



Estudo da atividade antiobesidade do extrato metanólico de *Baccharis trimera* (Less.) DC

Study of antiobesity activity of methanolic extract of *Baccharis trimera* (Less.) DC

Recebido em 03/10/2011

Aceito em 05/02/2012

Stefânia Priscilla de Souza^{1*}, Luciana Lopes Silva Pereira², Aline Aparecida Souza³, Raimundo Vicente de Souza², Custódio Donizete dos Santos²

¹Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

²Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil

³Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Brasil

RESUMO

Baccharis trimera (Less.) DC, tradicionalmente conhecida como “carqueja” é utilizada na medicina tradicional para diversas finalidades como problemas hepáticos, digestivos, e redução de peso. *In-vitro*, o extrato metanólico de carqueja apresentou atividade inibitória sobre a lipase pancreática (uma enzima com papel no controle de peso). O objetivo do estudo foi avaliar do extrato metanólico de carqueja (EMC) em ratos com obesidade induzida por dieta rica em gorduras e avaliar a sua aplicação potencial como um tratamento para obesidade. Foram utilizados 21 ratos machos da linhagem Wistar, distribuídos aleatoriamente em três grupos, com sete animais por grupo. Obesidade foi induzida por dieta rica em gordura e o extrato foi administrado por gavagem, por 35 dias e soro foi analisado para a medição dos diferentes parâmetros fisiológicos e bioquímicos. O EMC rico em fitoquímicos bioativos suprimiu o aumento de peso e os níveis de colesterol ($P < 0.01$) sugerindo que o EMC pode ser útil como um tratamento para limitar a absorção de gordura da dieta e o acúmulo de gordura nos tecidos adiposos. Tais resultados geram perspectivas de estudos complementares para a determinação da dose e averiguação de outros parâmetros.

Palavras-chave: Obesidade, Dieta rica em gordura, Parâmetros fisiológicos

ABSTRACT

Baccharis trimera (Less.) DC traditionally known as "carqueja" is used in traditional medicine for various purposes such as liver problems, digestive and weight reduction. *In-vitro* the methanolic extract of carqueja have been proved to possess pancreatic lipase (an enzyme with role in weight management) inhibitory activity. The aim of the present study was to assess the methanol extract of carqueja (MEC) on rats with obesity induced by high fat diet and evaluate its potential application as a treatment for obesity. Were used male *Wistar* rats. Obesity was induced by high fat diet and the extract was administered by gavage for 35 days and serum was assayed for the measurement of different physiological and biochemical parameters. The (MEC) rich in bioactive phytochemicals suppressed the increase of body weight and cholesterol level ($P < 0.01$) thus suggesting that MEC might be useful as a treatment to limit dietary fat absorption and the accumulation of fat in adipose tissues. These results raise prospects for further studies to determine the dose and investigation of other parameters.

Keywords: Obesity, High fat diet, Physiological parameters

INTRODUÇÃO

A obesidade é, atualmente, um dos problemas mais graves da saúde pública. Sua prevalência cresceu acentuadamente nas últimas décadas, inclusive nos países em desenvolvimento, o que a elevou à categoria de epidemia global. Dos estudos epidemiológicos realizados

Em populações latino-americanas surgiram dados alarmantes. À medida que se consegue erradicar a miséria nos setores mais pobres da população, a obesidade aparece como um problema mais freqüente e grave que a desnutrição. É o fenômeno da transição nutricional que

*Stefânia Priscilla de Souza, Departamento de Química, Instituto Militar de Engenharia, Praca General Tiburcio, 80 CEP 22290-270 Praia Vermelha Urca/RJ E-mail: stefania845@yahoo.com.br

sobrecarrega nosso sistema de saúde com o aumento de demanda de atenção por doenças crônicas relacionadas com a obesidade, como o diabetes tipo 2, a doença coronariana, a hipertensão arterial e diversos tipos de câncer (Abeso, 2009).

