

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ

PAULA ALVES SALMITO RODRIGUES

**POTENCIAL TERAPÊUTICO NO TRATAMENTO DO DIABETES MELITO DE
COMPOSTOS ISOLADOS DO PÓ DA CERA DE CARNAÚBA (ÉSTERES DO
ÁCIDO CINÂMICO) EM CAMUNDONGOS**

FORTALEZA – CEARÁ

2013

PAULA ALVES SALMITO RODRIGUES

POTENCIAL TERAPÊUTICO NO TRATAMENTO DO DIABETES MELITO DE
COMPOSTOS ISOLADOS DO PÓ DA CERA DE CARNAÚBA (ÉSTERES DO
ÁCIDO CINÂMICO) EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Nutrição e Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Área de Concentração: Nutrição e Saúde.

Orientadora: Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Izabel Florindo Guedes.

FORTALEZA – CEARÁ

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Estadual do Ceará
Biblioteca Central Prof. Antônio Martins Filho
Bibliotecário Responsável – Francisco Welton Silva Rios – CRB-3 / 919

R696p Rodrigues, Paula Alves Salmito
Potencial terapêutico no tratamento do diabetes melito de compostos isolados do pó da cera de carnaúba (ésteres do ácido cinâmico) em camundongos / Paula Alves Salmito Rodrigues. — 2013.
CD-ROM. 80 f. ; il. (algumas color.) : 4 ¾ pol.

“CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm)”.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Curso de Mestrado Acadêmico em Nutrição e Saúde, Fortaleza, 2013.
Área de Concentração: Nutrição Experimental.
Orientação: Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira.
Co-orientação: Maria Izabel Florindo Guedes.

1. Cera de carnaúba. 2. Ésteres do ácido cinâmico. 3. Diabetes melito. Título.

CDD: 630

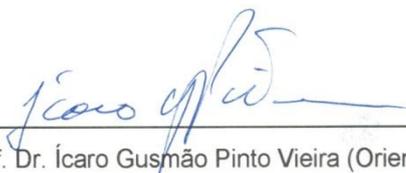
PAULA ALVES SALMITO RODRIGUES

“Potencial terapêutico no tratamento do diabetes melito de compostos isolados do pó da cera de carnaúba (ésteres do ácido cinâmico) em camundongos”

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Nutrição e Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, requisito para obtenção do Título de Mestre.

Aprovada em: 22 / 02 / 2013

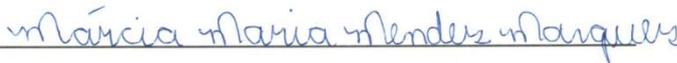
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira (Orientador)
Universidade Estadual do Ceará – UECE



Profa. Dra. Maria do Socorro Moura Rufino
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – Unilab



Profa. Dra. Márcia Maria Mendes Marques
Universidade Estadual do Ceará – UECE

Dedico este trabalho a pessoas especiais
que fazem parte da minha vida:

Aos meus pais,

Amigos,

Professores,

E principalmente a Deus, porque sem Ele
nada disso teria se realizado,

Muito obrigada Senhor!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por todo carinho, amor e apoio em todos os momentos da minha vida, especialmente neste.

A toda minha família, que me apoiou e soube entender meus momentos de ausência durante a realização desta pesquisa.

A todos os bolsistas e funcionários do Laboratório de Bioquímica da UECE e do PADETEC, por toda atenção e auxílio neste trabalho.

Aos meus colegas Deusdet, Thaís, Rafaela e Tadeu por terem me ajudado muito na parte experimental com animais nesta pesquisa.

Aos professores Issac, Márcia e Soraya pela inestimável contribuição nesta pesquisa, sem a qual seria muito difícil a concretização da mesma.

Aos professores Ícaro Gusmão e Izabel Guedes, por toda paciência e pela ótima orientação na elaboração deste trabalho.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo apoio financeiro como bolsista.

Ao Banco do Nordeste do Brasil pelo apoio financeiro que deu à esta pesquisa.

À Universidade Estadual do Ceará, onde me graduei como nutricionista e realizei este curso de Mestrado em Nutrição e Saúde e que, apesar de todas as dificuldades que um órgão público enfrenta, foi fundamental para aprimorar meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradecimento especial a Pontes Indústria de Ceras LTDA, que forneceu o pó da cera de carnaúba para realização desta pesquisa.

RESUMO

O diabetes *melito* é um grupo de doenças caracterizado por hiperglicemia associada a complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos, podendo resultar de defeitos de secreção e/ou ação da insulina. Atualmente, no Brasil existem cerca de seis milhões de diabéticos e estima-se que esse número pode dobrar até 2030, chegando a 11,3 milhões. Recentemente, foi isolado da cera da carnaúba um composto químico constituído por ésteres do ácido cinâmico encontrados no Pó Cerífero de Origem (PCO-C), que apresentou efeitos hipolipemiantes e hipoglicemiantes em animais. Sob o ponto de vista químico, a cera de carnaúba (PCO-C) é composta de uma mistura de muitas substâncias, predominantemente ésteres. Os testes toxicológicos e ecotoxicológicos mostraram que a cera de carnaúba é um produto atóxico e que não agride o meio ambiente. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial terapêutico do PCO-C no tratamento de animais diabéticos, observando seu efeito hipoglicêmico. O estudo do efeito do PCO-C *in vivo* foi desenvolvido em grupos de camundongos com diabetes melito induzido por aloxano (120 e 150 mg/Kg, em dias consecutivos), via intraperitoneal, e tratados com PCO-C (100, 125 e 150 mg/Kg), água e glibenclamida (10 mg/Kg). Ao final do protocolo de indução e do tratamento, amostras de sangue foram coletadas para a determinação dos níveis sorológicos de glicose. Além disso, os animais foram pesados uma vez por semana a fim de verificarmos se o composto em estudo possui efeito sobre o peso. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para analisar a significância das diferenças entre os dados foi utilizado a ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls, sendo considerados significativos resultados que apresentavam $p < 0,05$. O composto PCO-C foi identificado e caracterizado como diésteres do ácido 4-metoxicinâmico, que apresentou importantes efeitos hipoglicemiantes quando comparados à glicemia inicial (período pós-indução do diabetes). Este fitocomposto mostrou uma ação hipoglicemiante semelhante e até melhor que a droga de referência (glibenclamida), quando utilizado nas doses de 100 e 150 mg/Kg, sendo a última, mais eficaz no controle dos níveis glicêmicos. PCO-C não teve efeito sobre a redução de peso dos animais (diabéticos e não-diabéticos), tendo este parâmetro permanecido estável durante todo o período do experimento. O fitocomposto apresentou um melhor controle no ganho de peso quando comparado à glibenclamida. Portanto, acreditamos na hipótese de que esse composto possa ter ação a nível de expressão gênica, estimulando os genes responsáveis pela produção de insulina nas células beta do pâncreas, pois não apresentou ação sobre o peso dos animais deste estudo, apenas um melhor controle de peso que a droga de referência (glibenclamida).

Palavras-chave: Cera da carnaúba; Ésteres do ácido cinâmico; Diabetes *melito*.

ABSTRACT

Diabetes *mellitus* is a group of diseases characterized by hyperglycemia associated with complications, dysfunction and failure of various organs, which may result from defects in secretion and / or insulin action. Currently in Brazil there are about six million diabetics, and it is estimated that this number could double by 2030, reaching 11.3 million. It was recently isolated from carnauba's wax one chemical compound consisting of cinnamic acid's esters found in the wax-maker dust (PCO-C), which showed hypolipidemic and hypoglycemic effects in animals. From the chemical point of view, carnauba's wax (PCO-C) is composed of a mixture of many substances, predominantly esters. The toxicological and ecotoxicological tests showed that carnauba's wax is a product nontoxic and does not harm the environment. This study aimed to evaluate the therapeutic potential of PCO-C in the treatment of diabetic animals, observing its hypoglycemic effect. The study of the effect of PCO-C *in vivo* was conducted in groups of mice with diabetes induced by alloxan (120 and 150 mg/Kg, on consecutive days) intraperitoneally and treated with PCO-C (100, 125 and 150 mg/kg), water and glibenclamide (10 mg/Kg). At the end of the induction protocol and treatment, blood samples were collected to determine serum glucose levels. Additionally, animals were weighed once per week to check whether the test compound has an effect on the weight. Data were expressed as mean \pm standard error of mean (SEM). To analyze the significance of differences among data was used ANOVA followed by Newman-Keuls test were considered significant results had $p < 0.05$. The compound PCO-C was identified and characterized as diesters of 4-methoxycinnamic acid, which showed significant hypoglycemic effect compared to baseline blood glucose (post-induction of diabetes). Moreover, this fitocomposto showed a hypoglycemic action similar or even better than the reference drug (glibenclamide) when used at doses of 100 and 150 mg/Kg, the latter being more effective in the control of blood glucose levels. PCO-C had no effect on weight reduction of livestock (diabetic and non-diabetic), and this parameter remained stable throughout the experimental period. However, the fitocomposto showed better control weight gain when compared to glibenclamide. Therefore, we believe the hypothesis that this compound may have the action level of gene expression, stimulating the genes responsible for insulin production in the beta cells of the pancreas, because it did not present action on the weight of the animals in this study, only better weight control than the reference drug (glibenclamide).

Keywords: Carnauba's wax; Esters of cinnamic acid; Diabetes *mellitus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Representação da estrutura da metformina (a), glibenclamida (b) e acarbose (c).....	25
Figura 2 –	Ação do efeito da insulina na célula.....	26
Figura 3 –	Representação da estrutura química das saponinas isoladas da <i>Swartzia langsdorffii</i>	30
Figura 4 –	Estrutura química da criptolepina.....	30
Figura 5 –	Estrutura química da fraxidina.....	31
Figura 6 –	Estrutura do ácido 4-hidrozinbenzóico.....	31
Figura 7 –	Representação da estrutura da galocatequina (a), epicatequina (b), epigalocatequina (c) e galato de epigalocatequina (d).....	32
Figura 8 –	Estrutura da Rutina (a) e isoquercetina (b).....	33
Figura 9 –	Estrutura da quercetina.....	33
Figura 10 –	<i>Copernicia cerífera</i> Mart. (Carnaúba).....	35
Figura 11 –	Ceras da Carnaúba.....	37
Figura 12 –	Representação da estrutura do 3 – metoxi - 4 - hidroxicinâmico (a); 4 - metoxicinâmico (b); e 4 - hidroxicinâmico (c), presentes na cera de carnaúba.....	41
Figura 13 –	Folha olho (não-aberta) da carnaúba.....	45
Figura 14 –	Representação da estrutura do PCO-C (Diéster do ácido 4-metoxicinâmico).....	46
Figura 15 –	Representação da estrutura do Aloxano.....	49
Figura 16 –	Espectro de absorção na região do infravermelho do PCO-C (ésteres do ácido cinâmico).....	51
Figura 17 –	Espectro de RMN ¹ H de PCO-C (δ , CDCl ₃ , 500,13 MHz).....	52
Figura 18 –	Espectro de RMN ¹ H de PCO-C (Expansão de 3,32 a 8,08 δ , CDCl ₃ , 500,13 MHz).....	52
Figura 19 –	Estrutura do diéster do ácido 4-metoxicinâmico com respectiva numeração.....	53
Figura 20 –	Cromatograma do PCO-C (spot a), PCO-C hidrolisado - material saponificável-ácidos aromáticos (spot b), insaponificável do PCO-C (spot c).....	54

Figura 21 – Efeito do PCO-C nos níveis sorológicos de glicose em camundongos diabéticos.....	55
Figura 22 – Análise de Correlação entre o tempo de administração do PCO-C na dose de 150mg/Kg e níveis glicêmicos.....	57
Figura 23 – Efeito do PCO-C no peso de camundongos diabéticos.....	59
Figura 24 – Estrutura dos constituintes do gama-orizanol.....	66
Figura 25 – Estrutura da capsaicina.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Relação do número médio de palha por kg de pó, de acordo com a idade da palmeira.....	38
Tabela 2 –	Volume de exportações (toneladas) de Cera de Carnaúba segundo o Brasil e Principais Estados, 1990 – 2006.....	39
Tabela 3 –	Composição química para cera Tipo 1.....	40
Tabela 4 –	Deslocamento químico do diéster do ácido 4-metoxicinâmico (PCO-C) dados espectro RMN1H.....	53
Tabela 5 –	Níveis sorológicos de glicose de jejum em camundongos diabéticos induzidos por aloxano e não-diabéticos, tratados durante 21 dias com água, glibenclamida e diferentes doses de PCO-C.....	58
Tabela 6	Efeito do PCO-C no peso de camundongos diabéticos induzidos por aloxano e não-diabéticos, tratados durante 21 dias com água, glibenclamida e diferentes doses de PCO-C.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CG/MS	Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa
CO ₂	Gás Carbônico
DM	Diabetes Melito
DMG	Diabetes Melito Gestacional
DM 1	Diabetes Melito Tipo um
DM 2	Diabetes Melito Tipo dois
EPM	Erro Padrão da Média
FM	Fase Móvel
GN	Grupo Controle Negativo
GNN	Grupo Controle Negativo Negativo
GH ₂ O	Grupo Controle Positivo
G100	Grupo Diabético PCO-C 100 mg
G125	Grupo Diabético PCO-C 125 mg
G150	Grupo Diabético PCO-C 150 mg
GG	Grupo Diabético Glibenclamida
HbA1c	Hemoglobina Glicosilada
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IG	Índice Glicêmico
IV	Infravermelho
KBR	Brometo de Potássio
LACT	Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
M	Molar
OMS	Organização Mundial da Saúde
PADETEC	Parque de Desenvolvimento Tecnológico
PCO-C	Pó Cerífero de Origem

PF	Ponto de Fusão
pH	Potencial de Hidrogênio
ppm	Partes por Milhão
RF	Índice de Retenção
RMN'H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPM	Rotação por Minuto
T1	Tipo um
TTG	Teste de Tolerância à Glicose
UECE	Universidade Estadual do Ceará
UFC	Universidade Federal do Ceará
VET	Valor Energético Total

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	DIABETES <i>MELITO</i>	20
2.1.1	Diagnóstico.....	22
2.1.2	Tratamento.....	22
2.1.2.1	Tratamento Medicamentoso.....	23
2.1.2.2	Tratamento com Insulina – Insulinoterapia.....	25
2.2	PRODUTOS NATURAIS.....	27
2.3	PLANTAS COM AÇÃO HIPOGLICÊMICA.....	28
2.4	CARNAÚBA.....	34
2.4.1	Cera da Carnaúba.....	37
2.4.2	Composição química da cera de carnaúba.....	40
3	JUSTIFICATIVA.....	42
4	OBJETIVOS.....	44
4.1	GERAL.....	44
4.2	ESPECÍFICOS.....	44
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
5.1	COLETA DO MATERIAL.....	45
5.1.1	Procedimentos Experimentais.....	46
5.1.1.1	Extração e Isolamento do PCO-C (Diesteres do Ácido 4-Metoxicinâmico)	46
5.1.1.2	Hidrólise do PCO-C (diésteres do ácido 4-metoxicinâmico).....	47
5.1.1.3	Diluição da cera e da glibenclamida.....	47
5.2	ANIMAIS.....	47
5.3	INDUÇÃO DO DIABETES MELITO.....	48
5.4	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	49
5.4.1	Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 100, 125 e 150 mg/Kg de peso do animal; e Glibenclamida na dose de 10 mg/Kg em camundongos diabéticos.....	49

5.4.2	Avaliação do peso de camundongos diabéticos submetidos ao tratamento com PCO-C nas doses de 100, 125 e 150 mg/kg; Glibenclamida na dose de 10 mg/kg; e camundongos não diabéticos submetidos ao tratamento com 150 mg/Kg de PCO-C....	50
5.5	DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS.....	50
5.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
6	RESULTADOS.....	51
6.1	CONSTITUINTES QUÍMICOS DO PCO-C.....	51
6.2	ESTUDO DO EFEITO DO PCO-C NAS CONCENTRAÇÕES SOROLÓGICAS DE GLICOSE DE CAMUNDONGOS DIABÉTICOS TRATADOS E NÃO-TRATADOS.....	55
6.3	ESTUDO DO EFEITO DO PCO-C NO PESO DE CAMUNDONGOS DIABÉTICOS TRATADOS E NÃO-TRATADOS.....	59
7	DISCUSSÃO.....	62
8	CONCLUSÃO.....	70
	REFERÊNCIAS.....	71
	ANEXO – COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL.....	80

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes mellitus (DM) é considerado um dos principais problemas de saúde em todo o mundo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES-SBD, 2009). Segundo Coeli (2002), o aumento da prevalência do diabetes em países em desenvolvimento tem se intensificado nas últimas décadas. No Brasil, estima-se que até o ano de 2030 o número de diabéticos em todo país será de aproximadamente 11,3 milhões de pessoas (BRASIL, 2006).

A Sociedade Brasileira de Diabetes descreve cerca de dez tipos da enfermidade, sendo o do Tipo 1, Tipo 2 e o Gestacional os de maior frequência no país. Esta enfermidade possui etiologia variada, caracterizada por uma deficiência parcial ou total de insulina e/ou incapacidade desta em exercer adequadamente as suas funções, levando à hiperglicemia crônica (CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DIABETES, 2002).

O tratamento do diabetes requer alterações no modo de vida do paciente para um melhor controle desta patologia. Os pilares para o tratamento bem sucedido do diabetes baseia-se em: terapia nutricional, atividade física, monitoração da glicose sanguínea e medicações, quando necessário. Um ponto importante do tratamento nutricional é manter o melhor controle possível da glicemia (através do controle na ingestão de carboidratos), lipidemia, pressão sanguínea e prevenir o ganho excessivo de peso (ADA, 2002; FRANZ, 2005).

Grande parte da população mundial ainda utiliza plantas medicinais para o tratamento de diversas enfermidades. Este fato deve-se, principalmente, à dificuldade em usufruir da medicina moderna, em virtude do elevado custo, muitas vezes associado ao difícil acesso a estes medicamentos. O uso de plantas medicinais sob várias formas de apresentação é bastante comum. O hábito do consumo de produtos naturais possui um aspecto importante, pois o conhecimento sobre plantas medicinais é de domínio popular e os países em desenvolvimento e subdesenvolvidos contêm um forte componente social e cultural, pois estes vegetais muitas vezes representam o único recurso terapêutico para muitas comunidades (ALVES, 2007).

Farnsworth e Soerjato (1985) já haviam assinalado que uma centena de drogas empregadas na medicina tradicional tinham origem vegetal e sua indicação,

em mais de 74% dos casos, coincidia com aquela empregada pelas comunidades tradicionais.

A Organização Mundial de Saúde-OMS (1991) vem desempenhando um papel ativo na identificação e na produção de fitoterápicos seguros e eficazes. Em junho de 2006, o Decreto Nº 5.813 instituiu a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, a qual estabelece as diretrizes para a atuação do governo brasileiro na área de plantas medicinais e fitoterápicos. Esta política tem com finalidade promover a implementação de ações capazes de promover melhorias na qualidade de vida da população (BRASIL, 2006).

No Brasil, provavelmente um dos maiores problemas enfrentados na comercialização (nacional ou internacional) de fitoterápicos é a falta de garantia quanto à sua eficácia, segurança e qualidade, padrões estes mensurados em bases científicas (SIANI; GILBERT, 2000). Assim como em outras enfermidades, não é difícil encontrar tratamentos alternativos para o diabetes que prometem a cura total ou o estacionamento da doença. Alarcon-Aguilar et al. (1998) descrevem o uso de aproximadamente 800 espécies de plantas para o combate do diabetes.

