

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação Biologia Geral/Bioprospecção

Kátia Ávila Antunes

**Efeito antiobesidade e toxicidade aguda de *Jacaranda decurrens* subsp.
symmetrifoliolata Farias & Proença (Bignoniaceae)**

Dourados-MS

2013

Kátia Ávila Antunes

Efeito antiobesidade e toxicidade aguda de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral/Bioprospecção, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, para obtenção do título de Mestre em Biologia Geral/Bioprospecção sob orientação da Profa. Dra. Kely de Picoli Souza.

Dourados-MS

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A627e Antunes, Kátia Ávila.
Efeito antiobesidade e toxicidade aguda de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Biognoniaceae). / Kátia Ávila Antunes. – Dourados, MS : UFGD, 2013.
49f.

Orientadora: Profa. Dra. Kely de Picoli Souza.
Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Obesidade. 2. Carobinha. 3. Plantas medicinais. 4. Dieta hiperlipídica. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

“Efeito antiobesidade e toxicidade aguda de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae)”

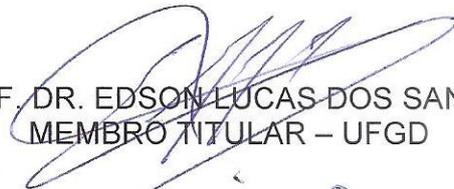
Por

KÁTIA ÁVILA ANTUNES

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM BIOLOGIA GERAL - Área de Concentração: “Bioprospecção”



PROF^a. DR^a. KELY DE PICOLI SOUZA
ORIENTADORA - UFGD



PROF. DR. EDSON LUCAS DOS SANTOS
MEMBRO TITULAR – UFGD



PROF^a. DR^a. ELIANA JANET SANJINEZ ARGANDOÑA
MEMBRO TITULAR - UFGD



PROF^a. DR^a. ROSANGELA APARECIDA DOS SANTOS EICHLER
MEMBRO TITULAR – USP / INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Aprovada em: 27 de agosto de 2013.

Dedico esta dissertação aqueles que são meus maiores bens, meu filho Benjamin, meus pais Adão e Tertuliana, meu grande amor Oldimar, familiares, amigos e professores por todo o incentivo e ajuda para que este trabalho fosse realizado.

Agradecimento

A Deus, por me conceder a oportunidade de chegar ao final desta etapa, conclusão do mestrado.

Aos meus pais, Adão e Tertuliana, que nunca mediram esforços para que eu concluísse meus estudos, obrigada por todo o amor e carinho de vocês.

Ao meu esposo, Oldimar, por toda a sua ajuda, compreensão, carinhos, conselhos, paciência, sempre me dando forças e incentivos para seguir em frente. Oldi, eu te amo muito.

Aos meus irmãos, Claudia, Alex e Kelly, por toda ajuda e incentivo. Kelly, obrigada por todas as caronas para Itaporã, as tardes de estudos, mesmo depois de ter passado a noite de plantão e estar querendo dormir, muito obrigada.

A minha querida professora Kely de Picoli Souza, por toda orientação, confiança, ensinamento, conselhos, amizade e carinho.

Ao professor Edson Lucas dos Santos, por toda a ajuda, apoio e amizade.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, por toda ajuda no desenvolvimento deste e de outros trabalhos, em especial, meu muito obrigada a minha querida amiga Débora da Silva Baldivia. Sem vocês eu não teria conseguido.

A todos que de alguma maneira tenha ajudado para que esse trabalho fosse concluído e para meu crescimento pessoal e profissional.

A maior recompensa do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.

John Ruskin

1. RESUMO

Jacaranda decurrens subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Jds) é utilizada para vários fins na medicina popular, apesar da escassez de investigações científicas que comprovem seus efeitos. Neste contexto, os objetivos deste estudo foram avaliar o efeito antiobesidade do extrato etanólico de folhas de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* (ExJds) em ratos *Wistar* com obesidade induzida por dieta, bem como sua toxicidade aguda. Folhas de Jds foram coletadas, secas, moídas e maceradas por 21 dias em etanol 80%, sendo coletado o líquido a cada sete dias e acrescentado novo etanol. Em seguida, os líquidos extraídos foram misturados, rotaveaporado e liofilizado, sendo solubilizado em água destilada no momento do uso. Ratos *Wistar* com aproximadamente 400 g foram induzidos à obesidade pelo pré-tratamento por seis meses com dieta hipercalórica e, em seguida, tratados por gavagem por oito semanas com salina (NaCl 0,9%), ExJds (400 mg/kg) e sibutramina (2 mg/kg). Durante o tratamento foram avaliados o consumo de ração (g), ingestão hídrica (ml), e a massa corporal (g). Ao final dos tratamentos, os animais foram eutanasiados, o sangue coletado para dosagens bioquímicas e hematológicas e tecidos/órgãos mensurados em g/100g de massa corporal. Para a análise de toxicidade foram utilizadas 15 ratas *Wistar* com aproximadamente 250 g, sendo avaliadas por 15 dias após dose oral única do ExJds de 2 e 5 g/kg de massa corporal. Os dados foram submetidos à análise estatística ANOVA com pós teste *Student Newman Keuls*, com auxílio do programa *GraphPad Prism* 3.0. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$. Os animais tratados com o ExJds apresentaram redução de massa corporal total e massa gorda, com redução dos depósitos de tecido adiposo branco renal e subcutâneo diminuídos, de forma semelhante ao efeito observado nos animais tratados com sibutramina, além de apresentarem aumento na ingestão hídrica e excreção de fezes. Não foram observados sinais de toxicidade. Os resultados indicam que o ExJds reduz tecido adiposo branco sem causar efeitos tóxicos.

Palavras-chave: Obesidade, carobinha, plantas medicinais, dieta hiperlipídica.

Abstract

Jacaranda decurrens subsp. symmetrifoliolata Farias & Proença (Jds) is used for various purposes in folk medicine, despite the scarcity of scientific investigations proving its effects. In this context, the objectives of this study were to evaluate the antiobesity effect of the Jacaranda decurrens subsp. symmetrifoliolata (ExJds) in Wistar rats with obesity induced by diet, as well as their acute toxicity. Leaves were collected, dried, grounded and macerated for 21 days in 80% ethanol, and the liquid was collected every seven days and new ethanol added. The extracted liquids were then mixed, rotoevaporated, lyophilized and solubilized in distilled water at the time of use. Wistar rats with approximately 400 g were induced to obesity by pre-treatment for six months on a hypercaloric diet and then treated by gavage for eight weeks with saline (NaCl 0.9%), ExJds (400 mg / kg) and sibutramine (2 mg / kg). During treatment, food intake (g), water intake (ml), and body mass (g) were evaluated. At the end of the treatment, the animals were euthanized, the blood collected for biochemical and hematological dosages and tissues / organs measured in g / 100g of body mass. For toxicity analysis, 15 Wistar rats with approximately 250 g were used and evaluated for 15 days after single oral dose of ExJds of 2 and 5 g / kg body weight. Data were submitted to ANOVA statistical analysis with Student Newman Keuls test, using GraphPad Prism 3.0 software. The level of significance was set at $p < 0.05$. The animals treated with the ExJds showed reduction of total body mass and fat mass, and decreased white renal adipose tissue and subcutaneous tissue, similar to the effect observed in the animals treated with sibutramine, in addition to an increase in water intake and excretion of feces. No signs of toxicity were observed. The results indicate that ExJds reduces white adipose tissue without causing toxic effects.

Key words: obesity, carobinha, medicinal plants, high fat diet

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	16
3. ARTIGO	17
4. CONCLUSÃO GERAL.....	44
5. REFERÊNCIAS	45
6. ANEXOS	50
Anexo I - Informações sobre a revista para a qual se pretende enviar o trabalho:	50
Anexo II – Comitê de ética.....	51

1. INTRODUÇÃO

A família Bignoniaceae Juss., é uma dicotiledonia pertencente à tribo Tecomeae. Sendo que suas principais características são as folhas bipinadas opostas, raramente pinadas ou simples; suas flores são únicas ou formam inflorescência terminal, cuja corola apresenta coloração que pode variar do azul ao vermelho, raramente branco; seus frutos formam um tipo de cápsula achatada com numerosas sementes e suas sementes são finas aladas com membrana hialina ou acastanhada (GENTRY, A. H., 1992).

Dentre os gêneros pertencentes à família Bignoniaceae encontra o *Jacaranda*, o qual é possui aproximadamente 130 espécies e em geral, ocorre comumente como árvore pioneira e suas sementes são dispersas pelo vento.