O sucesso do tratamento da obesidade inclui melhora da dieta, exercício físico, modificação no comportamento e terapêutica farmacológica. Portanto, o controle do metabolismo lipídico por drogas é uma alternativa que pode ser utilizada para prevenir ou tratar a obesidade. Um número crescente de enzimas envolvidas nas vias metabólicas está sendo identificado e representa um conjunto rico de alvos terapêuticos potenciais para a obesidade e outros distúrbios (Oliveira *et al.*, 2001). Uma das estratégias mais importantes neste tratamento inclui o desenvolvimento de inibidores da digestão e absorção de nutrientes, em uma tentativa de reduzir a disponibilidade de energia por mecanismos gastrintestinais, sem, no entanto, causar qualquer ação no sistema nervoso central.

Os lipídios da dieta representam a maior fonte de calorias indesejadas e sua maioria, aproximadamente 90%, é composta pelos triglicerídios. A enzima lipase pancreática é responsável pela hidrólise dos triglicerídeos, para posterior absorção (Almeida *et al.*, 2009). Uma nova abordagem para tratamentos de redução de peso é inibir a digestão e consequente absorção de triglicerídios, inibindo a lipase pancreática. Fitoquímicos identificados a partir de plantas medicinais tradicionais representam excelente oportunidade para o desenvolvimento de tais terapêuticas (Birari & Bhutani, 2007).

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

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

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

duzidas de peso e hipocolesterolêmica. (Verdi *et al.*, 2005; Biavatti *et al.*, 2007; Agra *et al.*, 2007; Agra *et al.*, 2008).

Souza *et al.*, (2011) revelaram que o extrato metanólico de carqueja tem alta ação inibitória sobre a lipase pancreática *in vitro*. Neste trabalho, embasado pelos resultados *in vitro*, avaliou-se o efeito no ganho de peso e a ação hipocolesterolêmica do extrato metanólico de carqueja em ratos tratados com dieta rica em colesterol.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

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

Preparo do extrato metanólico

O material vegetal fresco foi lavado e fragmentado em pequenos pedaços. Em seguida, 1.238 g deste material foram macerados em metanol, durante 48 horas. A mistura foi, então, filtrada em algodão, resultando na obtenção de uma fase líquida que foi rotaevaporada e liofilizada. Após o processo, foram obtidos 105,78 g de um pó verde-escuro, que foi armazenado em freezer.

Bioensaio

Animais e condições do experimento

No planejamento e na execução da pesquisa, foram obedecidas as recomendações da Comissão de Bioética na utilização de animais da Universidade Federal de Lavras (Protocolo 035/2009). Foram utilizados 21 ratos machos albinos (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar, provenientes do Biotério do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA, em fase de crescimento e com peso médio inicial de 129,3±8,87 g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com temperatura de 25±3°C (ciclo claro/escuro 12 horas) e com acesso à ração e água *ad libitum*, por um período de 35 dias. A dieta experimental foi preparada de acordo com AIN-93G com modificações (Tabela 1), para indução de hipercolesterolemia. Durante todo o experimento, realizou-se, em dias intercalados, o controle do peso corporal e do consumo de ração para a elaboração da curva de crescimento e acompanhamento do desenvolvimento. Ao término do experimento, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (35 mg/kg). O sangue foi retirado dos grandes vasos abdominais e, em seguida, centrifugado para a obtenção do soro e determinação do HDL, LDL, colesterol total e triglicerídios plasmáticos por colorimetria com kits Celm® e Labtest®.