A maioria das plantas que são utilizadas no tratamento do diabetes, ao serem farmacologicamente avaliadas, apresentam atividade hipoglicemiante e possuem constituintes químicos que podem ser utilizados como modelos para novos agentes no tratamento desta disfunção. Há uma grande diversidade de classes químicas encontradas nos fitoterápicos utilizadas para o tratamento do diabetes, entre elas os triterpenóides, alcalóides, cumarinas e flavonóides, indicando que uma grande variedade de mecanismos de ação podem estar envolvidos na redução do nível de glicose no sangue. Os estudos feitos com as plantas medicinais usadas tradicionalmente no tratamento do diabetes *melito*, vêm demonstrando que a maioria destas possuem característica hipoglicemiante, confirmando, desta forma, a sua utilização como antidiabético na medicina popular. Muitas plantas exercem efeito hipoglicemiante, atribuído a vários mecanismos de ação que, muitas vezes, ainda não foram completamente elucidados. Algumas plantas utilizadas podem ser tóxicas, logo, não são terapêuticamente úteis. Por isso, é necessário encontrar plantas que possam oferecer eficácia terapêutica e saúde (NEGRI, 2005).

A *Copernicia cerífera* Mart., conhecida popularmente como Carnaúba, Carnaubeira ou Carandá, é uma palmeira nativa do semiárido nordestino, e é apontada como uma das mais valiosas árvores, do ponto de vista econômico para o

Nordeste, razão pela qual os nordestinos atribuíram-lhe o título de “a árvore da vida”, pois dela tudo é aproveitado (FORTE, 2003; RODRIGUES, 2004).

A carnaubeira frutifica de novembro a março. Os frutos da carnaúba, inteiros, são principalmente aproveitados pelos animais de criação. As folhas são pecioladas, verde-esbranquiçadas e em forma de leque, com até 1 metro de comprimento. As células epidérmicas das folhas da carnaúba são recobertas por uma camada cerífera. Na região semiárida, a alta temperatura do ambiente aumenta a transpiração da planta, enquanto a salinidade dos solos eleva a concentração do suco celular da folha, dois fatores que, conjugados, estimulam a produção de cera pela carnaúba como meio de defesa contra a perda de água (PIO CORREA, 1931; CARVALHO, 1982; SILVA, 2001).

A cera de carnaúba, que sem dúvida é o produto com maior valor comercial extraído desta planta, resulta da síntese clorofiliana, formado no interior das células vegetais das folhas da carnaúba, composto por uma combinação de ácidos e álcoois (D’ALVA, 2007).

O período de exploração da carnaúba para a extração do pó ocorre entre os meses de julho a dezembro, ou seja, na estiagem, período que inviabiliza a agricultura familiar devido à ausência de chuvas. Desse modo, o extrativismo da carnaúba oferece ocupação e complemento de renda para inúmeros trabalhadores rurais numa época extremamente difícil à obtenção de alguma renda monetária. (FORTE, 2003).

As características físico-químicas da cera de carnaúba proveniente das palhas-olho (folhas não-abertas) são diferentes das extraídas das palhas verdes (folhas abertas), pois a clorofila e a xantofila se encontram dissolvidas no produto cerífero. Nas palhas-olho o percentual de clorofila é menor que os das palhas verdes, por isso o pó cerífero do olho ser de cor branca, que produzirá uma cera de coloração amarelo-clara. As palhas verdes produzem um pó de coloração verde-acinzentada que produzirá uma cera de coloração escura (D’ALVA, 2007). Sob o ponto de vista químico, a cera de carnaúba é composta de uma mistura de muitas substâncias, predominantemente ésteres: 84 a 85% de ésteres, 2 a 3% de álcoois, 3 a 3,5% de ácidos livres, 2 a 3% de lactonas, 1 a 3% de hidrocarbonetos e 4 a 6% de resinas (ULLMANN’S, 1996).

Os testes toxicológicos e ecotoxicológicos mostraram que a cera de carnaúba é um produto atóxico e que não agride o meio ambiente. Estudos de

toxicidade de curta duração, carcinogenicidade, teratogenicidade, reprodução e mutagenicidade foram realizados com a cera de carnaúba indicando não existir efeitos dependentes da dose utilizada (RODRIGUES, 2004).

Diante do exposto, e levando-se em conta que a cera de carnaúba possui estrutura química muito semelhante à outros compostos que já foram descritos na literatura com efeito hipoglicemiante significativo, como o gama-orizanol, este estudo tem como objetivo avaliar o potencial terapêutico do Pó Cerífero da Carnaúba (PCO-C) no tratamento de animais diabéticos, observando seu efeito hipoglicêmico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DIABETES *MELITO*

O diabetes *melito* constitui atualmente, um dos mais importantes problemas de saúde pública do mundo (SBD, 2009), sua prevalência está aumentando de forma crescente nos países em desenvolvimento, principalmente em indivíduos acima de 70 anos (ANDERSON, 2003; SBD, 2009). Essa patologia é caracterizada por hiperglicemia associada a complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, cérebro, coração e vasos sanguíneos. Também estão presentes alterações no metabolismo dos macronutrientes (carboidratos, proteínas e gorduras). O diabetes pode resultar de defeitos de secreção e/ou ação da insulina, hormônio produzido pelas células beta do pâncreas que é necessário para o uso ou armazenamento de combustíveis corporais. A maioria dos casos apresenta excesso de peso ou deposição central de gordura (FRANZ, 2005; BRASIL, 2006). Esta doença apresenta alta morbimortalidade, com perda importante na qualidade de vida. É uma das principais causas de mortalidade, insuficiência renal, amputação de membros inferiores, cegueira e doença cardiovascular. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou em 1997 que, após 15 anos de doença, 2% dos indivíduos acometidos estarão cegos e 10% terão deficiência visual grave. Além disso, estimou que, no mesmo período de doença, 30 a 45% terão algum grau de retinopatia, 10 a 20%, de nefropatia, 20 a 35%, de neuropatia e 10 a 25% terão desenvolvido doença cardiovascular (BRASIL, 2006).

Existem vários tipos de diabetes e entre eles destaca-se o Diabetes *melito* Tipo 1 (DM 1), Diabetes *melito* Tipo 2 (DM 2) e o Diabetes *melito* gestacional (DMG). No DM 1, as pessoas são geralmente magras e têm sede excessiva, micção frequente e perda de peso acentuada. Esse tipo de diabetes está relacionado à destruição das células β do pâncreas, o que leva à deficiência, geralmente absoluta, de insulina e resulta em hiperglicemia, poliúria, polidipsia, perda de peso, desidratação, distúrbios eletrolíticos e cetoacidose. O DM 1 é responsável por 5 a 10% de todos os casos diagnosticados de diabetes e normalmente ocorre entre as idades de 10 a 14 anos. As pessoas com DM Tipo 1 são dependentes de insulina exógena para prevenir cetoacidose e óbito. Após o diagnóstico e controle do DM

Tipo 1, as necessidades de insulina exógena diminuem bastante por até um ano. Entretanto, a necessidade de aumentar a reposição de insulina exógena é inevitável, e de 8 a 10 anos após o diagnóstico clínico, a perda de células β é completa e a deficiência de insulina é absoluta (FRANZ, 2005).

O DM 2 caracteriza-se pelo desenvolvimento progressivo e frequente da hiperglicemia, que não é muito grave nos estados iniciais para o paciente observar qualquer um dos sintomas clássicos do diabetes. Apesar de não diagnosticados, estes pacientes estão em risco maior de desenvolver complicações macro e microvasculares. O DM 2 é responsável por cerca de 90 a 95% dos casos de diabetes diagnosticados. Vários fatores contribuem para o desenvolvimento do DM 2, e dentre eles estão: fatores genéticos e ambientais, idade avançada, inatividade física e especialmente a obesidade intrabdominal. Geralmente, o DM 2 resulta de uma combinação de resistência a insulina e falha nas células β do pâncreas. Embora as pessoas com DM 2 não necessitem de insulina exógena para sobreviver, aproximadamente 40% ou mais destes pacientes precisarão, eventualmente, de insulina exógena para o controle adequado da glicose sanguínea (FRANZ, 2005).

O DMG é definido como qualquer grau de intolerância à glicose com início durante a gravidez. Esse tipo de doença ocorre em cerca de 7% de todas as gestações e é diagnosticado durante o segundo ou terceiro trimestre de gravidez. Neste período, aumentam os níveis de hormônios antagonistas de insulina e, normalmente, ocorre resistência à insulina (ADA, 2001).

Outros tipos de diabetes incluem as síndromes genéticas específicas, cirurgia, drogas, desnutrição, infecções e outras patologias. Esses tipos de diabetes podem corresponder a 2% de todos os casos diagnosticados de diabetes (FRANZ, 2005).

Segundo estimativas da OMS, o número de portadores da doença em todo o mundo era de 177 milhões em 2000, com expectativa de alcançar 350 milhões de pessoas em 2025. Em 2000, o número de adultos diabéticos nos Estados Unidos era de 15 milhões, o que representava 4,9% da população adulta em 1990. Este percentual elevou-se para 7,3% em 2000. Atualmente no Brasil existem cerca de seis milhões de diabéticos, e estima-se que serão 11,3 milhões em 2030 no país, ou seja, mais que o dobro do número registrado em 2000, que era de 4,5 milhões de pessoas (ADA, 2000; BRASIL, 2006).

O grande aumento no número de casos de diabetes deve-se ao fato de que essa doença não é mais exclusividade de idosos, pois sua prevalência também vem aumentando entre os adultos jovens. O número de casos de diabetes tipo 2 entre crianças também aumentou drasticamente na década passada, crescendo de menos de 4% nos anos que precederam 1990 e chegando a 45% em certos grupos étnicos/raciais nos dias atuais (ADA, 2000).

Os sintomas clássicos do diabetes *melito* são: poliúria, polidipsia, polifagia e perda involuntária de peso. Outros sintomas que levantam a suspeita clínica são: fadiga, fraqueza, letargia, prurido cutâneo e vulvar, e infecções de repetição. Algumas vezes o diagnóstico é feito a partir de complicações crônicas como neuropatia, retinopatia ou doença cardiovascular aterosclerótica. Porém, cerca de 50% da população com diabetes não sabe que são portadores da doença, algumas vezes permanecendo não diagnosticados até que se manifestem sinais de complicações (BRASIL, 2006).

2.1.1 Diagnóstico

Como critério geral de diagnóstico para diabetes *melito* usam-se testes laboratoriais para suspeita de diabetes ou regulação glicêmica alterada como: glicemia de jejum (cujos valores normais situam-se entre 70 e 99 mg/dL) e o teste oral de tolerância à glicose (TTG-75 g). Pessoas cuja glicemia de jejum situa-se entre 99 e 125 mg/dL (glicemia de jejum alterada), por apresentarem alta probabilidade de ter diabetes, podem requerer avaliação por TTG-75 g em 2 horas (BRASIL, 2006).

Apesar de existir um critério geral para o diagnóstico da diabetes *melito* (DM), ou seja, baseado nos valores glicêmicos, é importante frisarmos que existem “tipos” distintos de DM e com sinais e sintomas diferentes entre os pacientes. Dentre eles estão: o DM Tipo 1, DM Tipo 2, DM Gestacional e outros tipos de diabetes (FRANZ, 2005).

2.1.2 Tratamento

O diabetes é uma doença crônica que requer alterações no modo de vida do paciente para um melhor controle desta patologia. O tratamento do diabetes inclui

terapia nutricional, atividade física, monitoração da glicose sanguínea e medicações. Um ponto importante do tratamento nutricional é manter o melhor controle possível da glicemia, lipidemia, pressão sanguínea e prevenir o ganho excessivo de peso (ADA, 2002; FRANZ, 2005).

A terapia nutricional desempenha papel preponderante no tratamento e controle do diabetes e na prevenção do desenvolvimento das complicações decorrentes dessa doença crônica. A nutrição equilibrada, estabelecida segundo concentrações adequadas de macronutrientes prescritos de forma individualizada, deve-se basear nos objetivos do tratamento. Dessa forma, recomenda-se a ingestão de 45 a 60% de carboidratos (sendo que a ingestão de sacarose não deve ultrapassar 10% e a ingestão mínima de fibra é de 20 g/dia); a ingestão de lipídios deve ser até 30% do Valor Energético Total (VET), sendo que a ingestão de gordura saturada não deve ultrapassar 7%, colesterol tem que ser menor que 200 mg/dia e a ingestão de gordura poli-insaturada não pode ser maior que 10% do VET; a ingestão de proteína deve ser de 15 a 20% do VET (SBD, 2009).

Exercícios físicos também devem fazer parte do plano de tratamento para pacientes diabéticos, pois ajudam a melhorar a sensibilidade à insulina, reduzem os fatores de risco cardiovasculares e promovem um melhor controle do peso. O plano de exercícios irá variar dependendo do interesse, idade, estado de saúde e nível de aptidão física do paciente. É importante que a atividade física esteja sempre sobre a orientação de um educador físico, desde que o paciente tenha passado por uma avaliação médica prévia (FRANZ, 2005; SACHS, 2005).

2.1.2.1 Tratamento medicamentoso

O tratamento medicamentoso do diabetes tipo 2 deve ser iniciado quando as recomendações nutricionais e de atividade física não forem eficazes para manter os níveis de hemoglobina glicosilada (HbA1c) inferiores a 7,0, mesmo em pacientes sem queixas, com boa qualidade de vida, e aderentes às orientações nutricionais e de atividade física. A escolha da medicação a ser utilizada deve levar em consideração aspectos individuais do paciente, como idade, peso, níveis da glicose sanguínea (jejum e pós-prandial) e aspectos clínicos indicativos de resistência ou deficiência insulínica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA-SBEM, 2004).

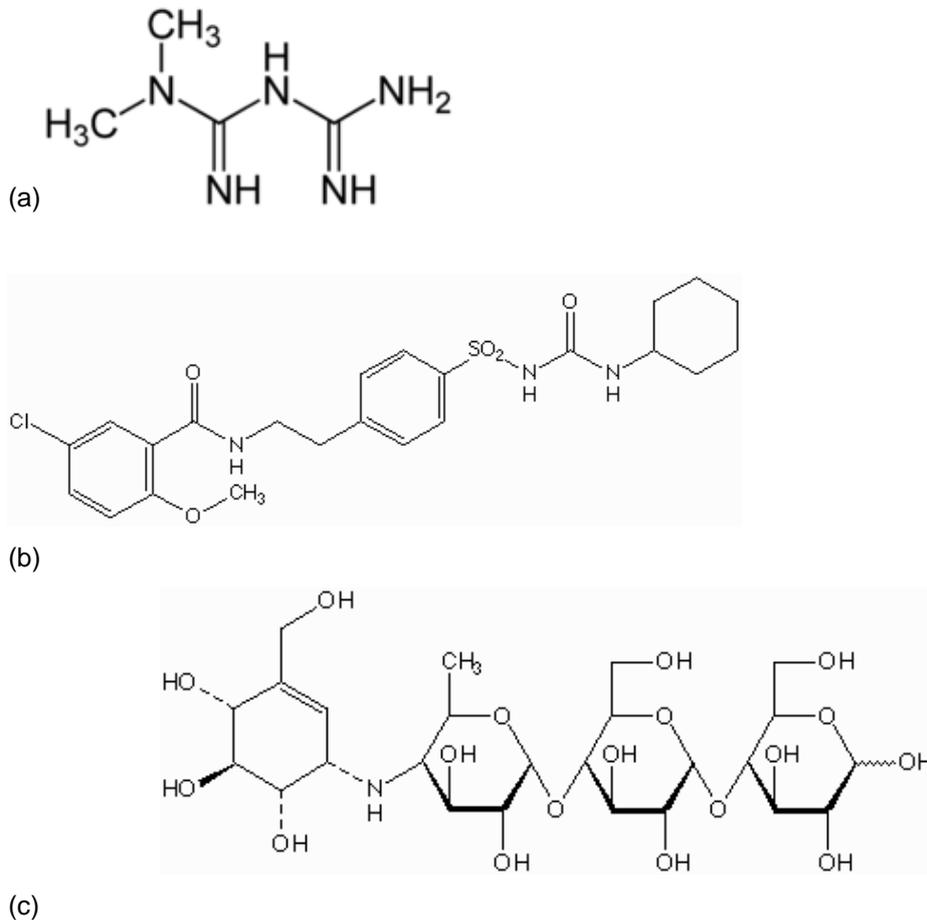
Atualmente, existem cinco classes distintas de agentes orais, redutores da glicose sanguínea, disponíveis comercialmente no Brasil (Quadro 1). Somente as sulfaniluréias (especialmente a glibenclamida), a metformina e a acarbose (Figura 1) mostram-se efetivas na redução das complicações vasculares a longo prazo, o que torna essas drogas como medicamentos de primeira escolha para iniciar o tratamento medicamentoso de pacientes com diabetes *melito* tipo 2 (SBEM, 2004).

Quadro 1 – Classes de hipoglicemiantes orais disponíveis comercialmente no Brasil

Classes de Drogas	Agente	Principal Ação
Sulfaniluréias	Primeira Geração Clorpropamida Segunda Geração Glibenclamida Gliclazida Glipizida Glimepirida	Secretagogo beta-pancreático de ação lenta
Glitinidas	Repaglinida Nateglinida	Secretagogos beta-pancreáticos de ação rápida
Biguanidas	Metformina	Aumentam a sensibilidade à insulina e diminuem a produção hepática de glicose
Tiazolenedionas	Rosiglitazona Pioglitazona	
Inibidores da alfa-glicosidase	Acarbose	Retarda a absorção intestinal de carboidratos

Fonte: SBEM (2004)

Figura 1 – Representação da estrutura da metformina (a), glibenclamida (b) e acarbose (c)



Apesar dos hipoglicemiantes orais descritos no parágrafo anterior como sendo as drogas de primeira escolha para o tratamento do DM 2, eles são contra indicados nos pacientes com diabetes *melito* tipo 1 (DM 1). A insulina é a medicação primordial para pacientes com DM1, sendo também muito importante para os pacientes com diabetes *melito* tipo 2 (DM 2) que não responderam bem ao tratamento com hipoglicemiantes orais e que apresentam hiperglicemia pós-prandial, alergia às sulfaniluréis ou com prejuízo da função renal (SBEM, 2004; FRANZ, 2005).

2.1.2.2 Tratamento com insulina – insulino terapia

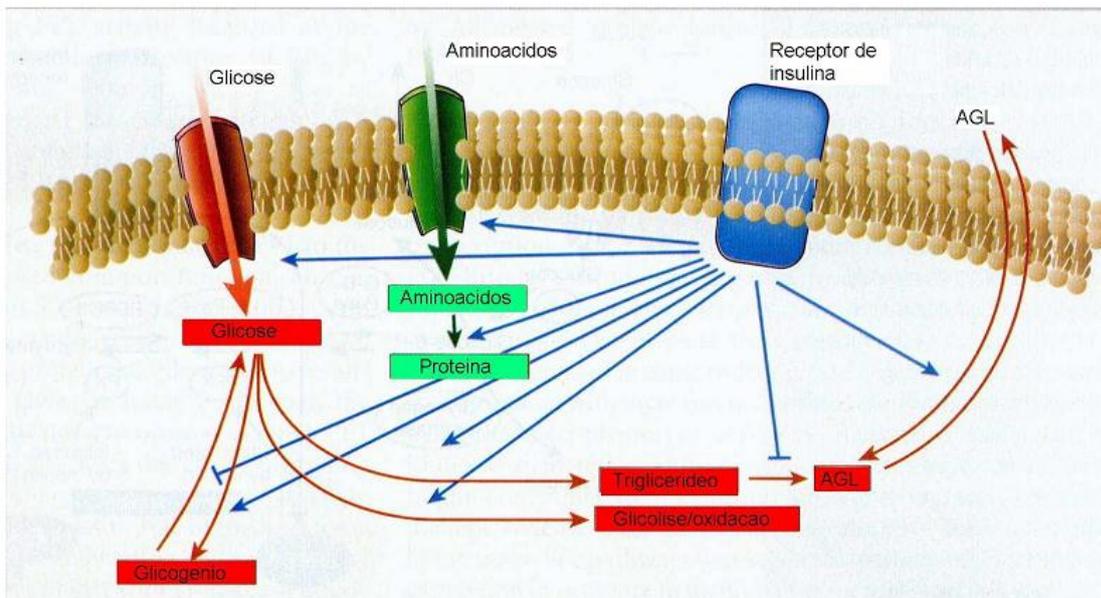
Descoberta em 1921, a insulina é utilizada na terapia de casos como diabetes, câncer, queimaduras e injúrias severas. Apresenta ação no fígado, músculo e tecido adiposo via ativação do receptor de insulina. Utilizada para todos

os casos de DM 1 e, em alguns casos (30%), em indivíduos com DM2 (MARTINEZ-RIQUELME; ALLISON, 2003).