Jacaranda decurrens subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae) é conhecida popularmente como carobinha-do-campo, carobinha ou caroba (Figura1). É uma subespécie endêmica que ocorre exclusivamente no sudoeste do Mato Grosso do Sul, caracterizada pela presença de lenticelas esbranquiçadas nos ramos, bem como, folíolos simétricos e capsula oblonga-obovada (FARIAS, R.; PROENÇA, C., 2003). Sua utilização tem sido registrada na medicina popular para diversos fins e também como boa opção ornamental, por ser uma planta de pequeno porte e pela beleza de suas inflorescências (SANGALLI, A. et al., 2002).



Figura 1: *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (A), com destaque para suas folhas (B), flores (C), frutos (D) e semente (E).

O uso de plantas medicinais é uma prática popular antiga (ANDRADE, S. F. et al. 2007) e várias espécies da família Bignoniaceae, como as pertencentes ao gênero *Jacaranda*, têm sido utilizadas para fins terapêuticos. Indicações populares, corroboradas por estudos científicos, apontam que espécies do gênero *Jacaranda* apresenta ação anti-inflamatória, antioxidante (CARVALHO, C. A. et al., 2009; SANTOS, J. A. et al., 2012), contra leishmaniose, malária e outras doenças causadas por protozoários (VALADEAU, C. et al., 2009; MORAIS, T. R. et al., 2012), dentre outras. No entanto, é necessário ampliar os estudos sobre *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* para comprovar suas potencialidades farmacológicas, bem como o conhecimento de possíveis efeitos tóxicos da espécie.

Dentre as doenças humanas que afetam milhões de pessoas no mundo, está a obesidade, para a qual, no Brasil, existem atualmente poucos recursos farmacológicos (NISSEN, L. P. et al., 2012). A obesidade é definida como acúmulo excessivo de tecido adiposo a ponto de comprometer a saúde (COUTINHO, W., 1999). Essa patologia tem sido observada em praticamente todas as faixas etárias e em vários países no mundo, e esta relacionada com outras doenças, tais como hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, doenças metabólicas e câncer (FRANCISCHI, R. P. P. et al., 2000; LAMOUNIER, J. A.; PARIZZI, M. R., 2007). A obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento de dislipidemias, caracterizada por aumento de colesterol total e triglicérido, além de redução de HDL colesterol (MELLO, E. D. D. et al., 2004).

Fármacos anorexígenos, como sibutramina e orlistat, e hipolipemiantes como fibratos e estatinas, utilizados no tratamento da obesidade e dislipidemias, respectivamente, são medicamentos com alto custo e vários efeitos colaterais.

Todavia, várias plantas da região do Cerrado são comumente descritas popularmente como eficazes na redução de massa corporal e de lipídeos (SILVA, M. A. B. D. et al., 2010). Entretanto, a sua utilização não é segura, uma vez que carecem de estudos toxicológicos, como preconizado pelo Ministério da Saúde e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004; ALMEIDA, A. C. et al., 2010).

A investigação fitoquímica de diferentes espécies de *Jacaranda* tem revelado que estas plantas possuem diversas substâncias bioativas, como os ácidos jacarádico, jacarândico, jacaranona, jacarico, jacourâmico, linoleico, oleanólico, triacontanoico, ursólico, betulínico, campneoside, flavonoides, hidroquinona, jacaraninoside, lupenona, luteolina, quercitina, quinona, triterpenos e β -sitosterol (OGURA, M. et al., 1976; OGURA, M. et al., 1977; FARNSWORTH, N. R. et al., 1977; NUGTEREN, D. H.; CHRIST-HAZELHOF, E., 1987; VARANDA, E. M. et al., 1992; ARRUDA, A. L. A. et al., 2012). Várias dessas substâncias têm seus efeitos biológicos validados por estudos científicos, mesmo que oriundas de outros vegetais (GACHET, M. S.; SCHUHLY, W., 2009).

O potencial farmacológico observado cientificamente é também sinalizado pelo uso popular e provavelmente está relacionado aos constituintes químicos presentes no gênero *Jacaranda*. Nesse sentido, a presença de ácido ursólico no gênero, um bioativo capaz de agir como antioxidante, aumentar a lipólise e reduzir lípides séricos (SOMOVA, L. O. et al., 2003), indica possível ação antiobesidade e antilipidemiante a ser investigada. Este composto não apresentou sinais de toxicidade sobre os macrófagos e evidenciou redução no desenvolvimento de nódulos de leishmaniose (SAUVAIN et al., 1993).

Além deste, o ácido jacarico em conjunto com um grupo carboxilo, inibe a atividade da lipase lipoprotéica, um dos mecanismos de ação mais importantes que explicam efeito do ácido linoleico na redução de gordura corporal. Entretanto, análises com o ácido jacarico isoladamente não demonstrou sua eficiência na redução de massa corporal e depósitos de tecido adiposo, ingestão alimentar, bem como o acionamento de receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR α e PPAR γ) (MIRANDA, J. et al., 2011).

Efeitos citotóxicos e tóxicos do ácido jacaranona (0,02 mM), isolado a partir das folhas de *Jacaranda copaia*, foram relatados em macrófagos peritoneais de ratos (CHAN-BACAB, M. J.; PENA-RODRIGUEZ, L. M., 2001) e, *in vivo* quando administrado uma única dose de 0,41mM/kg em tecido cutâneo de camundongos, sendo este composto considerado de alta toxicidade (SAUVAIN et al., 1993). Contudo, não foram observados efeitos tóxicos em células de rim de macacos *rhesus* submetidos ao ácido jacaranona (MORAIS, T. R. et al., 2012). O extrato hidroetanólico de raízes de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* não apresentou efeitos tóxicos em ratas *Wistar*, quando submetidas a avaliação de toxicidade aguda na dose de 2 g/kg de massa corporal em estudo com observação de 14 dias (SANTOS, J. A. et al., 2012).

2.1 Geral

Avaliar o potencial antiobesidade e toxicidade aguda do extrato etanólico de folhas de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata*.

2.2 Específicos

2.2.1. Avaliar o efeito do extrato etanólico de folhas de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* em ratos *Wistar* com obesidade induzida por dieta.

2.2.2. Avaliar a toxicidade aguda do extrato etanólico de folhas de *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* em ratas *Wistar*.

Efeitos antiobesidade do extrato hidroetanólico das folhas de *Jacaranda decurrens*

Kátia Avila Antunes¹, Débora da Silva Baldivia¹, Paola Santos da Rocha¹, Junior Cesar Casagrande¹, Eliana Janet Sanjinez Argandoña¹, Maria do Carmo Vieira¹, Cláudia Andrea Lima Cardoso², Edson Lucas dos Santos¹, Kely de Picoli Souza¹.

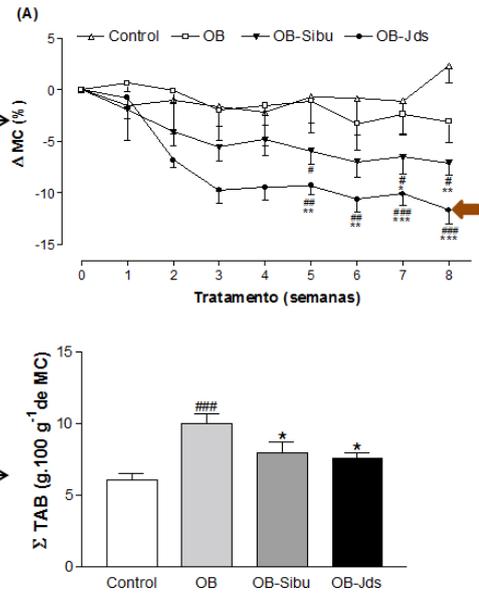
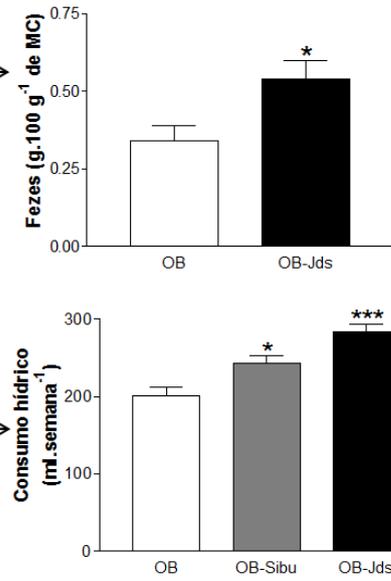
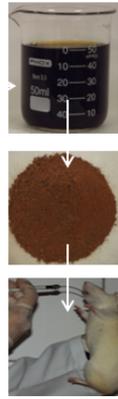
¹Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), ²Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

*Autor correspondente, Kely de Picoli Souza, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Caixa Postal 241, 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: kelypicoli@gmail.com