Administração do extrato

Os animais foram pesados e distribuídos aleatoriamente em três grupos com sete animais cada. A administração do extrato foi realizada com auxílio de uma cânula orogástrica. O grupo A (controle) recebeu 1 mL de água/dia, o grupo B recebeu uma dose de 0,002 g/dia, que corresponde a 1 g/70 kg/dia (dose 1) e o grupo C a dose de

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

Tabela 1 Composição da dieta experimental

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

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

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

Determinação de lipídios plasmáticos

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

Análises bioquímicas do fígado

O fígado foi retirado por meio de laparotomia mediana, lavado em solução salina 0,9%, pesado e estocado a -25°C para posteriores análises de peso, extrato etéreo, colesterol total e estudo histopatológico. A análise de extrato etéreo foi determinada utilizando-se a metodologia proposta pela AOAC (2005). Para a quantificação de colesterol total, as amostras foram liofilizadas e submetidas à extração lipídica com clorofórmio e metanol (2:1), conforme Folch *et al.* (1957), e dosado pelo método colesterol oxidase, utilizando-se o kit enzimático-colorimétrico Bioclin®.

Análise histológica do fígado

Para o estudo histológico, um fragmento de fígado de cada animal foi fixado em formalina tamponada a 10% e processado por métodos convencionais para exames histológicos e corados por hematoxilina eosina, e posterior visualização por microscopia óptica.

Análise estatística

Procedeu-se a análise de variância (ANOVA) e utilizou-

se o teste de Tukey, a 5% e a 1% de probabilidade, para comparação entre as médias.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

A dose 1g/70 kg/dia (dose 1) e a dose de 50g/70 kg/dia (dose 2) foram determinadas com base no extrato de carqueja usualmente ingerido para efeito de perda de peso em humanos, que é de 500 a 1000 mg/dia. Sendo assim, testou-se uma dose de 1.000 mg e uma dose 50 vezes maior para avaliar possíveis ações tóxicas (Londrina, 2006; Souza *et al.*, 2011) verificaram que o extrato metanólico de carqueja tem ação inibitória sob a lipase pancreática *in vitro*. Desta forma, os animais foram tratados com uma dieta rica em colesterol, para elevar os níveis de triglicerídios, colesterol e o peso, possibilitando a avaliação destes parâmetros.

Durante o experimento, os animais consumiram, em média, 15,06±8,65 g/dia de ração. O consumo médio semanal de ração pelos animais é apresentado na Figura 1. Não houve diferença significativa no consumo entre os animais tratados com o extrato e o grupo controle, indicando que a administração das doses do EMC não reduziu o apetite dos animais, o que caracterizaria uma ação anorexígena.

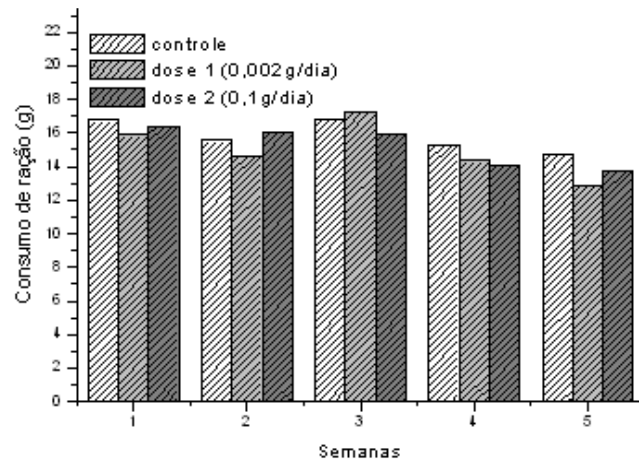


Figura 1. Consumo de ração de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias

Quanto ao ganho de peso, o grupo controle apresentou um maior ganho em relação aos outros grupos, não diferindo entre as doses (Figura 2). A inibição da lipase pancreática pode ser um mecanismo relacionado à redução do peso pela menor absorção de triglicerídios. Além disso, foi relatada uma inibição das glicosidases *in vitro* por Souza (2009), que pode influenciar sinergicamente nesta perda.