O uso da insulina como parte do tratamento do diabetes é eficaz, porém pode apresentar alguns riscos tanto no DM 1, quanto no DM 2. Esses riscos são: hipoglicemia, ganho de peso e, raramente, alergia e infecção. A hipoglicemia no DM 2 é menos frequente do que no DM 1 (SBEM, 2005).

A ação do hormônio insulina promove a síntese e armazenamento de carboidratos, lipídios e proteínas além de inibir a quebra e liberação dos mesmos para a corrente sanguínea (figura 2) (SALTIEL; KAHN, 2001).

Figura 2 – Ação do efeito da insulina na célula



Fonte: Saltiel e Kahn (2001).

A biotecnologia possibilitou avanços significativos na terapia com insulina. O primeiro análogo da insulina sintetizada por engenharia genética, a insulina *lispro*, foi aprovada e utilizada na clínica no ano de 1996 nos Estados Unidos e na Europa. Comparativamente com a insulina regular, a *lispro* apresenta algumas vantagens como: ação mais rápida (cerca de 15 minutos após a administração); pico de concentração de insulina menor (60 a 90 minutos, com duração de ação de 3 a 5 horas) e menores reações alérgicas. Outros avanços enfocam no modo de administração da insulina, visando liberação de insulina similar ao do pâncreas de uma pessoa normal (EMILIEN; MALTEAUX; PONCHON, 1999).

2.2 PRODUTOS NATURAIS

A utilização de plantas medicinais para tratamento e/ou controle de doenças pode ser percebida em muitos documentos de civilizações primitivas na China, Índia e Europa. Acredita-se, portanto, que as farmacopéias tradicionais foram elaboradas ao longo de muitos séculos de experimentação onde o conhecimento empírico acumulado foi preservado e transmitido a gerações futuras (ELISABETSKY; SETZER, 1985).

Os resultados de pesquisas com plantas medicinais podem ter desdobramentos em vários níveis. No nível individual, a descoberta de drogas protótipo pode determinar a melhoria da qualidade de vida em doenças crônicas ou a própria sobrevivência do paciente afetado. No nível social, a descoberta de fontes naturais e locais de compostos químicos importados e/ou o desenvolvimento de fitoterápicos de fabricação nacional pode ter efeitos econômicos significativos, além de possibilitar a autonomia de cada país no gerenciamento de suas políticas de saúde. Por parte do setor empresarial, a indústria farmacêutica movimenta importantes volumes de capital e a procura de drogas protótipo envolve milhões de dólares. No nível ecológico, esse crescimento do interesse medicinal aumenta a importância da conservação da biodiversidade e diversidade cultural do ecossistema, salvaguardando e perpetuando nossa interdependência de plantas como fonte de medicamentos de origem vegetal (ELISABETSKY; COSTA-CAMPOS, 1996).

De acordo com a OMS (2002), o uso de plantas medicinais é uma importante alternativa para tratamento de doenças, principalmente nos países em desenvolvimento, atendendo os cuidados primários com a saúde.

No Brasil, o Ministério da Saúde (BRASIL, 2012), divulgou uma proposta de política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos, tendo como objetivos estabelecer a relação nacional de medicamentos fitoterápicos para Atenção Básica; incentivar a pesquisa e o desenvolvimento de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos; resgatar, valorizar, embasar cientificamente e validar o conhecimento, a produção e o uso popular de plantas medicinais.

2.3 PLANTAS COM AÇÃO HIPOGLICÊMICA

Muitas espécies de plantas têm sido usadas farmacologicamente ou experimentalmente para tratar dos sintomas do diabetes *melito* (HANDA, CHAWLA, 1989; IVORRA et al., 1989; RAHMAN; ZAMAN, 1989; NEEF et al., 1995; JOHNS; CHAPMAN, 1995; MARLES; FARNSWORTH, 1995; KAR et al., 1999). Estas plantas representam mais de 725 gêneros em 183 famílias, estendendo-se fisiologicamente das algas marinhas e fungos para plantas. Na medicina chinesa tradicional, 82 plantas medicinais têm sido usadas como medicamentos naturais para o tratamento do diabetes melito e suas complicações (LI et al., 2004). No estado do Rio Grande do Sul (Brasil), existem 81 espécies de plantas que são utilizadas no tratamento desta patologia, sendo a família da Asteraceae e Myrtaceae as mais frequentemente usadas, compreendendo, respectivamente, 29 e 15% das ocorrências (TROJAN-RODRIGUES et al., 2012).

A maioria das plantas que são utilizadas como antidiabéticas ao serem avaliadas farmacologicamente demonstraram ter atividade hipoglicemiante e possuir constituintes químicos que podem ser utilizados como modelos para novos agentes hipoglicemiantes. Entretanto, as análises posteriores revelaram grande variedade de mecanismos de ação que podem levar ao efeito hipoglicemiante, nem todos terapeuticamente úteis (MARLES; FARNSWORTH, 1995; NEGRI, 2005).

O mecanismo de ação pelos quais as plantas baixam a taxa de glicose do sangue pode ser atribuído aos seguintes fatores: aumento da liberação de insulina através da estimulação das células β -pancreáticas; resistência aos hormônios que aumentam a taxa de glicose; aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; diminuição da perda de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos; eliminação de radicais livres; resistência à peroxidação de lipídeos; correção da desordem metabólica causada em lipídeos e proteínas e estímulo ao aumento da microcirculação do sangue no organismo (MARLES; FARNSWORTH, 1995; LI et al., 2004).

Algumas plantas associadas ao tratamento do diabetes são consideradas tóxicas. Há muitos efeitos tóxicos das plantas, os quais podem resultar em hipoglicemia, tais como, hepatotoxicidade e bloqueio β -adrenérgico. Detalhes como, identificação da planta, parte a ser usada, preparação, padronização química e biológica do extrato, estabilidade do extrato, dosagens terapêuticas, efeitos colaterais,

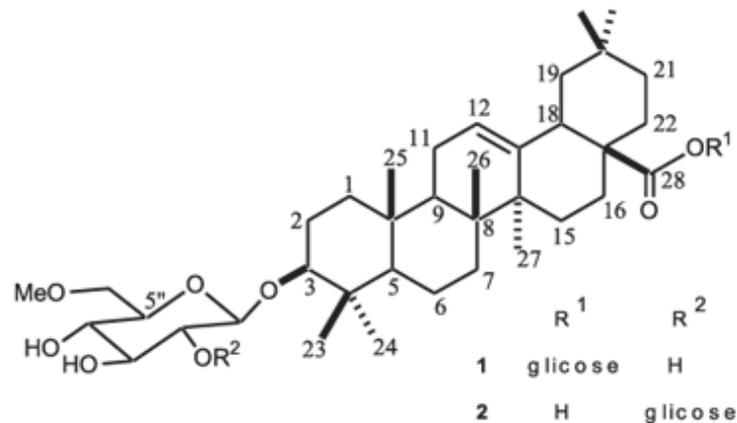
interações medicamentosas e alimentares e contraindicações devem ser incorporados à farmacopéia nacional. A toxicidade é influenciada pela parte da planta usada na preparação do extrato, método de preparação e rota de administração, por isso é importante a identificação de riscos potenciais quanto à toxicidade do produto a ser utilizado (MARLES; FARNSWORTH, 1995; LI et al., 2004).

Geralmente as substâncias biologicamente ativas extraídas das plantas são os chamados metabólitos secundários, os quais desempenham papel importante no mecanismo de defesa química. Há muitas substâncias extraídas de plantas que reduzem o nível de glicose no sangue e a grande variedade de classes químicas indica que variedade de mecanismos de ação deve estar envolvida na redução do nível de glicose no sangue. Algumas destas substâncias podem ter potencial terapêutico, enquanto outras podem produzir hipoglicemia como efeito colateral devido à sua toxicidade, especialmente hepatotoxicidade (IVORRA et al., 1989; MARLES; FARNSWORTH, 1995).

Atualmente as principais substâncias relatadas com ação hipoglicemiante são: terpenóides, alcalóides, cumarinas, flavonoides e substâncias fenólicas. Essas substâncias têm sido identificadas em inúmeras plantas e vêm sendo estudadas no tratamento e controle do diabetes melito (NEGRI, 2005).

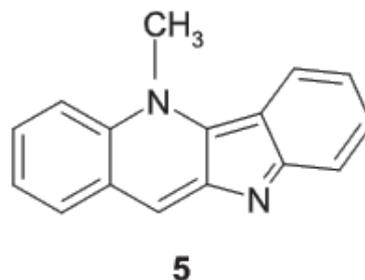
Os terpenóides, principalmente os glicosídeos de triterpenóides e esteróides (figura 3), os quais são conhecidos como saponinas, são substâncias bioativas presentes em muitas plantas, como a *Calendula officinalis* L. (Compositae), planta de origem européia popularmente conhecida como margarida, e a *Clausena anisata* Willd Hook (Rutaceae), planta de origem africana popularmente conhecida como anis, têm mostrado ação hipoglicemiante que pode ser atribuída ao consumo de glicose no intestino ou a estimulação das células β -pancreáticas com a subsequente secreção da insulina (RAO; GURFINKEL, 2000; CONNOLLY; HILL, 2001; OJEWOLE, 2002).

Figura 3 – Representação da estrutura química das saponinas isoladas da *Swartzia langsdorffii*



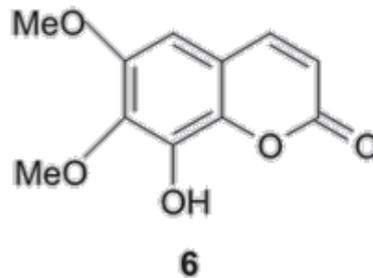
Alcalóides como a multiflorina (Figura 4), substância isolada de plantas leguminosas, também têm apresentado ação hipoglicemiante provavelmente devido à estimulação das células β -pancreáticas, o que aumenta a produção de insulina (KUBO *et al.*, 2000).

Figura 4 – Estrutura química da criptolepina



As cumarinas, presentes em plantas como a *Teramnus labialis*, popularmente conhecida como Kordádo, originadas da Índia, Malásia, Filipinas e África (no caso desta planta são misturas de cumarinas, sendo a mais abundante a fraxidina – Figura 5), mostraram efeito inibitório sobre a atividade da enzima aldose redutase e sobre a agregação plaquetária, as quais são consideradas como as causas das complicações diabéticas. As cumarinas também possuem efeito hipoglicemiante, mas este é uma consequência da hepatotoxicidade apresentada pelas cumarinas (FORT *et al.*, 2000).

Figura 5 – Estrutura química da fraxidina



Várias substâncias fenólicas presentes em plantas têm apresentado ação hipoglicemiante, dentre estes compostos estão: ácido isoferúlico, extraído do rizoma da *Cimicifuga dahurica* (planta nativa de regiões temperadas do hemisfério norte popularmente conhecida como Black Cohosh); ácido 4-hidroxibenzóico (Figura 6) isolado do extrato aquoso das raízes de *Pandanus odoratus* (planta nativa da Ásia popularmente conhecida como Pandan Sai ou Parafuso, em inglês); além de polifenóis, como, galocatequina, epicatequina, epigalocatequina e o galato de epigalocatequina (Figura 7). O mecanismo de ação destes compostos parece estar relacionados com o aumento da produção de insulina pelo pâncreas (NEGRI, 2005).

Figura 6 – Estrutura do ácido 4-hidrobenzóico

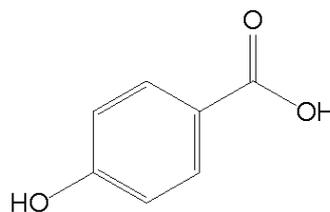
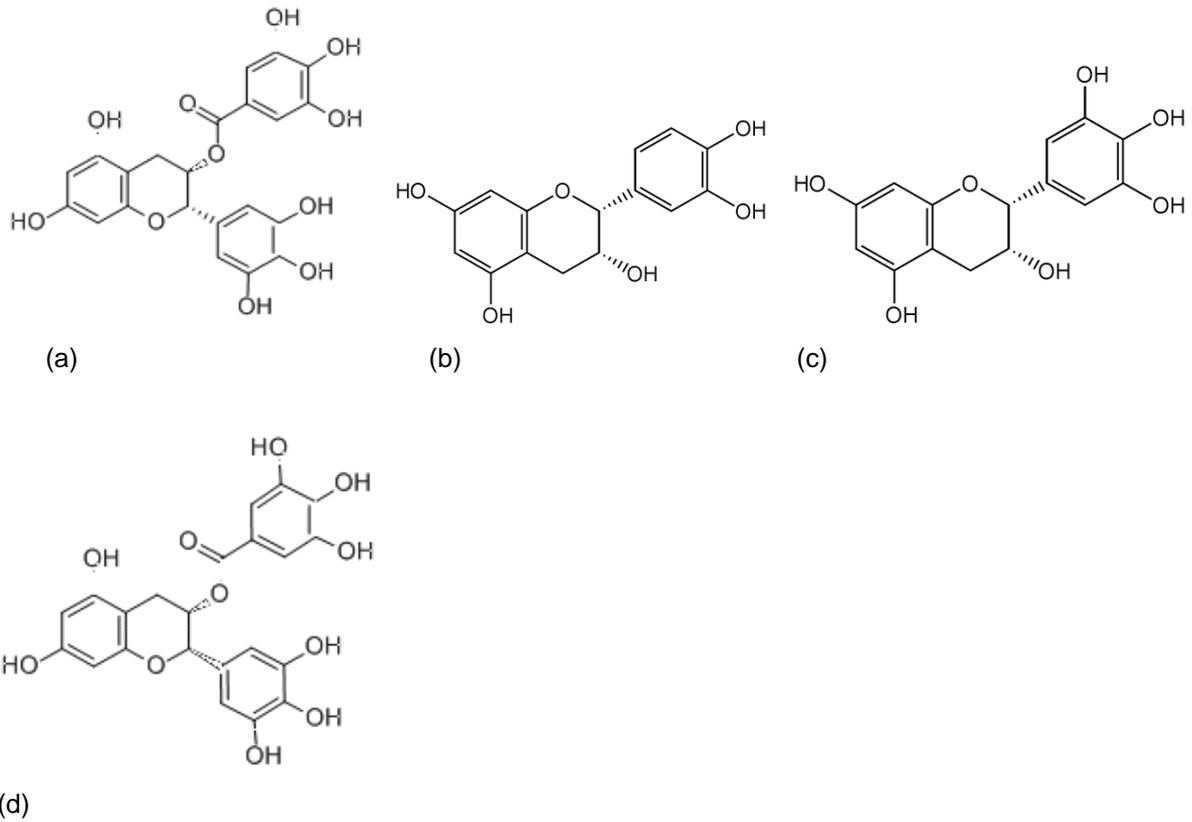
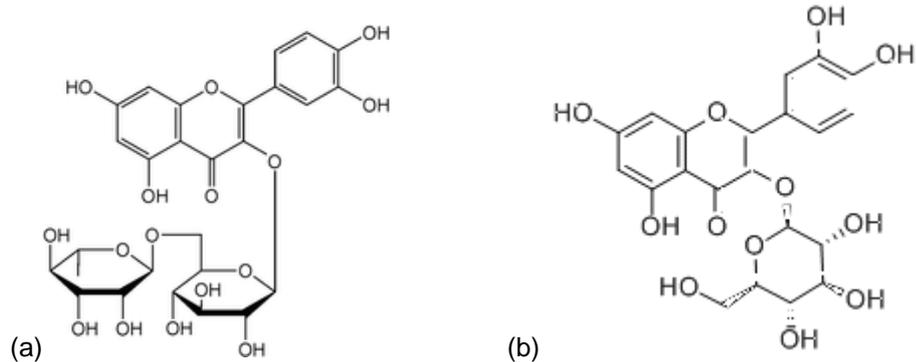


Figura 7 – Representação da estrutura da galocatequina (a), epicatequina (b), epigalocatequina (c) e galato de epigalocatequina (d).



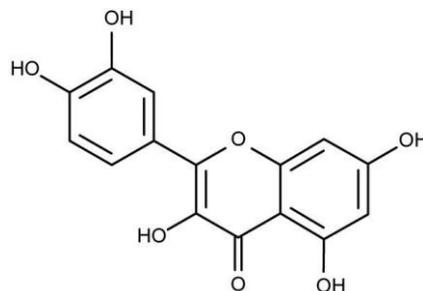
Os flavonóides são um grupo de pigmentos naturais presentes em frutas, vegetais, cereais, raízes, folhas e caules. A estes compostos são atribuídas diversas atividades biológicas, tais como cardioprotetiva e hipoglicemiante. Alguns flavonoides, como a rutina e isoquercetina (Figura 8), encontrados no extrato aquoso de *Phyllanthus sellowianus* L. (planta originada do Paraguai e do Rio Paraná popularmente conhecida como Sarandin Branco ou Sarã) podem aumentar a liberação de insulina das ilhotas isoladas de Langerhans, reduzindo o nível de glicose no sangue (KOSHY, VIJAYSLAKSHMI et al., 2001).

Figura 8 – Estrutura da Rutina (a) e isoquercetina (b)



Plantas comestíveis, tais como *Allium cepa* L. (cebola), *Allium sativum* L. (alho) e o *Anacardium occidentale* L. (caju) usadas no tratamento do diabetes são caracterizadas por possuir concentração baixa de carboidrato e gordura, além de impedir as complicações cardiovasculares diabéticas. A ação hipoglicemiante destas plantas deve-se à sua composição rica em substâncias fenólicas e flavonoides, especialmente a quercetina (figura 9) (BALUCHNEJADMOJARAD et al., 2003).

Figura 9 – Estrutura da quercetina



Pesquisas vêm constatando atividade antidiabética de algumas especiarias, sendo a canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn) o produto com maior poder bioativo. Os princípios ativos encontrados nos extratos de canela são polímeros da chalcona. Os extratos desta especiaria melhoraram a função dos receptores da insulina, através do receptor insulinoquinase e inibiram o receptor insulínofosfatase, levando ao aumento do reconhecimento da insulina pelo receptor e, conseqüentemente, reduzindo os valores de glicose sanguínea (BROADHURST et al., 2000).

Os estudos feitos com as plantas medicinais usadas tradicionalmente no tratamento do diabetes *melito*, vêm demonstrando que a maioria destas possuem característica hipoglicemiante, confirmando, desta forma, a sua utilização como antidiabético na medicina popular. Muitas plantas exercem efeito hipoglicemiante, atribuído a vários mecanismos de ação que, muitas vezes, ainda não foram completamente elucidados. Algumas plantas utilizadas podem ser tóxicas, logo, não são terapeuticamente úteis. Por isso, é necessário encontrar plantas que possam oferecer eficácia terapêutica e saúde (NEGRI, 2005).

2.4 CARNAÚBA

O nome carnaúba teve origem na língua indígena tupi, significando “árvore que arranha”, pois contém uma camada espinhosa resultante da queda das folhas na parte inferior do caule. No Brasil, depois da tentativa de classificação do padre Veloso, em 1790, o botânico Arruda Câmara classificou-a como *Corypha cerífera* em 1810, incluindo-a na ordem das Hexândrias monogínicas, de Linneu. Em 1819, Martius classificou-a como *Copernicia cerífera* (CARVALHO, 1942; RUFINO, 2008).

