padronização de medicamentos fitoterápicos, de acordo com a legislação específica (ANVISA, 2009) para impedir adulterações e garantir que pacientes submetidos ao uso contínuo consumam sempre o mesmo produto independente do local de comercialização (farmácia, drogaria, lojas de suplemento) ou da origem da matéria- prima.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº. 48, de 16 de março de 2004.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 23 set. 2009.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 335 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists.** 17. ed. Washington, 2000.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; SMILLIE, T. J.; KHAN, I. A. A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera and dietary supplements using UPLC-UV-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 722-731, Nov. 2008.

BACCOU, J. C.; LAMBERT, F.; SAUVAIRE, Y. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin. **Analyst**, London, v. 102, n. 1215, p. 458-465, June 1977.

CALDERÓN DE LA BARCA, A. M.; OCHOA, J. L.; VALENCIA, M. E. Effect of the extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leocarpus* seeds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 6, p. 1700-1702, Nov./Dec. 1985.

CATALDO, D. A.; HAARON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNG, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 6, n. 1, p. 71-80, Jan. 1975.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2. ed. Campinas: Ed. Unicamp, 2003. 208 p.

DALL'ACQUA, S.; INNOCENTI, G. Steroidal glycosides from *Hoodia gordonii*. **Steroids**, San Francisco, v. 72, n. 6/7, p. 559-568, Mar. 2007.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKE, D. K. Tannin analysis of food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 43, n. 2, p. 211-218, mar. 2009.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.

GOLDSTEIN, J. L.; SWAIN, T. Changes in tannins in ripening fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 371-383, Oct. 1963.

HEERDEN, F. R. van. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 119, n. 3, p. 434-437, Oct. 2008.

HEERDEN, F. R. van; HORAK, R. M.; MAHARAJ, V. J.; VLEGGAAR, R.; SENABE, J. V.; GUNNING, P. J. An appetite suppressant from *Hoodia* species. **Phytochemistry**, New York, v. 68, n. 20, p. 2545-2553, Oct. 2007.

HEERDEN, F. R. van; VLEGGAAR, R.; HORAK, R. M.; LEARMONTH, R. A.; MAHARAJ, V.; WHITTAL, R. D. **Steroidal glycosides, methods for their production and preparation, pharmaceutical compositions containing them, and their use as appetite suppressants**. International Patent, WO n. PI 98/46243, 1998. 162 p.

JANSSEN, H.; SWINDELLS, C.; GUNNING, P.; WANG, W.; GRÜN, C.; MAHABIR, K.; MAHARAJ, V. J.; APPS, P. J. Quantification of appetite suppressing steroid glycosides from *Hoodia gordonii* in dried plant material, purified extracts and food products using HPLC-UV and HPLC-MS methods. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, n. 1/2, p. 200-207, June 2008.

LOURES, A.; JOKL, L. Microtécnica para determinação de ácido oxálico em folhas e derivados. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 6., 1990, Curitiba. **Resumos...** Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná, 1990. p. 59.

MACLEAN, D. B.; LUO, L. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1020, n. 1/2, p. 1-11, Sept. 2004.

MULLER, B.; ALBERS, F. **Illustrated handbook of succulent plants**. New York: Springer, 2002.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, Tokio, v. 39, n. 10, p. 925-928, 1992.

NELSON, N. A. A photometric adaptation of Somogy's method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 375-380, Jan. 1944.

OLIVEIRA, P. G.; STORPIRTIS, S. Toxicidade de excipientes: carência de informação nas bulas de medicamentos disponíveis no mercado brasileiro. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 71-72, jan. 1999.

PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; KHAN, S. I.; AVULA, B. New oxypregnane glycosides from appetite suppressant herbal supplement *Hoodia gordonii*. **Steroids**, San Francisco, v. 72, n. 6/7, p. 524-534, Mar. 2007.

RADER, J. I.; DELMONTE, P.; TRUCKSESS, M. W. Recent studies on selected botanical dietary supplement ingredients. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 389, n. 1, p. 27-35, Sept. 2007.

ROCHA, D. R. C.; PEREIRA JÚNIOR, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANTOS, A. S.; PINTO, N. A. V. D. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 459-465, out./dez. 2008.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. São Paulo: Almed, 1987. 387 p.

SHUKLA, Y. J.; PAWAR, R. S.; DING, Y.; LI, X.; FERREIRA, D.; KHAN, I. A. Pregnane glycosides from *Hoodia gordonii*. **Phytochemistry**, New York, v. 70, n. 5, p. 675-683, Mar. 2009.

SILVA, A. E. V.; GUIM, A.; FERREIRA, M. A.; LIMA, L. E.; PESSOA, R. A. S.; SOSA, M. Y. Estratégia alimentar para dieta baseada em palma forrageira sobre o desempenho e digestibilidade em vacas em final de lactação. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 269-276, abr./jun. 2005.

SILVA, P. A.; QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; SACZK, A. A. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de vitamina C em morango por hplc. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 18., 2009, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2009. CD-ROM.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas:** metodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

TOSTO, M. S. L.; ARAÚJO, G. G. L.; OLIVEIRA, R. L.; JAEGER, S. M. P. L.; MENEZES, D. R.; DANTAS, F. R. Utilização de uréia no resíduo desidratado de vitivinícola associado à palma forrageira na alimentação de caprinos: consumo e digestibilidade de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 10, p. 1890-1896, out. 2008.

WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. A.; ANDRADE, D. K. B.; VÉRAS, A. S. C.; FARIAS, I.; LIMA, L. E.; DIAS, A. M. A. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, p. 273-281, jan. 2002.

CAPÍTULO 3

INIBIÇÃO DE ENZIMAS DIGESTIVAS POR EXTRATOS DE PÓ COMERCIAL DE *HOODIA GORDONII*

1 RESUMO

Evidências etnofarmacológicas sustentam o efeito inibidor do apetite e emagrecedor da *Hoodia gordonii* comercializada para o tratamento da obesidade. Porém, tais efeitos foram demonstrados apenas pelo seu princípio ativo, o glicosídeo purificado P57. Não há estudos relacionados à presença de outros compostos como inibidores enzimáticos, em amostras comerciais da planta que eventualmente podem participar ou, até mesmo, ser responsáveis pelos efeitos propostos. Portanto, este trabalho foi realizado com o objetivo de se proceder a ensaios de inibição de enzimas digestivas com duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii* (PHG). Foram realizadas análises de inibição das enzimas α -amilase, α e β -glicosidases, lipase e tripsina, na presença e na ausência de um fluido gástrico simulado. Foram detectadas inibições (expressas em unidades de enzima inibida, UEI) apenas das α e β glicosidases, com diferenças entre as amostras. Para α -glicosidase, a inibição foi maior na presença (50,5 e 29,8) que na ausência (10,4 e 16,7) do fluido gástrico, para as amostras HA e HB, respectivamente. Já para β -glicosidase, a inibição só foi detectada (25,5 e 12,9) na ausência do fluido gástrico, para ambas as amostras. Os resultados encontrados indicam que as amostras de PHG analisadas são capazes de inibir somente as enzimas digestivas α e β glicosidases em níveis considerados satisfatórios, segundo a literatura, especialmente para a primeira. A presença dessa atividade inibitória pode explicar, portanto, parte do efeito emagrecedor dos PHG, até então atribuído somente à ação do glicosídeo ativo P57. Por outro lado, apesar de os ensaios de inibição terem mostrado qualitativamente as mesmas respostas para as duas amostras, quantitativamente, diferenças são encontradas, levantando questionamentos quanto à padronização dos extratos comerciais.

Palavras-chave: *Hoodia*, inibição enzimática, glicosidase.

INHIBITION OF DIGESTIVE ENZYMES BY COMMERCIAL POWDER EXTRACTS OF *HOODIA GORDONII*

2 ABSTRACT

Ethnopharmacological evidence supporting the inhibitory effect of appetite and weight loss *Hoodia gordonii* commercialized for the treatment of obesity. However, such effects have been demonstrated only by its active ingredient, the glycoside purified P57. There are no studies related to the presence of other compounds such as enzyme inhibitors, in commercial samples of the plant, which may eventually participate or even be responsible for the proposed effects. Therefore, the objective of this study was to test the inhibition of digestive enzymes with two commercial samples of *H. gordonii* powder (PHG). Analysis was performed, inhibition of the enzymes α -amylase, α and β -glycosidases, lipase and trypsin in the presence and absence of a simulated gastric fluid. Inhibitions were detected (expressed in units of enzyme inhibited, UEI) only the α and β glucosidases, with differences between samples. For α -glycosidase inhibition was greater in the presence (50.5 and 29.8) in the absence (10.4 and 16.7) of gastric fluid samples for HA and HB, respectively. As for β -glycosidase inhibition was not detected (25.5 and 12.9) in the absence of gastric fluid, for both samples. The results indicate that the samples analyzed PHG are only able to inhibit the digestive enzymes α and β glycosides in satisfactory levels according to the literature, especially for the first one. The presence of this inhibitory activity may therefore explain part of the slimming effect of the PHG, attributed so far only the action of the active glycoside P57. On the other hand, despite the inhibition assays have shown the same answers qualitatively for the two samples, quantitative differences are found, raising questions about the standardization of commercial extracts.

Keywords: *Hoodia*, enzyme inhibition, glycosidase.

3 INTRODUÇÃO

A obesidade vem crescendo acentuadamente ao redor do mundo nos últimos anos e os potenciais riscos de sua prevalência e progressão envolvem as dislipidemias, hipertensão, doenças coronarianas e diabetes, entre outras (Mosca et al., 2008; Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS, 2003; Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia - SBEM, 2009). Uma das formas de combater essa epidemia é com tratamento medicamentoso. Atualmente, estão disponíveis diversos produtos para o controle do peso, incluindo preparações farmacológicas e suplementos dietéticos, que objetivam restringir a absorção de energia e promover a perda de peso, sendo a maioria constituída de extratos vegetais (Boniglia et al., 2008).

A prospecção de alternativas terapêuticas, principalmente de origem vegetal, apresenta-se como opção promissora para a descoberta de novos fitoterápicos e fitomedicamentos, visto que a grande diversidade de espécies vegetais ainda sem estudos representa um vasto campo de moléculas a serem descobertas (Foglio et al., 2006). Os produtos naturais vêm recuperando espaço e importância na indústria farmacêutica, seja *per-se*, seja como fonte inspiradora de novos padrões moleculares bioativos (Viegas Júnior et al., 2006). Nesse contexto, alvos moleculares como enzimas e receptores têm sido estudados para a busca de medicamentos baseados no mecanismo de inibição enzimática que ocasiona alterações benéficas no metabolismo e o uso no tratamento de doenças (Montanari & Bonzani, 2001; Yunes et al., 2001; Viegas Júnior et al., 2006).

As enzimas amilase e glicosidases são responsáveis pelo processamento de carboidratos provenientes da dieta, atuando na quebra do amido e na absorção de monossacarídeos pelos enterócitos (Guyton & Hall, 2002). Dessa forma, inibidores dessas enzimas, presentes em plantas oferecem uma estratégia

promissora para o controle da hiperglicemia associada ao diabetes tipo 2, obesidade e hipertensão por meio da redução da quebra do amido e da absorção da glicose no intestino (Kwon et al., 2006).

Adicionalmente, a lipase envolvida no metabolismo de lipídeos apresenta-se também como interessante alvo de inibidores, uma vez que sua inibição promove redução na absorção de triglicerídeos da dieta, ocasionando diminuição do aproveitamento calórico e perda de peso. Por outro lado, a inibição de tripsina envolvida na digestão de proteínas, ao contrário das demais inibições, configura-se como efeito maléfico (Friedman & Brandon, 2001), pois impede a completa absorção de aminoácidos presentes nos alimentos e de fundamental importância para o organismo.

Diversos estudos demonstram a eficácia, a importância e o potencial de uso de inibidores de amilases (Tormo et al., 2004; Boniglia et al., 2008; Obiro et al., 2008; Udani et al., 2009), glicosidases (Kwon et al., 2006; Melo & Carvalho, 2006) e lipases (Mancini & Halpern, 2002; Souza, 2009) no tratamento da obesidade e comorbidades associadas e reforçam a necessidade da busca por novas fontes desses inibidores.

Evidências etnofarmacológicas sustentam o efeito inibidor do apetite e emagrecedor da *Hoodia gordonii* (Heerden, 2008). Porém, tais efeitos foram demonstrados apenas pelo seu princípio ativo, o glicosídeo purificado P57 (MacLean & Luo, 2004; Heerden et al., 2007). Não há estudos relacionados à presença de outros compostos como inibidores enzimáticos em amostras comerciais da planta que, eventualmente, podem participar ou, até mesmo, ser responsáveis pelos efeitos propostos.

Diante do exposto, neste trabalho, o objetivo foi realizar ensaios de inibição de enzimas digestivas com amostras comerciais do pó de *H. gordonii* (PHG), visando detectar a atividade de inibidores, aos quais poderia também ser atribuída participação no suposto efeito emagrecedor da planta.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção das amostras do pó comercial de *H. gordonii* (PHG) e preparo dos extratos

Duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii* (denominadas HA e HB) foram adquiridas em farmácias de manipulação dos municípios de Lavras e Juiz de Fora, ambos em Minas Gerais, acompanhadas de laudos de análises de controle de qualidade realizadas por fornecedores de matérias-primas nacionais, porém, de procedência informada da China.