Ao final dos 35 dias de experimento, os níveis de triglicérides dos animais foram de 23,11±4,67 no grupo controle, 23,03±5,12 no grupo que recebeu a dose 1 (0,002g/dia) e 18,59±6,73 no grupo que recebeu a dose 2 (0,1g/dia). Tais níveis foram estatisticamente iguais. No entanto, os animais receberam ração sem restrições, sendo que o ideal seria se a determinação de triglicerídios fosse feita após um período mínimo de jejum de três horas. Esta observação pode ter influenciado nos resultados obtidos,

conforme descrito por Lima *et al.*, 2002.

Os níveis de colesterol sérico estão demonstrados na Figura 3. Os animais estavam em fase de crescimento e receberam uma dieta hipercolesterolêmica para induzir aumento de níveis lipidêmicos. Pode-se observar que a dieta foi eficiente na indução da hipercolesterolemia. Nos ratos que receberam as doses de EMC, observou-se menor aumento nestes níveis, caracterizando um efeito anti-hipercolesterolêmico, sugerindo que a lipase pancreática tenha sido inibida. Existe relação direta entre quantidade de triglicerídeos e colesterol. Quanto maior a disponibilidade de Acetil-CoA, que é obtido a partir de triglicerídeos e carboidratos em excesso convertidos em triglicerídeos, maior a síntese de colesterol. O colesterol é sintetizado principalmente no fígado e distribuído para o organismo. O menor teor de colesterol sérico dos animais que receberam o EMC pode ser explicado pela ação inibitória sobre a lipase pancreática (Arslan *et al.*, 2005).

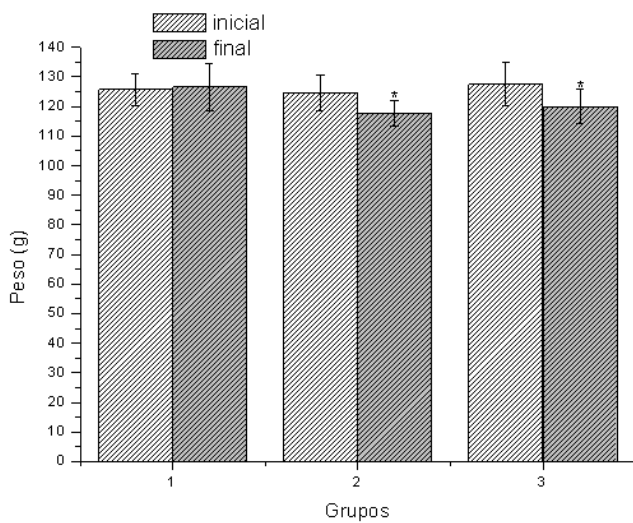


Figura 2. Comparação entre o peso inicial e o peso final dos grupos [(1 – controle), (2 – dose 1), (3 – dose 2)]. * p <0,01, n = 7

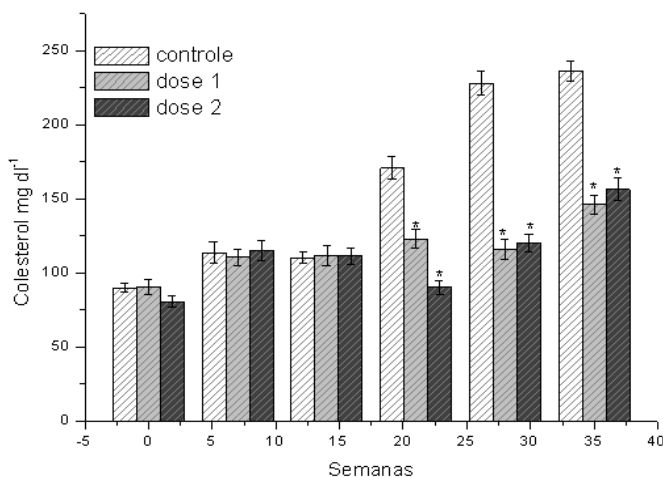


Figura 3. Níveis de colesterol total do sangue de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. * p <0,01 quando comparado ao grupo controle, n = 7