Atualmente a *Copernicia cerífera* Mart., conhecida popularmente como Carnaúba, Carnaubeira ou Carandá (Figura 10), é apontada como uma das mais valiosas árvores, do ponto de vista econômico para o Nordeste, razão pela qual os nordestinos atribuíram-lhe o título de “a árvore da vida”, pois dela tudo é aproveitado. A carnaúba é uma palmeira nativa da região semiárida do Nordeste brasileiro, componente das matas ciliares nordestinas, está presente nos Estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e, principalmente, nos Estados do Ceará e Piauí, onde existem cerca de 90 milhões de palmeiras em uma área de um milhão de Km² (FORTE, 2003; RODRIGUES, 2004).

No Ceará, a carnaúba aparece em todo o Estado e é encontrada em grandes quantidades, formando matas no curso inferior dos principais rios. As maiores concentrações ocorrem nos vales do Jaguaribe, Acaraú e Coreaú, mas também há carnaubais nos vales do Aracatiaçu, Curu, Ceará, Pacoti, Choró e Pirangi (D’ALVA, 2007; RUFINO, 2008).

Figura 10 – *Copernicia cerífera* Mart. (Carnaúba).



Fonte: Alves (2008).

Embora não haja plantações comerciais de carnaúba, pois é uma árvore nativa da região nordeste, essa planta caracteriza-se pelo crescimento lento, porém com grande propagação, com enorme fecundidade por sementação, que ocorre logo após a frutificação. A densidade de carnaubais por hectare tem sua variação de região para região. À medida que essa densidade se eleva, o carnaubal torna-se mais econômico, visto que impede o crescimento de outras árvores entre as palmeiras; isto facilita a colheita das folhas e diminui os custos de transporte (SANTOS, 1979).

A economia da carnaúba decorre do aproveitamento integral dessa palmeira. Suas folhas, além de fornecerem o pó (principal matéria-prima da cera de carnaúba), também são utilizadas na cobertura de casas e na confecção de peças de artesanato. O fruto serve para a alimentação animal. O talo é utilizado na construção civil, e a raiz possui substâncias medicinais. Por seus atributos físico-químicos, é exportada para mais de quarenta países, com destaque para os Estados Unidos, o Japão e a Alemanha (OLIVEIRA; GOMES, 2006). Em 2006, o Estado do Ceará foi o que mais exportou

No Nordeste brasileiro, habitações inteiras são construídas com materiais retirados da carnaúba, da mesma forma como se retiram materiais do babaçu e do buriti. Imponente, esbelta como a maioria das palmeiras brasileiras, a carnaúba é mais alta do que o babaçu e economicamente mais rentável do que o buriti (RODRIGUES, 2004).

As populações sertanejas e indígenas souberam fazer da carnaúba uma planta de múltiplas utilidades: as raízes têm aplicações medicinais; o tronco e as folhas podem ser utilizados na construção de habitações; o palmito e os frutos servem como alimentação nutritiva para os animais de criação; com suas fibras confeccionam-se cordas, sacos, esteiras, chapéus, balaios, cestos, redes e mantas; e as palhas, além de aplicadas na confecção de utensílios artesanais e na adubação do solo, produzem uma cera detentora de qualidades físico-químicas excepcionais que possuem grande importância na indústria (D'ALVA, 2007; RUFINO, 2008).

Na região de seu habitat, as carnaúbas se multiplicam de forma fácil e espontânea. Preferem solos arenosos e alagadiços, várzeas e margens dos rios de regiões de clima quente. Essa planta tem como características estipe reto e cilíndrico, com cerca de 10 a 15 metros de altura atingindo no máximo 40 metros, formando saliências espiraladas em superfície, decorrentes dos restos das folhas que caíram (PIO CORREA, 1931; SILVA, 2001; RUFINO, 2008).

A carnaubeira frutifica de novembro a março. Os frutos da carnaúba, inteiros, são principalmente aproveitados pelos animais de criação: de sua polpa extrai-se uma espécie de farinha e um leite que, à semelhança do leite extraído do babaçu, pode substituir o leite do coco-da-baía. Em condições de subsistência, a amêndoa da carnaúba, quando torrada e moída, costuma até mesmo ser aproveitada localmente em substituição ao pó do café (PIO CORREA, 1931).

As folhas são pecioladas, verde-esbranquiçadas e em forma de leque, com até 1 metro de comprimento. As flores são amarelas com cachos pendentes que surgem de julho a outubro. As espigas com centenas de frutos ovóides a globosos, brilhantes, esverdeados quando jovens e roxos quando maduros. As células epidérmicas das folhas da carnaúba são recobertas por uma camada cerífera. Na região semiárida, a alta temperatura do ambiente aumenta a transpiração da planta, enquanto a salinidade dos solos eleva a concentração do suco celular da folha, dois fatores que, conjugados, estimulam a produção de cera pela carnaúba como meio de defesa contra a perda de água (PIO CORREA, 1931; CARVALHO, 1982; SILVA, 2001).

2.4.1 Cera da Carnaúba

A cera de carnaúba (Figura 11) é um produto resultante da síntese da clorofiliana, formado no interior das células vegetais das folhas da carnaúba, composto por uma combinação de ácidos e álcoois (D'ALVA, 2007).

Figura 11 – Ceras da Carnaúba

Cera Tipo 1



Cera Tipo 3



Cera Tipo 4



Fonte: GM Ceras (2011).

As características físico-químicas da cera de carnaúba proveniente das palhas-olho são diferentes das extraídas das palhas verdes, pois a clorofila e a xantofila se encontram dissolvidas no produto cerífero. Nas palhas-olho o percentual de clorofila é menor que os das palhas verdes, por isso o pó cerífero do olho ser de cor branca, que produzirá uma cera de coloração amarelo-claro. As palhas verdes produzem um pó de coloração verde-acinzentada que produzirá uma cera de coloração escura (D'ALVA, 2007).

Uma carnaubeira madura produz entre 35 a 40 palhas por ano, sendo 28 a 32 palhas maduras, e 7 ou 8 novas, ainda não totalmente abertas. As palhas maduras produzem pó tipo B, ou pó preto. As palhas novas, ou fechadas, dão pó tipo A, ou pó branco, conhecido como pó de olho, por ser obtido das palhas do olho da carnaúba. O rendimento do pó de olho em relação ao pó da palha (pó preto) é bem menor, pois para cada 100 Kg de pó teremos 15 Kg de pó de olho e 85 Kg de pó de palha. É importante salientar que esses valores podem variar segundo as regiões de produção, processos de secagem e forma de extração do pó (CÂMARA SETORIAL DA CARNAÚBA, 2009).

A extração do pó das folhas, que submetido à fusão transforma-se em cera de carnaúba, é um produto de grande importância histórica, social e econômica para os Estados do Piauí e Ceará (CRESPO, 2007; RUFINO, 2008). O período de exploração da carnaúba para a extração do pó ocorre entre os meses de julho a dezembro, ou seja, na estiagem, período que inviabiliza a agricultura familiar devido à ausência de chuvas. Desse modo, o extrativismo da carnaúba oferece ocupação e complemento de renda para inúmeros trabalhadores rurais numa época extremamente difícil à obtenção de alguma renda monetária (FORTE, 2003).

A Tabela 1 apresenta a produtividade de pó olho (pó branco) e pó palha (pó cinzento) considerando a idade da palmeira.

Tabela 1 – Relação do número médio de palha por kg de pó, de acordo com a idade da palmeira

Idade da palmeira (anos)	Número médio de folhas de olho por kg de pó branco	Número médio de folhas de palha por kg de pó cinzento
10 a 20	230	250
30	200	250
35	170	220
40	170	220
50	170	220

Fonte: Bayma (1958).

Com relação às exportações, cerca de 15.000 toneladas/ano, em média, estão disponíveis no mercado internacional, tendo o Brasil como único produtor. O

Estado do Ceará figura como maior exportador, seguido do Piauí e Rio Grande do Norte. Apesar de terem ocorrido pequenas oscilações no volume das exportações de cera de carnaúba no Brasil (Tabela 2), entre 1990 e 2006 houve um aumento no volume de exportações (ALICE-WEB, 2008).

Tabela 2 – Volume de exportações (toneladas) de Cera de Carnaúba segundo o Brasil e Principais Estados, 1990 – 2006

Ano	Brasil	Ceará	Piauí	Rio Grande do Norte	Outros Estados*
1990	11.399	7.921	3.371	0	107
1991	12.840	8.450	4.353	0	37
1992	13.297	9.163	4.134	0	0
1993	13.426	9.303	3.980	119	24
1994	11.722	7.058	4.568	95	1
1995	10.863	6.124	4.707	31	1
1996	11.756	6.771	4.447	533	5
1997	13.798	7.933	5.516	338	11
1998	13.640	8.655	4.908	56	21
1999	14.247	7.979	5.618	637	13
2000	12.674	6.514	5.516	641	3
2001	15.104	6.554	6.130	1.647	773
2002	15.114	8.043	5.000	2.006	65
2003	13.629	6.090	4.882	2.553	104
2004	14.286	6.293	5.336	2.497	160
2005	14.885	8.255	4.380	2.117	133
2006	16.029	9.506	5.742	555	226

Fonte: Alice-Web (2008).

Por tanto, infere-se que a demanda por cera de carnaúba no mercado internacional apresenta tendência ao crescimento, refletindo sua qualidade e versatilidade, haja vista sua presença na composição dos mais diferentes produtos nos diversos ramos industriais, principalmente nas indústrias de cosméticos; farmacêutica, sendo utilizada na preparação de medicamentos para serem usados na pele ou mucosas; alimentícia, utilizada para aumentar a consistência de outros excipientes, e na fabricação de produtos para limpeza e conservação, como: ceras polidoras, graxas, impermeabilizantes, tintas, vernizes e filmes plásticos. Além

dessas aplicações a cera de carnaúba também é utilizada na fabricação de filmes fotográficos, papel carbono, componentes da indústria da informática e automotiva (RODRIGUES, 2004; ALICE-WEB, 2008).

2.4.2 Composição química da cera de carnaúba

Quimicamente, a parte da carnaúba mais estudada é a cera que recobre as folhas, uma vez que é grande sua importância econômica e comercial. Pouco é descrito na literatura sobre a composição química das outras partes desta planta. Sob o ponto de vista químico, a cera de carnaúba é composta de uma mistura de muitas substâncias, predominantemente ésteres: 84 a 85% de ésteres, 2 a 3% de álcoois, 3 a 3,5% de ácidos livres, 2 a 3% de lactonas, 1 a 3% de hidrocarbonetos e 4 a 6% de resinas (ULLMANN'S, 1996).

Muitas análises da cera de carnaúba foram realizadas, com resultados conflitantes. A cera de carnaúba Tipo 1 originada das folhas do olho da carnaubeira é a mais clara e possui um tom bastante amarelado. A Tabela 3 apresenta a seguinte composição da cera Tipo 1 (ULLMANN'S, 1996).

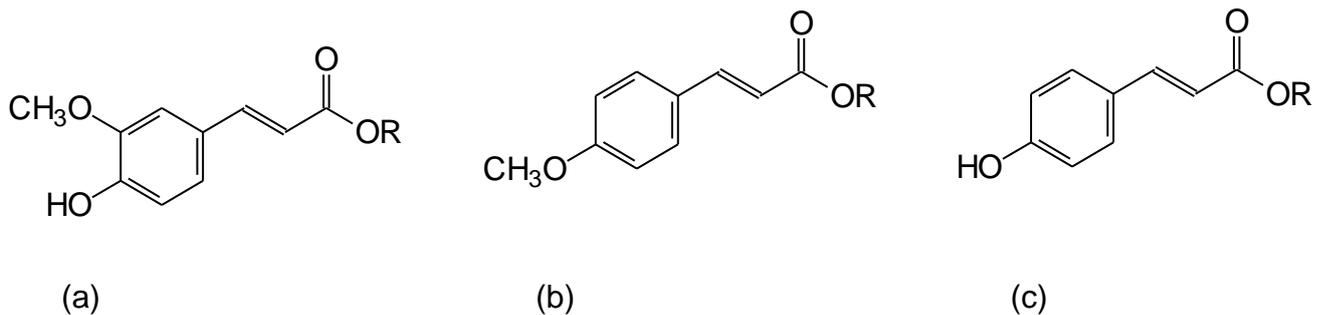
Tabela 3 – Composição química para cera Tipo 1

Componentes	%
Ésteres Alifáticos	38 – 40
Diésteres do ácido 4-hidroxicinâmico	20 – 23
Ésteres de ácidos ω -hidroxicarboxílico	12 – 14
Álcoois livres	10 – 12
Diésteres de ácido 4-metoxicinâmico	5 – 7
Ácidos Alifáticos livres	4
Ácidos Aromáticos livres.	1
Hidrocarbonetos Parafínicos	0,3 – 1
Ácidos ω -hidroxicarboxílicos livres	0,5
Triterpenodios	0,4
Componentes Insaponificáveis	56,4
Componentes Saponificáveis	39,2
Aromáticos e/ou resinas	5 – 7

Fonte: Ullmann's (1996).

Os ésteres são os principais constituintes da cera de carnaúba e entre eles temos uma fração contendo os ésteres do ácido 4 – hidroxido e 4 – metoxicinâmico (Figura 12) que estão presentes principalmente como ésteres e diésteres. As unidades monoméricas destes são diésteres do ácido cinâmico com álcoois mono e polihidroxilados e ácidos ω - hidroxicarboxílicos. Além dos ésteres do ácido cinâmico, triterpenos do tipo damarano tem sido isolados da cera de carnaúba. Pela literatura levantada não se sabe se estes triterpenos podem estar esterificados com o ácido cinâmico ou se eles se apresentam na forma livre (VANDERBURG, 1970; ASPERGER, 1998).

Figura 12 – Representação da estrutura do 3 – metoxi – 4 – hidroxicinâmico (a); 4 – metoxicinâmico (b); e 4 – hidroxicinâmico (c), presentes na cera de carnaúba



Os testes toxicológicos e ecotoxicológicos mostraram que a cera de carnaúba é um produto atóxico e que não agride o meio ambiente. Estudos de toxicidade de curta duração, carcinogenicidade, teratogenicidade, reprodução e mutagenicidade foram realizados com a cera de carnaúba indicando não existir efeitos dependentes da dose utilizada (RODRIGUES, 2004).

3 JUSTIFICATIVA

Devido ao diabetes *melito* ser uma doença de caráter multifatorial e apresentar alta morbimortalidade, com perda importante na qualidade de vida dos indivíduos que apresentam essa doença, a caracterização de produtos naturais com propriedades farmacológicas, no que diz respeito à efeitos hipoglicemiantes, que possam atuar na prevenção da gênese e/ou no controle do diabetes *melito*, atualmente tem se tornado alvo de inúmeras pesquisas em diversas partes do mundo.

Recentemente, na pesquisa realizada por Arruda Filho em 2011 no estado do Ceará, foi isolado do pó cerífero da carnaúba um composto químico, ésteres do ácido cinâmico, que apresentou efeitos hipoglicemiantes muito significativos em animais (camundongos) diabéticos. Por esse motivo, levando-se em consideração os efeitos farmacológicos do fitocomposto acima referido, sobre o qual algumas de suas propriedades farmacológicas foram publicadas em periódicos científicos, faz-se necessário a realização de estudos mais detalhados e a determinação de protocolos experimentais com esses compostos presentes no Pó Cerífero de Origem (PCO-C), com o objetivo de obter dados, evidências e informações que permitam melhorar o conhecimento do potencial terapêutico e descrever novas perspectivas para a produção de drogas mais eficazes no tratamento do diabetes *melito*.

O presente estudo integra uma pesquisa maior realizada por Arruda Filho que também teve como foco principal a utilização do PCO-C como um fitoterápico alternativo no tratamento de doenças (no caso dislipidemias), através da qual gerou-se uma patente do PCO-C.

Diante do exposto, e levando-se em conta que a cera de carnaúba possui estrutura química muito semelhante à outros compostos que já foram descritos na literatura com efeito hipoglicemiante significativo, como o gama-orizanol, este estudo tem como objetivo avaliar o potencial terapêutico do PCO-C no tratamento de animais diabéticos, observando seu efeito hipoglicêmico.

Por se tratar de um estudo inédito com a cera de carnaúba, os possíveis resultados desta pesquisa poderão dar origem ao desenvolvimento de um fitoterápico eficiente no tratamento do diabetes *melito*, mais barato e que poderá contribuir de forma elevada para o desenvolvimento da economia do nordeste brasileiro, pois a carnaúba é uma planta abundante nesta região. Por esse motivo,

faz-se necessário a realização de estudos mais detalhados e a determinação de protocolos experimentais com esses compostos (Ésteres do Ácido Cinâmico) presentes no PCO-C, com o objetivo de obter dados, evidências e informações que permitam melhorar o conhecimento do potencial terapêutico e descrever novas perspectivas para a produção de drogas mais eficazes na prevenção e/ou tratamento e controle do diabetes melito.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Avaliar o potencial terapêutico do Pó Cerífero da Carnaúba (PCO-C) no tratamento de animais diabéticos, observando seu efeito hipoglicêmico.

4.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar os constituintes químicos do PCO-C;
- Verificar o efeito do PCO-C sobre a glicemia;
- Verificar o efeito do PCO-C sobre o peso corporal dos animais.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 COLETA DO MATERIAL

O pó de carnaúba foi obtido das folhas não abertas do olho (Figura 13) da planta (*Cooperhízia cerífera* Mart.) e fornecido pela Pontes Indústria de Ceras Ltda.

Figura 13 – Folha olho (não-aberta) da carnaúba



Fonte: ETENE (2008).

Após a coleta e recebimento, o pó de carnaúba (pó olho) foi pesado e armazenado em recipientes de polipropileno fechados.

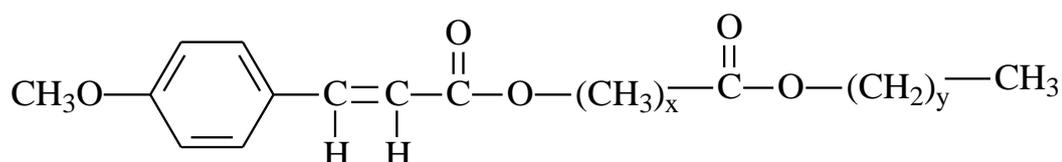
Os pontos de fusão foram determinados utilizando um aparelho digital da Mettler Toledo FP90. Os espectros de Infravermelho (IV) (filmes de KBR) foram obtidos utilizando um Espectrômetro Perkin-Elmer FT-IR 1000. Os espectros de RMN¹H foram obtidos em um Espectrômetro Bruker Advance DRX-500 (500 MHz FOR ¹H) utilizando CDCl₃ como solvente análise do PCO-C. A análise através da cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada em placa de sílica gel (Kieselgel 60 F 254, 0,20 mm, Merck) e a pureza do composto foi confirmada pela pulverização com 20% de solução de ácido sulfúrico em etanol ou solução de ácido fosfomolibdico a 5% seguido por aquecimento à 120°C.