Resumo gráfico



Jacaranda decurrens subsp. *symmetrifoliolata*



Resumo

A obesidade é uma epidemia mundial que reduz a expectativa de vida; portanto, constantemente buscam-se novas alternativas terapêuticas para o seu tratamento. O objetivo do presente estudo foi identificar os compostos químicos no extrato hidroetanólico das folhas de *Jacaranda decurrens* subsp *symmetrifoliolata*. E avaliar seus efeitos de toxicidade e antiobesidade. A cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para identificar os constituintes químicos e a toxicidade aguda foi avaliada em ratos tratados com doses de 2 e 5 g·kg⁻¹ de massa corporal. O efeito antiobesidade foi determinado em ratos com obesidade induzida por dieta hipercalórica. Nossos resultados revelaram a presença de compostos, como os ácidos jacarico, ursólico e oleico, bem como luteolina, quercetina e kaempferol no extrato. Os testes de toxicidade aguda revelaram que os ratos tratados com doses elevadas do extrato não apresentaram sinais de toxicidade. O extrato induziu redução na massa corporal total e nos depósitos de tecido adiposo branco. Os ratos obesos tratados com o extrato apresentaram aumento na ingestão de líquidos e excreção de fezes, enquanto que os níveis séricos de colesterol total e triglicérides diminuíram em relação aos controles, sem alterações hematológicas. Em conjunto, os resultados mostraram que os constituintes dos extratos de *J. decurrens* incluíram compostos fenólicos e exibiram efeitos antiobesidade sem toxicidade.

Palavras-chave: carobinha, plantas medicinais, ingestão hídrica, excreção de fezes, massa gorda, flavonoides.

1. INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos realizados pela Organização Mundial de Saúde (2013) indicaram que 2,8 milhões de adultos morreram em todo o mundo devido a obesidade e a obesidade diminuiu significativamente a expectativa de vida média. O desequilíbrio no balanço energético, relação entre ganho e gasto de energia, é o principal fator para o desenvolvimento da obesidade, envolvendo fatores genéticos e ambientais. O alto consumo energético, especialmente de lipídios, é um dos principais contribuintes para o acúmulo de tecido adiposo, além de uma redução na atividade física e consumo de alimentos termogênicos [1].

A obesidade é caracterizada pela hipertrofia do tecido adiposo branco (TAB) e está intimamente relacionada às alterações cardiovasculares e metabólicas [2]. A acumulação de TAB é acompanhada por um aumento de adipocinas pró-inflamatórias [3] e alterações estruturais resultantes do estresse oxidativo causado pela obesidade [4].

Diferentes constituintes de origem vegetal têm sido utilizados como alternativas terapêuticas para o tratamento e prevenção da obesidade, incluindo compostos fenólicos. Estas substâncias são descritas como supressoras de síntese de ácidos graxos e estimuladores de lipólise [5] e são conhecidas por reduzir a massa corporal, o tecido adiposo branco, o colesterol e os triglicerídeos séricos e hepáticos [6]. Além disso, os compostos fenólicos são relatados para ter efeitos antioxidantes [7]. Embora as plantas medicinais sejam geralmente consideradas como tendo baixos riscos toxicológicos, alguns dos seus numerosos constituintes podem mostrar toxicidade dose-dependente [8] e, portanto, precisam ser investigados.

A subespécie *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae) é uma das plantas popularmente utilizadas na medicina tradicional no Brasil. Encontra-se no Estado de Mato Grosso do Sul e seu potencial biológico ainda não foi explorado. Portanto, os objetivos deste estudo foram identificar os constituintes químicos e avaliar os efeitos da toxicidade aguda e antiobesidade do extrato hidroetanólico de *J. decurrens* (ExJds) em ratos Wistar com obesidade induzida pela dieta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Declaração de ética

As folhas de *J. decurrens* foram coletadas e identificadas após a autorização do Sistema de Informações e Autorização de Biodiversidade (SISBIO) (número de licença 39451-1). Este estudo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pelo Comitê de Ética para Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal da Grande Dourados protocolo número 022/2012.

2.2. Material Botânico e Preparação do Extrato

As folhas de *J. decurrens* foram coletadas em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (S 22 ° 02 '49.1' 'e W 055 ° 08' 11.4 "), secadas em estufa com circulação de

ar a uma temperatura de 45 ± 5 °C e depois moída em moinho de facas tipo Willy. Uma excisada foi depositada no Herbário da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, com o número de registro 2322.

O extrato foi então preparado por maceração do material vegetal numa mistura de etanol: água (80:20, v/v) à temperatura ambiente durante 7 dias. Em seguida, o extrato foi filtrado e o resíduo foi ainda extraído duas vezes utilizando o mesmo processo. Após 21 dias, o filtrado foi concentrado em evaporador rotativo a vácuo (Fisatom, São Paulo, SP, Brasil) e liofilizado para se obter um rendimento específico calculado de 12%; O extrato hidroetanólico de *J. decurrens* (ExJds) liofilizado foi armazenado a 4 ° C com proteção contra a luz.

2.2. Isolamento e identificação dos compostos

O ExJds (18 g) foi dissolvido em 0,5 L de água e fracionado utilizando cromatografia em coluna de resina XAD-2 (Supelco, Bellefonte, PA, USA) (30 cm x 3 cm) e eluído com 0,5 L de água, seguido por 0,45 L de metanol e finalmente com 0,3 L de acetato de etilo. Recolhemos 73 frações de 6 mL cada do extrato metanólico das folhas. As frações foram combinadas com base no seu perfil em cromatografia em camada fina (placas de gel de sílica, acetato de etilo: n-propanol: água, 120:7:70, v/v/v, fase superior). As frações 43-46 resultaram no isolamento do composto *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranoside* (3 mg). As frações 6-18 e 21-27 foram purificadas utilizando coluna cromatografia de *polyvinylpyrrolidone* (10 X 2 cm) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e eluídas com metanol, o que levou à identificação de *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-d-glucoopyranoside* e

quercetin-3-O-a-l-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-d-glucoopyranoside (3 e 2 mg), respectivamente. Dissolveu-se uma alíquota de 0,83 g da fração de acetato de etilo das folhas em 5 mL de metanol e fracionou-se utilizando um sistema de cromatografia em coluna Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) (80 cm x 2 cm) e eluiu-se com metanol a uma taxa de fluxo de 0.3 mL·min⁻¹; Foram coletadas 49 frações de 6 mL cada. As frações foram combinadas com base nos seus perfis de cromatografia em camada fina (placas de gel de sílica, metanol: acetato de etilo, 80:20, v/v). Os compostos caempferol, luteolina e quercetina (rendimento = 5, 4 e 7 mg, respectivamente) foram isolados a partir das frações 7-10, 20-23 e 29-34, respectivamente. A mistura combinada das frações 38-46 foi purificada utilizando uma coluna de cromatografia líquida (LC-) 18 (1 g, tamanho de partícula, 55-105 mm, 6 mL, Supelco, Bellefonte, PA, EUA). Resumidamente, adicionou-se uma amostra de 1 mL à coluna e subsequentemente eluiu-se com metanol (3 x 1 mL), acetona (3 x 1 mL) e hexano (4 x 1 mL), por esta ordem, conduzindo à identificação de ácido ursólico (4 mg) na fração acetona e ácido oleico (4 mg) na fração de hexano. Todos os compostos foram identificados e suas estruturas foram confirmadas através da comparação de dados experimentais (infravermelho [9], ressonância magnética nuclear [10] e espectrometria de massa [11]) com descrito previamente na literatura.

A análise cromatográfica foi realizada utilizando acetonitrila de grau espectroscópico adquirido da Merck (Darmstadt). As soluções estoque das normas foram preparadas a partir de soluções individuais dissolvidas em acetonitrila e foram utilizadas como padrões externos. Os ácidos ursólico e oleico, luteolina, quercetina e caempferol (98%) foram adquiridos a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e

quercetin-3-O-a-l-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-d-glucoopyranoside, *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranoside* e *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranoside-(1-6)-b-d-glucoopyranoside* foram isolados a partir do material vegetal e purificados em laboratório utilizando cromatografia líquida de alta resolução. O ácido Jacarico foi doado ao laboratório.

O extrato e os padrões foram analisados utilizando um sistema analítico LC (Varian 210) equipado com detector de matriz de fotodíodos monitorizado com comprimento de onda (λ) alcance de 200-800 nm. A coluna LC era uma coluna C-18 (25 cm \times 4,6 mm, tamanho de partícula de gel, 5 μ m, Luna, Phenomenex, Torrance, CA, EUA). O fluxo e o volume de injeção foram ajustados para 1.0 mL \cdot min $^{-1}$ e 20 μ L, respectivamente, para cada análise. Todas as análises cromatográficas foram realizadas a 22 ° C enquanto a eluição foi realizada utilizando ácido acético (0,3%, solvente A) e acetonitrila (solvente B). As condições para a eluição em gradiente foram de 85-80% (A) ao longo de 20 min; 80-60% (A) ao longo de 20-45 min, e 60-15% (A) durante 45-99 min e retorno à condição inicial ao longo de 99-105 min.