As amostras foram misturadas com água destilada nas proporções 1:5 e 1:10 (p/v) e colocadas em agitador horizontal à temperatura ambiente durante 1 hora. Em seguida, a mistura foi centrifugada por 15 minutos a 2.500 x g. O precipitado foi descartado e o sobrenadante obtido foi congelado para a realização das análises.

4.2 Obtenção das enzimas

Foram utilizadas nos ensaios a enzima α -amilase pancreática suína do tipo VI (SIGMA) e as enzimas tripsina pancreática suína e lipase suína tipo II (MERCK). As α e β -glicosidases foram obtidas a partir de duodeno suíno fresco cedido pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. O tecido foi triturado em liquidificador com tampão Tris-HCl 0,5 mol L⁻¹, pH 8,0 a 4°C, para extração das enzimas das membranas dos enterócitos e processado em mixer até completa homogeneização. O homogeneizado foi filtrado em malha de náilon e centrifugado por 10 minutos, a 2.500 x g, a 4°C. O sobrenadante foi recolhido e utilizado como extrato enzimático.

4.3 Atividade das enzimas digestivas

4.3.1 Atividade de α -amilase

A atividade de α -amilase foi determinada segundo a metodologia proposta por Noelting & Bernfeld (1948); 50 μL da amostra e 50 μL de enzima α -amilase foram pré-incubados, por 20 minutos, em banho-maria a 37°C. O substrato foi o amido 1% preparado em tampão Tris 0,05 mol L⁻¹, pH 7,0 acrescido de NaCl 38 mmol L⁻¹ e CaCl₂ 0,1 mmol L⁻¹. Após adição de 100 μL do substrato, a mistura foi incubada por quatro períodos de tempo. A reação foi interrompida adicionando-se 200 μL do reagente ácido 3,5 dinitrosalicílico e o produto lido em espectrofotômetro a 540 nm.

4.3.2 Atividade de α -glicosidase

A atividade de α -glicosidase foi determinada segundo Kwon et al. (2006), utilizando *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosideo 5 mmol L⁻¹ em tampão citrato-fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 como substrato. No ensaio, 50 μL da amostra e 100 μL de enzima foram incubados em banho-maria, a 37°C, por quatro períodos de tempo, após adição de 50 μL do substrato. A reação foi interrompida adicionando-se 1 mL de NaOH 0,05 mol L⁻¹ e a leitura do produto feita em espectrofotômetro, a 410 nm.

4.3.3 Atividade de β -glicosidase

A atividade de β -glicosidase foi determinada segundo Kwon et al. (2006), utilizando *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosideo 5 mmol L⁻¹ em tampão citrato-fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 como substrato. No ensaio, 50 μL da amostra e 100 μL de enzima foram incubados em banho-maria, a 37°C, por quatro períodos de tempo, após adição de 50 μL do substrato. A reação foi interrompida adicionando-se 1 mL de NaOH 0,05 mol L⁻¹ e o produto lido em espectrofotômetro a 410 nm.

4.3.4 Atividade de lipase

Em cada análise, a mistura de 100 μL de lipase, 50 μL de extrato da amostra e 50 μL de substrato *p*-nitrofenilpalmitato 8 mmol L^{-1} em tampão Tris-HCl 0,05 mmol L^{-1} pH 8,0 contendo 0,1% Triton-X100 foram incubada por quatro períodos de tempo. A reação foi paralisada, transferindo-se os tubos para um banho de gelo e adicionando-se 1.000 μL de tampão Tris-HCl 0,05 mmol L^{-1} pH 8,0. O *p*-nitrofenol (produto da ação da lipase sobre o *p*-nitrofenilpalmitato) de coloração amarela foi lido em espectrofotômetro a 410 nm (Souza, 2009).

4.3.5 Atividade de tripsina

A atividade de tripsina foi determinada segundo a metodologia proposta por Erlanger (1961); 200 μL da amostra e 200 μL de enzima foram incubados em banho-maria, a 37°C, por quatro períodos de tempo, após adição de 800 μL do substrato *p*-benzoil-D-L arginina *p*-nitroanilida (BApNA) preparado em tampão TRIS (trihidroximetilaminometano) 0,05 mol L^{-1} , pH 8,2. A reação foi interrompida adicionando-se 200 μL de ácido acético 30% e o produto lido em espectrofotômetro a 410 nm.

4.4 Determinação da inibição

A inibição das enzimas foi obtida a partir da determinação das inclinações das retas (absorbância x tempo) dos ensaios de atividade das enzimas controle (sem amostra) e enzimas + inibidor (com amostra). A inclinação da reta é decorrente da velocidade de formação de produto por minuto de reação e a presença do inibidor ocasiona uma diminuição nessa inclinação. A partir dessa inclinação, os valores de absorbância foram convertidos em μmol de produto por meio de uma curva padrão de glicose para a amilase e de *p*-nitrofenol para as glicosidases e para lipase, enquanto, para a tripsina, foi

utilizado o coeficiente de extinção molar do BApNA determinado por Erlanger (1961).

4.5 Preparo do fluido gástrico simulado

Com o objetivo de simular o processo de digestão no estômago *in vitro*, foram também realizados os ensaios de atividades enzimáticas na presença de um fluido gástrico simulado. Para tal, os extratos foram incubados com o fluido gástrico simulado preparado segundo a The United States Pharmacopeia - USP (1995), por 1 hora em banho-maria, a 37°C. Após esse período, foram neutralizados com o sal bicarbonato de sódio até pH fisiológico e só então realizados os ensaios de atividade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de inibição enzimática dos extratos de PHG são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 Inibição das enzimas digestivas em unidades de enzima inibida (UEI¹) por extratos do pó comercial de duas amostras de *H. gordonii*, antes e após exposição ao fluido gástrico simulado.

Enzima	Extrato	Amostra ²			
		HA		HB	
		Sem fluido gástrico	Após fluido gástrico	Sem fluido gástrico	Após fluido gástrico
Amilase	1:5	nd ³	nd	nd	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd
Alfa-glicosidases	1:5	10,4±1,3	50,5±2,8	16,7±1,4	29,8±2,5
	1:10	nd	nd	nd	nd
Beta-glicosidases	1:5	25,5±1,9	nd	12,9±1,1	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd
Lipase	1:5	nd	nd	nd	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd
Tripsina	1:5	nd	nd	nd	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd

¹Unidades de enzima inibida em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ amostra.

²Dados são a média de triplicatas±desvio padrão.

³nd = inibição não detectada.

Os extratos do PHG demonstraram inibição apenas das enzimas glicosidases envolvidas no metabolismo de carboidratos, no extrato 1:5. Não foi detectada inibição das enzimas lipase e tripsina, envolvidas nos metabolismos lipídico e proteico, respectivamente.

Para a alfa-glicosidase, HB foi cerca de 60% mais efetiva que a HA antes da exposição ao fluido gástrico, mas, após a exposição, a situação inverteu-se. No entanto, para ambas, a exposição ao fluido gástrico simulado ocasionou aumento da inibição, indicando que o inibidor sofre potencialização após a alteração do pH, provavelmente por ionização de grupos ativos. Expressando a inibição de alfa-glicosidase em porcentagem verifica-se para HA, 16,67% e 57,47% e para HB, 26,83% e 33,91%, antes e após a exposição ao fluido gástrico, respectivamente. Tais percentuais - em especial aqueles obtidos para ambas após a exposição ao fluido gástrico - estão dentro da faixa considerada como um bom perfil inibitório de enzimas relacionadas ao metabolismo de carboidratos como a alfa-glicosidase (Kwon et al., 2006).

Já para a beta-glicosidase, a inibição aparece somente na ausência do fluido gástrico simulado, desaparecendo completamente após a exposição ao mesmo. Porém, HA apresenta o dobro de atividade inibitória em relação a HB que, a exemplo do que ocorreu com a alfa-glicosidase, demonstra diferenças entre as amostras que, em tese, deveriam ser próximas.

Na dieta humana normal, existem apenas três fontes principais de carboidratos, representadas pelos dissacarídeos sacarose e lactose e o polissacarídeo amido (Guyton & Hall, 2002). Considerando que, nos três casos, o tipo de ligação glicosídica entre os resíduos de monossacarídeos é uma ligação do tipo α , o consumo humano de PHG deverá apresentar maior repercussão na inibição da alfa-glicosidase, já que a beta-glicosidase tem pouca importância no metabolismo energético de carboidratos em humanos.

Os inibidores de enzimas envolvidas no metabolismo glucídico, amplamente distribuídos em plantas (Silano et al., 1975), induzem tolerância aos carboidratos, saciedade, perda de peso e retardamento do esvaziamento gástrico, que podem ser úteis no tratamento da obesidade e diabetes mellitus não insulino-dependente (tipo 2) (Boniglia et al., 2008; Chen et al., 2008; Mosca et al., 2008; Udani et al., 2009). Inibidores de glicosidases são agentes de grande interesse terapêutico, uma vez que apresentam atividade contra vírus, crescimento tumoral, metástases e diabetes, entre outros (Melo & Carvalho, 2006). Uma forte inibição de alfa-glicosidase e pouca ou nenhuma inibição de alfa-amilase podem ser potencialmente utilizadas como uma terapia complementar efetiva para hiperglicemia pós-prandial, com a vantagem de apresentar menos efeitos colaterais como aqueles decorrentes da excessiva inibição de alfa-amilase pancreática, que resulta em fermentação bacteriana anormal de carboidratos não digeridos no cólon (Kwon et al., 2006).

Assim, positivamente, os PHG podem apresentar efeito na diminuição da absorção de carboidratos *in vivo* por inibição de enzimas envolvidas na digestão. A presença dessa atividade inibitória pode explicar, portanto, parte do efeito emagrecedor dos PHG até então atribuído somente à ação do glicosídeo ativo P57. Considerando ainda a necessidade de análises complementares como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a detecção da presença do glicosídeo ativo em amostras de PHG, tais inibidores podem, eventualmente, assumir o papel central de responsáveis pelo suposto efeito emagrecedor desses PHG.

Por outro lado, apesar de os ensaios de inibição terem mostrado qualitativamente as mesmas respostas para as duas amostras, quantitativamente observam-se variações entre as amostras analisadas, levantando questionamentos quanto à padronização, ao controle de qualidade e à procedência dos extratos comerciais desse fitoterápico.

6 CONCLUSÃO

As amostras de PHG analisadas são capazes de inibir somente as enzimas alfa e beta glicosidases em níveis considerados satisfatórios, segundo a literatura.

Entre as glicosidases, a inibição de alfa-glicosidase é considerada mais importante, do ponto de vista energético, credenciando, dessa forma, o PHG como potencial auxiliar na redução de hiperglicemia pós-prandial. Adicionalmente, a inibição de beta-glicosidase deve ser considerada para outras possíveis aplicações referidas na literatura.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONIGLIA, C.; CARRATÙ, B.; STEFANO, S. di; GIAMMARIOLI, S.; MOSCA, M.; SANZINI, E. Lectins, trypsin and α -amylase inhibitors in dietary supplements containing *Phaseolus vulgaris*. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 3, p. 689-693, July 2008.

CHEN, X.; XU, G.; LI, X.; LI, Z.; YING, H. Purification of an α -amylase inhibitor in a polyethylene glycol/fructose-1,6-bisphosphate trisodium salt aqueous two-phase system. **Process Biochemistry**, London, v. 43, n. 7, p. 765-768, July 2008.

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

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar construindo a história dos produtos naturais. **MultiCiência**, São Carlos, n. 7, p. 1-8, out. 2006.

FRIEDMAN, M.; BRANDON, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 3, p. 1069-1086, Feb. 2001.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

HEERDEN, F. R. van. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 119, n. 3, p. 434-437, Oct. 2008.

HEERDEN, F. R. van; HORAK, R. M.; MAHARAJ, V. J.; VLEGGAAR, R.; SENABE, J. V.; GUNNING, P. J. An appetite suppressant from *Hoodia* species. **Phytochemistry**, New York, v. 68, n. 20, p. 2545-2553, Oct. 2007.

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**, Westport, v. 32, n. 1, p. 15-31, Feb. 2006.

MACLEAN, D. B.; LUO, L. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1020, n. 1/2, p. 1-11, Sept. 2004.

MANCINI, M. C.; HALPERN, A. Tratamento farmacológico da obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 46, n. 5, p. 497-512, out. 2002.

MELO, E. B.; CARVALHO, I. α e β -glucosidases como alvos moleculares para desenvolvimento de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 840-843, ago. 2006.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 105-111, jan./fev. 2001.

MOSCA, M.; BONIGLIA, C.; CARRATÙ, B.; GIAMMARIOLI, S.; NERA, V.; SANZINI, E. Determination of α -amylase inhibitor activity of phaseolamin from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in dietary supplements by HPAEC-PAD. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, n. 1/2, p. 192-195, June 2008.

NOELTING, G.; BERNFELD, P. Sur les enzymes amylolytiques - III. La β -amylase: dosage d'activité et contrôle de l'absence d' α -amylase. **Helvetica Chimica Acta**, Basel, v. 31, n. 1, p. 286-290, 1948.