5.1.1 Procedimentos experimentais

5.1.1.1 Extração e isolamento do PCO-C (diésteres do ácido 4-metoxicinâmico)

Foram utilizados 40g de pó de cera de carnaúba (pó de olho), extraídos a quente com 500mL de uma mistura de heptano e dicloreto de etileno (90:10). Após filtração, a mistura foi adicionada a uma coluna de Florisil (46 x 3,8 cm; primeira coluna), sendo esta eluída com 2,5 L de uma mistura de heptano e dicloreto de etileno (90:10). Todo material eluído da primeira coluna foi reunido e adicionado a uma segunda coluna de Sílica Gel do mesmo tamanho que a anterior (46 cm x 3,8 cm; segunda coluna), após percolação do eluato uma quantidade adicional de 500 mL de uma mistura de heptano e dicloreto de etileno (90:10) foi adicionado à coluna de sílica gel. O solvente eluído foi concentrado produzindo os ésteres alifáticos da cera de carnaúba. Para a segunda coluna (Sílica Gel) foram então adicionados 2,0 L de uma mistura de heptano e isopropanol (9:1), o solvente eluído da coluna foi concentrado, produzindo 1,68 g (4,2%) de um produto sólido amarelado denominado de PCO-C. O resíduo da filtração foi deixado à temperatura ambiente até completa evaporação do solvente. Após a secagem o PCO-C foi guardado para posterior análise. O PCO-C (substância obtida a partir do Pó Cerífero de Origem) é composto principalmente por ésteres aromáticos (ésteres do ácido cinâmico) (Figura 14). Este material foi identificado como diéster do ácido 4-metoxicinâmico (Figura 14) e foi isolado e caracterizado seguindo a metodologia descrita por Vanderberurg e Wilder (1967).

Figura 14 – Representação da estrutura do PCO-C (diéster do ácido 4-metoxicinâmico)



X + y = valor médio 58

Fonte: Merck (2013).

5.1.1.2 Hidrólise do PCO-C (Diésteres do Ácido 4-Metoxicinâmico)

O PCO-C foi saponificado por aquecimento em refluxo com isopropanol (8 mL) e hidróxido de potássio (0,2 g). Após a hidrólise o isopropanol foi removido e adicionou-se 8 mL de água. A mistura foi aquecida e o material insaponificável foi removido por extração com heptano (8 mL) à quente. Esse procedimento foi repetido por mais seis vezes. A fase aquosa foi acidificada com solução de ácido sulfúrico a 10% até pH 3,0. A mistura foi resfriada e deixada em repouso até precipitação de um material resinoso. Este foi recristalizado com éter sulfúrico produzindo um material cristalino branco.

5.1.1.3 Diluição da cera e da glibenclamida

Para que a primeira fração da cera de carnaúba (PCO-C) fosse administrada via oral nos animais ela precisou ser diluída. A diluição ocorreu da seguinte forma: adicionou-se ao PCO-C 6% de Tween 80 (Polisorbato 80) e em seguida aqueceu-se essa mistura até que o PCO-C estivesse completamente líquido (derretido). Posteriormente, adicionou-se, de forma gradual, água destilada quente, mexendo essa mistura vigorosamente até que atingisse a temperatura ambiente. Ao final da diluição o PCO-C foi armazenado em recipiente de vidro fechado.

A glibenclamida (droga de referência) foi triturada com auxílio de um almofariz (gral) e um pistilo. Em seguida, a droga foi diluída em água destilada e armazenada em um recipiente de vidro fechado.

5.2 ANIMAIS

Foram utilizados 84 camundongos da raça Swiss, adultos, machos, com idade entre 6 e 8 semanas, provenientes do Biotério do Laboratório de Bioquímica Humana da Universidade Estadual do Ceará (UECE). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, à temperatura ambiente entre 24 a 25°C, em ciclos de claro-escuro de 12/12 horas, recebendo dieta padrão e água “*ad libitum*” durante o experimento (CAVALLIL et al., 2007; ARRUDA FILHO, 2011).

Os protocolos experimentais do presente estudo foram submetidos e aceitos pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da UFC sob o número

90/10 (Anexo) e estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

5.3 INDUÇÃO DO DIABETES *MELITO*

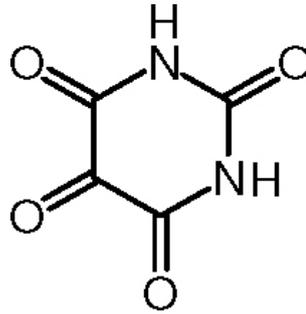
De acordo com protocolo modificado de Bongioiolo (2008) e Katiyar (2011), a indução do diabetes experimental foi feita após jejum alimentar de 24 horas, com fornecimento de água “ad libitum”, através da administração de aloxano monohidratado, diluído em solução salina. A escolha do aloxano como droga indutora do diabetes fez-se baseado em protocolos experimentais de estudos anteriores que também utilizaram essa droga para indução do diabetes em animais (SOARES et al., 2000; ZANOELLO et al., 2002; LERCO et al., 2003; GUIMARÃES, 2005; CAVALLIL et al., 2007).

A droga foi administrada via intraperitoneal por dois dias consecutivos, sendo uma dose de 120 mg/Kg de peso no primeiro dia e uma segunda dose de 150 mg/Kg de peso no segundo dia. Decorridos 30 minutos do tratamento, os animais foram alimentados normalmente.

A confirmação do diabetes foi realizada no quinto dia após a indução, através de amostras de sangue colhido do sinus ocular dos animais mantidos em jejum de 12 horas. Os animais que apresentaram glicemia de jejum igual ou superior 180 mg/dL foram considerados diabéticos, sendo os demais desprezados.

O aloxano (Figura 15), um derivado da pirimidina, é muito seletivo para as células β pancreáticas (MARLES; FARNSWORTH, 1995). Este reagente é um análogo tóxico da glicose que destrói seletivamente as células produtoras de insulina do pâncreas quando administrado à roedores e muitas outras espécies animais. Ele causa DM nesses animais com sintomas similares ao diabetes em humanos, como: perda de peso corporal, polidipsia, poliúria, glicosúria, cetonúria e hiperglicemia (LENZEN; PANTEN, 1988).

Figura 15 – Representação da estrutura do Aloxano



5.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

5.4.1 Estudo do efeito do PCO-C nas doses de 100, 125 e 150 mg/Kg de peso do animal; e Glibenclamida na dose de 10 mg/Kg em camundongos diabéticos

Os animais foram tratados por gavagem com as substâncias em estudo nas concentrações citadas acima por um período de 21 dias conforme o protocolo estabelecido para cada grupo. Os animais foram divididos em sete grupos, compostos por 12 camundongos cada, conforme descrito abaixo e receberam a denominação e o seguinte tratamento:

- Grupo Água (GH₂O): constituído por camundongos diabéticos que receberam água (placebo);
- Grupo Controle Negativo (GN): constituído por camundongos não-diabéticos que receberam água;
- Grupo Diabético PCO-C 100 (G100): constituído por camundongos diabéticos tratados com 100 mg de PCO-C/Kg de peso;
- Grupo Diabético PCO-C 125 (G125): constituído por camundongos diabéticos tratados com 125 mg de PCO-C/Kg de peso;
- Grupo Diabético PCO-C 150 (G150): constituído por camundongos diabéticos tratados com 150 mg de PCO-C/Kg de peso;
- Grupo Negativo Negativo (GNN): constituído por camundongos não diabéticos tratados com 150 mg de PCO-C/Kg de peso;
- Grupo Diabético Glibenclamida (GG): constituído por camundongos diabéticos tratados com 10 mg/Kg peso de glibenclamida.

5.4.2 Avaliação do peso de camundongos diabéticos submetidos ao tratamento com PCO-C nas doses de 100, 125 e 150 mg/kg; Glibenclamida na dose de 10 mg/kg; e camundongos não diabéticos submetidos ao tratamento com 150 mg/Kg de PCO-C

Uma vez por semana os animais foram pesados, a fim de verificar se essas substâncias têm efeito na perda e controle do peso e qual delas é mais eficaz, pois o excesso ponderal é um dos fatores que dificulta o controle da glicemia.

5.5 DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS

Os testes laboratoriais de glicose foram realizados em amostras de sangue colhido do sinus ocular de camundongos mantidos em jejum de 12 horas. Após coagulação do sangue as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm durante 5 minutos e o sobrenadante (soro) foi separado para análise no Laboratório de Patologia da Faculdade de Veterinária da UECE. Os resultados das provas laboratoriais foram obtidos através de análises bioquímicas do soro, que foram realizadas no aparelho METROLAB 2300 PLUS VERSÃO 1.7, que utiliza o método cinético para análise das amostras sorológicas de glicose.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para analisar a significância das diferenças entre os animais dos grupos foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Newman-Keuls, sendo considerado significativo um $p < 0,05$. As comparações estatísticas, criação e edição dos gráficos foram realizadas através do programa GraphPad Prism versão 5.0.

6 RESULTADOS

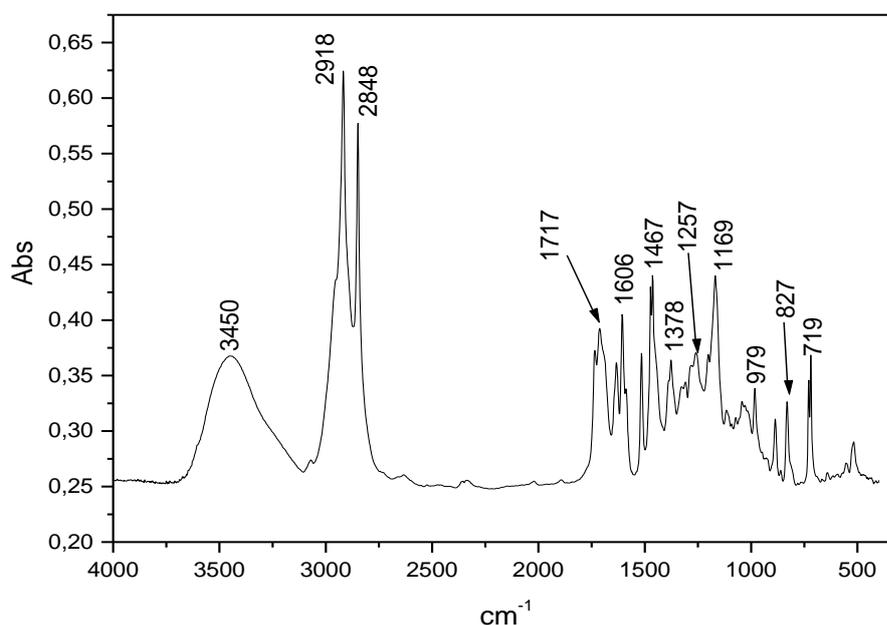
6.1 CONSTITUINTES QUÍMICOS DO PCO-C

O PCO-C obtido pelo método descrito no item 4.1.1.1 (Extração e Isolamento do PCO-C – Diésteres do Ácido 4-Metoxicinâmico) foi obtido com rendimento de 4,2% em relação ao pó de carnaúba (pó olho) e com ponto de fusão do PCO-C de 94-95°C.

O composto PCO-C foi identificado como diésteres do ácido 4-metoxicinâmico (Figura 16), através das análises por espectroscopia IV, RMN¹H e por comparação com dados da literatura (VANDENBURG; WILDER, 1967, 1970).

Através da análise por espectroscopia de absorção na região do infravermelho do PCO-C (Figura 8) foi possível identificar a presença das bandas características dos seguintes grupamentos funcionais: hidroxila (3450 cm⁻¹), éster (1735,1717, 1169 cm⁻¹), instauração (1630, 930 cm⁻¹), aromático p-substituído (827 cm⁻¹) e aromático p-metoxi (1020 cm⁻¹). O espectro de absorção na região do infravermelho do PCO-C é muito semelhante ao obtido por Vandenburg e Wilder (1967, 1970) e são bandas características dos diésteres do ácido 4-metoxicinâmico.

Figura 16 – Espectro de absorção na região do infravermelho do PCO-C (ésteres do ácido cinâmico)



Através da análise do espectro de RMN¹H do PCO-C (Figura 17) e sua expansão (Figura 18), podemos confirmar que o PCO-C seria um éster do ácido p-metoxicinâmico conforme os dados da Tabela 4 e da estrutura descrita na Figura 19.

Figura 17 – Espectro de RMN¹H de PCO-C (δ , CDCl₃, 500,13 MHz)

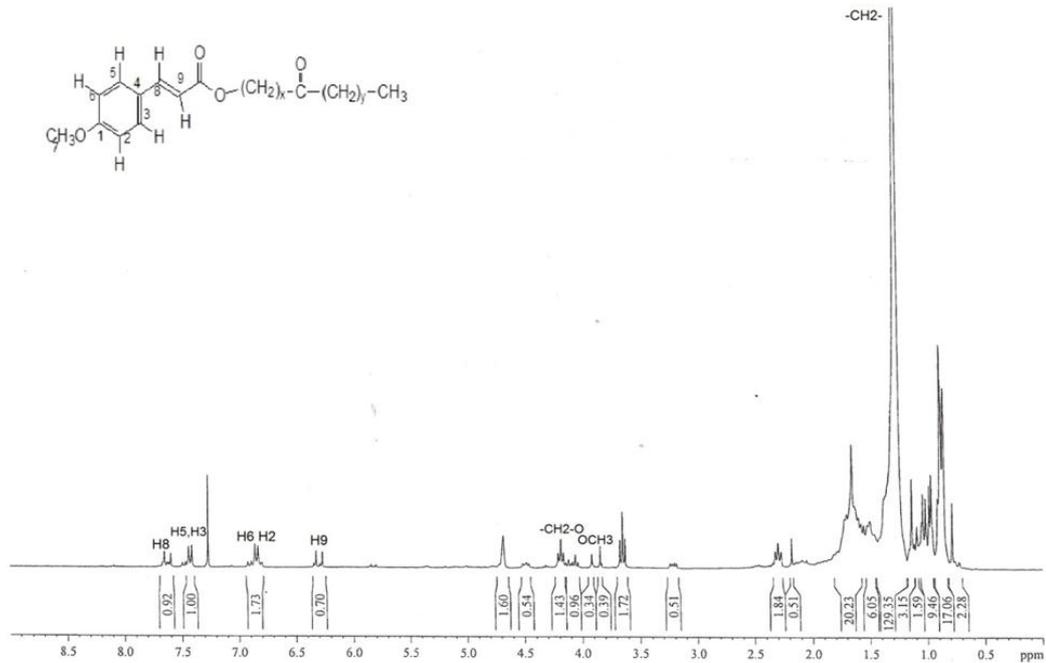


Figura 18 – Espectro de RMN¹H de PCO-C (Expansão de 3,32 a 8,08 δ , CDCl₃, 500,13 MHz)

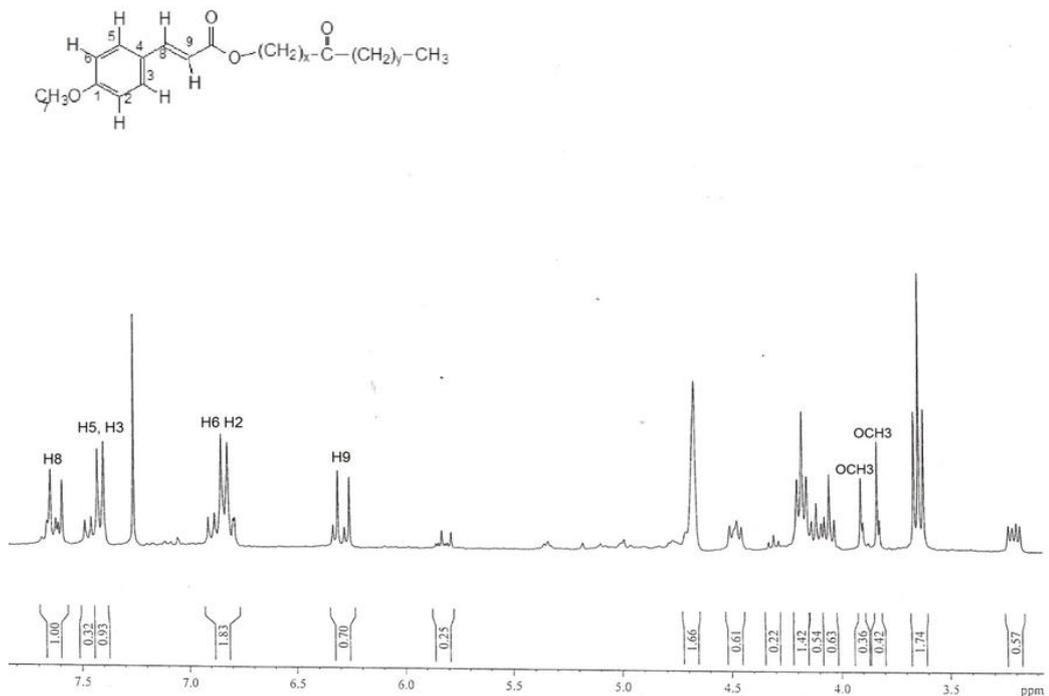
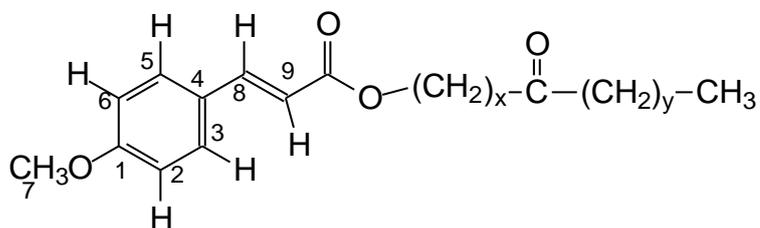


Figura 19 – Estrutura do diéster do ácido 4-metoxicinâmico com respectiva numeração



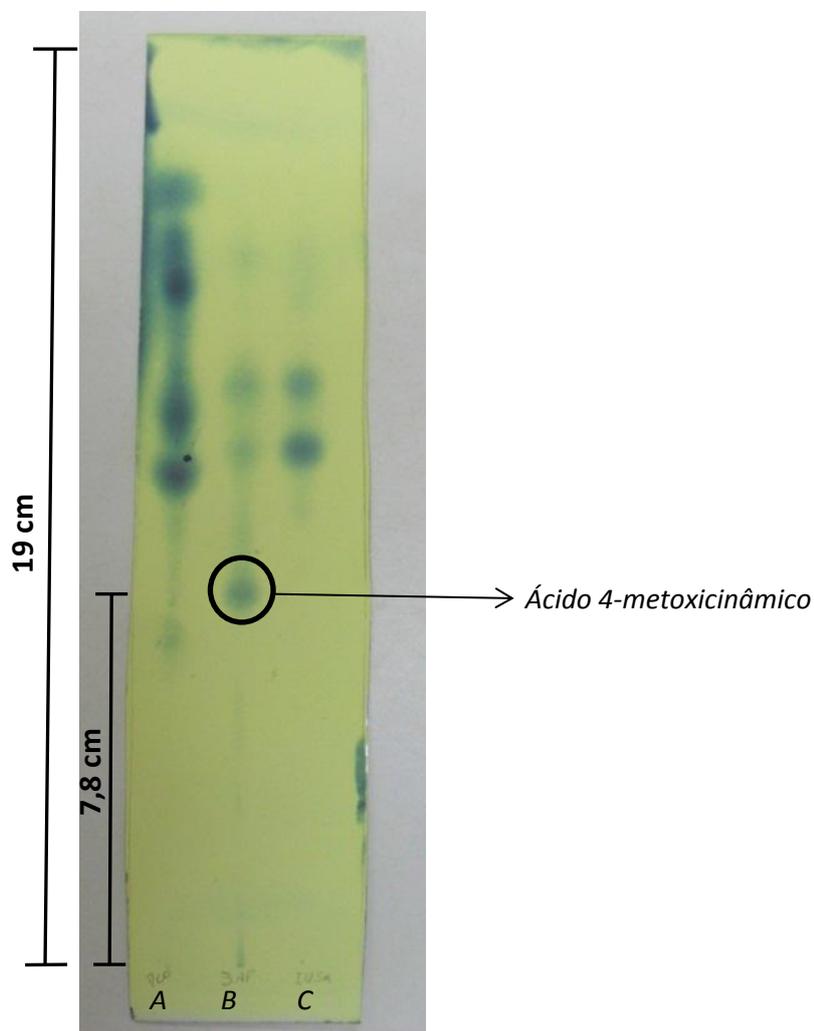
X + y = valor medio 58.