Os níveis séricos das lipoproteínas LDL-c + VLDL-c e

HDL-c foram determinados no último dia de experimento (Tabela 2). A dose maior (0,1g/dia) causou uma redução dos níveis da lipoproteína HDL-c, resultado indesejado, caracterizando essa dose como prejudicial à saúde. A diminuição da lipoproteína LDL-c foi observada nos dois grupos tratados. Essas reduções dos níveis das lipoproteínas LDL e HDL estão, possivelmente, relacionadas à menor absorção de triglicerídeos. Em outros estudos, nos quais foi observada redução dos níveis de colesterol, o mesmo ocorreu com as lipoproteínas (Mertens & Holvoeti, 2001; Frank *et al.*, 2002; Weggemans & Trautwein, 2003).

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

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

*Determinação em mg/dL

Dado: dose 1 = 0,002g/dia; dose 2 = 0,1g/dia

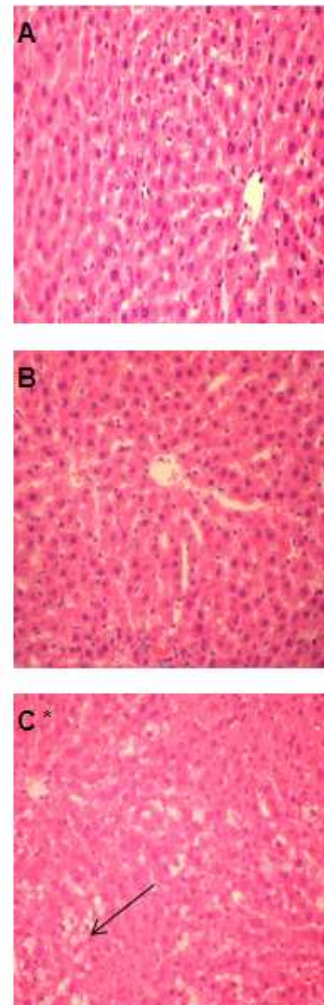


Figura 4. Microfotografia de cortes de fígado corados por hematoxilina e eosina, 25x, de animais tratados com doses do EMC, por 35 dias. (A= controle; B = dose 1; C = dose 2.) * leve vacuolização do citoplasma dos hepatócitos (seta)

As análises bioquímicas do fígado revelaram maiores teores de lipídeos, peso e colesterol hepáticos nos animais do grupo controle, corroborando com os resultados anteriores, indicando que os animais que foram tratados com EMC absorveram menos triglicérides.

Para averiguar possíveis ações tóxicas no fígado pelo EMC, foi feita a avaliação histológica do mesmo (Figura 4). Nos animais que receberam a dose 2 foi observada uma leve vacuolização no citoplasma dos hepatócitos, que pode ser indício do início de esteatose ou de maior acúmulo de glicogênio no fígado. A alta dose administrada e a possível inibição da lipase sugerem acúmulo de glicogênio no fígado que passa a ser armazenado para suprir a falta de triglicérides da dieta (Sharma *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009).

CONCLUSÃO

O EMC demonstrou ação emagrecedora e hipolipidêmica, possivelmente pela inibição da lipase pancreática. A administração de 0,002 g/dia ocasionou menor ganho de peso pelos animais e uma redução significativa nos níveis de colesterol total e frações. No entanto, a dose de 0,1 g/dia foi excessiva, produzindo efeitos deletérios na redução dos níveis de HDL e vacuolização dos hepatócitos. Desta forma, os resultados obtidos sugerem que o EMC tenha efeitos promissores no tratamento da obesidade, bem como a hipercolesterolemia. Tais resultados geram perspectivas de estudos complementares para a determinação da dose e averiguação de outros parâmetros.

REFERÊNCIAS

Agra, MF; França, PF; Barbosa-Filho, JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira Farmacognosia*. 17: 114-140, 2007.

Agra, MF; Silva, KN; Basílio, IJLD; França, PF; Barbosa-Filho, JM. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Revista Brasileira Farmacognosia*. 18: 472-508, 2008.

Almeida, JC; Mello, VD; Canani, LH; Gross, JL; Azevedo, MJ. Papel dos lipídeos da dieta na nefropatia diabética. *Arquivos Brasileiros Endocrinologia Metabolismo*. 53:(5) 634-645, 2009.

Arslan, N; Buyukgebiz, B; Ozturk, Y; Cakmakçi, H; Turk, J. Fatty liver in obese children: prevalence and correlation with anthropometric measurements and hyperlipidemia. *Journal of Pediatrics*. 47: 23-27, 2005.

Associação Brasileira para o estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Síndrome metabólica. Disponível em: <www.abeso.org.br>. Acesso em: 15 out. 2009.

Association Of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists. 18. ed. Maryland: AOAC. 2005.

Biavatti, M; Marensi, V; Leite, SN; Reis, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmetic species from Atlantic Forest.

Revista Brasileira Farmacognosia. 17: 640-653, 2007.

Birari, RB; Bhutani, KK. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discovery Today*. 12: (19/20) 879-889, 2007.

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

Folch, J; Less, M; Sloane-Stanley, GHA. Simple method for isolation and purification of total lipids from animals tissues. *The Journal of Biological Chemistry*. 226: 407-411, 1957.

Frank, M; Sacks, J; Andrew, M; Tonkin, AS; Timothy, CYJ; Marc, A; Shepherd, J; Keech, A; Furberg, CD; Braunwald, E. Coronary heart disease in patients with low LDL-cholesterol benefit of pravastatin in diabetics and enhanced role for HDL-Cholesterol and Triglycerides as Risk Factors Circulation. *American Heart Association*. 105: 1424, 2002.

Lima, JG; Nóbrega, LHC; Nóbrega, MLC; Bandeira, F; Souza, AGP. Dislipidemia Pós-Prandial Como Achado Precoce em Indivíduos Com Baixo Risco Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 46: 249-254, 2002.

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

Mertens, A; Holvoeti, P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *The FASEB Journal*. 15: 2073-2084, 2001.

Oliveira, TT; Nagem, TJ; Pereira, WL; Pinto, AS; Stringheta, PC. Efeito hipolipidêmico e sinérgico da naringina, clorofila e monascus em ratos (*ratus novergicus*). *Alimentos e Nutrição*. 12: 95-102, 2001.

Sharma, SB; Nasir, A; Prabhu, KM; Murthy, PS; Dev, G. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extracts of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. *Journal Ethnopharmacology*. 85: 201-206, 2003.

Souza, S.P. Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática com ênfase em *Baccharis trimera* (Less.) DC / - Lavras : UFLA, 101p, 2009.

Souza, SP; Pereira, LLS; Souza, AA; Santos, CD. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera* (Less.) DC., Asteraceae: evaluation of antinutrients and effect on Glycosidases. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 13: 12-18, 2011.

Verdi, LG; Brighente, IMC; Pizzolatti, MC. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química Nova*. 28: 85-94, 2005.

Weggemans, RM; Trautwein, EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis. *European Journal of Clinical Nutrition*. 57: 940-946, 2003.

Zhang, R; Hu, Y; Yuanu, J; Wu, D. Effects of Puerariae radix extract on the increasing intestinal permeability in rat with alcohol-induced liver injury. *Journal Ethnopharmacology*. 126: 207-214, 2009.

Wang, H; Feng, F; Zhuang, B-Y; Sun, Y. Evaluation of hepatoprotective effect of Zhi-Zi-Da-Huang decoction and its two fractions against acute alcohol-induced liver injury in rats. *Journal Ethnopharmacology*. 126: 273-279, 2009.