OBIRO, W. C.; ZHANG, T.; JIANG, B. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 100, n. 1, p. 1-12, July 2008.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde**. Brasília: OPAS/OMS, 2003. 60 p.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SILANO, V.; FURIA, M.; GIANFREDA, L.; MACRI, A.; PALESCANDOLO, R.; RAB, A.; SCARDI, V.; STELLA, E.; VALFRE, F. Inhibition of amylases from different origins by albumins from the wheat kernel. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 391, n. 1, p. 170-178, May 1975.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.endocrino.org.br/busca/obesidade>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

SOUZA, S. P. **Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática com ênfase em *Baccharis trimera* (Less.) DC.** 2009. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TORMO, M. A.; GIL-EXOJO, I.; TEJADA, R. A.; CAMPILLO, J. E. Hypoglycaemic and anorexigenic activities of an α -amylase inhibitor from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 5, p. 785-790, Nov. 2004.

UDANI, J. K.; SINGH, B. B.; BARRET, M. L.; PREUSS, H. G. Lowering the glycemic index of white bread using a white bean extract. **Nutrition Journal**, London, v. 8, n. 52, p. 1-5, Oct. 2009.

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

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 326-337, mar. 2006.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 147-152, jan./fev. 2001.

CAPÍTULO 4

EFICÁCIA E TOXICIDADE DO PÓ COMERCIAL DE *HOODIA GORDONII* UTILIZADO NO COMBATE A OBESIDADE

1 RESUMO

A obesidade é, atualmente, o principal problema de saúde em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Diversos tratamentos têm sido empregados para o combate da obesidade, destacando-se os fitoterápicos, consagrados pelo conhecimento popular. Nesse contexto, *Hoodia gordonii* tem despertado grande interesse em todo o mundo, principalmente pelas recentes descobertas e comprovações científicas da inibição do apetite e da sede, pelo glicosídeo ativo P57 isolado de espécies da planta. Apesar disso, tais efeitos ainda não foram avaliados e comprovados em amostras comerciais do pó de *H. gordonii* (PHG), não existindo provas científicas que garantam a sua eficácia e segurança. Portanto, este trabalho foi realizado com o objetivo de realizar ensaios biológicos com ratos para avaliar a atividade farmacológica e a toxicidade de amostras comerciais do pó de *H. gordonii*. Para isso, as amostras foram administradas, por gavagem, em doses equivalentes a 20 vezes as recomendadas para humanos, em ratos Wistar, durante 4 semanas, tendo sido avaliados os parâmetros indicadores do efeito terapêutico. Após as 4 semanas, os animais foram sacrificados e amostras de sangue e órgãos foram coletados e submetidos à avaliação dos indicadores metabólicos, endócrinos, hematológicos e histopatológicos. Os resultados demonstraram que, para todos os parâmetros avaliados, não houve diferenças significativas entre o grupo controle, que recebeu somente solução salina estéril e os grupos tratados com PHG. Isso indica que os mesmos, apesar de não apresentarem quaisquer indícios de toxicidade, são incapazes de produzir os supostos efeitos de inibição de apetite e o consequente combate à obesidade.

Palavras-chave: *Hoodia*, eficácia, toxicidade, obesidade.

EFFICACY AND TOXICITY OF *HOODIA GORDONII* COMMERCIAL POWDER USED TO COMBAT OBESITY

2 ABSTRACT

Obesity is currently the main health problem in developed countries and developing countries. Several treatments have been used to combat obesity, especially herbal medicines, highlighted for popular knowledge. In this context the *Hoodia gordonii* plant has currently aroused great interest worldwide, especially for recent discoveries and scientific proof of the inhibition of appetite and thirst for active glycoside P57 isolated from plant species. Nevertheless, such effects have not been evaluated and proven in commercial samples of *H. gordonii* powders (PHG), with no scientific evidence to ensure its effectiveness and safety. Therefore, the objective of this study was to conduct biological tests with rats to evaluate the pharmacological activity and toxicity of commercial samples of *H. gordonii* commercial powders. Thus, the samples that were managed by gavage, at doses equivalent to 20 times as those recommended for humans, in female Wistar rats for 4 weeks being evaluated the parameters indicators of therapeutic efficacy. After 4 weeks, the animals were sacrificed and blood samples and organs were collected and submitted to the evaluation of metabolic indicators, endocrinology, hematology and histopathology. The results showed that for all parameters no significant differences between the control group that only received sterile saline and the groups treated with PHG, indicating that the same, although presenting no evidence of toxicity, are unable to produce the alleged effects of inhibition of appetite and subsequent combat to obesity.

Keywords: *Hoodia*, efficacy, toxicity, obesity.

3 INTRODUÇÃO

O sobrepeso e a obesidade são definidos como o peso que está acima do que é considerado saudável para uma altura específica (Centers for Disease Control and Prevention - CDC, 2008), avaliado por parâmetros como o índice de massa corporal (IMC), circunferência abdominal e outros (Organização Mundial da Saúde - OMS, 2010). A obesidade está associada a vários problemas médicos, como diabetes mellitus, doenças biliares, osteoartrites, doenças do coração e alguns tipos de câncer (Bray, 2004; Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia - SBEM, 2009) e é, atualmente, o principal problema de saúde em países desenvolvidos e em desenvolvimento (Heerden, 2008).

Diversos tratamentos têm sido empregados para o combate à obesidade, destacando-se, no entanto, os fitoterápicos, consagrados pelo conhecimento popular e utilizados em grande escala pela população como primeiro recurso terapêutico, devido a fácil acesso, baixo custo, não necessidade de prescrição médica e crença na ausência de efeitos colaterais. Nesse contexto, a planta *Hoodia gordonii* tem despertado, recentemente, grande interesse mundial.

A planta *H. gordonii* é utilizada, há milhares de anos, por tribos do sul do continente africano, que atribuem à planta a capacidade de inibir o apetite e a sede (Wise, 2003; Heerden et al., 2007; Rader et al., 2007). As recentes descobertas e comprovações de inibição do apetite pelo glicosídeo ativo P57 isolado de espécies de *Hoodia* (MacLean & Luo, 2004; Heerden et al., 2007) provocaram grande interesse na população, pesquisadores e grandes empresas, existindo, atualmente, mais de 20 patentes internacionais de produtos comerciais contendo a planta (Heerden et al., 2008).

Estudos envolvendo extratos purificados ou, até mesmo, os glicosídeos ativos isolados da planta foram realizados (MacLean & Luo, 2004; Tulp et al., 2001; Heerden et al., 2007), comprovando seus efeitos farmacológicos de inibição do apetite e da sede e suportando seu potencial uso no combate à obesidade. No entanto, ensaios biológicos para avaliação dos efeitos a partir da ingestão da planta *in natura*, sem procedimentos de purificação prévios, são raros (Heerden, 2008), havendo apenas um trabalho com frangos (Mohlapo et al., 2009). Experimentos semelhantes envolvendo outras espécies, como ratos, são, até o momento, inexistentes.

Apesar das evidências científicas da atividade supressora do apetite demonstrada por extratos purificados de *H. gordonii* que continham o glicosídeo ativo P57, tais efeitos ainda não foram avaliados e comprovados em amostras comerciais do pó de *H. gordonii*. Além disso, ainda não existem provas científicas que atestem sua autenticidade, que sustentem que os mesmos se tratam de extratos purificados e que garantam a ausência de efeitos deletérios e a segurança do uso.

Portanto, neste trabalho foram realizados ensaios biológicos com ratos para avaliar a atividade farmacológica e a toxicidade de amostras comerciais do pó de *H. gordonii*, decorrentes da ingestão diária e contínua do produto. Além disso, foi investigada a influência da ingestão do pó comercial sobre os níveis sanguíneos dos hormônios leptina e insulina, envolvidos na regulação neuroendócrina do apetite e da saciedade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da eficácia e da toxicidade das amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* foi realizada por meio de ensaios biológicos com ratos, conduzidos no Laboratório de Biofarmácia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora (FFB/UFJF) e no Laboratório de Neurociências do Departamento e no Instituto de Psiquiatria, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP).

4.1 Material

Equipamentos

As leituras espectrométricas das análises enzimáticas foram realizadas com os equipamentos: Sistema Delfia - Wallac (PerkinElmer) com 4 módulos (1296-026 Delfia Platewash 1296-041, Delfia Plate Dispense 1296-043, Delfia Dispenser unit 1234, Delfia Fluorometer) e leitora de microplacas Spectracount – Packard.

Reagentes

Para as análises de glicose, colesterol total, colesterol HDL, triglicérides e Gama-GT foram utilizados kits comerciais Labtest® (Brasil). Para análise de leptina foi empregado kit enzimático Elisa Millipore® (Missouri, EUA) e, para insulina, kit AutoDELFIA® (PerkinElmer do Brasil).

4.2 Obtenção do pó comercial de *H. gordonii* (PHG)

Duas amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* (denominadas HA e HB) foram adquiridas em farmácias de manipulação em Lavras e Juiz de Fora, MG, acompanhadas de laudos de análises de controle de qualidade realizadas

por fornecedores de matérias-primas nacionais, porém, de procedência informada da China.

4.3 Animais

Foram utilizadas, no experimento, 30 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), com idade aproximada de 1 mês e peso entre 80 e 100 g, adquiridas junto ao Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO/ICB/UFMG). Previamente ao início dos ensaios, os animais passaram por um período de 96 horas de ambientação às condições experimentais que envolveram temperatura variando entre 22° a 26°C, umidade relativa do ar entre 80% e 90%, ritmo de luz e penumbra num fotoperíodo de 12/12 horas, recebendo ração própria para a espécie (Nuvilab CR1[®]) e água *ad libitum*, em ambiente exclusivo para roedores e com baixo nível de ruído externo. Durante todo o experimento, os animais permaneceram em gaiolas de polietileno (60 x 50 x 22 cm) com cama de maravalha, sempre em número máximo de dez animais por gaiola. Os cuidados de higienização e alimentação foram diários e realizados por tratador único.

O projeto foi submetido à avaliação prévia da Comissão de Bioética da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Lavras, sendo, a seguir, considerado aprovado sob o protocolo N° 047/2009.

4.4 Estudo de eficácia e toxicidade

Foi realizado ensaio biológico, durante 28 dias, para avaliação da toxicidade subcrônica das amostras de PHG em animais no Laboratório de Biofarmácia, na Faculdade de Farmácia e Bioquímica (FFB) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). No planejamento e execução da pesquisa, foram obedecidas as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e a Resolução RE n° 90 da Anvisa, de 16 de março de 2004, que

determina a publicação do guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos.

Cada amostra foi administrada diariamente, diluída em solução salina estéril por gavagem nos animais do respectivo grupo tratado em doses equivalentes a 20 vezes a dose recomendada para humanos.

Para o cálculo da dose, foram considerados a dose máxima sugerida para humanos (1.600 mg/adulto 70 kg/dia), a dose máxima aproximada correspondente para o animal (2,5 mg/animal 100 g/dia), o volume máximo recomendado para o procedimento de gavagem (1mL) e a máxima solubilidade dos pós no volume recomendado de solução salina estéril. A partir desses cálculos, foi selecionada a dose correspondente a 20 vezes a dose recomendada para humanos, equivalente a $0,5 \text{ mg g}^{-1}$ peso corporal do animal. Para tanto, foram preparadas diariamente soluções das amostras HA e HB na concentração de 100 mg mL^{-1} , cujos volumes foram calculados de acordo com o peso total dos animais do grupo. Dessa forma, a cada animal foi administrado, por gavagem, um volume de solução da amostra correspondente à dose calculada em função do seu peso corporal aferido no dia. O mesmo procedimento foi realizado para o grupo controle ao qual foi administrada apenas solução salina estéril.

4.5 Delineamento experimental e análise estatística

Após o período de adaptação, os animais foram pesados e distribuídos em três grupos de dez animais cada um, discriminados de acordo com o tratamento a ser administrado por gavagem: Grupo 1 (controle) – solução salina estéril; Grupo 2 – vinte vezes a dose usual para humanos em mg g^{-1} peso corporal da amostra HA e Grupo 3 - vinte vezes a dose usual para humanos em mg g^{-1} peso corporal da amostra HB. A administração foi realizada diariamente por gavagem, utilizando cânula de aço inoxidável e seringa esterilizados, no mesmo horário, pelo mesmo indivíduo, respeitando-se o volume máximo de 1

mL. Os pesos dos animais, bem como os consumos de ração e água (diferença entre a quantidade oferecida e a quantidade restante depois de 24 horas), foram anotados diariamente para avaliação de parâmetros, como ganho de peso, curva de crescimento e inibição do apetite e da sede.

No último dia, os animais foram submetidos a jejum e à restrição hídrica nas 12 horas anteriores ao sacrifício, que foi realizado com anestesia prévia, em ambiente fechado saturado com vapor de éter etílico, seguida por deslocamento cervical, incisão ventral e exsanguinação por coleta de sangue do coração. Após o sacrifício, foi realizada também necropsia com retirada de órgãos internos (coração, fígado e rins), para a preparação de lâminas histológicas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software SISVAR (Ferreira, 2000).