Tabela 4 – Deslocamento químico do diéster do ácido 4-metoxicinâmico (PCO-C) dados espectro RMN¹H

Deslocamento Químico (ppm)	Atribuição
7,62	8 (d, 1H, 16HZ)
7,55	5, 3 (m, 2H)
7,40	6, 2 (m, 2H)
6,33	9 (d, 1H, 16HZ)
3,83, 390	7 (5, 1H)

Através da hidrólise do PCO-C (diésteres do ácido 4-metoxicinâmico) os ésteres foram hidrolizados e o material saponificável (ácidos aromáticos) foi separado do insaponificável. Pela análise por CCD o material saponificável (ácidos aromáticos) possuem o mesmo RF do ácido 4-metoxicinâmico (placas de sílica gel Kieselger 60F254, 0,20mm, Merck) quando eluídos em heptano: acetato de etila (1:1) e utilizando os reveladores descritos acima, conforme descrito por Vandenburg e Wilder (RF:0,41; Figura 20).

Figura 20 – Cromatograma do PCO-C (spot a), PCO-C hidrolisado – material saponificável-ácidos aromáticos (spot b), insaponificável do PCO-C (spot c)

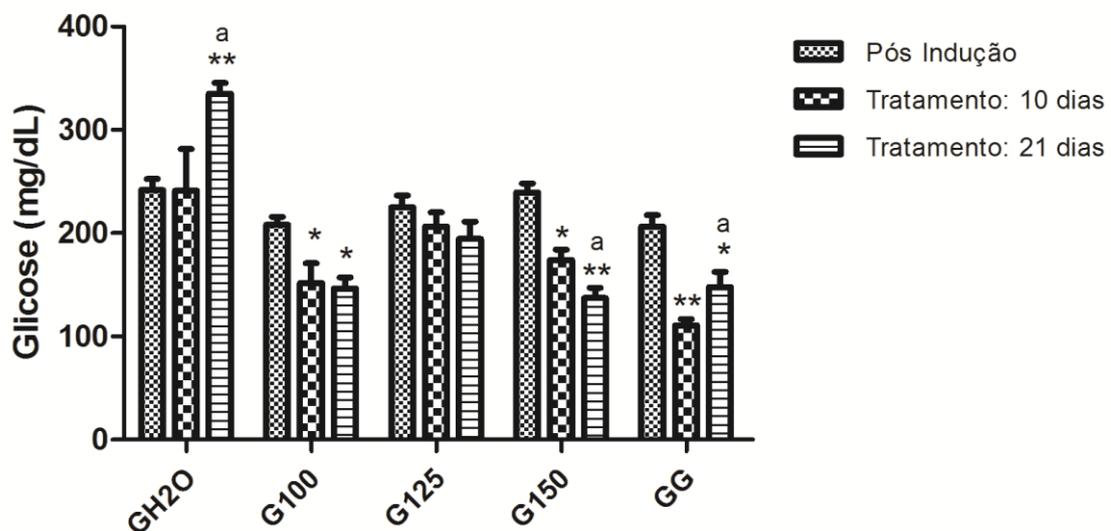


Através da recristalização dos ácidos aromáticos obtidos e seguindo procedimento descrito por Vandenburg e Wilder (1970) cristais brancos (PF 173 – 175°C) correspondentes aos ácidos aromáticos foram obtidos os quais são cromatograficamente homogêneos e possuem o mesmo RF do ácido 4-metoxicinâmico (placas de sílica gel Kieselger 60F254, 0,20 mm, Merck) quando eluídos em heptano: acetato de etila (1:1) e utilizando os reveladores descritos acima. Na comparação espectro de absorção na região do IV (KBR) do material hidrolisado e recristalizado (ácido 4-metoxicinâmico) mostrou-se idêntico ao do padrão (hidroxila 3456 cm^{-1}) ácido (1685 cm^{-1} , 1176 cm^{-1}), instauração (830 cm^{-1} , 980 cm^{-1}), aromático (1600 cm^{-1} , 1515 cm^{-1}), para substituído (830 cm^{-1}).

6.2 ESTUDO DO EFEITO DO PCO-C NAS CONCENTRAÇÕES SOROLÓGICAS DE GLICOSE DE CAMUNDONGOS DIABÉTICOS TRATADOS E NÃO-TRATADOS

Ao analisarmos os resultados desta pesquisa verificamos que o aloxano foi eficaz na indução do diabetes melito, pois todos os grupos de animais obtiveram uma elevação da glicemia acima 180 mg/dL (Figura 21 e Tabela 5), além da presença de sinais clínicos característicos como, perda de peso, poliúria e polidipsia, o que confirma a presença desta patologia.

Figura 21 – Efeito do PCO-C nos níveis sorológicos de glicose em camundongos diabéticos. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) de 12 camundongos em cada grupo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ nível de significância quando comparado ao controle. a ($p < 0,05$) quando comparado com os dias de tratamento



Observando os resultados do efeito do PCO-C sobre a glicemia de animais diabéticos tratados com três diferentes doses de PCO-C, glibenclamida (droga de referência) e água, verificamos que o grupo diabético tratado com água (GH₂O) teve um aumento significativo da glicemia no 21º dia de tratamento quando comparado à glicemia inicial (pós-indução). Este fato confirma a presença do diabetes sem tratamento nestes animais, caracterizado por uma elevação acentuada e estatisticamente significativa (28%) no último dia de tratamento, quando comparado ao período de pós-indução (Tabela 5 e Figura 21).

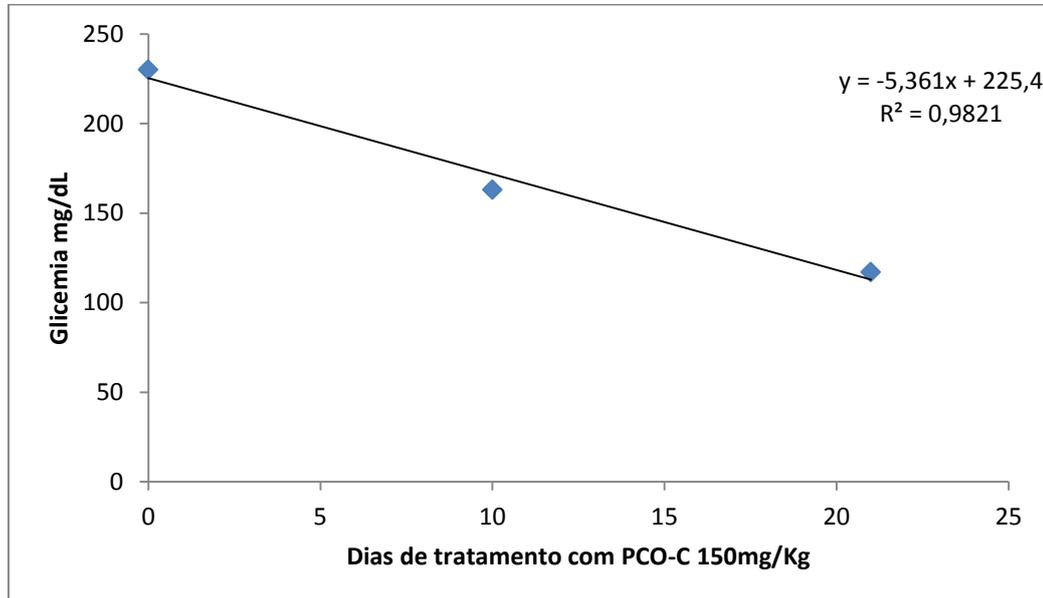
Quando comparamos os grupos diabéticos tratados com as três diferentes doses de PCO-C verificamos que as doses de 100 e 150 mg/dL foram as mais eficazes, pois reduziram os níveis glicêmicos de forma gradual durante todo o período de tratamento, controlando, dessa forma, o diabetes. Além disso, pode-se afirmar, ainda, que a dose de 150 mg/Kg de PCO-C foi tão eficaz ou até melhor que a droga de referência (glibenclamida), pois observou-se que, apesar da glibenclamida ter apresentado uma redução maior nos níveis glicêmicos no 10º dia de tratamento, a mesma não conseguiu manter esta redução, tendo ocorrido um aumento nos níveis de glicose no último dia de tratamento. Fato este, que não ocorreu com a dose de PCO-C 150 mg/Kg, que apresentou uma redução significativa e gradual nos níveis glicêmicos. Por isso, pode-se afirmar que esta dose de PCO-C se comportou de forma mais eficiente que a glibenclamida, apesar de não haver diferença significativa nos valores glicêmicos no último dia de tratamento para ambos os grupos (Tabela 5 e Figura 21). A dose de 125 mg/dL de PCO-C não foi eficaz na redução dos níveis glicêmicos, pois os níveis de glicose deste grupo ainda estavam muito acima dos valores considerados como padrão normal para camundongos, 47,7 – 107 mg/dL (KENEKO et al., 2008).

Com relação aos grupos não diabéticos (controles) tratados com água e a maior dose de PCO-C (150 mg/Kg) a glicemia manteve-se estável e dentro dos parâmetros considerados normais para camundongos durante todo o experimento (Tabela 5).

A dose de PCO-C de 100 mg/Kg apresentou uma redução nos níveis glicêmicos de 27%, no 10º dia de tratamento em relação à glicemia inicial (pós-indução), e manteve estes níveis estáveis e praticamente nos mesmos valores até o último dia do experimento (Tabela 5).

A dose de 150 mg/Kg foi a que apresentou melhores resultados, pois reduziu a glicose em 27 e 40%, no 10º e 21º dia de tratamento, respectivamente, em relação ao período de pós-indução (Tabela 5 e Figura 21). Além disso, verificou-se que esta dose de PCO-C apresentou uma correlação positiva entre o tempo de administração do produto e redução nos níveis glicêmicos (Figura 22).

Figura 22 – Análise de correlação entre o tempo de administração do PCO-C na dose de 150mg/Kg e níveis glicêmicos



A glibenclamida (droga de referência) apresentou uma grande redução (46%) na glicemia no 10^o dia de tratamento, no entanto, no 21^o dia a redução foi menor, apenas 29%. Mostrando que a glibenclamida não foi capaz de manter a redução nos níveis glicêmicos em relação aos dias de tratamento. Resultados diferentes dos encontrados na dose de 150mg/Kg de PCO-C (Figuras 21 e 22). Isso significa que a droga de referência foi menos eficaz na manutenção dos níveis glicêmicos durante o período de tratamento quando comparada ao PCO-C na dose de 150 mg/Kg.

Tabela 5 – Níveis sorológicos de glicose de jejum em camundongos diabéticos induzidos por aloxano e não-diabéticos, tratados durante 21 dias com água, glibenclamida e diferentes doses de PCO-C

Grupo	Substância Administrada	Glicemia Pós-Indução	Níveis Sorológicos de Glicose Durante o Tratamento	
			10 Dias	21 Dias
GH₂O	Água	242 ± 32 mg/dL	241 ± 121 mg/dL	335 ± 31 mg/dL
G100	PCO-C 100 mg/Kg	208 ± 23 mg/dL	152 ± 57 mg/dL	146 ± 32 mg/dL
G125	PCO-C 125 mg/Kg	225 ± 34 mg/dL	207 ± 41 mg/dL	194 ± 50 mg/dL
G150	PCO-C 150 mg/Kg	239 ± 26 mg/dL	174 ± 30 mg/dL	137 ± 29 mg/dL
GG	Glibenclamida 10 mg/Kg	207 ± 33 mg/dL	111 ± 18 mg/dL	148 ± 44 mg/dL
*GN	Água	99 ± 8 mg/dL	95 ± 8 mg/dL	98 ± 6mg/dl
**GNN	PCO-C 150 mg/Kg	103 ± 3 mg/dL	106 ± 3 mg/dL	102 ± 3 mg/dL

Valores de referência de glicemia para camundongos: 47,7 – 107 mg/dL. Fonte: Keneko et al. (2008).

* Grupo Negativo não-diabético que foi tratado com água (placebo).

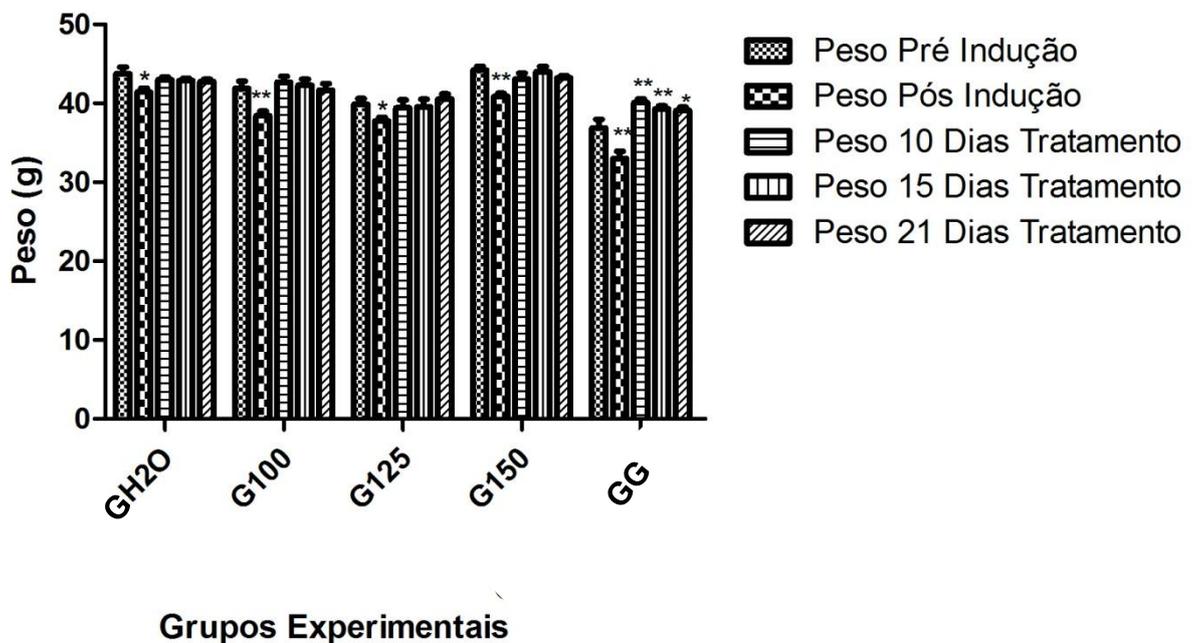
** Grupo (Negativo-Negativo) não-diabético que foi tratado com a maior dose de PCO-C (150mg/Kg).

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). GH₂O, grupo controle positivo (diabético) tratado com água; G100, grupo diabético tratado com 100mg de PCO-C/Kg; G125 grupo diabético tratado com 125mg de PCO-C/Kg; G150, grupo diabético tratado com 150mg de PCO-C/Kg; GG grupo diabético tratado com 10mg de Glibenclamida; GN grupo controle não diabético tratado com água (placebo); GNN, grupo controle não diabético tratado com a maior dose de PCO-C (150mg/Kg).

6.3 ESTUDO DO EFEITO DO PCO-C NO PESO DE CAMUNDONGOS DIABÉTICOS TRATADOS E NÃO-TRATADOS

Quando comparamos o peso inicial dos animais com o peso após a indução do diabetes verificou-se uma redução significativa do mesmo em todos os grupos, o que caracteriza um dos sinais clínicos do DM que é a perda de peso (Figura 23).

Figura 23 – Efeito do PCO-C no peso de camundongos diabéticos. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) de 12 camundongos em cada grupo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ nível de significância quando comparado com o controle



Durante o experimento os animais diabéticos recuperaram o peso após o início dos tratamentos tanto nos grupos que receberam PCO-C, quanto no grupo que recebeu placebo (água) e glibenclamida (droga de referência). Porém, observou-se um fato interessante, o grupo que recebeu a glibenclamida apresentou um aumento (estatisticamente significativo) de 5% no peso na última semana de tratamento, quando comparado ao peso no período de pré-indução, o que não ocorreu com os grupos que receberam o PCO-C, onde observou-se uma estabilidade do peso durante o tratamento. Com isso, podemos afirmar que houve

um melhor controle de peso do PCO-C em relação à droga de referência (Tabela 6 e Figura 23).

Com relação aos grupos não diabéticos tratados com água (Controle Negativo) e com o PCO-C 150 mg/Kg (Controle Negativo-Negativo) o fato mais interessante foi verificado no grupo não diabético que recebeu a maior dose de PCO-C (150 mg/Kg), pois este grupo, apesar de não ser diabético e ter recebido a maior dose de PCO-C, manteve a mesma média de peso durante todo o experimento (Tabela 6). Com isso, pode-se dizer que o fitocomposto em estudo não alterou o peso dos animais, pois este parâmetro apresentou o mesmo comportamento em todos os grupos que receberam o PCO-C, independente dos animais serem diabéticos ou não.

Tabela 6 – Efeito do PCO-C no peso de camundongos diabéticos induzidos por aloxano e não-diabéticos, tratados durante 21 dias com água, glibenclamida e diferentes doses de PCO-C

Grupo	Substância Administrada	Peso Pré- Indução	Peso Pós-Indução	Peso dos Animais Durante o Tratamento		
				10 Dias	15 Dias	21 Dias
GH₂O	Água	44 ± 2 g	41 ± 2 g	43 ± 1 g	43 ± 0,9 g	43 ± 0,8 g
G100	PCO-C 100 mg/Kg	42 ± 3 g	38 ± 2 g	43 ± 2 g	42 ± 2 g	42 ± 3 g
G125	PCO-C 125 mg/Kg	40 ± 2 g	38 ± 1 g	39 ± 3 g	40 ± 3 g	41 ± 2 g
G150	PCO-C 150 mg/Kg	44 ± 1 g	41 ± 1 g	43 ± 2 g	44 ± 2 g	43 ± 0,8 g
GG	Glibenclamida 10 mg/Kg	37 ± 3 g	33 ± 3 g	40 ± 1 g	39 ± 1 g	39 ± 1 g
*GN	Água	39 ± 2 g	39 ± 2 g	39 ± 2 g	39 ± 2 g	39 ± 2 g
**GNN	PCO-C 150 mg/Kg	38 ± 1 g	38 ± 1 g	38 ± 0,9 g	38 ± 2 g	38 ± 1 g

* Grupo Negativo não-diabético que foi tratado com água (placebo).

**Grupo (Negativo-Negativo) não-diabético que foi tratado com a maior dose de PCO-C (150mg/Kg).

Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M). GP, grupo controle positivo (diabético) tratado com água; G100, grupo diabético tratado com 100mg de PCO-C/Kg; G125 grupo diabético tratado com 125mg de PCO-C/Kg; G150, grupo diabético tratado com 150mg de PCO-C/Kg; GG grupo diabético tratado com 10mg de Glibenclamida; GNN, grupo controle não diabético tratado com a maior dose de PCO-C (150mg/Kg).

7 DISCUSSÃO

Apesar do PCO-C ser um produto novo no tratamento do diabetes melito, com escassez de referências na literatura, a caracterização química deste produto é de suma importância para se compreender os possíveis mecanismos de ação deste composto.

De acordo com Burger e Richter (1991), a combustibilidade e o poder calorífico são altamente influenciados pela presença de materiais extrativos inflamáveis, como óleos, resinas e ceras. Por isso, podemos relacionar esta informação com o percentual de rendimento do PCO-C durante seu processo de extração, onde se obteve um rendimento de 4,2%. Isto comprova que esta espécie, por estar localizada em regiões muito quentes, produz, como meio de defesa para evitar a perda excessiva de água, um pó ceroso que recobre as folhas da carnaúba. A cera obtida da extração deste pó é um metabólito de muito valor na indústria farmacológica, cosmética e alimentícia (RODRIGUES, 2004).

As análises feitas com o PCO-C, nesta pesquisa, confirmaram que, sua composição química, é composta por diésteres do ácido 4-metoxicinâmico. Resultado muito semelhante ao obtido por Vandenburg e Wilder (1967, 1970), pois o material saponificável (ácidos aromáticos) possui o mesmo RF do ácido 4-metoxicinâmico, na análise por CCD, utilizando a mesma metodologia dos autores citados anteriormente.