A estimativa de conteúdo dos padrões no extrato foi realizada por calibração externa. Alíquotas (20 μ L) dos padrões diluídos (1-20 μ g.mL $^{-1}$) foram analisados utilizando LC traçando média das áreas do cromatograma contra a concentração para construir uma curva de calibração padrão. Os parâmetros da equação (inclinação e interceptação) da curva de calibração foram utilizados para obter as concentrações dos compostos no extrato.

2.4. Toxicidade Aguda

Os ratos *Wistar* (n=9) utilizados nesta experiência pesaram aproximadamente 250 g e foram alimentados com a dieta de controle. Foram divididos subsequentemente em três grupos experimentais (n=3 cada) e tratados como se segue: (I) controle (água), (II) ExJds-2 (ExJds, 2 g.kg⁻¹ de massa corporal) e (III) ExJds-5 (ExJds, 5 g.kg⁻¹ de massa corporal). Os ratos foram tratados com uma única dose por gavagem e o seu consumo alimentar, ingestão de água, massa corporal, piloereção e mortalidade foram monitorizados durante 15 dias. Após a eutanásia, os órgãos (fígado, pulmão, rim e coração) foram coletados, pesados separadamente e analisados macroscopicamente. Além disso, foram colhidas amostras de sangue para a determinação dos níveis de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e uréia utilizando o equipamento COBAS (Roche).

2.5. Dietas

A dieta hiperlipídica foi composta de 42, 13 e 42% de lipídios, proteínas e carboidratos, respectivamente, com um valor energético de 592 ± 12 kcal.100 g⁻¹, que foi obtido pela adição de banha ao alimento comercial de roedores (Labina). A água potável foi suplementada com 10% de frutose, e a dieta hiperlipídica mais água com 10% de frutose constituiu a dieta hipercalórica. O valor calórico da comida comercial de roedores era kcal · 100 g⁻¹. Não se adicionou frutose à água potável dos ratos *Wistar* alimentados com comida comercial, e esta combinação foi considerada como a dieta de controle.

2.6. Desenho e procedimentos experimentais

Os ratos *Wistar* foram pré-alimentados com dieta controle (n=5) ou hipercalórico (n=15) durante 6 meses e atingiram massa corporal de 477 ± 14 g e 516 ± 11 g, g, respectivamente, no final deste período. Subsequentemente, os ratos foram divididos nos grupos controle (dieta de controle mais água) e dieta hipercalórica (n=15), que foram subdivididos em três grupos experimentais (n=5 cada) que receberam água (OB); Sibutramina, 2 mg.kg^{-1} de massa corporal (OB-Sibu); E ExJds, 400 mg.kg^{-1} de massa corporal (OB-ExJds) por gavagem durante 60 dias. Ao longo do período experimental, as mudanças na massa corporal, consumo alimentar e ingestão de água foram monitoradas.

2.7. Avaliação da excreção de lipídios fecais

Após o tratamento durante 7 semanas, os ratos *Wistar* foram alojados em gaiolas metabólicas individuais durante 24 h com alimento e água ad libitum de acordo com os seus grupos experimentais. As suas fezes foram recolhidas e pesadas, e os resultados foram apresentados como $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ por peso corporal. Em seguida, as fezes foram secas numa incubadora a $^{\circ} \text{C}$ durante 24 h e moídas; então, o conteúdo lipídico foi analisado utilizando a extração Soxhlet [12].

2.8. Avaliações de Órgãos e Tecidos

Após a eutanásia, os depósitos de TAB (retroperitoneal, epidídimo, mesentérico e subcutâneo inguinal) e músculos esqueléticos (*soleus* e extensor médio longo), bem como o coração, rim e fígado dos ratos foram pesados separadamente. O sangue foi coletado e os parâmetros bioquímicos (glicemia, colesterol total e triglicérides) e hematológicos (hematócrito, hemoglobina e leucócitos) foram avaliados utilizando o equipamento COBAS.

2.9. Análise estatística

Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (EPM). Para a análise e comparação dos resultados dos diferentes grupos experimentais, utilizou-se a análise de variância unidirecional (ANOVA) e os testes *post hoc* *Student-Newman-Keuls* ou *Student t*. Os dados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

3. Resultados

3.1. Compostos Isolados e Identificados no ExJds

A identificação dos compostos isolados (*kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranoside*, *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-d-glucopyranoside*, *quercetin-3-O-a-l-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-d-glucopyranoside*, *caempferol*, luteolina,

quercetina, ácido ursólico e ácido oleico) através da análise de infravermelho, ressonância magnética nuclear, espectrometria de massa e dados experimentais. As estruturas dos compostos foram posteriormente confirmadas pela comparação dos dados experimentais com os dados previamente relatados na literatura [9-11].

A análise dos compostos utilizando uma matriz de detector de fotodiodos numa gama espectral de 200-800 nm revelou que o método de eluição desenvolvido não interferia com o tempo de retenção de CL dos ExJds. Os padrões foram facilmente identificados e quantificados com base nos seus espectros de absorção na região ultravioleta e nos tempos de retenção. Além disso, as normas encontradas no extrato foram inequivocamente identificadas por realização de experiências de coinjeção em que alíquotas dos extratos e padrões foram misturados, diluídos para um volume conhecido e depois analisados utilizando CL.

Os coeficientes de determinação (r^2) foram 0,9994 para ácido ursólico, ácido oleico, luteolina, quercetina e kaempferol e 0,992 para *quercetin-3-O-a-l-rhamnopyranosyl-(1-6)-b-d-glucopyranoside*, *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranoside*, e *kaempferol-3-O-a-l-rhamnopyranoside-(1-6)-b-d-glucopyranoside*. As concentrações dos compostos foram expressas em microgramas de composto por grama do extrato e os valores foram os seguintes: ácido ursólico, 184 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Ácido oleico, 201 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Luteolina, 156 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Quercetina, 145 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Kaempferol, 236 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Quercetina-3-O-a-l-ramnopiranosil-(1-6)-b-d-glucopiranosido, 89 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; Kaempferol-3-O-a-l-ramnopiranosido, 101 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; e kaempferol-3-O-a-l-ramnopiranosido- (1-6) -b-d-glucopiranosido, 99 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. A concentração de ácido jacárico (102 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) no extrato foi determinada a partir da curva de ácido oleico.

3.2. Toxicidade Aguda

O teste de toxicidade oral aguda de ExJds em ratas não mostrou qualquer reação tóxica ou mortalidade e o extrato foi considerado seguro até uma dose de 5000 mg.kg⁻¹.

3.3. Obesidade induzida por dieta

3.3.1. Massa corporal

Comparados ao grupo OB, os ratos *Wistar* obesos tratados com ExJds ou sibutramina apresentaram ao final do tratamento redução da massa corporal de 12% (P<0,001) e 7% (P<0,05), respectivamente, no final do tratamento. Este resultado indicou que o efeito do ExJds foi superior ao da sibutramina (Fig.1A). A soma dos depósitos de TAB no grupo OB aumentou em 64% enquanto ExJds e sibutramina reduziram este parâmetro para níveis semelhantes aos encontrados nos ratos alimentados com dieta controle (Fig. 1B).