4.6 Crescimento e desenvolvimento

O peso corporal de cada animal foi aferido em balança de precisão e anotado diariamente, durante todo o experimento, para a avaliação da curva de crescimento e desenvolvimento dos animais, ganho de peso, bem como parâmetro de análise do efeito sobre o apetite.

4.7 Análises laboratoriais do sangue

Utilizando-se o sangue coletado do coração, foram realizadas dosagens laboratoriais para avaliação de parâmetros bioquímicos ou metabólicos (glicose, colesterol total, colesterol HDL, triglicérides e Gama-GT), hematológicos (esfregaço sanguíneo) e endócrinos (insulina e leptina). Para as análises de parâmetros bioquímicos e endócrinos, foram utilizados kits enzimáticos comerciais enquanto os esfregaços sanguíneos foram analisados em microscópio e, a seguir, confirmados por analisador automático. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Biofarmácia na Faculdade de Farmácia e

Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora (FFB/UFJF), à exceção da análise de insulina, que foi realizada no Laboratório de Neurociências na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP).

4.8 Histopatologia

Para as análises histopatológicas de órgãos internos, foram preparadas lâminas histológicas a partir de fragmentos dos órgãos retirados na necropsia. No processamento histológico, os órgãos foram seccionados em pequenos fragmentos, fixados com formalina tamponada nas primeiras 24 horas e, depois, armazenados em álcool 70% para conservação, até o procedimento de inclusão. Posteriormente, os fragmentos foram processados para inclusão em blocos de parafina que, a seguir, foram submetidos à microtomia, resultando em cortes de cerca de 3 μm de espessura. Os cortes obtidos foram, então, corados pelo método da hematoxilina-eosina (HE) e montados em lâminas/lamínulas de vidro, para avaliação histopatológica com microscópio óptico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Indicadores bioquímicos

Na Tabela 1 são apresentados os resultados de alguns indicadores bioquímicos dosados no sangue dos animais em estudo.

TABELA 1 Níveis sanguíneos médios¹ de glicose e lipídeos e atividade de gama-GT, nos três grupos de tratamento.

Grupo	Glicose (mg dL⁻¹)	Triglicérides (mg dL⁻¹)	Colesterol (mg dL⁻¹)	HDL (mg dL⁻¹)	Gama-GT (U L⁻¹)
Controle	135,9±25,1	76,7±14,4	95,9±12,5	61,8±4,9	95,7±2,5
HA	134,27±20,1	70,1±13,3	83,9±13,8	61,1±5,4	98,2±4,5
HB	138,3±25,2	75,1±15,1	84,4±11,9	56,4±5,7	96,7±1,7

¹Dados são a média±desvio padrão.

²U L⁻¹ = atividade da enzima em unidades, proporcionais à quantidade do produto p-nitroanilina liberado na reação enzimática e lido em 405 nm, por litro de amostra.

A determinação da glicemia é o parâmetro inicial para detecção de alterações e distúrbios do metabolismo glucídico, como o diabetes tipo 2, normalmente associado à obesidade (Motta, 2009; SBEM, 2009). Os níveis de glicose encontrados revelaram não haver diferenças significativas entre os grupos tratados (HA e HB) e o grupo controle, indicando que as amostras de PHG não exercem qualquer efeito na glicemia (Tabela 1 do Anexo).

A dosagem sanguínea de lipídeos e enzimas hepáticas fornece importantes parâmetros na determinação da segurança de ingredientes funcionais ou de produtos finais derivados de plantas submetidos a ensaios de toxicidade (Patel et al., 2008). Os níveis elevados de colesterol total e triglicérides estão

diretamente associados ao prognóstico de risco de aterosclerose coronariana, doença cardíaca isquêmica e infarto, enquanto o colesterol HDL tem efeito protetor contra esses distúrbios. A gama-GT, por sua vez, tem aplicação principal no estudo de desordens hepato-biliares, apresentando maior especificidade que outras enzimas hepáticas, como a fosfatase alcalina e as transaminases (Motta, 2009).

Os resultados das dosagens de colesterol total, triglicérides e colesterol HDL foram estatisticamente iguais para os grupos tratados e controle e indicam que o PHG não interfere no metabolismo lipídico, sendo desprovido de quaisquer efeitos relacionados a alterações das taxas de lipídeos sanguíneos, sejam eles benéficos ou deletérios. Em adição, os resultados de gama-GT sugerem, positivamente, que o PHG não tem efeito hepatotóxico (Tabela 1 do Anexo).

5.2 Indicadores endócrinos

Na Tabela 2, estão apresentados os níveis sanguíneos dos hormônios leptina e insulina envolvidos na regulação neuroendócrina da ingestão de alimentos. Observaram-se níveis sanguíneos estatisticamente iguais para os dois hormônios entre os grupos estudados (Tabela 2 do Anexo).

TABELA 2 Níveis médios¹ sanguíneos de leptina e insulina nos três grupos de tratamento.

Grupo	Leptina (ng mL⁻¹)	Insulina (μU mL⁻¹)
Controle	1,68±0,25	16,69±1,23
HA	1,59±0,21	17,56±1,11
HB	1,61±0,22	17,04±1,14

¹Dados são a média ± desvio padrão.

A leptina é uma proteína produzida, principalmente, no tecido adiposo que atua no sistema nervoso central (hipotálamo), promovendo a regulação da função neuroendócrina e o metabolismo da glicose e gorduras (Friedman et al., 1998; Reseland et al., 2001). A ingestão alimentar e o gasto energético são regulados pela leptina, sendo seus níveis circulantes proporcionais à massa de gordura corporal total (Frederich et al., 1995; Pelleymounter et al., 1995; Morton et al., 2006).

Alguns autores (Spanswick et al., 1997; Bays, 2004) demonstraram que a leptina inibe neurônios hipotalâmicos por ativação de canais de potássio ATP-dependentes, o mesmo local relatado por MacLean & Luo (2004) como sendo o alvo da ação inibidora do apetite pelo glicosídeo ativo P57 presente em *H. gordonii*.

Baixos níveis de leptina induzem alterações metabólicas no sentido de preservar as reservas de energia existentes e, ao mesmo tempo, provocam alterações cerebrais, de tal forma que a aquisição e o consumo de alimentos tornam-se extremamente importantes (Berthoud & Morrison, 2008; Morrison, 2008). Em oposição, níveis aumentados podem indicar uma leptina-resistência que é descrita como um estado similar à insulino-resistência, no qual a elevada leptinemia ocorre simultaneamente à hiperfagia e à obesidade (Myers et al., 2008).

Os resultados de leptina encontrados não confirmaram a hipótese da influência do PHG sobre o hormônio, evidenciado pelos seus níveis sanguíneos inalterados em relação ao grupo controle. No entanto, deve-se ressaltar que, no presente estudo, foram utilizadas amostras comerciais da planta de autenticidade não confirmada, e não o glicosídeo P57 purificado utilizado em outros estudos.

A insulina, por sua vez, está envolvida no metabolismo glucídico, tomando parte, principalmente, na redução dos níveis glicêmicos. Entretanto, a exemplo da leptina, foi atribuída à insulina, nos últimos anos, atividade no

sistema nervoso central, graças à descoberta de receptores para o hormônio no cérebro (Hallschmid & Schultes, 2009). Agentes que aumentem a sensibilidade e diminuam os níveis sanguíneos de insulina podem ser promissores no tratamento da obesidade, particularmente em pacientes com diabetes tipo 2 (Bays, 2004). Contudo, os resultados de insulina obtidos neste trabalho indicam que o pó comercial de *H. gordonii* não afeta os níveis sanguíneos do hormônio.

5.3 Indicadores hematológicos

A partir de uma gota de sangue de cada animal foi realizado esfregaço sanguíneo para contagem de células. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 Contagem de glóbulos brancos* para os três grupos de tratamento.

	Grupo		
	Controle	HA	HB
Neutrófilos	14,0±3,4	15,0±3,6	14,0±4,1
Linfócitos	79,0±6,9	78,0±6,1	81,0±4,8
Monócitos	6,0±1,3	6,0±1,8	5,0±1,6
Eosinófilos	1,0±0,7	1,0±0,9	1,0±0,5
Basófilos	-	-	-

* Os dados representam as médias±desvio padrão de cada tipo celular avaliado em esfregaço sanguíneo com microscópio óptico e confirmado por analisador automático.

Os resultados das contagens celulares revelaram não haver diferenças significativas entre os grupos analisados (Tabela 3 do Anexo), evidenciando

apenas o padrão leucocitário normal de inversão entre o número de linfócitos e neutrófilos em relação a humanos e típico de ratos.

5.4 Indicadores do efeito terapêutico: inibição do apetite e da sede

No gráfico da Figura 1 pode-se observar a curva de crescimento dos animais tratados e controle, semanalmente, durante todo o período do experimento.

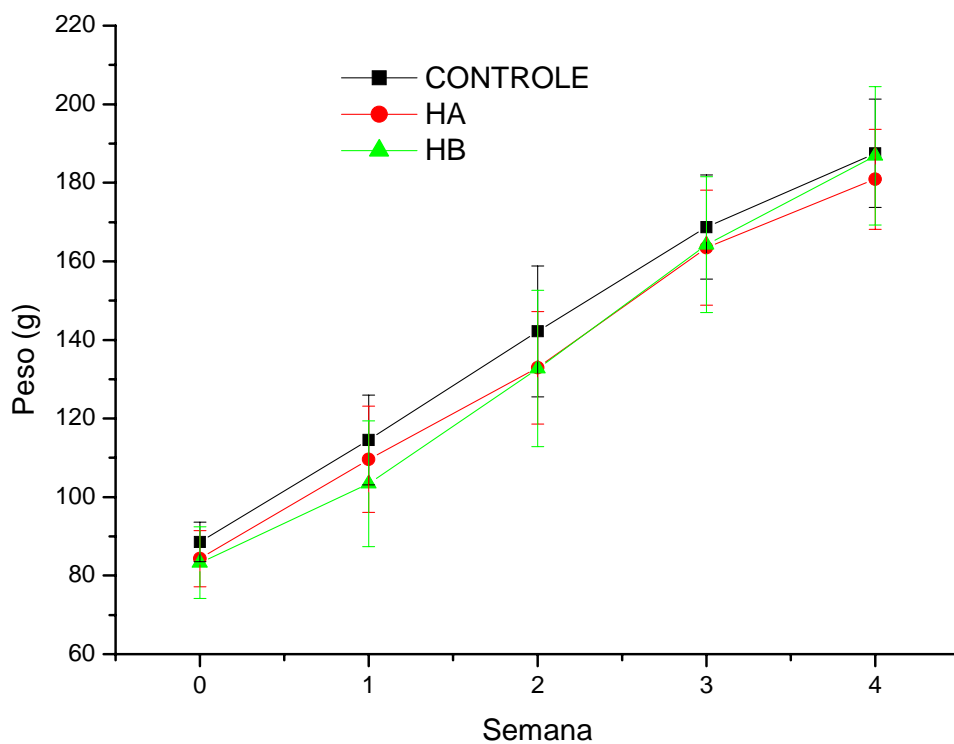


FIGURA 1 Curva de crescimento dos ratos, durante os 28 dias de experimento de cada tratamento.

Os pontos representam as médias \pm desvio padrão do peso médio dos grupos em cada semana do experimento. Não houve diferença significativa entre os grupos em todas as semanas avaliadas.

Verificou-se que a tendência de crescimento entre os grupos foi semelhante, indicando que o PHG não influenciou no ganho de peso dos animais tratados (Tabela 4 do Anexo).

No gráfico da Figura 2 são apresentados os valores de ganho de peso médio dos grupos, calculados pela diferença entre o peso inicial e o peso final dos animais.

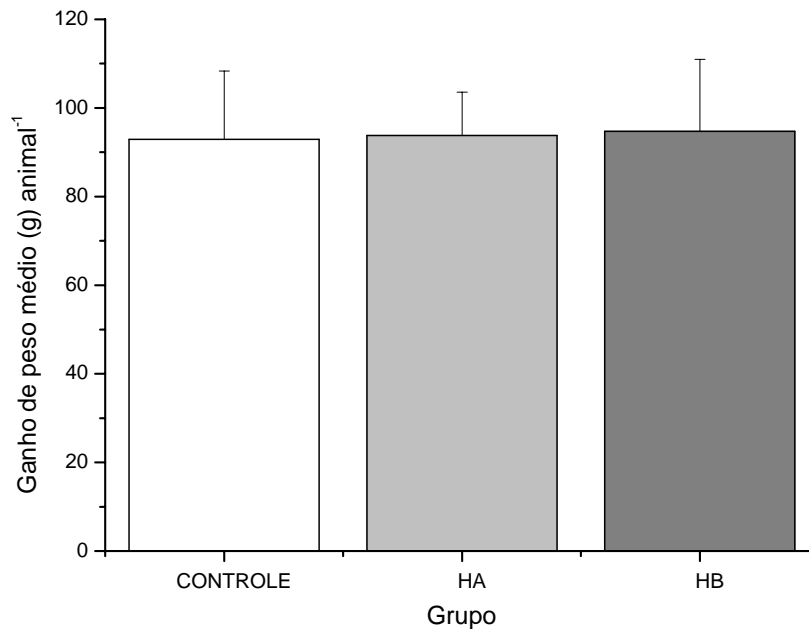


FIGURA 2 Ganho de peso médio, durante os 28 dias de experimento, para os três grupos de tratamento.

Os resultados de ganho de peso médio durante o período do experimento revelaram que não houve diferenças significativas (Tabela 5 do Anexo) entre os grupos tratados (92,92 g para HA e 93,80 g para HB) e o grupo controle (94,

71g), evidenciando que as amostras de PHG não afetaram o apetite e, conseqüentemente, o ganho de peso dos animais tratados.

Resultados de diminuição do peso foram encontrados em ratos tratados com extratos purificados contendo glicosídeos de *H. gordonii* (Tulp et al., 2001, 2002; Heerden et al., 2007). No entanto, a administração de pó de *H. gordonii*, adicionado à ração em concentrações de 0 a 500 mg/animal/dia, não demonstrou efeito na diminuição do peso em frangos (Mohlapo et al., 2009). Neste estudo, porém, o teor relatado do glicosídeo ativo P57 (13,95 mg kg⁻¹ de matéria seca) indica que, na dose máxima de *H. gordonii* utilizada (500 mg), havia cerca de 7 x 10⁻⁶ g deste, valor cerca de dez vezes menor (7 x 10⁻⁵ g de P57) que o necessário para inibir 50% do apetite de ratos, quando injetado diretamente no cérebro, segundo MacLean & Luo (2004), e que pode explicar, em parte, o resultado encontrado.

Levantamentos etnofarmacológicos sugerem que a *H. gordonii* é capaz de inibir a fome e a sede (Bruyns, 1993; Wise, 2003; Heerden, 2008). No intuito de investigar esses efeitos, foram avaliados os consumos médios de ração e água dos grupos, durante todo período do experimento (Tabela 4).

TABELA 4 Consumo médio por animal de ração e água por dia, durante os 28 dias de experimento, para os três grupos de tratamento.

Grupo	Consumo médio¹ de ração (g dia⁻¹)	Consumo médio¹ de água (mL dia⁻¹)
Controle	15,34±2,51	24,7±7,8
HA	16,09±2,50	26,4±7,5
HB	15,33±3,47	22,4±7,3

¹Consumo médio por animal.

Verificou-se que não houve diferenças significativas (Tabela 5 do Anexo) nos consumos médios de ração e água entre os grupos tratados e controle, indicando que, mesmo em doses equivalentes a 20 vezes a dose recomendada para humanos, as amostras comerciais do pó de *H. gordonii* não são capazes de provocar qualquer inibição do apetite ou da sede.

Adicionalmente, observam-se, na Figura 3, as relações de consumo de ração e água por peso médio dos animais. Os resultados refletem percentuais de relação consumo de ração/peso animal (11,68%, 12,06% e 11,81%) e relação consumo de água/peso animal (18,0%, 18,4% e 17,3%) estatisticamente iguais (Tabela 5 do Anexo) entre os grupos controle, HA e HB, respectivamente.

Em ensaios biológicos utilizando preparações semipurificadas de quatro espécies de *Hoodia* adicionadas na ração de ratos Wistar, durante 3 semanas, foi demonstrado que houve supressão do apetite dos animais tratados, sendo necessários, aproximadamente, 2,5 mg de *H. gordonii*/g peso animal para a obtenção da DE₅₀ (dose efetiva capaz de provocar a atividade esperada em 50% dos animais testados) (Tulp et al., 2001). Resultados semelhantes foram obtidos com ratos obesos tratados, durante três semanas, com um homogeneizado obtido de *Hoodia* previamente desidratada (Tulp et al., 2002). Extratos purificados de *H. gordonii* e *H. pilífera* contendo glicosídeos ativos administrados por gavagem em ratos Wistar, em proporções de 6,25 a 50,00 mg kg⁻¹ dia⁻¹, durante oito dias, foram efetivos na diminuição do consumo de ração (Heerden et al., 2007). Adicionalmente, foi demonstrado, em ratos, que injeções intracerebroventriculares do glicosídeo ativo P57 isolado de *H. gordonii* reduziram a ingestão alimentar entre 40% e 60%, nas 24 horas subsequentes à administração (MacLean & Luo, 2004).

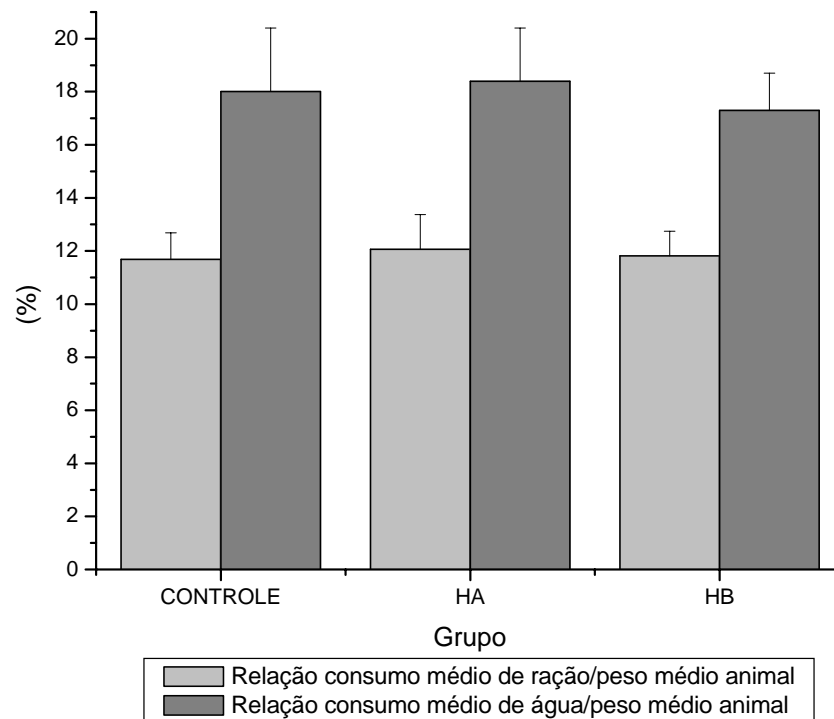


FIGURA 3 Relações do consumo de ração/peso animal e consumo de água/peso animal, durante os 28 dias de experimento, para os três grupos de tratamento.

Por outro lado, a suplementação de ração de frangos de corte com pó de *H. gordonii*, em proporções de 0 a 500 mg/dia/animal, durante 30 dias, não revelou qualquer alteração no consumo de ração dos grupos tratados em relação ao grupo controle (Mohlapo et al., 2009). Em humanos, estudos iniciais não publicados pela companhia Phytopharm revelaram que, após 15 dias de ingestão de *H. gordonii*, 19 indivíduos com obesidade mórbida tiveram sua ingestão calórica reduzida em quase 50% (Mangold, 2003; MacLean & Luo, 2004).

Os resultados encontrados para as duas amostras comerciais de PHG não revelaram nenhum efeito na inibição do apetite e da sede nos animais submetidos ao tratamento com doses equivalentes a vinte vezes aquelas recomendadas para humanos. Entretanto, convém ressaltar que, diferentemente da maioria dos autores citados, neste estudo, as amostras utilizadas não foram submetidas a qualquer procedimento de purificação para a obtenção de princípios ativos, tratando-se apenas de pós, comercializados como “extratos da planta”. Essas descobertas permitem questionamentos quanto à autenticidade dos pós comerciais da planta e quanto à presença e quantidade nesses pós dos glicosídeos ativos, cujos efeitos já foram cientificamente comprovados. Tais preocupações têm sido demonstradas por diversos autores (Avula et al., 2008; Dall’Acqua & Innocenti, 2007; Rader et al., 2007; Heerden, 2008) que revelam apreensão quanto à grande possibilidade de fraudes diante do crescente interesse mundial, em contraposição à pequena disponibilidade de plantas cultivadas.

5.5 Indicadores histopatológicos

Na Figura 4 são apresentadas imagens microscópicas capturadas dos órgãos submetidos aos processamentos histológicos. Não foram observadas alterações macroscópicas, à dissecção, nos órgãos analisados, isto é, coração, fígado e rins. Os processamentos histológicos ocorreram de forma similar, em todos os grupos. Para cada órgão/animal/grupo, foi realizada uma fotomicrografia de área mais significativa (aumento de 100x). Não foi observada nenhuma lesão ou alteração microscópica significativa (hematoxilina-eosina, HE) entre os tecidos animais avaliados dos diversos grupos estudados (Fotomicrografias a, b e c).

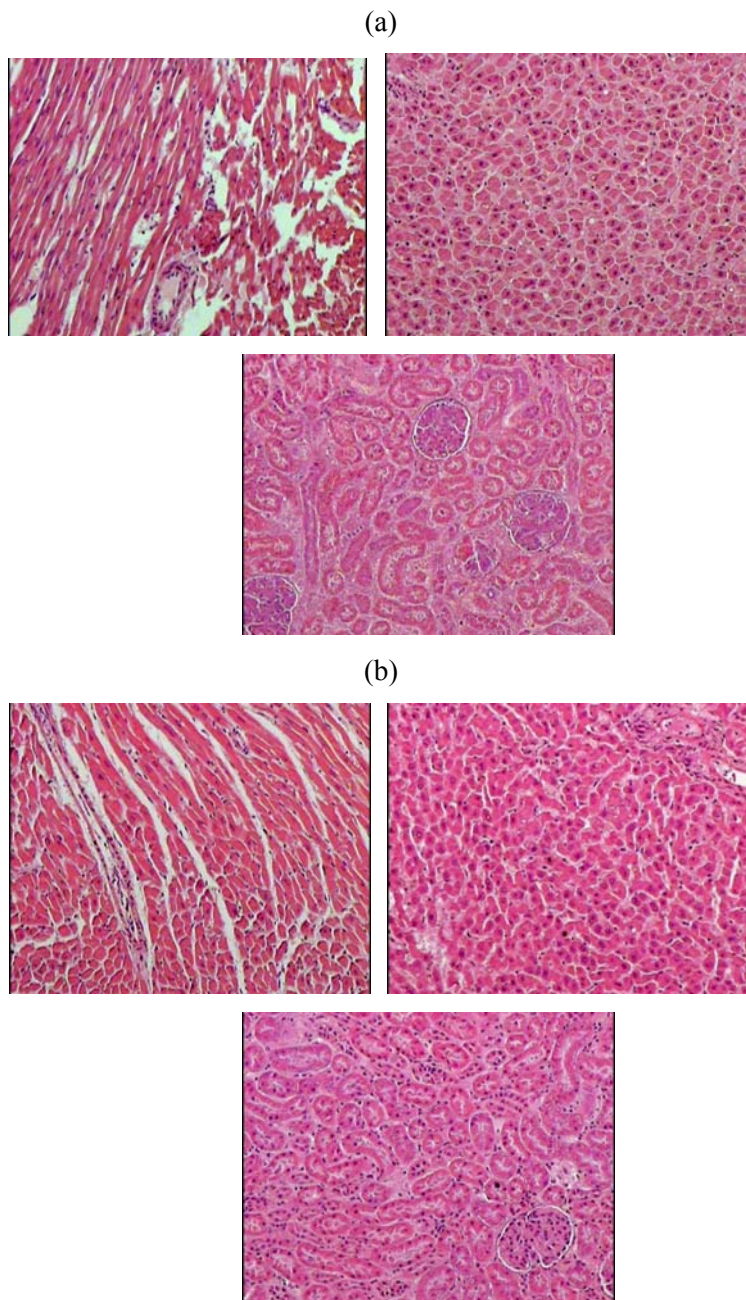
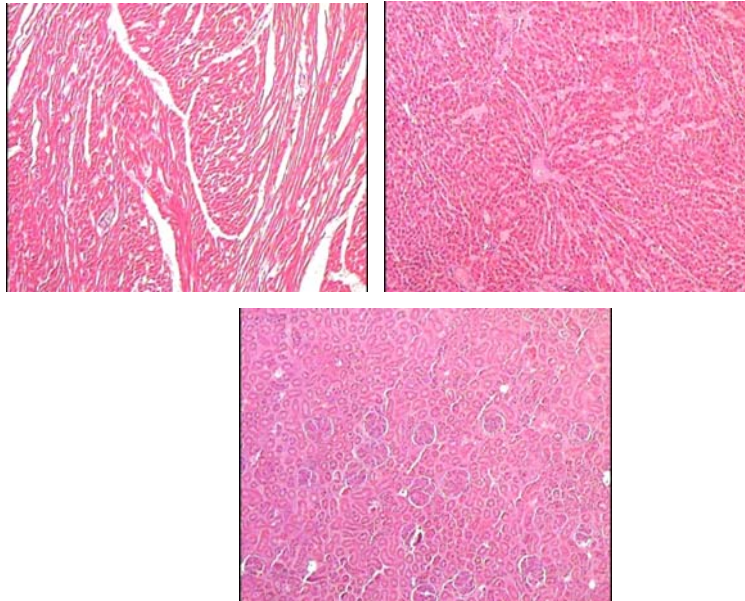


FIGURA 4 Fotomicrografias de coração, fígado e rins (da esquerda para a direita), utilizando coloração HE com aumento de 100x: (a) controle; (b) HA; (c) HB. (...continua...)

FIGURA 4, continua

(c)



6 CONCLUSÃO

As duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii* administradas em ratas, em doses equivalentes a vinte vezes as recomendadas para humanos, não provocam qualquer alteração nos parâmetros metabólicos (glicose, colesterol total, colesterol HDL, triglicérides e gama-GT), hematológicos (esfregaço sanguíneo) e endócrinos (leptina e insulina), além de não exercerem nenhuma influência no apetite e na sede dos animais tratados. Adicionalmente, a avaliação de toxicidade revela que as amostras são desprovidas de efeitos deletérios, considerando o período de 28 dias de tratamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº. 48, de 16 de março de 2004.** Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 23 set. 2009.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; SMILLIE, T. J.; KHAN, I. A. A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera and dietary supplements using UPLC-UV-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 722-731, Nov. 2008.

BAYS, H. E. Current and investigational antiobesity agents and obesity therapeutic treatment targets. **Obesity Research**, Silver Spring, v. 12, n. 8, p. 1197-1211, Aug. 2004.

BERTHOUD, H. R.; MORRISON, C. The brain, appetite, and obesity. **Annual Review of Psychology**, Palo Alto, v. 59, p. 55-92, Jan. 2008.

BRAY, G. A. Medical consequences of obesity. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, Baltimore, v. 89, n. 6, p. 2583-2589, June 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Clifton, 2008. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/defining.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2010.

DALL'ACQUA, S.; INNOCENTI, G. Steroidal glycosides from *Hoodia gordonii*. **Steroids**, San Francisco, v. 72, n. 6/7, p. 559-568, Mar. 2007.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 235.

FREDERICH, R. C.; HAMANN, A.; ANDERSON, S.; LOLLMANN, B.; LOWELL, B. B.; FLIER, J. S. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. **Nature Medicine**, New York, v. 1, n. 12, p. 1311-1314, Dec. 1995.

FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, London, v. 395, n. 22, p. 763-770, Oct. 1998.

HALLSCHMID, M.; SCHULTES, B. Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders? **Diabetologia**, New York, v. 52, n. 11, p. 2264-2269, Nov. 2009.

HEERDEN, F. R. van. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 119, n. 3, p. 434-437, Oct. 2008.

HEERDEN, F. R. van; HORAK, R. M.; MAHARAJ, V. J.; VLEGGAR, R.; SENABE, J. V.; GUNNING, P. J. An appetite suppressant from *Hoodia* species. **Phytochemistry**, New York, v. 68, n. 20, p. 2545-2553, Oct. 2007.

MACLEAN, D. B.; LUO, L. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1020, n. 1/2, p. 1-11, Sept. 2004.

MANGOLD, T. Magic molecule and the millionaire bushmen. **The Age**, Melbourne, June 2003. Disponível em: <<http://www.theage.com.au/cgi-bin/common/popupPrintArticle.pl?path=/articles/2003/06/22/1056220476331.html>>. Acesso em: 15 fev. 2010.

MOHLAPO, T. D.; NG'AMBI, J. W.; NORRIS, D.; MALATJE, M. M. Effect of *Hoodia gordonii* meal supplementation at finisher stage on productivity and carcass characteristics of Ross 308 broiler chickens. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 41, n. 7, p. 1591-1596, Oct. 2009.

MORRISON, C. D. Leptin resistance and the response to positive energy balance. **Physiology & Behavior**, Elmsford, v. 94, n. 5, p. 660-663, Aug. 2008.

MORTON, G. J.; CUMMINGS, D. E.; BASKIN, D. G.; BARSH, G. S.; SCHWARTZ, M. W. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, London, v. 443, p. 289-295, Sept. 2006.

MOTTA, V. M. **Bioquímica clínica para o laboratório**: princípios e interpretações. 5. ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2009. 400 p.

MYERS, M. G.; COWLEY, M. A.; MUNZBER, G. H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v. 70, p. 537-556, Mar. 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Genebra, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int>>. Acesso em: 12 jan. 2010.

PATEL, C.; DADHANIYA, P.; HINGORANI, L.; SONI, M. G. Safety assessment of pomegranate fruit extract: acute and subchronic toxicity studies. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 8, p. 2728-2735, Aug. 2008.

PELLEYMOUNTER, M. A.; CULLEN, M. J.; BAKER, M. B.; HECHT, R.; WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. **Science**, Washington, v. 269, n. 5223, p. 540-543, July 1995.

RADER, J. I.; DELMONTE, P.; TRUCKSESS, M. W. Recent studies on selected botanical dietary supplement ingredients. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 389, n. 1, p. 27-35, Sept. 2007.

RESELAND, J. E.; ANDERSSON, S. A.; SOVOLL, K.; HJERMANN, I.; URDAL, P.; HOLME, I. Effect of long-term changes in diet and exercise on plasma leptin concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 2, p. 240-245, Feb. 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.endocrino.org.br/busca/obesidade>>. Acesso em: 15 jan. 2010.

SPANSWICK, D.; SMITH, M. A.; GROPP, V. E.; LOGAN, S. D.; ASHFORD, M. L. J. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. **Nature**, London, v. 390, n. 4, p. 521-525, Dec. 1997.

TULP, O. L.; HARBI, N. A.; MIHALOV, J.; DERMARDEROSIAN, A. Effect of *Hoodia* plant on food intake and body weight in lean and obese LA/Ntul^{-/-}-cp rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 15, n. 4, p. 404-409, Mar. 2001.

TULP, O. L.; HARBI, N. A.; MIHALOV, J.; DERMARDEROSIAN, A. Effect of *Hoodia* plant on weight loss in congenic obese LA/Ntul^{-/-}-cp rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 16, n. 4, p. 654, Mar. 2002.

WISE, J. Hunter-gatherers win profit-sharing deal for obesity drug. **Bulletin of the World Health Organization**, Genebra, v. 81, n. 5, p. 382, May 2003.

CAPÍTULO 5

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA DO PÓ COMERCIAL DE *HOODIA GORDONII*

1 RESUMO

Hoodia gordonii é tradicionalmente utilizada pelo povo San, na África do Sul, devido às suas propriedades de supressão do apetite e da sede, comprovadas cientificamente e atribuídas à presença do glicosídeo ativo P57. A escassa oferta da planta, devido à dificuldade do cultivo, aliada à crescente demanda por produtos para combate à obesidade à base de *H. gordonii*, criou um cenário em que a adulteração do produto por outras espécies ou mesmo outros gêneros é uma possibilidade real. Nesse contexto, o uso da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) apresenta-se como ferramenta fundamental para a certificação da autenticidade de produtos comercializados como *H. gordonii*. Este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a autenticidade das amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* por meio de análises qualitativas que confirmassem ou não a presença do glicosídeo ativo P57. As análises foram realizadas em coluna C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), empregando um gradiente de eluição de água e acetonitrila, ambos contendo 0,1% de ácido acético e utilizando geranil tigolato como padrão. Análises qualitativas revelaram que as amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* apresentam, em sua constituição, espécies do gênero *Hoodia*, devido à confirmação da presença do glicosídeo ativo P57 por ensaios de recuperação. No entanto, do ponto de vista quantitativo, os teores do glicosídeo ativo nas amostras estão abaixo do limite de quantificação do método, sugerindo, assim, que não são capazes de provocar inibição do apetite nas doses recomendadas para o consumo humano.

Palavras-chave: *Hoodia*, CLAE, pó comercial.

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) OF *HOODIA GORDONII* COMMERCIAL POWDER

2 ABSTRACT

Hoodia gordonii is traditionally used by the San people in South Africa due to its properties of appetite suppression and thirst scientifically proven and explained by the presence of active glycoside P57. The scarcity of the plant due to the difficulty of cultivation coupled with the growing demand for products antiobesity on *H. gordonii*, created a setting in which the adulteration of other species or even other genera is a real possibility. In this context, the use of high performance liquid chromatography (HPLC) is presented as a fundamental tool to certify the authenticity of products sold as *H. gordonii*. The aim of this study was to determine the authenticity of commercial samples of *Hoodia gordonii* powder by means of qualitative analysis to confirm the presence or absence of active glycoside P57 in the samples. The tests were performed on C18 column (250 mm x 4.6 mm, 5µm) using a gradient elution of water and acetonitrile, both containing 0.1% acetic acid and using geranyl tiglate default. Qualitative analysis showed that commercial samples of *Hoodia gordonii* powder present in its constitution species of the genus *Hoodia*, due to confirmation of the active glycoside P57 by recovery experiments. However, the quantitative point of view, the contents of the active glycoside in the samples are below the limit of quantification, suggesting that they are unable to produce inhibition of appetite at the doses recommended for human consumption.

Keywords: *Hoodia*, HPLC, commercial powder.

3 INTRODUÇÃO

Hoodia gordonii é tradicionalmente utilizada pelo povo San, na África do Sul, devido as suas propriedades de supressão do apetite. Existem cerca de 13 espécies, descritas até o momento (*H. alstonii*, *H. currorii*, *H. dregei*, *H. flava*, *H. gordonii*, *H. juttae*, *H. mossamedensis*, *H. officinalis*, *H. parviflora*, *H. pedicellata*, *H. pilifera*, *H. ruschii* e *H. triebneri*), como pertencentes ao gênero *Hoodia*. Contudo, devido à comprovada atividade anorexígena atribuída ao glicosídeo ativo P57 (MacLean & Luo, 2004), *H. gordonii* é a espécie que tem despertado maior interesse para comercialização (Avula et al., 2006; Heerden et al., 2007).

No entanto, sendo a *H. gordonii* uma espécie nativa do deserto de Kalahari, no sul do continente africano, seu crescimento fora do ambiente natural é extremamente difícil. Devido à limitada área de cultivo e ao seu lento ciclo de maturação, o suprimento de *H. gordonii* torna-se bastante limitado (Avula et al., 2006). Por isso, ela é atualmente listada como uma espécie ameaçada de extinção e sua exportação é rigorosamente controlada pelo governo da África do Sul e pela Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES¹¹) (Avula et al., 2008).

¹¹CITES é um dos acordos ambientais internacionais mais importantes para a preservação das espécies, tendo a maioria dos países do mundo como signatários, inclusive o Brasil, que aderiu à convenção em 1975. Ele regulamenta a exportação, a importação e a reexportação de animais e plantas, suas partes e derivados, por meio de um sistema de emissão de licenças e certificados que são expedidos quando se cumprem determinados requisitos. Um desses requisitos para expedição de licenças é determinar se determinado tipo de comércio prejudicará ou não a sobrevivência da espécie (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, 2000.).

Ao mesmo tempo, a demanda por produtos para perda de peso contendo *H. gordonii* tem crescido de forma expressiva nos últimos anos. No mercado norte-americano, atualmente, existem mais cem produtos comercializados, sob diversas formas de apresentação (Avula et al., 2007, 2008).

Dessa forma, configura-se um cenário de grande desequilíbrio entre a oferta e a demanda por produtos à base de *H. gordonii*, fazendo com que a adulteração do produto por outras espécies ou, mesmo, outros gêneros torne-se uma possibilidade (Rader et al., 2007; Avula et al., 2008; Heerden et al., 2008).

Dessa forma, o desenvolvimento e ou a otimização de técnicas, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para análises rápidas de produtos comercializados como *H. gordonii*, são cruciais para a determinação de sua autenticidade e segurança para o consumo humano (Avula et al., 2006, 2007; Avula et al., 2008).

Portanto, este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a autenticidade das amostras comerciais do pó de *H. gordonii*, por meio de análises qualitativas e quantitativas que confirmem ou não a presença do glicosídeo ativo P57, empregando para tanto, técnicas de CLAE descritas na literatura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas nos laboratórios de Bioquímica e Química Orgânica, no Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

4.1 Reagentes

O composto padrão geranil tigolato foi adquirido junto a Sigma-Aldrich e gentilmente doado pelo Dr. Hans-Gerd Janssen, professor da University of Amsterdam (Holanda) e pesquisador do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento da Unilever Food and Health Research Institute (Vlaardingen, Holanda).

Os reagentes metanol e acetonitrila grau HPLC foram adquiridos da Merck, o ácido acético glacial grau HPLC da Vetec e a água ultrapura, obtida pelo sistema Milli-Q.

4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência

As análises cromatográficas das amostras comerciais de *H. gordonii* foram realizadas utilizando-se um cromatógrafo com detecção na região UV em 220 nm, após extração das amostras. Todas as medidas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV) foram feitas em um aparelho Shimadzu UFLC equipado com duas bombas (LC 6AD), detector com arranjo de diodos (DAD) (SPD M20A), injetor com auto amostrador (SIL 10AF) e registrador de dados (CBM 20A). A separação foi realizada em uma coluna analítica Nucleosil 120-5 C18 de 250 mm x 4,6 mm empacotada com partículas de 5 µm (Macherey-Nagel GmbH & Co., Alemanha), operada à temperatura ambiente. O volume de injeção usado foi de 10 µL. Para eluição, foram utilizados acetonitrila e ácido

acético grau HPLC e água ultrapura, segundo Avula et al. (2006) e Janssen et al. (2008), com modificações, como apresentado na Tabela 1.

TABELA 1 Esquema de eluição*.

Passo	Tempo (min)	Composição	Descrição
1	0,01	80% A + 20%B	Início
2	35	Crescente até 100% B	Eluição por gradiente
3	40	100%B	Eluição por gradiente
4	45	80% A + 20%B	Recondicionamento
5	50	Fim	

* Segundo Avula et al. (2006) e Janssen et al. (2008), com modificações.

Condições cromatográficas: fase móvel: água (A) e acetonitrila (B) (ambos com 0,1% de ácido acético); detecção: 220 nm UV; fluxo: 0,8 mL min⁻¹.

4.3 Obtenção das amostras comerciais do pó de *H. gordonii*

Duas amostras comerciais do pó comercial de *H. gordonii* (PHG), denominadas HA e HB, foram compradas em farmácias de manipulação dos municípios de Lavras e Juiz de Fora, ambos em Minas Gerais e oriundas de diferentes fornecedores de matérias-primas nacionais, acompanhadas de laudos técnicos de análises realizadas pelos mesmos, mas procedentes originariamente da China.

4.4 Preparo dos extratos do pó comercial de *H. gordonii*

O método de extração do glicosídeo ativo P57 foi realizado de acordo com Janssen et al. (2008), com adaptações, utilizando as duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii*. As duas amostras comerciais do PHG foram extraídas sob refluxo com metanol na proporção 1:10, durante 1 hora, em um

balão de fundo redondo. Depois, a mistura foi deixada em repouso à temperatura ambiente para resfriar sendo, em seguida, centrifugada a 2.500 x g por 10 minutos. O precipitado foi descartado e o sobrenadante (extrato) utilizado nas análises cromatográficas. Antes da injeção na coluna, um volume adequado do extrato (2 mL) foi passado em microfiltro de 0,25 µm Millipore; o primeiro 1,0 mL foi descartado e o volume restante coletado em vial para CLAE. Cada extrato foi injetado em triplicata nas análises.

4.5 Preparo da solução padrão e determinação da curva analítica

O composto padrão geranil tigolato foi escolhido por sua semelhança estrutural com o substituinte 12-tigloilpregnano presente no glicosídeo ativo P57, apresentando, assim, características cromatográficas, como recuperação, repetibilidade e linearidade que, segundo Janssen et al. (2008), o credenciam como padrão externo em análises de amostras de *H. gordonii*. Uma solução estoque do padrão geranil tigolato foi preparada, na concentração de 2×10^{-3} mol L⁻¹, equivalente a 470 µg mL⁻¹ em metanol, a partir da qual foram realizadas diluições para o preparo das soluções de uso. As curvas de calibração foram preparadas com sete diferentes concentrações do padrão no intervalo de 47-1.120 ng mL⁻¹, injetadas em duplicata. A partir dos resultados da curva analítica, foram calculados os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para o método.

4.6 Ensaios de recuperação

Ensaios de recuperação foram realizados para identificação da presença (análise qualitativa) do glicosídeo ativo P57 nas amostras, bem como para confirmar a precisão do método. Para tal, foram realizadas várias injeções da solução padrão e de preparações contendo as amostras HA e HB acrescidas de quantidades conhecidas do padrão (amostras fortificadas). Os valores de

recuperação foram obtidos pela diferença entre a área do pico da amostra fortificada e a área do pico da amostra dividida pela área do pico do padrão, e expressos em porcentagem.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação das condições cromatográficas

Inicialmente, foram injetadas soluções do padrão geranil tigolato para a determinação do tempo de retenção e das concentrações ideais. Na Figura 1 observa-se o cromatograma de uma solução padrão na concentração aproximada de $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, equivalente a $47 \mu\text{g mL}^{-1}$.



FIGURA 1 Cromatograma do padrão geranil tigolato, na concentração de $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

(Condições cromatográficas: coluna analítica de 250 x 4,6 mm, C18 (5 μm), Nucleosil 120-5 Macherey-Nagel; fluxo: $0,8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; fase móvel: água (A) e acetonitrila (B), ambos contendo 0,1% de ácido acético; eluição: iniciando com 80% de A e 20% de B, crescendo gradualmente até 100% B em 35 minutos e mantendo até 40 minutos; depois, houve recondicionamento da coluna, durante 5 minutos, nas condições iniciais).

Verifica-se um tempo de retenção em torno de 33,9 minutos para o padrão geranil tiglatto, próximo ao encontrado por Janssen et al. (2008), em condições semelhantes.

Determinado o tempo de retenção do padrão, foram realizadas injeções subsequentes das amostras HA e HB, para orientar a escolha da concentração ideal do padrão e a construção da curva analítica. Tais análises revelaram que a concentração ideal do padrão a ser utilizada seria em torno de 2×10^{-6} mol L⁻¹, equivalente a 0,47 µg mL⁻¹.

5.2 Curva analítica e parâmetros analíticos

Definidas as condições cromatográficas ideais, foi, a seguir, preparada uma curva analítica. Os sete pontos da curva analítica mostraram correlação linear entre a concentração e a área do pico ($R^2 = 0,9985$), indicando a linearidade da resposta do detector para todas as concentrações do padrão no intervalo considerado.

Adicionalmente, foram calculados os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), equivalentes a 75 ng mL⁻¹ e 250 ng mL⁻¹, respectivamente.

5.3 Análise cromatográfica das amostras do pó comercial de *H. gordonii*

Injeções preliminares das amostras HA e HB resultaram em picos de pequena intensidade, com valores situados no intervalo entre os limites de detecção e de quantificação, mas revelando qualitativamente a presença do glicosídeo P-57 nas amostras. Segundo Avula et al. (2007), isso seria suficiente para garantir a existência de espécies do gênero *Hoodia* em sua composição.

Esses resultados qualitativos atestam que ambas as amostras comerciais apresentam espécies do gênero *Hoodia* em sua composição. Além da *H. gordonii*, outras espécies do gênero, como *H. currorii*, *H. macranth*, *H. parviflora* e *H. ruschii*, também apresentam em sua constituição o glicosídeo P-

57, que, por outro lado, não está presente no principal adulterante de produtos à base de *H. gordonii*, o cactus *Opuntia ficus* (Avula et al., 2006, 2007).

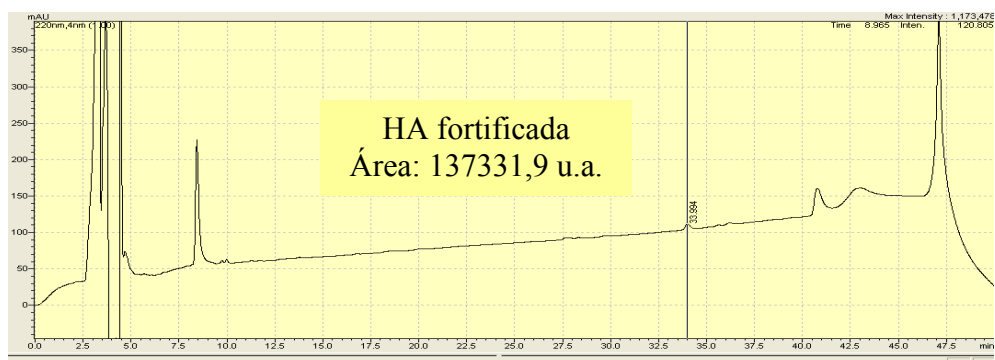
Adicionalmente, no intuito de confirmar a presença do glicosídeo ativo nas amostras comerciais, bem como avaliar a precisão do método, foram realizados ensaios de recuperação. Nesses ensaios, quantidades conhecidas do padrão foram adicionadas às amostras HA e HB, sendo essas preparações (amostras fortificadas) e o padrão puro injetados a seguir no aparelho. Na Figura 2, podem ser observados os cromatogramas dos ensaios de recuperação. Além disso, com o auxílio da curva analítica, foram realizados os cálculos de recuperação do padrão nas amostras fortificadas (Tabela 2) que estiveram no intervalo entre 97,0%-100,6% para o composto padrão geranil tigolato.

Observa-se, pela análise da Figura 2, que tanto o padrão puro quanto as amostras HA e HB fortificadas apresentaram o mesmo perfil cromatográfico após várias corridas (n = 12). Ensaios semelhantes utilizando a fortificação de amostras de *H. gordonii* foram eficazes na confirmação da presença de glicosídeos ativos em produtos comercializados sob diversas apresentações como cápsulas, pós, extratos secos e outros (Avula et al., 2006, 2007, 2008; Janssen et al., 2008).

(a)



(b)



(c)

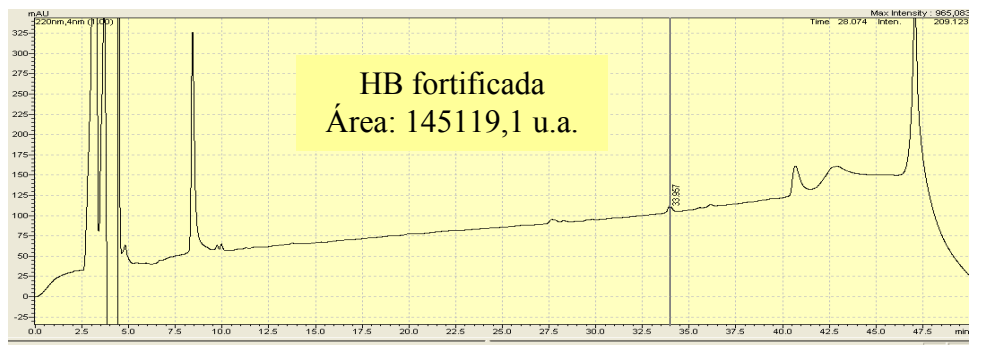


FIGURA 2 Cromatogramas dos ensaios de recuperação: (a) padrão geranil tiglato 2×10^{-6} mol L⁻¹ equivalente a 0,47 $\mu\text{g mL}^{-1}$; (b) amostra HA fortificada com o padrão geranil tiglato 2×10^{-6} mol L⁻¹; (c) amostra HB fortificada com o padrão geranil tiglato 2×10^{-6} mol L⁻¹.

(Condições cromatográficas: coluna analítica de 250 x 4,6 mm, C18 (5 μm), Nucleosil 120-5 Macherey-Nagel; fluxo: 0,8 mL.min⁻¹; fase móvel: água (A) e

acetonitrila (B), ambos contendo 0,1% de ácido acético; eluição: iniciando com 80% de A e 20% de B, crescendo gradualmente até 100% B em 35 minutos e mantendo até 40 minutos; depois, houve recondicionamento da coluna, durante 5 minutos, nas condições iniciais.)

Em adição, verificou-se que as amostras HA e HB fortificadas apresentaram valores de recuperação do padrão de 97,0% e 99,3% (Tabela 2), respectivamente. Esses percentuais de recuperação são muito próximos aos 99% encontrados por Janssen et al. (2008), utilizando o padrão geranil tiglato em análises de amostras comerciais de *H. gordonii*. Portanto, os resultados encontrados para as amostras fortificadas HA e HB permitem confirmar qualitativamente a presença do glicosídeo ativo P57 nas amostras comerciais analisadas e corroboram para garantir a presença de espécies do gênero *Hoodia* em sua constituição.

Análises qualitativas detalhadas para a diferenciação das espécies do gênero *Hoodia* a partir de perfis cromatográficos de 11 glicosídeos, inclusive o P57, presentes nestas espécies já estão disponíveis (Avula et al., 2007), necessitando, no entanto, da disponibilidade de padrões de todos os glicosídeos.

Por outro lado, do ponto de vista quantitativo, os valores encontrados para amostras HA e HB, apesar de detectados, encontram-se abaixo do limite de quantificação calculado de 250 ng mL^{-1} , o que impede a determinação exata dos percentuais do glicosídeo ativo P57 nessas amostras comerciais. No entanto, tomando por base o valor mínimo quantificado que corresponderia a um teor de $2,5 \times 10^{-4}\%$ do glicosídeo ativo, podem ser feitas considerações a respeito do potencial efeito inibidor de apetite das amostras.

TABELA 2 Recuperação do padrão nas duas amostras fortificadas de *H. gordonii*.

	n	Recuperação* (%)	Tempo de retenção (minutos)
Padrão	6	99,9±0,5	33,980±0,14
HA fortificada	6	97,0±0,5	33,994±0,17
HB fortificada	6	99,3±1,3	33,957±0,22

* Calculada pela diferença entre a área do pico da amostra fortificada e a área do pico da amostra, dividida pela área do pico do padrão.

Foi comprovado que aproximadamente 7×10^{-5} g do glicosídeo ativo P57 purificado aplicados diretamente no cérebro de ratos foram eficazes na redução de cerca de 50% na ingestão alimentar (MacLean & Luo, 2004). Levando-se em conta a dose recomendada para adultos de, no máximo, 2 g/dia do pó comercial, pode-se calcular que, nessa quantidade ingerida, existem menos que 5×10^{-6} g do glicosídeo ativo (calculado a partir do valor equivalente ao LQ), que é cerca de 10 vezes menor que a quantidade necessária para uma resposta efetiva em ratos. Portanto, considerando, hipoteticamente, um teor de P57 no pó comercial ($2,5 \times 10^{-4}\%$), a quantidade de P57 (5×10^{-6} g) contida na dose recomenda para humanos (2 g/dia) e a dose efetiva de inibição de apetite em ratos (7×10^{-5} g do glicosídeo ativo) extrapolada para humanos (10^{-3} g), conclui-se que seria necessária a ingestão de pelo menos 400 g/dia das amostras comerciais HA e HB para uma resposta efetiva na inibição do apetite em um indivíduo adulto de 70 kg.