As complicações crônicas do diabetes são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos, além de uma perda importante na qualidade de vida. As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte (52%) em pacientes diabéticos do Tipo 2 e estes pacientes constituem cerca de 30% das admissões em Centros de Tratamento Intensivo. Diversos fatores de risco, passíveis de intervenção estão associados ao maior comprometimento cardiovascular observado nos pacientes diabéticos. Entre estes estão a presença da nefropatia diabética, retinopatia diabética e hipertensão arterial sistêmica. Além disso, dados epidemiológicos brasileiros indicam que as amputações de membros inferiores ocorrem 100 vezes mais frequentemente em pacientes com diabetes quando comparados à outras patologias (SBD, 2009).

Neste trabalho foi adotado o aloxano como droga diabetogênica por seu uso amplamente difundido em várias pesquisas que trabalharam com plantas

hipoglicemiantes e por sua citotoxicidade específica para as células beta (LERCO et al., 2003; GUIMARÃES, 2005; ROCHA, 2010; KATIYAR et al., 2011; OHADOMA; MICHAEL, 2011).

As plantas sempre foram usadas como substratos para medicamentos, sendo que cerca de 30% do total de fármacos disponíveis no mercado são originados das mesmas (CALIXTO, 2000).

Os estudos feitos com as plantas medicinais usadas, tradicionalmente, no tratamento do diabetes melito, demonstraram que, em sua maioria, possuem característica hipoglicemiante, confirmando sua utilização como antidiabético natural. Porém, algumas plantas podem ser tóxicas e sua ação hipoglicemiante muitas vezes é um efeito colateral ocasionado pela toxicidade da planta (NEGRI, 2005).

No tratamento do diabetes diversas espécies de plantas têm sido descritas na literatura científica e na medicina popular como tendo propriedades hipoglicêmicas. Além disso, várias substâncias químicas extraídas de plantas medicinais apresentam comprovados efeitos redutores da glicemia sendo consideradas como agentes terapêuticos eficazes ou coadjuvantes no tratamento da diabetes. Essa diversidade de classes químicas indica que uma grande variedade de mecanismos de ação podem estar envolvidos na redução do nível de glicose no sangue (NEGRI, 2005).

As principais pesquisas envolvendo efeito hipoglicemiante de plantas trabalharam com os seguintes extratos: Extratos dos frutos, folhas e raízes de *Momordica charantia* Linn; *Eugenia Jambolana* (MIURA et al., 2004; SENANAYAKE et al., 2004); extratos aquosos dos frutos de *Mormodica cymbalaria* Hook F (KAMESWARA RAO et al., 2001); extrato aquoso das sementes de *Syzygium cumini* Linn (PRINCE et al., 2003); extrato de *Brassica juncea* (GROVER et al., 2003); extrato butanólico de *Caralluma attenuata* Wight (VENKATESH et al., 2003) e o extrato aquoso de *Spergularia purpúrea* L.(EDDOUKS et al., 2003; JOUAD et al., 2000).

Na Índia o uso de plantas medicinais no controle do diabetes apresenta grande prevalência e muitas destas plantas têm sido investigadas quanto aos seus benefícios nos diferentes tipos de diabetes. Os resultados desses estudos têm sido descritos em numerosas revistas científicas, destacando algumas espécies como: *Aloe vera* L. (Aloaceae), *Eugenia jambolana* L. (Myrtaceae) e *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), popularmente conhecida como pitanga (MUKHERJEE et al., 2006).

A *Aloe vera* L. (Aloaceae) popularmente conhecida como babosa e que é originária do norte da África, tem sido muito utilizada em todo o mundo, devido às suas propriedades medicinais, principalmente as suas atividades hipoglicemiantes. No estudo de Okyar (2001) que avaliou o efeito hipoglicemiante do extrato aquoso da folha de *Aloe vera* em ratos normais e com diabetes Tipo 1 e Tipo 2, mostrou que esta planta possui atividade hipoglicêmica em ratos com diabetes tipo I e II, apresentando maior atividade no diabetes tipo II do que a droga de referência (glibenclamida). Isto se deve, provavelmente, à presença de fitosteróis no extrato aquoso da *Aloe vera*, que possuem efeitos de longa duração no controle da glicose sanguínea.

O fruto da *Eugenia jambolana* L. (Myrtaceae), mais conhecido como jambolão ou jamelão, tem sido utilizado como hipoglicemiante por muitas décadas em várias regiões do mundo. Seu principal composto que produz esse efeito pode ser atribuído às saponinas presentes nas sementes e na casca desta planta (SIMÕES, 2003).

No estudo de Ravi et al. (2004) que avaliou o efeito das sementes da *Eugenia jambolana* sobre o sistema de defesa antioxidante em ratos diabéticos induzido por estreptozotocina, verificou que houve uma redução do estresse oxidativo nos animais diabéticos tratados com esta planta através de um efeito protetor sobre as células beta-pancreáticas, que pode ser atribuído à propriedade hipoglicêmica da *Eugenia jambolana*.

O extrato aquoso das folhas da *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), popularmente conhecida como pitangueira ou pitanga, tem sido utilizado como tratamento coadjuvante do diabetes. O composto químico presente nas folhas desta planta responsável pelo efeito anti-diabético são os flavonóides (quercetina e miricetina) e, principalmente, os compostos fenólicos. No estudo de Arai et al. (1999) foi verificado os efeitos de extratos etanólicos das folhas de *Eugenia uniflora* na hiperglicemia e hipertrigliceridemia de camundongos. Constatou-se uma inibição no aumento de glicose no plasma após um teste oral de tolerância à glicose, o que não ocorreu em um teste intraperitoneal de tolerância à glicose. Com isso, os efeitos hipoglicemiantes do extrato desta planta provavelmente ocorrem devido à uma inibição da absorção de glicose no intestino.

O estudo de Trojan-Rodrigues et al. (2012) que estudou as principais plantas utilizadas pela medicina popular no Rio Grande do Sul para o tratamento do diabetes, constatou que 81 espécies de plantas são utilizadas no tratamento desta

patologia pela população local, sendo as espécies das famílias *Asteraceae* e *Myrtaceae* as mais frequentemente usadas. Dessas famílias, há uma predominância de espécies que pertencem às "taníferas diagonais" (*Aspiliamontevicensis* – *Spreng*; popularmente conhecida como "Mal-me-quer"), que é um grupo químico caracterizado pela produção de grandes quantidades de taninos, especialmente ácido gálico e seus derivados. Além disso, diversas espécies da família *Myrtaceae* (principalmente a espécie *Syzygium cumini*, popularmente conhecida como jamelão ou jambolão) são ricas em taninos, flavonoides e outros compostos fenólicos que estão relacionados com atividade hipoglicemiante. Entre essas classes, alguns compostos com atividade antioxidante foram isolados.

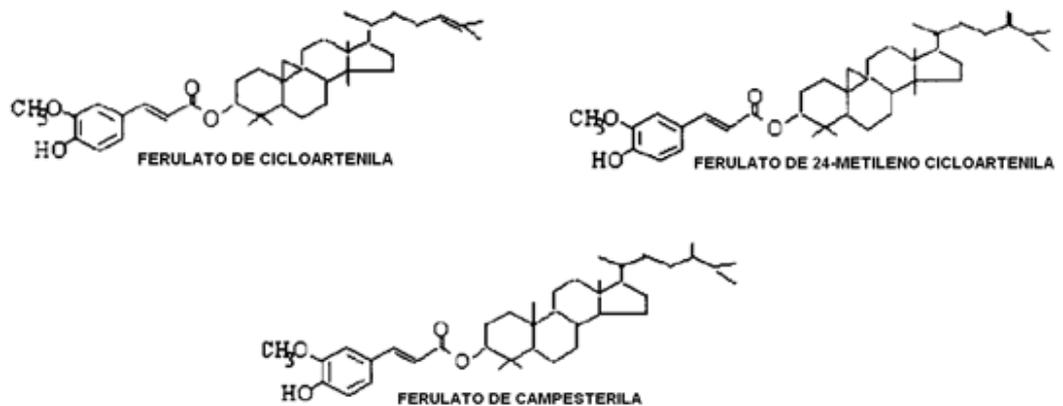
No estudo de Macedo e Ferreira (2005) que avaliou as principais espécies de plantas utilizadas como hipoglicemiantes pela população local, na Bacia do Alto Paraguai e no Estado do Mato Grosso, verificou que as principais citadas foram: *Anacardium humile*; *Bauhinia glabra*; *Cecropia pachystachya*; *Hancornia speciosa*; *Heteropteris aphrodisiaca*; *Leonotis nepetifolia*; *Momordica charantia* e *Solanum lycocarpum*. Além disso, registrou-se ainda que as partes mais utilizadas desses vegetais foram: folhas, casca do caule, raiz, planta toda, brotos, óleos dos frutos e polvilho dos frutos.

Apesar de não haver estudos específicos dos efeitos do PCO-C no metabolismo dos carboidratos e diabetes melito, os resultados encontrados neste estudo corroboram com os de Arruda Filho (2011) que, apesar de ter investigado o potencial terapêutico do PCO-C na prevenção e tratamento das dislipidemias em camundongos, neste estudo verificou-se também que este composto possuía um efeito hipoglicemiante, pois as três doses de PCO-C (10, 50 e 100 mg/dL) utilizadas na pesquisa do referido autor reduziram os valores glicêmicos dos animais em todos os protocolos estudados.

Alguns estudos têm sugerido também que substâncias com estrutura química semelhante aos ésteres do ácido cinâmico, presentes na carnaúba (PCO-C), como o gama-orizanol e o policosanol têm efeitos antioxidante e hipolipemiantes, podendo apresentar também ação hipoglicemiante (ARRUDA FILHO, 2011).

No caso do gama-orizanol (Figura 24), um importante fitoquímico do farelo de arroz, existe uma complexa mistura de ésteres do ácido ferúlico com alcóois triterpenos e esteróis que parecem estar envolvidos na redução dos níveis glicêmicos (KIM et al., 2001; FANG; YU; BADGER, 2003).

Figura 24 – Estrutura dos constituintes do gama-orizanol



No estudo de Marongiu, Piras e Porcedda (2004) que avaliou os efeitos do gama-orizanol, presente no farelo de arroz, sobre a glicemia de pacientes diabéticos, constatou que este composto foi capaz de reduzir a concentração da glicemia de jejum em 29% e 33% em pacientes com DM1 e DM2, respectivamente. Estes percentuais de redução glicêmica são muito semelhantes aos observados neste estudo, onde houve uma redução de 27% na dose de PCO 100 mg/Kg no 10^o dia de tratamento e de 24 e 40% na dose de PCO-C 150 mg/Kg no 10^o e 21^o dia de tratamento, respectivamente.

No estudo de Faccin (2009) que avaliou o efeito do consumo de uma bebida obtida do farelo de arroz orgânico tratado termicamente, na glicemia e colesterolemia de ratos, constatou que houve uma redução significativa ($p < 0,05$) nos níveis de glicose no sangue dos ratos que consumiram a bebida de farelo de arroz, comparados com aqueles que não consumiram.

Estudos realizados com farelo de arroz têm demonstrado uma diminuição da glicose no jejum e no pós-prandial em pacientes diabéticos devido ao alto teor de fibras alimentares do farelo de arroz (SILVA et al., 2005). No entanto Qureshi, Sami e Khan (2002) avaliando o farelo de arroz estabilizado e suas frações (farelo de arroz solúvel em água e concentrado de fibras de farelo de arroz), em diabéticos tipo I e tipo II, observaram que a fração solúvel do farelo de arroz foi a que apresentou uma maior redução na glicemia. Segundo Jung et al. (2007), os ácidos fenólicos presentes no farelo de arroz parecem aumentar a utilização da glicose plasmática, elevando a atividade da glicoquinase e a produção de glicogênio no fígado.

Outro composto químico muito semelhante aos ésteres do ácido cinâmico, presentes na carnaúba, é o policosanol, que consiste em uma mistura de álcoois primários de cadeia longa, isolados da cera da cana de açúcar, portanto um produto quimicamente muito parecido com a cera da carnaúba. O principal efeito atribuído à este composto é sua ação hipolipemiante (BERTHOLD et al., 2006).

No estudo de Castaño et al. (2001), que avaliou os efeitos do policosanol nas doses de 20 e 40 mg/Kg, em pacientes com hipercolesterolemia Tipo II durante seis meses constatou que houve uma redução significativa de LDL – Colesterol (27,4% e 28,1% para as doses de 20 e 40 mg, respectivamente) e Colesterol Total (27,1% e 27,5% para as doses de 20 e 40 mg, respectivamente). Além disso, houve um aumento nos níveis séricos de HDL – Colesterol (17,6% e 17% para as doses de 20 e 40 mg, respectivamente). Não foram observados efeitos adversos em ambas as doses utilizadas do policosanol, e verificou-se também que não houve diferenças significativas entre as duas doses testadas em relação às variáveis analisadas (LDL, Colesterol Total e HDL).

À semelhança dos demais produtos naturais acima descritos os resultados deste estudo sugerem que o PCO-C pode ser um agente efetivo no controle e tratamento do diabetes, pois os grupos de animais diabéticos que receberam as diferentes doses de PCO-C (com exceção apenas da dose de 125 mg/dL) apresentaram redução significativa nos níveis glicêmicos quando comparados à glicemia inicial (período pós-indução) e ao grupo que recebeu apenas água. Além disso, o PCO-C na dose de 150 mg/Kg mostrou-se tão ou até mais eficaz que a droga de referência (glibenclâmida) na redução da glicose sanguínea e na manutenção e controle destes níveis.

Em relação ao peso dos animais, a lipólise provocada pela ausência de insulina, após indução do diabetes por aloxano, leva à perda de peso, fadiga e fraqueza (FERREIRA, 2008). Este fato foi confirmado ao analisarmos os pesos dos animais, cinco dias após a indução do diabetes, onde verificou-se uma redução significativa do peso dos mesmos (Figura 15), o que caracterizou, clinicamente, a presença do diabetes nos grupos de animais que receberam a injeção de aloxano.

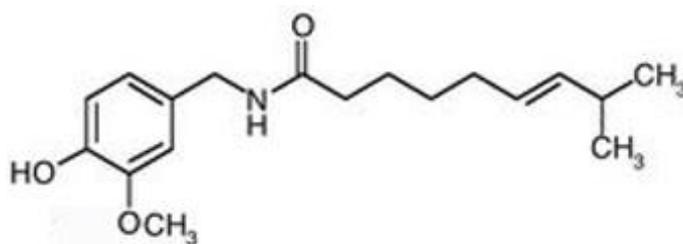
Estudos com plantas hipoglicemiantes e que também têm ação sobre o peso corporal vêm demonstrando que seu efeito sobre a glicemia e o peso, geralmente estão associados à inibição de enzimas intestinais, neste caso, a

inibição da alfa amilase. Este efeito hipoglicemiante na maioria das vezes está associado à perda de peso (MANENTI, 2010).

No estudo de Kurian et al. (2007) que avaliou os efeitos da *Caralluma fimbriata* (também conhecida como “comida da fome” por ter sido utilizada por povos nativos na Índia para saciar a fome durante longas jornadas de caça) em humanos de 25 a 60 anos durante 60 dias constatou que houve diferença significativa na diminuição da circunferência abdominal e do apetite no grupo experimental em relação ao grupo placebo. Segundo os autores, houve uma diminuição de 9,5% na compulsão alimentar e 19,5% na sensação de fome, porém os mecanismos pelos quais esta planta causa estes efeitos não foram elucidados.

A *Capsicum annum* (pimenta) é uma planta pertencente à família Solanaceae. A capsaicina é o principal componente ativo da pimenta, sendo encontrada também em outros alimentos. É um potente estimulante do nervo aferente. Dados epidemiológicos têm demonstrado que o consumo de alimentos contendo capsaicina (Figura 25), está associado com uma menor prevalência de obesidade e alteração da distribuição de gorduras (LEUNG, 2008), além de melhorar a tolerância à glicose, resistência à insulina (GRAM et al., 2005) e apresentar atividade antioxidante (LUO; PENG; LI, 2010).

Figura 25 – Estrutura da capsaicina



Como a primeira fração da carnaúba (PCO-C) é um composto pouco estudado em protocolos experimentais para avaliação do metabolismo dos carboidratos, existe uma total escassez de publicações relacionadas com o assunto para comparação de resultados. Apesar disso, os resultados observados neste estudo experimental corroboram com os resultados obtidos no estudo de Arruda Filho (2011), que verificou uma redução significativa nas taxas plasmáticas de

glicose dos grupos tratados com o PCO-C, em relação aos animais do grupo controle normal.

Considerando-se os resultados, que mostraram uma ação hipoglicemiante significativa do fitocomposto em estudo (nas doses de 100 e 150 mg/Kg), e levando-se em conta que o composto presente no PCO-C, diésteres do ácido 4-metoxicinâmico, já teve efeito comprovado na redução dos níveis de colesterol total e triglicérides no estudo de Arruda Filho (2011), acreditamos na hipótese de que esse composto possa ter ação à nível de expressão gênica, estimulando os genes responsáveis pela produção de insulina nas células beta do pâncreas, pois não apresentou ação sobre o peso dos animais deste estudo, apenas um melhor controle de peso que a droga de referência (glibenclamida).

8 CONCLUSÃO

O composto PCO-C foi identificado como diésteres do ácido 4-metoxicinâmico, através das análises por espectroscopia IV, RMN¹H, ponto de fusão e análise por CCD.

Os Ésteres do ácido cinâmico (PCO-C) estudados apresentaram importantes efeitos hipoglicemiantes no protocolo de indução de diabetes por aloxano em camundongos.

O PCO-C mostrou uma ação hipoglicemiante semelhante ou até melhor que a droga de referência (glibenclamida) nas doses de 100 e 150 mg/Kg, sendo esta última mais eficaz no controle dos níveis glicêmicos.

A dose de PCO-C de 125 mg/Kg não foi eficaz na redução dos níveis glicêmicos.

As doses de PCO-C não tiveram efeito sobre a redução de peso dos animais (diabéticos e não-diabéticos), tendo este parâmetro permanecido estável durante todo o período do experimento. Porém apresentaram um melhor controle no ganho de peso quando comparados à glibenclamida.

Como o pó da cera de carnaúba é de grande importância econômica para a região Nordeste do Brasil e levando-se em conta que a utilização da cera de carnaúba no tratamento do diabetes *melito* é uma aplicação totalmente inédita com este produto, são necessários mais estudos (ensaios clínicos) que mostrem o mecanismo de ação pelo qual o PCO-C reduz os níveis glicêmicos, a fim de se elaborar um produto fitoterápico eficaz e de baixo custo para a população.

REFERÊNCIAS

- ALICE-WEB. Banco de dados. **Potencial econômico da cera de carnaúba no Brasil, 2008**. Disponível em: <<http://www.aliceweb.desenvolvimento.gov.br>>. Acesso em: 15 mar. 2011.
- ALVES, N. M. **Estudo farmacognóstico e da toxicidade experimental (aguda e subaguda) do Guatambu (*Aspidosperma subincanum* Mart.)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- ALVES, F. **Extração da palha de carnaúba gera mão de obra aos são miguelenses**. São Miguel do Tapuio, PI: [s.n.], 2008. Disponível em: <<http://www.saomigueldotapuio.pi.gov.br/noticias.php?id=102.html>>. Acesso em: 22 maio 2011.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Diabetes 2001 vital statistics**. Alexandria, 2001. Disponível em: <<http://www.childrenwithdiabetes.com/ada2001/>>. Acesso em: 30 maio 2011.
- _____. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus [Position Statement]. **Diabetes Care**, v. 25, p. S33, 2002. Suplemento 1. Disponível em: <http://care.diabetesjournals.org/content/25/suppl_1/s1.full>. Acesso em: 20 maio 2011.
- _____. Type 2 diabetes in children and adolescents [Consensus Statement]. **Diabetes Care**, v. 23, p. 381, 2000. Disponível em: <<http://www.changingdiabetesbarometer.com/search.aspx?keyword=ADA%202000>>. Acesso em: 24 maio 2011.
- ALARCON-AGUILAR, F. J.; ROMAN-RAMOS, R.; PEREZ-GUTIERREZ, S. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. **Journal of Ethnopharmacology**, v.6, p.101-110, 1998.
- ANDERSON, J. W. Tratamento nutricional do diabetes mellitus In: **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9. ed. São Paulo: Manole, 2003. p.1459-1491.
- ARAI, I.; KOMATSUA, S. A. Y.; OKADAA, M.; HAYASHIB, T.; KASAIC, M.; ARISAWAC, M.; MOMOSED, Y. Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, p. 307-314, 1999.
- ARRUDA FILHO, V. C. A. **Avaliação do potencial terapêutico dos compostos isolados da cera de carnaúba (ésteres do ácido cinâmico) no tratamento das dislipidemias**. 2011. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.