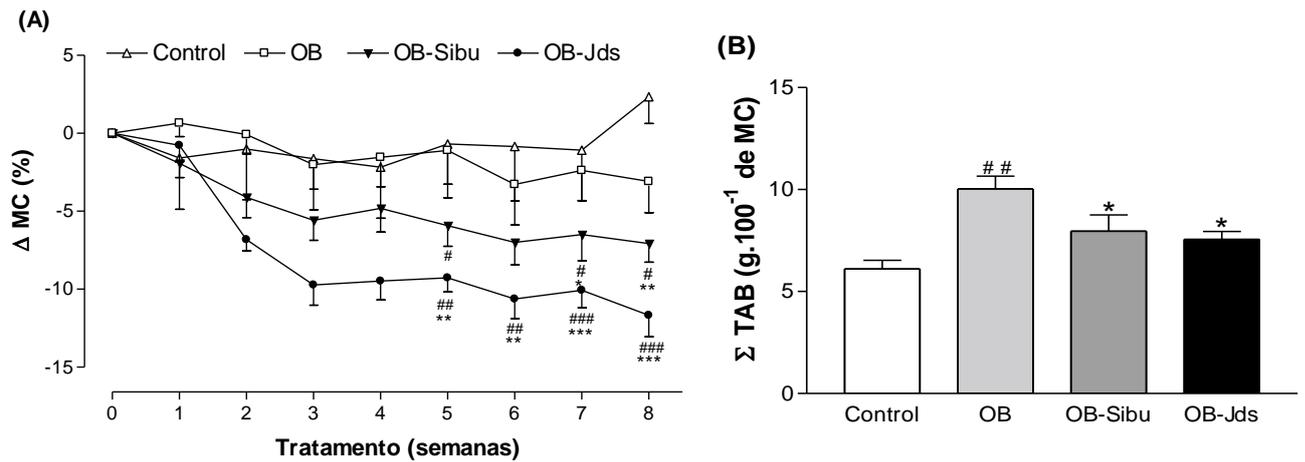


Figura 1: Média da massa corporal e do tecido adiposo branco (WAT). (A) Evolução na massa corporal e (b) soma dos depósitos de TAB de ratos *Wistar* alimentados com a dieta controle (control) e ratos obesos alimentados com dieta hipercalórica e água (OB), sibutramina (2 mg.kg⁻¹ de massa corporal, OB-Sibu), ou ExJds (400 mg.kg⁻¹ de massa corporal, OB-ExJds). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM n=5). Diferentes letras significam diferença estatística p<0,05. ExJds, extrato hidroetanólico de folhas de *Jacaranda decurrens*.

3.3.2. Ingestão alimentar e hídrica

Para os grupos tratados com ExJds e sibutramina, não foram observadas alterações ingesta alimentar (gramas) ou calorias ingeridas (Figuras 2 (a) e 2 (b)), embora os níveis fossem inferiores aos dos ratos do grupo de controle. No entanto, os ratos tratados com ExJds e sibutramina apresentaram aumento da ingestão de água (Figura 2 (c)), restabelecendo os valores aos observados no grupo de controle.

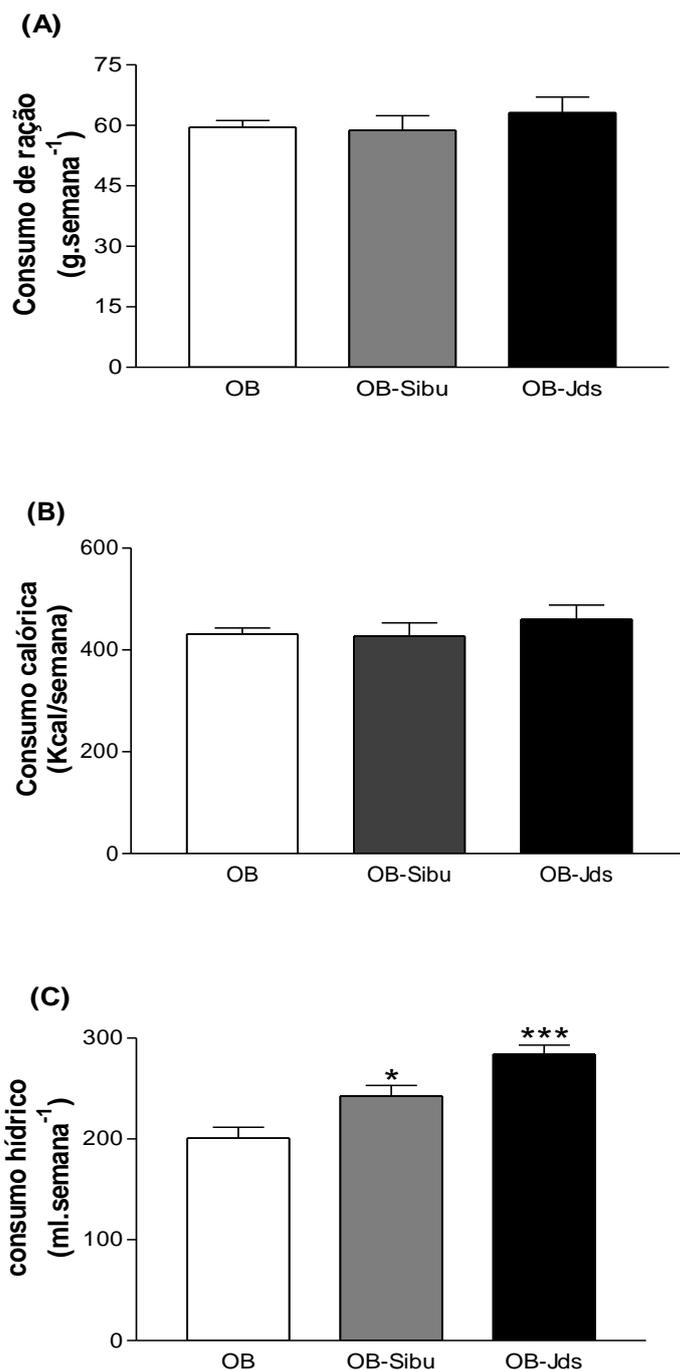


Figura 2: Ingestão de alimentos e água. Ingestão semanal de (A) ração hiperlipídica, (B) calorias e (C) ingestão de água de ratos *Wistar* alimentados com dieta controle (control) e hipercalórica (OB), tratados com água, sibutramina 2 mg.kg⁻¹ (OB-Sibu) ou ExJds 400 mg.kg⁻¹ (OB-Jds). Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM, n=5). Letras diferentes significam diferença estatística P<0,05. ExJds, extrato hidroetanólico de folhas de *Jacaranda decurrens*.

3.3.3. Excreção fecal e porcentagem de lipídios nas fezes

A massa relativa das fezes (g de fezes por 100 g de MC) excretada pelos ratos tratados com ExJds foi maior que a dos controles (Fig. 3A). Entretanto, não foi observada nenhuma alteração na porcentagem de lipídios nas fezes entres os grupos experimentais (Fig. 3B).

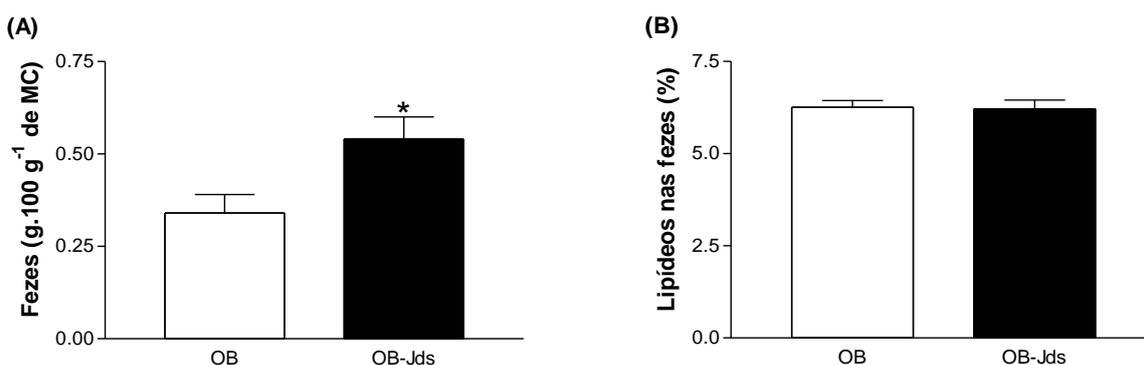


Figura 3: Análise da massa de fezes e conteúdo lipídico (A) Excreção de fezes (g de fezes 100 por g de MC) e (B) porcentagem do conteúdo de lipídeos (%) de ratos *Wistar* obesos alimentados com dieta hipercalórica e tratados com água (OB) e ExJds 400 mg.kg⁻¹ (OB-Jds). Os dados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM, n= 5); *P<0,05 vs grupo OB. ExJds, extrato hidroetanólico de folhas de *Jacaranda decurrens*.

3.3.4. Massa de tecidos, órgãos, parâmetros hematológicos e bioquímicos

A análise dos diferentes depósitos de TAB mostrou que o tratamento com o ExJds foi capaz de reduzir a massa do depósito retroperitoneal de forma semelhante ao efeito observado nos ratos *Wistar* tratados com sibutramina. Adicionalmente, o ExJds também promoveu redução no depósito de TAB subcutâneo (Tabela 1). Não

foram observadas alterações na massa do tecido muscular, representada pelos músculos *soleus* e extensor digital longo (EDL) e órgãos avaliados, exceto redução da massa do fígado nos ratos *Wistar* tratados com sibutramina (OB-Sibu), quando comparados aos animais controles. Ambos tratamentos reduziram os níveis séricos de colesterol total e de triglicéridos em comparação com os níveis registrados em animais OB (Tabela 2), que se tornaram semelhantes aos dos animais do grupo de controle. Além disso, os animais com obesidade induzida pela dieta mostraram níveis reduzidos de hemoglobina no soro. No entanto, não foram encontradas diferenças nos parâmetros hematológicos entre os grupos obesos.

Tabela 1. Depósitos de tecido adiposo branco (TAB) dos diferentes grupos de ratos *Wistar* obesos.

TAB	Control	OB	Δ (%)	OB-Sibu	Δ (%)	OB-ExJds	Δ (%)
	g.100 g ⁻¹	g.100 g ⁻¹		g.100 g ⁻¹		g.100 g ⁻¹	
Retroperitoneal	2.48 ± 0.23 ^a	4.95 ± 0.35 ^b	99	3.55 ± 0.52 ^a	-28	3.46 ± 0.23 ^a	-30
Epididimal	2.24 ± 0.13	2.92 ± 0.27	30	2.46 ± 0.17	16	2.24 ± 0.13	-23
Mesenterico	1.14 ± 0.11	1.90 ± 0.22	67	1.66 ± 0.20	-13	1.65 ± 0.27	-13
Subcutâneo	0.25 ± 0.02 ^a	0.26 ± 0.01 ^a	4	0.29 ± 0.02 ^a	+11	0.20 ± 0.01 ^b	-23

Depósitos de TAB (g.100 g⁻¹), de ratos *Wistar* alimentados com dieta controle (control), dieta hipercalórica (OB), dieta hipercalórica e sibutramina (2 mg.kg⁻¹ MC, OB-Sibu) ou dieta hipercalórica e ExJds (2 mg.kg⁻¹ MC, OB-Jds). MC, massa corporal; TAB, tecido adiposo branco; Δ (%), variação da massa do TAB em relação ao grupo OB. Os dados são expressos como média ± erro padrão da média (EPM. n= 5). Diferentes letras significam diferença estatística p<0,05. ExJds, extrato hidroetanólico de folhas de *Jacaranda decurrens*.

Tabela 2. Massa de tecidos e órgãos e parâmetros hematológicos de ratos Wistar não obesos (controle) e obesos (OB).

Parâmetros	Control	OB	OB-Sibu	OB-Jds
Soleus (g.100 g ⁻¹ MC)	0.030 ± 0.003	0.027 ± 0.002	0.027 ± 0.001	0.029 ± 0.003
EDL (g.100 g ⁻¹ MC)	0.011 ± 0.003	0.013 ± 0.001	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.001
Coração (g.100 g ⁻¹ MC)	0.204 ± 0.007	0.202 ± 0.008	0.191 ± 0.004	0.208 ± 0.010
Rim (g.100 g ⁻¹ MC)	0.538 ± 0.016	0.475 ± 0.020	0.464 ± 0.023	0.480 ± 0.016
Fígado (g.100 g ⁻¹ of MC)	2.617 ± 0.120 ^a	2.74 ± 0.158 ^a	2.26 ± 0.080 ^b	2.74 ± 0.062 ^a
Glicemia (mg.dL ⁻¹)	68.6 ± 6.1	70.0 ± 4.0	58.2 ± 2.6	66.0 ± 7.4
Colesterol total (mg.dL ⁻¹)	46.2 ± 5.1 ^a	75.6 ± 7.8 ^b	45.4 ± 3.2 ^a	48.2 ± 1.3 ^a
Triglicerídeos (mg.dL ⁻¹)	101.8 ± 4.3 ^a	222.4 ± 22.9 ^b	82.6 ± 7.1 ^a	99.6 ± 9.9 ^a
Hematócrito (%)	52 ± 1	49 ± 1	48 ± 1	48 ± 1
Hemoglobina (g.dL ⁻¹)	15.1 ± 0.25 ^a	13.9 ± 0.05 ^b	13.8 ± 0.2 ^b	13.5 ± 0.2 ^b
Leucócitos (10 ³ .µL ⁻¹)	6.6 ± 0.8	7.3 ± 0.5	10.3 ± 2.0	7.9 ± 2.1

Ratos Wistar não obesos (control) e obesos (OB) tratados com água, sibutramina (2 mg.kg⁻¹ MC, OB-Sibu) e ExJds (400 mg.kg⁻¹ MC, OB-ExJds). MC, massa corporal; EDL, extensor médio longo. Os dados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM, n=5). Letras diferentes indicam significância estatística P<0,05.

4. DISCUSSÃO

A prevalência de obesidade e sobrepeso aumentou consideravelmente a nível mundial, e as despesas com seu tratamento e nas doenças associadas representam 9% das despesas globais com a saúde [13]. Portanto, a busca de tratamentos alternativos para a obesidade tem aumentado, e o uso de plantas tornou-se uma opção de tratamento viável para esta doença.

As plantas possuem diversos compostos bioativos que são responsáveis por suas ações farmacológicas. Foram identificados e quantificados os ácidos jacarico, ursólico e oleico, bem como luteolina, quercetina e caempferol, no extrato das folhas de *J. decurrens* subsp. *symmetrifoliolata*. Destes compostos, apenas ácido ursólico foi encontrado nas folhas de *J. decurrens* spp. [14] e nas raízes de *J. decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* [15]. A avaliação da toxicidade de doses elevadas de ExJds no presente estudo não revelou sinais de toxicidade ou morte entre os animais tratados. Estes resultados corroboram dados anteriores indicando uma falta de toxicidade das raízes de *J. decurrens* subsp. *Symmetrifoliolata* [15]. Além disso, alguns compostos isolados do mesmo gênero não apresentaram toxicidade quando avaliados isoladamente, como o ácido jacaranona isolado de *Jacaranda copaia* [16].

Compostos fenólicos presentes em várias espécies do gênero *Jacaranda* [17] foram descritos na literatura como possíveis tratamentos alternativos para a obesidade. Portanto, esses compostos poderiam ter contribuído para a redução da massa corporal gordurosa observada nos animais tratados com ExJds, porque ativam a via noradrenérgica [18] e induzem efeitos semelhantes aos da sibutramina [19]. Além disso, quando presentes nos alimentos, os compostos fenólicos podem reduzir a proliferação e diferenciação de pré-adipócitos, o acúmulo de triglicerídeos, e podem estimular a lipólise e a oxidação dos ácidos graxos adipócitos [20]. Estes mecanismos poderiam também ter contribuído para os efeitos antiobesidade observados nos ratos tratados com ExJds.

A redução da massa corporal foi acompanhada por uma diminuição das massas dos depósitos de TAB retroperitoneal e subcutâneo, bem como um aumento na ingestão de água. Um aumento da hidratação favorece o metabolismo e, deste

modo, contribui para acelerar o trânsito gastrointestinal. Além disso, pode diminuir a osmolaridade do trato gastrointestinal e exercer um efeito termogênico mediado por um mecanismo osmosensitivo [21].

Embora o efeito observado possa ter sido devido ao sinergismo entre os compostos fenólicos presentes no extrato, os constituintes individuais foram descritos como agentes antiobesidade e moduladores dos diferentes parâmetros relacionados com a obesidade. Isto foi observado com o ácido jacarico, que promove a baixa regulação na expressão do estearil-CoA desaturase, uma enzima chave no metabolismo ácido graxos, no fígado dos ratos [22]. Quando administrados isoladamente, o ácido ursólico aumentou a atividade das enzimas lipolíticas em culturas primárias de adipócitos [23], inibiu a pré-diferenciação dos pré-adipócitos, estimulou a lipólise nas células 3T3-L1 e, neste estudo, reduziu o total Massa corporal e TAB *in vivo*. No entanto, a administração de ácido ursólico por si só não alterou a ingestão de água [25], como foi observado nos animais tratados com ExJds, indicando a presença de outros compostos ativos no extrato.

O consumo dietético de diferentes quantidades de ácido oleico pode resultar em efeitos benéficos dose-dependentes na regulação do metabolismo lipídico e contribuir para a homeostase da massa corporal [26]. Outro componente identificado no ExJds foi a luteolina, cujos derivados têm sido relatados como tendo efeitos anti-adipogênicos *in vitro* [27] e prevenir obesidade induzida por dieta em ratos [28].

Vários estudos têm demonstrado os efeitos benéficos da quercetina [29-31], outro flavonóide identificado no ExJds extrato, que promove alterações nos vários parâmetros associados à obesidade. Dong et al. [29] mostraram que a administração de uma dieta suplementada com quercetina reduziu a massa corporal em ratos

alimentados com uma dieta rica em gordura. Além disso, a quercetina atua como um agente antiadipogênico, induzindo apoptose em adipócitos [30]. Outra espécie de planta, *Aspalathus linearis*, contém a quercetina como componente principal e inibe a adipogênese e o acúmulo de triglicérides em adipócitos [31]. Estudos realizados com caempferol revelaram que este flavonóide reduz a adipogênese em células 3T3-L1 [32]. Além disso, Bhattacharya et al. [33] demonstraram que os extratos de flores contendo quercetina e caempferol reduziram a acumulação de gordura em *Caenorhabditis elegans*, um modelo para a obesidade.

Outro parâmetro importante que poderia ter contribuído para a redução da massa corporal dos animais tratados com ExJds foi o aumento da excreção fecal. Uma vez que o extrato promoveu efeitos prebióticos, que também foram descritos para outros extratos derivados de plantas [34], ele provavelmente teve efeitos positivos sobre a flora e, portanto, aumentou a motilidade intestinal [35].

A redução do tecido adiposo foi acompanhada por uma diminuição do nível de colesterol total e de triglicérides no soro, mas não foram observadas alterações na massa muscular esquelética, que foi avaliada no final do tratamento crônico. Além disso, nenhum dos outros órgãos investigados apresentou qualquer sinal de toxicidade. Coletivamente, esses dados corroboram a ausência de toxicidade em doses elevadas de ExJds, pois uma redução da massa muscular [36] e alterações nos parâmetros bioquímicos e hematológicos [37] são marcadores de toxicidade para inúmeros fármacos.

5. CONCLUSÕES

Em conclusão, estes dados mostram que os constituintes químicos dos ExJds não são tóxicos e a massa corporal e a redução TAB observadas foram provavelmente mediadas pelo aumento da ingestão de água e excreção de fezes nos ratos tratados com os ExJds.

Agradecimentos

UFGD, FUNDECT, CAPES e CNPq.

6. REFERENCIAS

1. J. O. Hill, H. R. Wyatt, and J. C. Peters, "Energy balance and obesity," *Circulation*, vol. 126, no. 1, pp. 126–132, 2012.
2. D. W. Haslam and W. P. T. James, "Obesity," *The Lancet*, vol. 366, no. 9492, pp. 1197–1209, 2005.
3. P. Trayhurn and I. S. Wood, "Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue," *British Journal of Nutrition*, vol. 92, no. 3, pp. 347–355, 2004.
4. A. Giordano, I. Murano, E. Mondini et al., "Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis," *Journal of Lipid Research*, vol. 54, no. 9, pp. 2423–2436, 2013.
5. J. Huang, Y. Zhang, Y. Zhou et al., "Green tea polyphenols alleviate obesity in broiler chickens through the regulation of lipid-metabolism-related genes and

transcription factor expression,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, no. 36, pp. 8565–8572, 2013.

6. C.-H. Peng, L.-K. Liu, C.-M. Chuang, C.-C. Chyau, C.-N. Huang, and C.-J. Wang, “Mulberry water extracts possess an anti-obesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no. 6, pp. 2663–2671, 2011.

7. A. Wojdyło, J. Oszmiański, and R. Czemerys, “Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs,” *Food Chemistry*, vol. 105, no. 3, pp. 940–949, 2007.

8. B. Saad, H. Azaizeh, G. Abu-Hijleh, and O. Said, “Safety of traditional Arab herbal medicine,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 3, no. 4, pp. 433–439, 2006.

9. J. B. Harborne, “The flavonoids. Advances in research Since 1986 (Harborne, J. B.),” *Journal of Chemical Education*, vol. 72, p. A73, 1986.

10. P. K. Agrawal, *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1989.

11. L. F. Berrondo, F. T. Gabriel, S. B. De Oliveira Fernandes, F. De Sousa Menezes, and D. De Lima Moreira, “Dirhamnosyl flavonoid and other constituents from *Brillantaisia palisatii*,” *Quimica Nova*, vol. 26, no. 6, pp. 922–923, 2003.

12. Association of Official Analytical Chemists, *Official Methods of Analysis*, Edited by W. Horwitz, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA, 1970.

13. D. Withrow and D. A. Alter, "The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity," *Obesity Reviews*, vol. 12, no. 2, pp. 131–141, 2011.
14. E. M. Varanda, G. E. Zúñiga, A. Salatino, N. F. Roque, and L. J. Corcuera, "Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*," *Journal of Natural Products*, vol. 55, no. 6, pp. 800–803, 1992.
15. J. A. Santos, A. Arruda, M. A. Silva et al., "Anti-inflammatory effects and acute toxicity of hydroethanolic extract of *Jacaranda decurrens* roots in adult male rats," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 144, no. 3, pp. 802–805, 2012.
16. T. R. Morais, P. Romoff, O. A. Fávero et al., "Anti-malarial, anti-trypanosomal, and anti-leishmanial activities of jacaranone isolated from *Pentacalia desiderabilis* (Vell.) Cuatrec. (Asteraceae)," *Parasitology Research*, vol. 110, no. 1, pp. 95–101, 2012.
17. M. S. Gachet and W. Schühly, "*Jacaranda*—an ethnopharmacological and phytochemical review," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 121, no. 1, pp. 14–27, 2009.
18. C. Lu, W. Zhu, C.-L. Shen, and W. Gao, "Green tea polyphenols reduce body weight in rats by modulating obesity-related genes," *PLoS ONE*, vol. 7, no. 6, Article ID e38332, 2012.
19. J. R. Araújo and F. Martel, "Sibutramine effects on central mechanisms regulating energy homeostasis," *Current Neuropharmacology*, vol. 10, no. 1, pp. 49–52, 2012.
20. S. Wang, N. Moustaid-Moussa, L. Chen et al., "Novel insights of dietary polyphenols and obesity," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 25, no. 1, pp. 1–18, 2014.

21. M. Boschmann, J. Steiniger, G. Franke, A. L. Birkenfeld, F. C. Luft, and J. Jordan, "Water drinking induces thermogenesis through osmosensitive mechanisms," *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 92, no. 8, pp. 3334–3337, 2007.
22. N. Shinohara, J. Ito, T. Tsuduki et al., "Jacaric acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, reduces stearyl-CoA desaturase expression in liver of mice," *Journal of Oleo Science*, vol. 61, no. 8, pp. 433–441, 2012.
23. Y. Li, Z. Kang, S. Li, T. Kong, X. Liu, and C. Sun, "Ursolic acid stimulates lipolysis in primary-cultured rat adipocytes," *Molecular Nutrition and Food Research*, vol. 54, no. 11, pp. 1609–1617, 2010.
24. Y. He, Y. Li, T. Zhao, Y. Wang, and C. Sun, "Ursolic acid inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through LKB1/AMPK pathway," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 7, article e70135, 2013.
25. V. S. Rao, C. L. de Melo, M. G. R. Queiroz et al., "Ursolic acid, a pentacyclic triterpene from *Sambucus australis*, prevents abdominal adiposity in mice fed a high-fat diet," *Journal of Medicinal Food*, vol. 14, no. 11, pp. 1375–1382, 2011.
26. E. García-Escobar, F. Soriguer, S. García-Serrano et al., "Dietary oleic acid and adipocyte lipolytic activity in culture," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 19, no. 11, pp. 727–731, 2008.
27. H. J. Park, B. Y. Chung, M.-K. Lee et al., "Centipede grass exerts anti-adipogenic activity through inhibition of C/EBP β , C/EBP α , and PPAR γ expression and the AKT signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 12, article 230, 2012.

- 28.** L.-K. Han, M. Sumiyoshi, Y.-N. Zheng, H. Okuda, and Y. Kimura, "Anti-obesity action of *Salix matsudana* leaves (Part 2). Isolation of anti-obesity effectors from polyphenol fractions of *Salix matsudana*," *Phytotherapy Research*, vol. 17, no. 10, pp. 1195–1198, 2003.
- 29.** J. Dong, X. Zhang, L. Zhang et al., "Quercetin reduces obesity-associated ATM infiltration and inflammation in mice: a mechanism including AMPK α 1/SIRT1," *Journal of Lipid Research*, vol. 55, no. 3, pp. 363–374, 2014.
- 30.** J. Ahn, H. Lee, S. Kim, J. Park, and T. Ha, "The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 373, no. 4, pp. 545–549, 2008.
- 31.** M. Sanderson, S. E. Mazibuko, E. Joubert et al., "Effects of fermented rooibos (*Aspalathus linearis*) on adipocyte differentiation," *Phytomedicine*, vol. 21, no. 2, pp. 109–117, 2014.
- 32.** U.-H. Park, J.-C. Jeong, J.-S. Jang et al., "Negative regulation of adipogenesis by kaempferol, a component of *Rhizoma Polygonati falcatum* in 3T3-L1 cells," *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 35, no. 9, pp. 1525–1533, 2012.
- 33.** S. Bhattacharya, K. B. Christensen, L. C. B. Olsen et al., "Bioactive components from flowers of *Sambucus nigra* L. increase glucose uptake in primary porcine myotube cultures and reduce fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, no. 46, pp. 11033–11040, 2013.
- 34.** L.-C. Yang, W.-C. Lin, and T.-J. Lu, "Characterization and prebiotic activity of aqueous extract and indigestible polysaccharide from *Anoectochilus formosanus*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 60, no. 35, pp. 8590–8599, 2012.

- 35.** O. A. Wintola, T. O. Sunmonu, and A. J. Afolayan, "The effect of *Aloe ferox* Mill. in the treatment of loperamide-induced constipation in Wistar rats," *BMC Gastroenterology*, vol. 10, article 95, 2010.
- 36.** S. Antoun, V. E. Baracos, L. Birdsell, B. Escudier, and M. B. Sawyer, "Low body mass index and sarcopenia associated with dose-limiting toxicity of sorafenib in patients with renal cell carcinoma," *Annals of Oncology*, vol. 21, no. 8, pp. 1594–1598, 2010.
- 37.** K. Yuet Ping, I. Darah, Y. Chen, S. Sreeramanan, and S. Sasidharan, "Acute and subchronic toxicity study of *Euphorbia hirta* L. methanol extract in rats," *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 182064, 14 pages, 2013.

4. CONCLUSÃO GERAL

O extrato etanólico da *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae) foi eficiente na redução de massa corporal em animais com obesidade induzida por dieta, reduzindo massa gorda sem causar efeitos tóxicos crônico e agudo, segundo os parâmetros avaliados.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C.; SOBRINHO, E. M.; PINHO, L.; SOUZA, P. N. S.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R.; SANTOS, H. O.; BRANDI, I. V.; CANGUSSU, A. S.; COSTA, J. P. R.; Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. **Ciencia Rural**, v.40, 2010.

ANDRADE, S. F.; CARDOSO, L. G. V.; CARVALHO, J. C. T.; BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 464, 2007.

ARRUDA, A. L. A.; SOUZA, D. G.; VIEIRA, C. J. B.; OLIVEIRA, R. F.; PAVAN, F. R.; FUJIMURA, C. Q. L; RESENDE, U. M; CASTILHO, R. O. Análise fitoquímica e atividade antimicobacteriana de extratos metanólicos de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 276-281, 2012.

CARVALHO, C. A.; LOURENÇO, M. V.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, P. S.; FACHIN, A. L.; PEREIRA, A. M. S. Atividade antioxidante de *Jacaranda decurrens* Cham., Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 592-598, 2009.

CHAN-BACAB, M. J.; PENA-RODRIGUEZ, L. M. Plant natural products with leishmanicidal activity. **Nat Prod Rep**, v. 18, n. 6, p. 674-88, Dec 2001.

COUTINHO, W. Consenso latino-americano de obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 43, p. 21-67, 1999.

FARIAS, R.; PROENÇA, C. *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae), novo táxon para o bioma Cerrado. **Boletim do Herbarium Bradeanum**, v. 11, p.5-9, 2003.

FARNSWORTH, N. R.; Cordell, G. A.; OGURA M. Phytoquinoid named jacaranon. **Ger offen**, v. 12, n. 123, 1977.

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

GACHET, M. S.; SCHUHLY, W. Jacaranda-an ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 14-27, 2009.

GENTRY, A. H. Flora Neotropica: Monograph 25, Tribe Tecomeae. The New York **Botanical Garden**, v. 2, p. 52-105, 1992.

LAMOUNIER, J. A.; PARIZZI, M. R. Obesidade e saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, p. 1497-1499, 2007.

MELLO, E. D. D.; LUFT, V. C.; MEYER, F. Obesidade infantil: como podemos ser eficazes? **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 173-182, 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas para estudos toxicológicos de produtos fitoterápicos. Poder Executivo. Brasília, DF. **Diário Oficial [da] República federativa do Brasil.**, Resolução 90/2004

MIRANDA, J.; FERNANDEZ-QUINTELA, A.; CHURRUCA, I.; AYO, J.; GARCIA-MARZO, C.; DENTIN, R.; PORTILLO, M. P. The presence of the trans-10, cis-12 sequence does not have a body fat-lowering effect on jacaric acid, a conjugated linolenic acid isomer. **Food Chemistry**, v. 129, n. 1, p. 21-27, 2011.

MORAIS, T. R.; ROMOFF, P.; FAVERO, O. A.; REIMAO, J. Q.; LOURENCO, W. C.; TEMPONE, A. G.; HRISTOV, A. D.; DI SANTI, S. M.; LAGO, J. H.; SARTORELLI, P.; FERREIRA, M. J. Anti-malarial, anti-trypanosomal, and anti-leishmanial activities of jacaranone isolated from *Pentacalia desiderabilis* (Vell.) Cuatrec. (Asteraceae). **Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 95-101, 2012.

NISSEN, L. P.; VIEIRA, L. H.; BOZZA, L. F.; VEIGA, L. T.; BISCAIA, B. F. L.; PEREIRA, J. H.; FURLAN, L. H. P. Intervenções para tratamento da obesidade: revisão sistemática. **Revista brasileira medicina de família e comunidade**, v. 7 n. 24, 2012.

NUGTEREN, D. H.; CHRIST-HAZELHOF, E. Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis. **Prostaglandins**, v. 33, n. 3, p. 403-417, 1987.

OGURA, M; CORDELL, G. A; FARNSWORTH, N. R. Jacouramic acid, a new triterpene ester from *Jacaranda caucana*. **Phytochemistry**, v. 16, p. 286, 1977.

OGURA, M; CORDELL, G. A; FARNSWORTH, N.R. Potential anticancer agents. III. Jacaranone, a novel phytoquinoid from *Jacaranda caucana*. **Journal Lloydia**, v. 39, p. 255, 1976.

SANGALLI, A.; VIEIRA, M. C.; ZARATE, N. A. H. Levantamento e caracterização de plantas medicinais nativas com propriedades medicinais em fragmentos florestais e de Cerrado, em Dourados-MS, numa visão etnobotânica. **Acta Horticulturae**, p. 173-184, 2002.

SANTOS, J. A.; ARRUDA, A.; SILVA, M. A.; CARDOSO, C. A.; VIEIRA M. C.; KASSUYA, C. A. ARENA, A. C. Anti-inflammatory effects and acute toxicity of hydroethanolic extract of *Jacaranda decurrens* roots in adult male rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 802-5, 2012.

SAUVAIN, M., DEDED, J.P., KUNESCH, N., POISSON, J., GANTIER, J.C., GAYRAL, P., 1993. In Vitro and In Vim Leishmanicidal Activities of Natural and Synthetic Quinoids. **Phytotherapy Research**, v. 7, p.167-171.

SILVA, M. A. B. D. MELO, L. V. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SILVA, R. M. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 549-562, 2010.

SOMOVA, L. O.; NADAR, A.; RAMMANAN, P.; SHODE, F. O. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. **Phytomedicine**, v. 10, n. 2-3, p. 115-21, 2003.

VALADEAU, C.; PABON, A.; DEHARO, E.; ALBÁN-CASTILLO, J. ESTEVEZ, Y.; LORES FRANSIS, A.; ROJAS, R.; GAMBOA, D.; SAUVAIN, M.; CASTILLO, D.; BOURDY, G. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n. 3, p. 413-422, 2009.

VARANDA, E. M.; ZUNIGA, G. E.; SALATINO, A.; ROQUE, N. F.; CORCUERA, L. J. Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 6, p. 800-3, 1992.

6. ANEXOS

Anexo I - Informações sobre a revista para a qual se pretende enviar o trabalho:

Título: Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine

Estrato Qualis/Biodiversidade B1

Fator de impact: 1,931

Escopo: Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (eCAM) is an international peer-reviewed, Open Access journal that seeks to understand the sources and to encourage rigorous research in this new, yet ancient world of complementary and alternative medicine.

Link para acesso às normas de publicação:

<https://www.hindawi.com/journals/ecam/>

Anexo II – Comitê de ética.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 5 de fevereiro de 2013

Senhora Pesquisadora:
Kely de Picoli Souza

O Projeto de sua responsabilidade – Protocolo nº. **022/2012** – CEUA/UFGD - intitulado "Avaliação do potencial farmacológico e toxicológico de plantas do Cerrado: *Jacaranda decurrens* subsp. *symmetrifoliolata* Farias & Proença (Bignoniaceae) e *Curatella americana* Linnaeus (Dilleniaceae)", foi integralmente **APROVADO** e poderá ser conduzido.

Ressaltamos que é de responsabilidade do (a) pesquisador (a) envio de notificação à CEUA sobre o término do projeto.

Felipe de Almeida Borges
Secretário CEUA/UFGD

Felipe de Almeida Borges
Assessoria em Administração
SAPE - 122800