Obviamente, na prática, esses valores de ingestão deverão ser maiores, pois, no estudo citado, o efeito de inibição foi conseguido após administração direta intracerebral do glicosídeo ativo purificado, não submetido ao processo de digestão que ocasiona perdas, demandando, dessa forma, maiores quantidades de princípio ativo. Conclui-se, portanto, que a dose máxima recomendada (2 g/dia)

dos pós comerciais analisados contém quantidades do glicosídeo ativo P57 totalmente insuficientes para a obtenção do suposto efeito de inibição do apetite.

Outra comparação pode ser realizada tomando como base ensaios de ingestão de *H. gordonii* por ratos, que demonstraram ser necessário o consumo de cerca de 2 g da planta/kg de peso corporal para a obtenção da DE₅₀ (dose efetiva para obtenção de resposta em 50% dos animais estudados) de inibição do apetite (Tulp et al., 2001). Tal resultado encontrado com amostras autênticas da planta sugere uma ingestão para adultos de cerca de 140 g/dia da planta. No estudo citado, no entanto, não foram realizadas análises do teor do princípio ativo nas amostras. Cabe, portanto, ressaltar a importância de estudos com *H. gordonii* que envolvam ensaios biológicos de ingestão prolongada, associados à determinação do teor de princípio ativo nas amostras analisadas para determinação da dose efetiva, que são, até o momento, inexistentes.

Apenas recentemente, estudos têm demonstrado os teores do glicosídeo P57 em diversas amostras comercializadas como *H. gordonii*, que incluem extratos secos, cápsulas, pós, tabletes, suplementos dietéticos e chás, entre outros. Segundo Avula et al. (2006) e Avula et al. (2008), especificamente para amostras autênticas de plantas do gênero *Hoodia*, os teores do glicosídeo ativo podem variar bastante com valores situados entre 0,0051% e 0,218% de matéria seca, dependendo da espécie. Análises por CLAE de amostras de plantas revelaram teores de P57 de 0,047% e 0,0051%. Porém, de dez suplementos dietéticos analisados (cápsulas e tabletes), em apenas dois foi detectada a presença do glicosídeo ativo com teores de 0,17% e 0,0048% (Avula et al., 2006). Em ensaio semelhante, analisando 35 produtos comerciais em diversas apresentações (cápsulas, tabletes, pós, chás, géis, sucos, spray e barras), foi demonstrado que, em 26 deles, não foi detectada a presença do glicosídeo, enquanto nos outros 9, apenas em 4 foi possível determinar os teores de P57 já

que nas outras 5 amostras os teores detectados ficaram abaixo do limite de quantificação, permitindo apenas a identificação qualitativa (Avula et al., 2008).

Esses resultados são, portanto, semelhantes aos encontrados para as amostras HA e HB analisadas neste trabalho, em que foi possível apenas a determinação qualitativa do glicosídeo ativo P57. Além disso, fica explícita, pelos resultados deste trabalho e dos demais citados, a falta de padronização e fiscalização dos produtos comercializados como *H.gordonii*, sugerindo, assim, a necessidade de análises de controle de qualidade, antes que os mesmos sejam liberados para o consumo. A implementação de protocolos de análises de controle de qualidade para produtos comerciais à base de *Hoodia* justifica-se devido à presença do glicosídeo ativo P57 em várias espécies do gênero (*H. currorii*, *H. macranth*, *H. parviflora* e *H. ruschii*) e não somente em *H. gordonii*. Assim, tais ações devem visar a garantia de sua autenticidade e identidade, a definição de teores mínimos aceitáveis do glicosídeo ativo P57 em amostras comerciais e, ao mesmo tempo, servir de pré-requisitos para a liberação para a comercialização e o consumo humano.

Esses dados da literatura, aliados aos teores de P57 encontrados neste trabalho e à falta de informações por parte dos fornecedores quanto à origem e ao preparo dos extratos, sugerem que as amostras comerciais analisadas HA e HB, se consumidas nas doses recomendadas (2 g/dia), não são capazes de provocar inibição do apetite.

6 CONCLUSÃO

Análises qualitativas por CLAE revelam que as amostras comerciais do pó de *H. gordonii* apresentam, em sua constituição, espécies do gênero *Hoodia*, devido à confirmação da presença do glicosídeo ativo P57. No entanto, do ponto de vista quantitativo, os teores do glicosídeo ativo nas amostras estão abaixo do limite de quantificação do método, sugerindo, assim, que, nas doses recomendadas para o consumo humano, não são capazes de provocar inibição do apetite.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; KHAN, I. A. Chemical fingerprinting of *Hoodia* species and related genera: chemical analysis of oxypregnane glycosides using high-performance liquid chromatography with UV detection in *Hoodia gordonii*. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 90, n. 6, p. 1526-1531, Nov. 2007.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; KHAN, I. A. Determination of the appetite suppressant P57 in *Hoodia gordonii* plant extracts and dietary supplements by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (LC-MSD-TOF) and LC-UV methods. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 89, n. 3, p. 606-611, May/June 2006.

AVULA, B.; WANG, Y.; PAWAR, R. S.; SHUKLA, Y. J.; SMILLIE, T. J.; KHAN, I. A. A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera and dietary supplements using UPLC-UV-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 48, n. 3, p. 722-731, Nov. 2008.

HEERDEN, F. R. van. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 119, n. 3, p. 434-437, Oct. 2008.

HEERDEN, F. R. van; HORAK, R. M.; MAHARAJ, V. J.; VLEGGAR, R.; SENABE, J. V.; GUNNING, P. J. An appetite suppressant from *Hoodia* species. **Phytochemistry**, New York, v. 68, n. 20, p. 2545-2553, Oct. 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Convenção sobre o comércio internacional de espécies da flora e fauna selvagens em perigo de extinção**. Rio de Janeiro, 2000. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/flora/convecao>>. Acesso em: 11 mar. 2010.

JANSSEN, H.; SWINDELLS, C.; GUNNING, P.; WANG, W.; GRÜN, C.; MAHABIR, K.; MAHARAJ, V. J.; APPS, P. J. Quantification of appetite suppressing steroid glycosides from *Hoodia gordonii* in dried plant material, purified extracts and food products using HPLC-UV and HPLC-MS methods. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 617, n. 1/2, p. 200-207,

MACLEAN, D. B.; LUO, L. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1020, n. 1/2, p. 1-11, Sept. 2004.

RADER, J. I.; DELMONTE, P.; TRUCKSESS, M. W. Recent studies on selected botanical dietary supplement ingredients. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 389, n. 1, p. 27-35, Sept. 2007.

TULP, O. L.; HARBI, N. A.; MIHALOV, J.; DERMARDEROSIAN, A. Effect of *Hoodia* plant on food intake and body weight in lean and obese LA/Ntvl//cp rats. **The FASEB Journal**, Bethesda, v. 15, n. 4, p. 404-409, Mar. 2001.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstram, portanto, a necessidade de implantação de procedimentos de padronização, fiscalização e controle de produtos à base de *H. gordonii*, antes que os mesmos possam ser novamente liberados para o consumo humano. Tais procedimentos devem visar à certificação da autenticidade, à determinação dos teores de glicosídeo ativo P57 e, principalmente, à padronização das doses efetivas a serem utilizadas.

Os resultados sugerem, ainda, que eventuais efeitos farmacológicos de inibição do apetite e da sede e diminuição do peso supostamente atribuídos ao consumo do pó comercial de *H. gordonii* são, na realidade, puramente psicológicos e/ou ilusórios. Esta afirmação fundamenta-se no fato de que, na maioria dos casos, o início do consumo de produtos para emagrecimento, normalmente, está associado a uma mudança de hábitos do indivíduo, que incluem dieta, reeducação alimentar, atividade física regular e combate ao sedentarismo, que são, de fato, os verdadeiros responsáveis pelos efeitos benéficos atribuídos erroneamente ao simples consumo desses produtos.

Finalmente, fica evidenciada a importância de comprovação científica de produtos fitoterápicos empregados a partir de conhecimentos etnobotânicos e etnofarmacológicos para o combate de diversas doenças e distúrbios e, em especial, a obesidade. Fundamenta-se, dessa forma, a preocupação da Anvisa em relação à regulamentação de fitoterápicos, visto que, na maioria absoluta dos casos, esses produtos são consumidos indiscriminadamente pela população em geral como primeiro recurso terapêutico, devido ao fácil acesso, ao baixo custo e à crença na ausência de efeitos prejudiciais e sem necessidade de prescrição médica.

PERSPECTIVAS

Realizar análises de constituintes químicos, inibidores de enzimas digestivas e cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando amostras certificadas da planta *H. gordonii*, visando à comparação dos resultados com aqueles obtidos para as amostras dos pós comerciais e esclarecimentos acerca da autenticidade dos mesmos.

Realizar ensaios biológicos com ratos obesos, utilizando amostras certificadas da planta *H. gordonii* e do glicosídeo ativo P57 purificado, a fim de avaliar os propostos efeitos de inibição do apetite e da sede e redução do peso, bem como buscar elucidações sobre a hipótese de um mecanismo de ação relacionado aos hormônios leptina, insulina e grelina.

Empregar cromatografia gasosa para análise qualitativa e quantitativa do glicosídeo P57 em amostras de pós comerciais e de plantas certificadas.

Realizar análises de CLAE visando à investigação de outros glicosídeos presentes no fitoterápico que possam também estar envolvidos nos supostos efeitos de inibição do apetite e da sede, até agora atribuídos somente ao glicosídeo P57.

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância dos níveis médios sanguíneos de indicadores bioquímicos, nos três grupos de tratamento.....	113
TABELA 2A	Resumo da análise de variância dos níveis médios sanguíneos de indicadores endócrinos, nos três grupos de tratamento.....	113
TABELA 3A	Resumo da análise de variância da contagem de glóbulos brancos, para os três grupos de tratamento.....	113
TABELA 4A	Resumo da análise de variância da curva de crescimento dos ratos, durante os 28 dias de experimento de cada tratamento.....	114
TABELA 5A	Resumo da análise de variância dos níveis médios sanguíneos de indicadores do efeito terapêutico, nos três grupos de tratamento.....	114

TABELA 1A Resumo da análise de variância dos níveis médios sanguíneos de indicadores bioquímicos, nos três grupos de tratamento.

FV	GL	Quadrado médio				
		Glicose	Triglicérides	Colesterol	HDL	Gama-GT
Grupo	2	31,8305 _{NS}	113,9226 ^{NS}	320,5973 _{NS}	53,8470 _{NS}	9,8188 _{NS}
Resíduo	25	558,9907	191,9538	259,7172	29,0012	8,9637
CV (%)		17,3	18,7	17,9	9,1	3,1
Média geral		136,3	74,1	89,9	59,3	96,8

^{NS} Teste F não significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 2A Resumo da análise de variância dos níveis médios sanguíneos de indicadores endócrinos nos três grupos de tratamento.

FV	GL	Quadrado médio	
		Leptina	Insulina
Grupo	2	0,0237 ^{NS}	1,7957 ^{NS}
Resíduo	25	0,0524	1,4188
CV (%)		14,0	6,9
Média geral		1,63	17,08

^{NS} Teste F não significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 3A Resumo da análise de variância da contagem de glóbulos brancos, para os três grupos de tratamento.

FV	GL	Neutrófilos	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos
Grupo	2	13,9043 ^{NS}	22,5115 ^{NS}	2,5392 ^{NS}	0,2543 ^{NS}
Resíduo	25	8,6062	36,6262	1,3440	0,2582
CV (%)		20,9	7,6	21,5	52,73
Média geral		15,0	79,0	5,0	1,0

^{NS} Teste F não significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 4A Resumo da análise de variância da curva de crescimento dos ratos, durante os 28 dias de experimento de cada tratamento.

FV	GL	Quadrado médio				
		Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Grupo	2	51,6299 _{NS}	219,0012 _{NS}	193,6235 _{NS}	54,4961 _{NS}	107,2419 _{NS}
Resíduo	25	55,7487	195,0070	290,4519	234,0303	220,3159
CV (%)		8,8	12,8	12,6	9,3	8,0
Média geral		85,08	108,73	135,26	165,11	184,68

^{NS} Teste F não significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 5A Resumo da análise de variância dos níveis médios sanguíneos de indicadores do efeito terapêutico, nos três grupos de tratamento.

FV	GL	Quadrado médio				
		Ganho de peso médio	Consumo médio de ração	Consumo médio de água	RCRP	RCAP
Grupo	2	5,9926 ^{NS}	5,0788 ^{NS}	105,8611 _{NS}	1,3844 _{NS}	5,9947 _{NS}
Resíduo	25	196,0162	8,2120	56,8525	1,1762	3,9590
CV (%)		14,9	18,4	30,8	9,1	11,1
Média geral		93,77	15,58	24,48	11,87	17,91

^{NS} Teste F não significativo, a 5% de probabilidade.

RCRP Relação consumo de ração/peso animal

RCAP Relação consumo de água/peso animal