ASPERGER, A.; ENGEWALD, W.; WAGNER, T. Quantitative determination of acrylat-based copolymer retarding layers on drug granules using pyrolysis-gas chromatography. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, Germany, v. 47, p. 191-200, 1998.

BALUCHNEJADMOJARAD, T.; ROGHANI, M.; HOMAYOUNFAR, H.; HOSSEINI, M. Beneficial effect of aqueous garlic extract on the vascular reactivity of streptozotocin diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p. 139-144, 2003.

BAYMA, C. **Carnaúba – estudo de base do Vale do Jaguaribe**. Rio de Janeiro: [s.n.], 1958.

BERTHOLD, H. K.; UNVERDORBEN, S.; DEGENHARDT, R.; BULITTA, M.; GOUNI-BERTHOLD, I. Effect of Policosanol on Lipid Levels Among Patients With Hypercholesterolemia or Combined Hyperlipidemia: A Randomized Controlled Trial. **Jama**, v. 295, n. 19, p. 2262-2269, 2006.

BONGIOLO, A.M. **Efeito do extrato hidroalcoólico de *Eugenia uniflora* L. (myrtaceae) sobre a hiperglicemia e dislipidemia de ratos diabéticos induzidos por aloxana**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. **Cadernos de Atenção Básica – Práticas Integrativas e Complementares**, Brasília, n. 31, p. 37-47, 2012.

_____. Diabetes Mellitus. **Cadernos de Atenção Básica**, Brasília, n. 16, p. 7-17, 2006.

BROADHURST, C. L.; POLANSKY, M. M.; ANDERSON, R. A. Insulin-like biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts in vitro. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 48, p. 849-852, 2000.

BURGER, L. M.; RICHTER, H. G. **Anatomia da madeira**. São Paulo: Nobel, 1991. p. 154.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal Medical Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CÂMARA SETORIAL DA CARNAÚBA. **A carnaúba: preservação e sustentabilidade**. Fortaleza: Câmara Setorial da Carnaúba, 2009.

CARVALHO. J. B. M. **Ensaio sobre a carnaubeira**. 2. ed. Natal: EMPARN, 1982.

_____. **Ensaio sobre a carnaubeira**. Rio de Janeiro: Serviços de Informação Agrícola, 1942.

CASTAÑO, G.; MAS, R.; FERNANDÉZ, R.; ILINAIT, J.; GÁMEZ, R.; ALVAREZ, E. Effects of policosanol 20 versus 40 mg/day in the treatment of patients with type II hypercholesterolemia: a 6-month double-blind study. **International Journal of Clinical Pharmacology Research**, v. 21, p. 43-57, 2001.

CAVALLIL, V. L. L. O.; SORDIL, C.; TONINIL, K.; GRANDOL, A.; MUNEROLI, T.; GUIGIL, A.; JUNIOR, W. A. R. Avaliação in vivo do efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folha de bardana *Arctium minus* (Hill.) Bernh. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 1, jan/mar. 2007.

COELI, C. M.; FERREIRA, L. G. F. D.; DERBAL, M. M.; VERAS, R. P.; CAMARGO JR., K. R.; CASCÃO, A. M. Mortalidade em idosos por Diabetes mellitus como causa básica e associada. **Revista Saúde Pública**, v.36, p.135-140, 2002.

CONNOLLY, J. D.; HILL, R. A. Triterpenoids. **Natural Product Report**, v. 18, p. 560-578, 2001.

CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DIABETES. **Diagnóstico e Classificação do Diabetes mellitus e tratamento do Diabetes mellitus tipo 2**. Sociedade Brasileira de Diabetes, p. 1 – 6, 2002.

CRESPO, M.F.V. **Estratégia de desenvolvimento do arranjo produtivo local da carnaúba em Ilha Grande de Santa Isabel (PI): área de proteção ambiental Delta do Parnaíba**. 2007. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2007.

D'ALVA, O. A. **O extrativismo da carnaúba no Ceará**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2007.

EDDOUKS, M.; JOUAD, H.; MAGHRANI, M.; LEMHADRI, A.; BURCELIN, R. Inhibition of endogenous glucose production accounts for hypoglycemic effect of *Spergularia purpurea* in streptozotocin mice. **Phytomedicine**, v. 10, p. 594-599, 2003.

ELISABETSKY, E.; SETZER, R. Caboclo concept of disease, diagnosis and therapy: implications for ethnopharmacology and health systems in Amazonia. In: **THE AMAZONIAN caboclo: historical and contemporary perspectives**. Williamsburg: Studies on Third World Societies Publication Series, 1985. v. 32, p. 243-278.

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

EMILIEN, G.; MALTEAUX, J.; PONCHON, M. Pharmacological management of diabetes: recent progress and future perspective in daily drug treatment. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 81, p. 37-51, 1999.

ESCRITÓRIO TÉCNICO DE ESTUDOS ECONÔMICOS DO NORDESTE. **Extrativismo da carnaúba: relações de produção, tecnologia e mercado**. Fortaleza – CE: Banco do Nordeste do Brasil, 2008. n. 20. Disponível em: <http://

<http://www.slideshare.net/MariaOdeteAlves/extratativismo-da-carnauba-relaes-de-produo-tecnologia-e-mercados-2008>>. Acesso em: 28 fev. 2013.

FACCIN, L. G. **Estabilidade e propriedades sensoriais da bebida de farelo de arroz parbolizado orgânico e os efeitos de seu consumo em ratos**. Florianópolis, 2009. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias – Universidade Federal de Santa Catarina.

FANG, N.; YU, S.; BADGER, T. M. Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. **Journal of Agriculture. Food Chemistry**, v. 51, p. 3260-3267, 2003.

FARNSWORTH, N., SOERJATO, D. Potential consequence of plant extinction in the US in the current and future availability of prescription drugs. **Economical Botany**, v. 39, p. 231-240, 1985.

FERREIRA, R. M. **Efeito da infusão dos frutos de *Momordica charantia* L. em ratos diabéticos**. 2008. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

FORT, D. M.; RAO, K.; JOLAD, S. D.; LUO, J.; CARLSON, T. J.; KING, S. R. Antihyperglycemic activity of *Teramnus labialis* (Fabaceae). **Phytomedicine**, v. 6, p. 465-467, 2000.

FORTE, L. Cera de Carnaúba Apresenta Múltiplas Aplicações, **Diário do Nordeste**, Fortaleza, 2003. Disponível em: <http://www.sfipec.org.br/artigos/agroindustria/cera_carnauba_apresenta_multiplas_aplicacoes.htm>. Acesso em: 22 maio 2011.

FRANZ, M. J. Terapia Nutricional para Diabetes Melito e Hipoglicemia de Origem Não Diabética. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. E. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. Cap. 33, p. 756-798.

GMCERAS. **As origens, tipos e aplicações da Cera de Carnaúba, 2011**. Disponível em: <<http://www.gmceras.com.br/cera-de-carnauba.html>>. Acesso em: 22 maio 2011.

GRAM, D. X.; HANSEN, A. J.; WILKEN, M.; ELM, T.; SVENDSEN, O.; CARR, R. D.; AHREN, B.; CRISTÃ, M. L. Plasma calcitonin gene-related peptide is increased prior to obesity, and sensory nerve desensitization by capsaicin improves oral glucose tolerance in obese Zucker rats. **European Journal of Endocrinology**, v. 153, p. 963-969, 2005.

GROVER, J. K.; YADAV, S.; VATS, V. Effect of feeding *Murraya koeingii* and *Brassica juncea* diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p. 1-5, 2003.

GUIMARÃES, M. J. A. R. **Avaliação dos efeitos do extrato aquoso da *Bauhinia Fortificata* (Pata-de-Vaca) no perfil glicêmico e lipídico de ratos “Wistar” machos em modelo de diabetes induzida por aloxano**. 2005. Dissertação

(Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2005.

HANDA, S. S.; CHAWLA, A. S. Hypoglycemic plants – a review. **Fitoterapia**, v. 60, p. 195-224, 1989.

IVORRA, M. D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 27, p. 243-275, 1989.

JOHNS, T.; CHAPMAN, L. Phytochemicals ingested in traditional diets and medicine as modulators of energy metabolism. In: ARNASON, J. T.; MATA, R.; ROMEO, J. T. (Eds.). Recent Advances in Phytochemistry. New York: **Plenum Press**, v. 29, p. 161-188, 1995.

JOUAD, H.; EDDOUKS, M.; LACAILLE-DUBOIS, M. A.; LYOUSSI, B. Hypoglycaemic effect of *Spergularia purpurea* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 169-177, 2000.

JUNG, E. H.; KIM, S. R.; HWANG, I. K.; HA, T. Y. Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL/KsJ-db mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 24, p. 9800-9804, 2007.

KAMESWARA RAO, K. B.; KESAVULU, M. M.; APPARAO, C. Antihyperglycemic activity of *Mormodica cymbalaria* in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 67-71, 2001.

KAR, A.; CHAUDHARY, B. K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycaemic herbs on oral glucose tolerance test. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 179-184, 1999.

KATIYAR, D.; SINGH, B.; LALL, A. M.; HALDAR, C. Efficacy of chitooligosaccharides for the management of diabetes in alloxan induced mice: A correlative study with antihyperlipidemic and antioxidative activity. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 44, p. 534-543, 2011.

KENEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 6. ed. San Diego: Elsevier, 2008. Appendix XI, p. 883.

KIM, J. S.; GODBER, J. S.; KING, J.; PRIYAWIWATKUL, W. Inhibition of cholesterol autoxidation by the nonsaponifiable fraction in rice bran in an aqueous model system. **Journal of American Oil Chemists' Society**, n. 78, p. 685-689, 2001.

KOSHY, A. S.; VIJAYALAKSHMI, R. Impact of certain flavonoids on lipid profiles. Potential action of *Garcinia cambogia* flavonoids. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 395-400, 2001.

KUBO, H.; KOBAYASHI, J.; HIGASHIYAMA, K.; KAMEI, J.; FUJII, Y.; OHMIYA, S. The hypoglycemic effect of (7R, 9aS)-7-phenyl-octahydroquinolizin-2-one in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 23, p. 1114-1117, 2000.

KURIYAN, R.; RAJ, T.; SRINIVAS, S. K.; VAZ, M.; RAJENDRAN, R.; KURPAD, A. V. Effect of *Caralluma Fimbriata* extract on appetite, food intake and anthropometry in adult Indian men and women. **Appetite**, v. 48, p. 338-344, 2007.

LENZEN, S.; PANTEN, U. Alloxan: history and mechanism of action. **Diabetologia**, v. 31, n. 6, p. 337-342, 1988.

LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.; PADOVANI, C. R. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 132-142, 2003.

LEUNG, F. W. Capsaicin-sensitive intestinal mucosal afferent mechanism and body fat distribution. **Life Sciences**, v. 83, p. 1-5, 2008.

LI, W. L.; ZHENG, H. C.; BUKURU, J.; De KIMPE, N. Natural medicines used in the traditional chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **Journal Ethnopharmacology**, v. 92, p. 1-21, 2004.

LUO, X. J.; PENG, J.; LI, W. J. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology**, 2010.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso-Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 45-47, 2005.

MANENTI, A.V. **Plantas medicinais utilizadas no tratamento da obesidade: uma revisão**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. Review. **Phytomedicine**, v. 2, n. 2, p. 137-189, 1995.

MARONGIU, B.; PIRAS, A.; PORCEDDA, S. Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of *Elettaria cardamomum* (L.) Maton. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6278-6282, 2004.

MARTINEZ-RIQUELME, A. E.; ALLISON, S. P. Insulin revisited. **Clinical Nutrition**, v. 22, p. 7-15, 2003.

MERCK. **Ácido Cinâmico, 2013**. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/brazil/chemicals/acido-cinamico/MDA_CHEM-800235/p_9OSb.s1LH_IAAAEWh.EfVhTI>. Acesso em: 21 jan. 2013.

MIURA, T.; ITOH, Y.; IWAMOTO, N.; KATO, M.; ISHIDA, T. Suppressive activity of the fruit of *Momordica charantia* with exercise on blood glucose in type 2 diabetic mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 248-250, 2004.

MUKHERJEE, P. K.; MAITI, K.; MUKHERJEE, K.; HOUGHTON, P. J. Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 1-28, 2006.

NEEF, H.; DECLERCQ, P.; LAEKEMAN, G. Hypoglycaemic activity of selected European plants. **Phytotherapy Research**, v. 9, p. 45-48, 1995.

NEGRI, G. Diabetes Melito: Plantas e Princípios Ativos Naturais Hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, abr./jun. 2005.

OHADOMA, S. C.; MICHAEL, H. U. Effects of co-administration of methanol leaf extract of *Catharanthus roseus* on the hypoglycemic activity of metformin and glibenclamide in rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p.475-477, 2011.

OJEWOLE, J. A. O. Hypoglycemic effect of *Scleocarya birrea* (A. Rich Hochst) [Anacardiaceae] stem-bark aqueous extract in rats. **Phytomedicine**, v. 10, p. 675-681, 2002.

OKYAR, A.; CAN, A.; AKEV, N. G.; SUTLÜPINAR, N. Effect of *Aloe vera* leaves on blood glucose level in type I and type II diabetic rat models. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 157-161, 2001.

OLIVEIRA, A. M. S.; GOMES, J. M. A. Exigências e vantagens mercadológicas da cera de carnaúba. In: GOMES, J. M. A.; SANTOS, K. B; SILVA, M. S. (OrgS.). **Cadeia produtiva da cera de carnaúba: diagnóstico e cenários**. Teresina: EDUFPI, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cuidados primários de saúde. Relatório da conferência internacional sobre cuidados primários de saúde**. Alma-Ata, URSS: 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1991.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002 – 2005**. Ginebra, 2002. p. 66.

PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis no Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1931.

PRINCE, P. S. M.; KAMALAKKANNAN, N.; MENON, V.P. *Syzygium cumini* seed extracts reduce tissue damage in diabetic rat brain. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 84, p. 205-209, 2003.

QURESHI, A. A.; SAMI, S. A.; KHAN, F. A. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 3, p. 175-187, 2002.

RAHMAN, A. U.; ZAMAN, K. Medicinal plants with hypoglycemic activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, p. 1-55, 1989.

RAO, A.V. ; GURFINKEL, D. M. The bioactivity of saponins: triterpenoid and steroidal glycosides. **Drug Metabolism. Drug Interactions**, v. 17, p. 211-235, 2000.

RAVI, K.; RAMACHANDRAN, B.; SUBRAMANIAN, S. Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Life Sciences**, v. 22, p. 2717-2731, 2004.

ROCHA, M. T. A. **Efeitos de *Momordica charantia* L. em ratos diabéticos**. Viçosa, 2010. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa.

RODRIGUES, V. P. **Copernicia Cerífera Mart.:** aspectos químicos e farmacológicos de uma palmeira brasileira. 2004. (Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

SACHS, A. Diabetes Mellitus. In: CUPPARI, L. **Nutrição clínica no adulto**. 4. ed. São Paulo: Manole, 2005. Cap. 9, p. 171-188.

SALTIEL, A. R.; KAHN, R. C. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, p. 799-812, 2001.

SANTOS, A. P. S. Estudo socioeconômico dos principais produtos do extrativismo vegetal do Piauí: carnaúba. Teresina: CEPRO, 1979.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2009**. Disponível em: <www.diabetes.org.br/attachments/diretrizes09_final.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. **Diabetes mellitus: insulino terapia – projeto diretrizes, 2005**. Disponível em: <www.projetodiretrizes.org.br/4_volume/07-Diabetes-I.pdf>. Acesso em: 22 maio 2011.

_____. **Diabetes mellitus: tratamento medicamentoso – projeto diretrizes, 2004**. Disponível em: <www.projetodiretrizes.org.br/4_volume/13-Diabetes.pdf>. Acesso em: 22 maio 2011.

SENANAYAKE, G. V. K.; MARUYAMA, M.; SHIBUYA, K.; SAKONO, M.; FUKUDA, N.; MORISHITA, T.; YUKIZAKI, C.; KAWANO, M.; OHTA, H. The effects of bitter melon (*Momordica charantia*) on serum and liver triglyceride levels in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 257-262, 2004.

SIANI, A. C., GILBERT, B. Far-Manguinhos/Fiocruz: estratégias para inserção da fitoterapia em saúde pública. **Riopharma**, v. 18, 2000.

SILVA, C. R.; DUTRA, O. J. E.; GONÇALVES, S. R. A. H.; SILVA, H. Efecto Del salvado de arroz como dieta em fibra em los niveles séricos de glucosa de pacientes com Diabetes Mellitus em Brazil. **ALAN**, v. 55, n. 1, p. 23-27, 2005.

SILVA, S. **Frutas no Brasil**. 4. ed. São Paulo, Empresa das Artes: Nobel, 2001.

SIMÕES, C. M. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: [s.n.], 2003.

SOARES, J. C. M.; COSTA, S. T.; CECIM, M. Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com Diabetes Mellitus aloxano induzido, tratados com infusão de Bauhinia Candicans ou Syzygium Jambolanum. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 113-118, 2000.

TROJAN-RODRIGUES, M.; ALVES, T. L. S.; SOARES, G. L. G.; RITTER, M. R. Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 155-163, 2012.

ULLMANN'S, V. C. H. **Encyclopedia of industrial chemistry**. Verlagsgesellschaft , Vol A 28, 1996.

VANDENBURG L. E.; WILDER E. A. Aromatic Acids of Carnauba Wax. **The Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 47, p. 659-662, 1970.

_____. A. Aromatic Acids of Carnauba Wax. **The Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 44, p. 659-662, 1967.

VENKATESH, S.; REDDY DAYANAND, G.; REDDY MADHAVA, B.; RAMESH, M.; RAO APPA, A. V. N. Antihyperglycemic activity of *Caralluma attenuata*. **Fitoterapia**, v. 74, p. 274-279, 2003.

ZANOELLO, A. M.; MELAZZO-MAZZANTI, C.; GINDRI, J. K.; FILAPPI, A.; PRESTES, D.; CECIM, M. Efeito protetor do Syzygium Cumini contra Diabetes Mellitus induzido por aloxano em ratos. **Acta Farmacológica**, Bonaerense, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 31-36, 2002.

ANEXO – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL



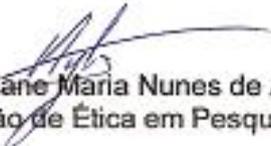
Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 3366.8331 Fax: (85) 3366.8333

DECLARAÇÃO

Declaramos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº 90/10, sobre o projeto intitulado: “Avaliação do potencial terapêutico das substâncias extraídas do pó cerífero da *Copernicia prunifera nas dislipidemias*”, de responsabilidade de Maria Goretti Rodrigues de Queiroz, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Declaramos ainda que o referido projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA – em reunião realizada em 09 de setembro de 2010.

Fortaleza, 16 de Novembro de 2010.


Profa. Dra. Nylane Maria Nunes de Alencar
Coordenadora da Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA