

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Contribuição ao estudo farmacognóstico de
Solanum gilo Raddi - “jiló”**



Michele Feitoza Silva

2004

Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Solanum gilo* Raddi - “jiló”

Michele Feitoza Silva

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientação: Prof.^a Dr.^a Suzana Guimarães Leitão
Prof. Dr. Hélio de Matos Alves**

**Rio de Janeiro
Outubro de 2004**

**Contribuição ao Estudo Farmacognóstico de
Solanum gilo Raddi - “jiló”**

Michele Feitoza Silva

Prof.^a Dr.^a Suzana Guimarães Leitão

Prof. Dr. Hélio de Matos Alves

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada por:

Prof. Dr. Antônio Ferreira Pereira
IMPPG; UFRJ

Prof.^a Dr.^a Lúcia Dávila Freire de Carvalho
Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Prof.^a Dr.^a Ana Maria Freire Tovar
ICB; UFRJ

Prof.^a Dr.^a Nancy dos Santos Barbi
Faculdade de Farmácia/UFRJ

**Rio de Janeiro
Outubro de 2004**

Este trabalho foi realizado sob a orientação da Prof^ª. Dr^ª. Suzana Guimarães Leitão, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, com quem tive a honra e o prazer de compartilhar ciência e amizade.

*Dedico esta tese a minha mãe querida Ieda, símbolo de simplicidade,
dedicação e amor.*

*Quem soube ser mãe e ser pai, ser forte e ser carinhosa, soube ser tudo...
Ensinou-me a dar valor às coisas e às pessoas... Ensinou-me dignidade...*

*..... e ao meu grande amor Vinicius, pela paciência, carinho e
cumplicidade...
Meu presente de Deus, quem lapidou, deu forma e alegria a minha vida.*

"Poema"
(Cazuza / Frejat)

*Eu hoje tive um pesadelo e levantei atento, a tempo
Eu acordei com medo e procurei no escuro
Alguém com seu carinho e lembrei de um tempo
Porque o passado me traz uma lembrança
Do tempo que eu era criança
E o medo era motivo de choro
Desculpa pra um abraço ou um consolo
Hoje eu acordei com medo mas não chorei
Nem reclamei abrigo
Do escuro eu via um infinito sem presente
Passado ou futuro
Senti um abraço forte, já não era medo
Era uma coisa sua que ficou em mim, que não tem fim
De repente a gente vê que perdeu
Ou está perdendo alguma coisa
Morna e ingênua
Que vai ficando no caminho
Que é escuro e frio mas também bonito
Porque é iluminado
Pela beleza do que aconteceu
Há minutos atrás ...*

AGRADECIMENTOS

Aos queridos orientadores, Prof^a Suzana Guimarães Leitão e Prof Hélio de Matos Alves, pela dedicação, paciência e carinho dispensados a este trabalho e pela amizade que hoje há entre nós.

Agradeço aos Professores do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Ao Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da UFRJ, pelos espectros realizados e pela amizade dispensada durante todo o Curso de Mestrado, em especial à querida e amiga Prof.^a Gilda Guimarães Leitão, pelo carinho, atenção e principalmente por viabilizar tantas coisas.

Aos amigos do nosso querido Laboratório, Eduardo, Lisieux, Rodrigo, Valéria, Roberta que hoje são indispensáveis da minha vida.

Aos estagiários Carlos Eduardo, Thiago, Diva e Ymira pelo apoio no laboratório e pelo carinho.

Dedico um agradecimento especial ao Professor Dr Antônio Ferreira Pereira por seu incentivo, carinho, amizade e sua valiosa contribuição científica.

À minha querida Lúcia Freire, que com doçura e carinho muito me ajudou.

À professora Eliana Tavares pela contribuição....

Ao Departamento de Farmacologia pela contribuição ao trabalho, especialmente às professoras Patrícia e Eline, pela contribuição nos ensaios biológicos e por me fazer apaixonar pelo mundo da farmacologia.

Ao Prof Otto Richard Gottlieb, Maria Renata Borim, Carmen Pagotto e à minha querida Dorothea Zocher, meu eterno agradecimento por fazer nascer em mim o espírito científico.

Aos meus professores de Graduação, por minha formação acadêmica, pelos ensinamentos e pela dedicação.

Ao Laboratório Tuffic, Barra do Piraí, especialmente à Cátia do Novadiagnostica, pela realização da leitura dos plasmas.

Ao Laboratório Ervas & Ervas por confiar em mim.

Aos meus amigos Flávio Augusto e Juan Pablo que me motivaram ao “jiló”.

Aos meus amigos de VIDA Flávia Vieira, Luciene Moraes, Flávia Pires, Valeska Fontes, Daniela Freyer, Edilaine Muscardi, Verônica, Márcia Monteiro, Gelbe Luis, Renata Maria, Evellyn Parente, Priscila Farias, Patrícia Verônica, Anna Beatriz..... que me amam apesar de tudo, que acreditaram em mim e estarão sempre no meu coração, amizades preciosas e de grande ajuda nos momentos difíceis.

Ao incansável Danilo, meu amigo e irmão, um presente de Deus na minha vida... Obrigada por nossa Tese

Aos meus irmãos Marcos e Jaqueline, por existirem...

À minha família, base de tudo, pela alegria, simplicidade, e pelas inúmeras e preciosas orações....

À família que ganhei de presente quando conheci o meu amor.

Aos amigos que ganhei de presente com o novo trabalho...

Ao amigo Bruno, por nossos domingos no biotério...

E ao Sebastian, pelos sábados “animados”, também no biotério...

Ao Vicente, um anjo especial, sempre pronto a ajudar.... Obrigada por tudo, principalmente por nossos lindos “ratos”

À querida Dulcinéia pelos cromatogramas, e por essa nova amizade;

Aos Professores da Comissão de Acompanhamento pela revisão dos resultados desta tese.

A todos aqueles que direta ou indiretamente se envolveram na realização deste trabalho meu muito obrigada.

Deus, muito obrigada por estar sempre ao meu lado, me presenteando com saúde e alegrias, por ter me dado a chance de viver tudo isso.... Michele

FICHA CATALOGRÁFICA

Feitoza-Silva, Michele.

Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Solanum gilo* Raddi – “jiló” / Michele Feitoza Silva. – Rio de Janeiro: UFRJ/ CCS/ Faculdade de Farmácia, 2004.

xxii, 105f: il.; 31 cm.

Orientador: Suzana Guimarães Leitão.

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ CCS/ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2004.

Referências Bibliográficas: f. 99-110.

1. Dislipidemias. 2. *Solanum gilo* Raddi. 3. Solanaceae. 4. Glicosil-sitosterol. 5. Jiló. I. Leitão, Suzana Guimarães. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências Médicas, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. III. Título.

RESUMO

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE *Solanum gilo* RADDI – “JILÓ”

Michele Feitoza Silva

Orientadores: Dr^a Suzana Guimarães Leitão e Dr. Hélio de Mattos Alves

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Frutos da espécie *Solanum gilo* Raddi são ricos em fibras solúveis e pertencem à família Solanaceae. Esta espécie, cuja origem é provavelmente africana, é utilizada popularmente no Brasil para o tratamento de hiperlipidemias, e como coadjuvante nas dietas de emagrecimento.

A análise morfológica de *Solanum gilo* Raddi por microscopia indicou a presença de características marcantes do gênero *Solanum*. Entretanto, também foram estabelecidas diferenças significativas quando comparado à espécie *Solanum aethiopicum*, tratada por alguns autores como sinonímia. A investigação fitoquímica permitiu o isolamento do esteróide 3-O- β glucosil sitosterol na fração hexânica do extrato etanólico bruto.

O estudo farmacológico foi realizado em 6 grupos de ratos com 10 animais cada (5 machos e 5 fêmeas), à exceção do grupo 6, (5 machos e 4 fêmeas). Os grupos foram submetidos a diferentes tratamentos ao longo de 45 dias. Verificou-se que os níveis de colesterol total foi significativamente maior para os animais do G2 (dieta hiperlipídica), incluindo os animais machos ($p=0,0439$) e as fêmeas ($p=0,047$) comparados aos animais do

G1 (grupo controle). Este resultado evidenciou a eficácia da dieta hiperlipídica escolhida. Os valores de colesterol total não mostraram diferenças entre os grupos G3 (placebo) e G1 (grupo controle) para machos ($p=0,8878$) e fêmeas ($p=0,6423$), o que sugere que o estresse da administração por gavagem não influenciou os níveis séricos de colesterol.

Não houve diferenças significativas entre os níveis séricos de colesterol observados para o G4 (animais submetidos à dieta normal e ao extrato-SGE) e o grupo controle, G1. Também não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos para colesterol total dos animais do G1 e G5 (SGE e dieta hiperlipídica), tanto para machos ($p=0,9787$), quanto para fêmeas ($p=0,4368$). O mesmo foi observado para os níveis séricos de colesterol do G6 (dieta hiperlipídica e SGE a partir do 22º dia), machos ($p=0,4277$) e fêmeas ($p=0,6735$).

Os valores de LDL apresentaram altos valores de desvio padrão para todos os grupos, indicando heterogeneidade. Diferenças significativas foram observadas para os valores de LDL dos animais machos e fêmeas do G2. Não houve diferença nos níveis séricos de LDL entre G3 e o grupo controle, o que indica que a administração por gavagem não influenciou nos resultados.

Embora este estudo não tenha demonstrado nenhum efeito hipolipidêmico para o “jiló”, o estudo farmacognóstico de *S.gilo* contribuiu para o conhecimento botânico, químico e farmacológico da espécie e no desenvolvimento de uma metodologia para teste de atividade hipolipidêmica. Os resultados obtidos sugerem que o etanol pode não ser o melhor solvente para a extração dos princípios ativos desta planta responsáveis por diminuir o colesterol, ou que os frutos deste são desprovidos de ação.

ABSTRACTS

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DE *Solanum gilo* RADDI – “JILÓ”

Michele Feitoza Silva

Orientadores: Dr^a Suzana Guimarães Leitão e Dr. Hélio de Mattos Alves.

Abstracts da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Fruits of *Solanum gilo* Raddi specie are rich in soluble fibers and belong to Solanaceae family. Its probable origin is Africa, and it is popularly used in Brazil the treatment of hyperlipidemia treatment and as component in weight loss diet.

The morphologic analysis of *Solanum gilo* Raddi by microscopy indicated the presence of remarkable characteristics of *Solanum* genus. However, differences were also established when it was compared to *Solanum aethiopicum*, considered by many authors as synonyms. Phytochemical investigation of the hexane fraction of the ethanolic extract allowed the isolation and identification of 3-O- β glucosyl sitosterol.

For the pharmacological study 6 groups of rats with 10 animals each (5 males and 5 females), with the group 6 were used exception (5 males and 4 females). Groups were submitted to different treatment for 45 days. It was verified that the total cholesterol level of the animals from G2 (hyperlipidic diet), including males ($p=0,0439$) and females ($p=0,047$) was significantly higher than that of the animals from G1 (control group). This result showed the efficacy of the chosen hyperlipidic diet. There coaxit any difference between the levels of

total cholesterol of groups G3 (placebo) and G1 (control group) for males ($p=0,8878$) and females ($p=0,6423$), which suggests that the stress caused by gavage administration did not influence the cholesterol serum levels.

There was no significant difference between the cholesterol serum levels of G4 (animals submitted to a normal diet plus extract-SGE) and the control group, G1. There was no significant difference between the cholesterol serum levels of G1 and G5 groups (SGE plus hyperlipidic diet) for males ($p=0,9787$) and females ($p=0,4368$) too. This was also observed for cholesterol serum levels of animals from G6 (hyperlipidic diet plus SGE after the 22^o day), males ($p=0,4277$) e females ($p=0,6735$).

LDL-Cholesterol values for all groups showed a high standard deviation values, demonstrating very heterogenous results. Differences significant were observed between LDL values of males and females G2 animals. There was no difference between the LDL serum levels of G3 and the control groups, indicating that the gavage administration did not influence results.

Although this study failed to demonstrate any effect of “jiló”, the pharmacognostic study of *S. gilo* contributed to improve the botanical, chemical and pharmacological knowledge of this species, and to the development of a methodology to test the hypolipidemic activity. The results so far obtained reveal that ethanol may not be the best solvent for the extraction of the cholesterol lowering active principles of this plant, or may be the plant itself is devoid of action.

SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA	x
RESUMO	xi
ABSTRACTS	xiii
ABREVIATURAS	xviii
ÍNDICE DE FIGURAS	xx
ÍNDICE DE TABELAS	xxii
1- INTRODUÇÃO	01
1.1- A família Solanaceae Jusse o gênero <i>Solanum</i> L	01
1.2- “Jiló” (<i>Solanum gilo</i> Raddi – Solanaceae)	01
1.2.1- Aspectos agronômicos e econômicos	03
1.3- Os alcalóides esteroídicos da família Solanaceae	07
1.4- Fitoquímica de <i>S. gilo</i>	08
1.5- Metabolismo lipídico	09
1.5.1- Lipídeos	09
1.5.2- Lipoproteínas	11
1.5.3- Metabolismo de lipídeos e lipoproteínas	16
1.5.3.1- Metabolismo dos lipídeos de origem exógena	16
1.5.3.2- Metabolismo dos lipídeos de origem endógena	18
1.5.3.3- Transporte reverso do colesterol	20
1.5.4- Papel dos receptores celulares de lipoproteínas	21
1.6- Hipercolesterolemia	23
1.7- Aterosclerose	25
1.8- Tratamento das dislipidemias	25
1.8.1- Mecanismo de ação dos fármacos utilizados nas dislipidemias	26
1.8.1.1- Ácido nicotínico	26
1.8.1.2- Sequestrantes dos ácidos biliares	27
1.8.1.3- Derivados do ácido fíbrico	28
1.8.1.4- Inibidores da HMG CoA redutase – AsEstatinas (vastatinas)	30
1.8.2- Uso de plantas medicinais e produtos naturais	33
2- OBJETIVO	36

3- JUSTIFICATIVA	37
4- METODOLOGIA	38
4.1-Métodos gerais	38
4.2-Estudo botânico e morfológico da espécie <i>Solanum gilo</i> Raddi	39
4.3-Investigação Fitoquímica	39
4.3.1-Investigação preliminar do teor de umidade dos frutos de <i>S gilo</i> Raddi	39
4.3.2-Secagem,moagem e extração dos frutos	40
4.3.3-Partição do extrato etanólico,SGE.	41
4.3.4-Fracionamento de SGH	41
4.3.4.1-Análise de SGH 4 por CG-EM	43
4.3.4.2-Isolamento e caracterização do 3- O- β glucosil sitosterol	45
4.3.5-Cálculo do percentual de material graxo do SGE	45
4.4-Atividade Hipocolesterolêmica	45
4.4.1-Aquisição e manutenção dos animais	46
4.4.2-Avaliação e definição dos grupos de animais	46
4.4.3-Dieta administrada aos animais : dieta normal (ração e a água) e dieta hiperlipídica (ração e bacon)	48
4.4.4- Preparação e administração do extrato–Protocolo experimental	49
4.4.5- Dosagem dos níveis séricos de LDL e colesterol total	52
4.4.6- Tratamento dos dados	52
5- RESULTADO E DISCUSSÃO	53
5.1-Investigação dos aspectos botânicos	53
5.1.1- Resultados da caracterização morfológica realizada no Jardim Botânico do material testemunho de <i>Solanum gilo</i> .	53
5.1.2- Considerações	57
5.2- Investigação Fitoquímica	60
5.2.1- Obtenção do SGE a partir de frutos de <i>S. gilo</i> obtidos do comércio	60
5.2.2- Partição do extrato etanólico, SGE	61
5.2.3-Fracionamento de SGH	62
5.2.3.1-Análise de SGH 4 por CG-EM	65
5.2.3.2- Isolamento e caracterização do 3-O- β -glucosil sitosterol	69
5.2.4- Cálculo do percentual de material graxo do SGE	74

5.3- Atividade hipocolesterolêmica	74
5.3.1- Animais	75
5.3.1.1- Divisão dos grupos de animais	75
5.3.2- A ração e a água	76
5.3.3- A dieta hiperlipídica	77
5.3.4- Preparação e administração do extrato	77
5.3.5- Dosagem dos parâmetros bioquímicos	81
5.3.6- Discussão sobre animais utilizados e definição dos grupos	83
5.3.7- Resultados e discussão dos valores de colesterol total e LDL	84
6- CONCLUSÃO	91
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

ABREVIATURAS

Apo A: Apoproteína A.

Apo B-48: Apoproteína B-48.

Apo B-100: Apoproteína B-100.

Apo C: Apoproteína C.

Apo C-II: Apoproteína C-II.

Apo D: Apoproteína D.

Apo E: Apoproteína E.

CCF: Cromatografia em camada fina

CE: Colesterol esterase.

CADEG: Central de abastecimento e distribuição do Estado da Guanabara

CEASA: Central estadual de abastecimento SA

CETP: Cholesterol ester transferring protein (proteína transferidora de ésteres de colesterol).

CG-EM: Cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas.

CO: Colesterol oxidase.

DCC: Doença coronariana cardíaca

EGF: Epidermal growth factor (fator de crescimento epidérmico).

FCH: Familiar combined hyperlipidemia □ hiperlipidemia combinada familiar).

FDB: Familiar defective apo B-100 (defeito familiar de apo B 100).

FGF: Fibroblast growth factor (fator de crescimento de fibroblastos).

FH: Family hypercholesterolemia (hipercolesterolemia familiar).

FHS: Framingham heart study (estudo Framingham do coração).

GK: Glycerol kinase (gliceroquinase).

G6PD: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (glicose 6-fosfato desidrogenase).

GPO: Glycerol-3-Phosphate Oxidase (glicerol fosfato oxidase).

HDL: High-density lipoprotein (lipoproteína de alta densidade).

HK: Hexokinase (hexoquinase).

HLP 3: Type III hyperlipoproteinemia (hiperlipoproteinemia tipo 3).

HMG CoA: 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (hidróxi metil glutaril coenzima A).

HPO: Peroxidase.

IDL: Intermediate density lipoproteins (lipoproteína de densidade intermediária).

JBRJ: Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

- LCAT:** Lecithin cholesterol acyltransferase (lecitina colesterol acil transferase).
- LDL:** Low-density lipoprotein (lipoproteína de baixa densidade).
- Lp(a):** Lipoproteína (a).
- LPL:** Lipoproteína lipase ou lipase lipoprotéica.
- MS:** Ministério da Saúde.
- OMS:** Organização Mundial da Saúde.
- MM-LDL:** minimally modified low density lipoprotein (LDL minimamente modificada).
- PAI 1:** Plasminogen Activator Inhibitor-1 (inibidor do ativador do plasminogênio 1).
- PDGF:** Platelet derived growth factor (Fator de crescimento para células mesenquimais).
- PESAGRO:** Pesquisa Agropecuária (Empresa de pesquisa agropecuária do Estado do Rio de Janeiro).
- PUFAS:** Polyunsaturated fatty acids (ácidos graxos poliinsaturados).
- QM:** Quilomícrons.
- RB:** Sigla do Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (R - Rio de Janeiro e B - Jardim Botânico).
- RMN:** Ressonância magnética nuclear
- SBC:** Sociedade Brasileira de Cardiologia.
- SGA:** *Solanum gilo* acetato.
- SGB:** *Solanum gilo* butanólico.
- SGD:** *Solanum gilo* diclorometano.
- Seph:** Sephadex.
- SGE:** *Solanum gilo* etanólico
- SGH:** *Solanum gilo* hexânico
- TGF β :** Transforming growth factor (fator de crescimento de transformação β).
- UV:** Ultra-violeta
- VAS:** Vaselina anidra sulfúrica
- VLDL:** Very low density lipoprotein (lipoproteína de muito baixa densidade).

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Variedades de <i>Solanum gilo</i> comprido e redondo disponíveis no mercado	03
Figura 2: Frutos, habitat e flor de “jiló” (comprido e redondo)	06
Figura 3: Biossíntese de hormônios sexuais a partir do colesterol	07
Figura 4: Estrutura da solasodina	08
Figura 5: Biossíntese do colesterol	10
Figura 6: Diagrama esquemático de uma partícula de LDL	13
Figura 7: Metabolismo das Lipoproteínas	17
Figura 8: Formação da placa de ateroma	25
Figura 9: Estrutura do ácido nicotínico	27
Figura 10: Estrutura química do Colestid®	28
Figura 11: Estrutura química da lovastatina	30
Figura 12: Cromatógrafo com fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas	44
Figura 13: Pesagem individual do animal realizada semanalmente para correção da dose	50
Figura 14: Procedimentos para coleta de sangue dos animais	51
Figura 15: Exsicata RB 395836, <i>Solanum gilo</i> Raddi (A)	54
Figura 16: Exsicata RB 395836, <i>Solanum gilo</i> Raddi (B)	55
Figura 17: Exsicata RB 200588, <i>Solanum aethiopicum</i> L.	56
Figura 18: Lâminas foliares em detalhe de <i>S aethiopicum</i> e <i>S. gilo</i>	57
Figura 19: Cromatografia em camada fina das frações obtidas na coluna de sílica gel do SGH eluídas na mistura de hexano: acetato de etila na proporção de: A= 19:1, B=17:3 e C=4:1 usando como revelador químico o VAS	62
Figura 20: Cromatografia em camada fina das frações (12 A 18) obtidas da coluna de sílica gel de SGH, SGB, SGE (EB) e alcalóide padrão (Q), eluídas no sistema: acetato de etila:acetona:água (25:8:2), usando como revelador o reagente de Dragendorff	63

Figura 21: Cromatografia em camada fina das frações e precipitados de SGH13 obtido da coluna de sílica gel de SGH, eluídas com mistura de: clorofórmio: metanol (95:5) usando como revelador químico o VAS	64
Figura 22: Cromatograma da fração SGH4	66
Figura 23: Espectro de Massas de palmitato de etila	68
Figura 24: Espectro de Massas de linoleato de etila	68
Figura 25: Espectro de Massas de octadecanoato de etila	68
Figura 26: Cromatografia em camada fina das frações obtidas na coluna de Sephadex do SGH13, eluídas no sistema: CHCl ₃ etanol, 1% amônia, usando como revelador químico SnCl ₃ em clorofórmio	69
Figura 27: Estrutura química do sitosterol	70
Figura 28: Espectro RMN-H ¹ de Seph13, py-d ₆	71
Figura 29: Espectro RMN-C ¹³ de Seph13, py-d ₆	72
Figura 30: Peso médio dos animais no início do teste	75
Figura 31: Gráfico do acompanhamento da variação ponderal dos grupos	80
Figura 32: Análise da variação de peso dos machos e das fêmeas	80
Figura 33: Esquema para o método de dosagem direta do colesterol – LDL	82
Figura 34: Níveis séricos de colesterol total e LDL para animais machos e fêmeas	85
Figura 35: Valores dos níveis séricos de colesterol total dos animais machos e fêmeas	88
Figura 36: Valores dos níveis séricos de colesterol LDL dos animais machos e fêmeas	89

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação das lipoproteínas e suas características	15
Tabela 2: Valores de colesterol total, LDL, HDL e triglicérides para adultos em mg/dl	24
Tabela 3: Classificação dos grupos quanto às cores utilizadas no experimento	47
Tabela 4: Índice de epítetos de <i>Solanum</i> , adaptado de Nee, 2001	58
Tabela 5: Principais sinais obtidos por CG/EM, da fração SGH4	67
Tabela 6: Dados de RMN ¹³ C de Seph 13 (3-O-β glucosil sitosterol)	73
Tabela 7: Variação ponderal dos grupos que receberam SGE	78
Tabela 8: Diferenças percentuais entre o peso dos animais	78
Tabela 9: Publicações sobre atividade hipolipidêmica e respectivos grupos de estudos	83
Tabela 10: Valores dos níveis séricos de colesterol total e colesterol LDL	86

1- INTRODUÇÃO

1.1- A família Solanaceae Juss e o gênero *Solanum* L.

A família das Solanáceas compreende cerca de 85 gêneros e encontra-se subdividida em 5 subfamílias com 10 tribos (ZOMLEFER, 1994). O gênero *Solanum* é composto por aproximadamente 1000 a 3700 espécies, sendo o principal gênero de Solanaceae e também um dos maiores entre as Angiospermas. De acordo com D'Arcy (1991) *apud* ZOMLEFER, 1994, um número mais exato seria de cerca de 1000 espécies, sendo que o número exagerado de 3700 espécies para o gênero *Solanum* reflete a quantidade de sinónimas e variedades descritas por botânicos e horticultores, refletindo ainda a importância do gênero (ZOMLEFER, 1994).

Plantas do gênero fornecem, freqüentemente, um grande número de espécies que são utilizadas em alimentação nas regiões quentes e temperadas do planeta, especialmente pelos seus tubérculos (ex: batata, *Solanum tuberosum* L.) e pelos seus frutos (ex: berinjela, *Solanum melongena* L.) (BOIS, 1927).

1.2- “Jiló” (*Solanum gilo* Raddi – Solanaceae)

Solanum gilo é de origem provavelmente africana, porém alguns autores mais antigos referem, como da América Meridional ou das Antilhas, já então cultivada, com maior intensidade, no Brasil e nas velhas províncias hispano-americanas. Nenhuma dessas hipóteses foi confirmada, pois a planta não foi encontrada espontaneamente em nenhum dos dois continentes (CORREA, 1926).

A espécie *Solanum gilo* foi pela primeira vez descrita pelo botânico italiano Giuseppe Raddi, porém a planta nem sequer foi admitida por Sentner na sua monografia das Solanáceas, publicada em 1846. Outro autor, Dunal, fazendo a revisão da família em 1852, corrigiu a falta, porém deixando o “jiló” como sinônimo ou variedade de *S. racemiflorum* Dun., sendo que esta, no mesmo trabalho é considerada igualmente duvidosa e sinônimo de *S. aethiopicum* L. (CORREA, 1926).

No começo do Século XIX, Raddi enviou do Brasil para a Itália, as sementes de “jiló”, sendo, então essa, cultura iniciada e desenvolvida. Passou a ser citada em todos os catálogos e também nas listas dos estabelecimentos científicos, de 1825 até 1845, talvez também posteriormente, aparecendo os respectivos frutos em vários mercados. A confusão se deu pelo fato de se considerar o “jiló” como uma simples forma de “Berinjela” fruto redondo, ou seja, a forma inerme de *S. esculentum* Dun., senão a *S. melongena* (CORREA, 1926).

Michele Tenore, do Jardim Botânico de Nápoles, resolveu cultivar durante anos sucessivos as três espécies em questão: 1) *S. gilo* Raddi; 2) *S. integrifolium* Poir (*S. lobelli* Tenore, *S. gilo* Requier) e 3) *S. pseudo-melongena* Tenore, esta última chamada “Berinjela do Brasil”. O resultado desses estudos comprovou os equívocos de vários botânicos, com as três diagnoses completas e desde então inalteradas (CORREA, 1926).

As sinonímias citadas por Vieira e Freire de Carvalho (1993) são: *S. integrifolium* x *aucts non Poir.*, *S. paaschenianum* H. Winkl e também *S. aethiopicum* L.

Solanum gilo Raddi, é uma planta anual, herbácea, inerme, revestida de tomento flocoso tenuíssimo e pálido, caule ereto, ramoso desde a base, até um metro de altura, ramos alongados, cilíndricos e verdes. As folhas são alternas, pecioladas, oblongas ou ovado-oblongas, agudas no ápice, oblíquas, geminadas, profundamente angulosas e sinuadas, às vezes quase semiprimatífidas e com os ângulos reentrantes, sendo que a maior de cada par tem até 15 cm de comprimento e 10 cm de largura, mais densamente tomentosa na página

inferior. As flores são brancas dispostas em pequenos racemos, 2 a 3 flores curto-pedunculadas, porém como em geral, apenas uma se torna fecundada. Os frutos são solitários e o pedúnculo alonga-se até 5 cm de comprimento, conservando-se recurvado até a maturação. Cálice monófilo-5-laciniado, sendo que as lacínias ficam persistentes sobre o fruto e desenvolvem-se com ele. Corola rotácea 5-fida, com lacínias linear-lanceoladas e azuladas. Fruto-baga obovóide-piriforme (forma de uma pequena berinjela), até 5 cm de diâmetro, de cor vermelho-vivo ou cinábrio, quando completamente maduro (jamais cor de laranja), sem máculas verdes e sempre lisas, raríssimas vezes com 1 ou 2 sulcos mais ou menos profundos. Sementes achatadas, redondas e amareladas, idênticas às do tomate comum (CORREA, 1926 e MELO & ALMEIDA, 1993).

1.2.1- Aspectos agronômicos e econômicos

O “jiló” (*Solanum gilo* Raddi) é uma hortaliça anual de porte herbáceo, rico em fibras solúveis (DERIVI *et al.*, 1998), de sabor amargo. No Brasil, sua produção parece estar limitada às variedades: redondo (cultivar “Morro Grande” - Estado de São Paulo) e comprido (cultivares “Comprido Verde” - Estado do Rio de Janeiro e “Tinguá” - Estado de Minas Gerais), muito utilizados em comércio de legumes e frutas e como mostrado na figura 1.

O cultivo ocorre no período de agosto a março, sendo a espécie bastante sensível ao frio. Entretanto, no litoral, pode ser cultivado durante o ano inteiro (HORTFORT, *on line* 2003).

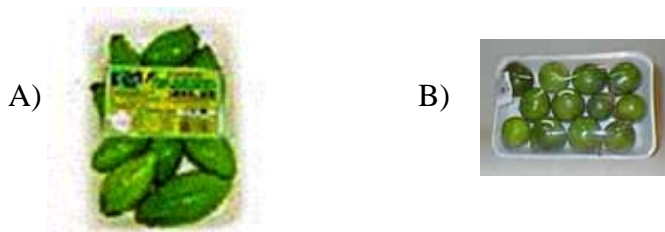


Figura 1: Variedades de *Solanum gilo* A) comprido e B) redondo disponíveis no mercado. Adaptado de LIDERNET *on line*, 2004.

Por ser um fruto tropical colhido antes do amadurecimento, possui grande volume gasoso intercelular e praticamente não foi estudado sob o ponto de vista de pós-colheita. Sabe-se, no entanto, que seus frutos se assemelham aos da berinjela em sua anatomia, fisiologia e fisiopatologia. Devido ao seu grande volume gasoso intercelular o “jiló” é pouco sensível à injúria mecânica de impacto e é sensível a injúria de compressão (amassamento) (EMBRAPA – *on line* 2003)

Morgado e Dias (1992) avaliaram 43 genótipos de “jiló” e um de *Solanum aethiopicum* para caracterizar a coleção de germosplasma da Embrapa Hortaliças dentre outras. Os pesquisadores observaram uma grande variabilidade dos frutos, principalmente em relação à coloração e forma. A altura das plantas variou de 23 a 71 cm, o peso unitário dos frutos variou de 19 a 110 g com o comprimento oscilando de 2,5 a 6,4 cm. Quanto à coloração, 36% dos genótipos apresentaram frutos verde escuros, 36% verde claros e quanto ao formato do fruto, 61% foram redondos, 20% achatados, 9,5% alongados e 9,5% ovais.

A colheita do “jiló” inicia-se 90 a 100 dias após a emergência, prolongando-se por mais de três meses (FILGUEIRA, 1972). O ponto de colheita se dá quando os frutos estão bem formados, verdes, com sementes e polpa ainda tenras. Os frutos maduros de cor vermelha não têm valor comercial. O “jiló” é usualmente colhido com cerca de 20 a 30 g (HORTFORT, *on line* 2003).

Sudo *et al.* (1966) e Takatsu (1970) descreveram a antracnose como a principal doença do “jiló”. No Distrito Federal a antracnose é causada por *Colletotricum gloesporioides* (TAKATSU, 1970). Alta umidade relativa e o uso de altas densidades populacionais favorecem o desenvolvimento desta doença (TAKATSU, 1970).

No período de 1994 a 1997 foram comercializadas na CEASA-RJ 14.169,6 toneladas de “jiló”, provenientes dos Estados da região Sudeste. No Estado do Rio de Janeiro, mais especificamente na Baixada Fluminense, importante região produtora, a planta forma um

arbusto ramificado, apresentando frutificação com cachos de 2 a 4 frutos, com formas que variam de acordo com a cultivar (figura 2), de sabor amargo, sendo comercializado quando verde, medindo em média 4 cm de diâmetro por 6 cm de comprimento, com peso médio dos frutos entre 40 a 50 g (PESAGRO/RJ, *on line*2001).

O “jiló” bom para o consumo deve ser liso, brilhante, firme e sem machucados. Sua cor deve ser verde por igual (quando apresenta sabor menos amargo), pois manchas amarelas indicam que o fruto já amadureceu. As figuras 2A e 2B mostram frutos dos cultivares comprido e redondo (HORTFORT *on line* 2003).

A polpa do “jiló” é macia, porosa e com pequenas sementes brancas, que lembram a polpa da “berinjela”. É um fruto de consumo seletivo e para ser usado na culinária, o “jiló” deve ser colhido ainda verde, cozido, ensopados ou frito. Em algumas regiões do Brasil há relatos do seu uso na medicina caseira no preparo de uma infusão em aguardente para o combate a gripes, resfriados e febre (HORTFORT *on line* 2003).

Recomendado para regimes alimentares pelo baixo valor calórico, o “jiló” é uma hortaliça que contém quantidades apreciáveis de sais minerais como cálcio, fósforo e ferro, além das vitaminas B₅ e C (HORTFORT *on line* 2003).

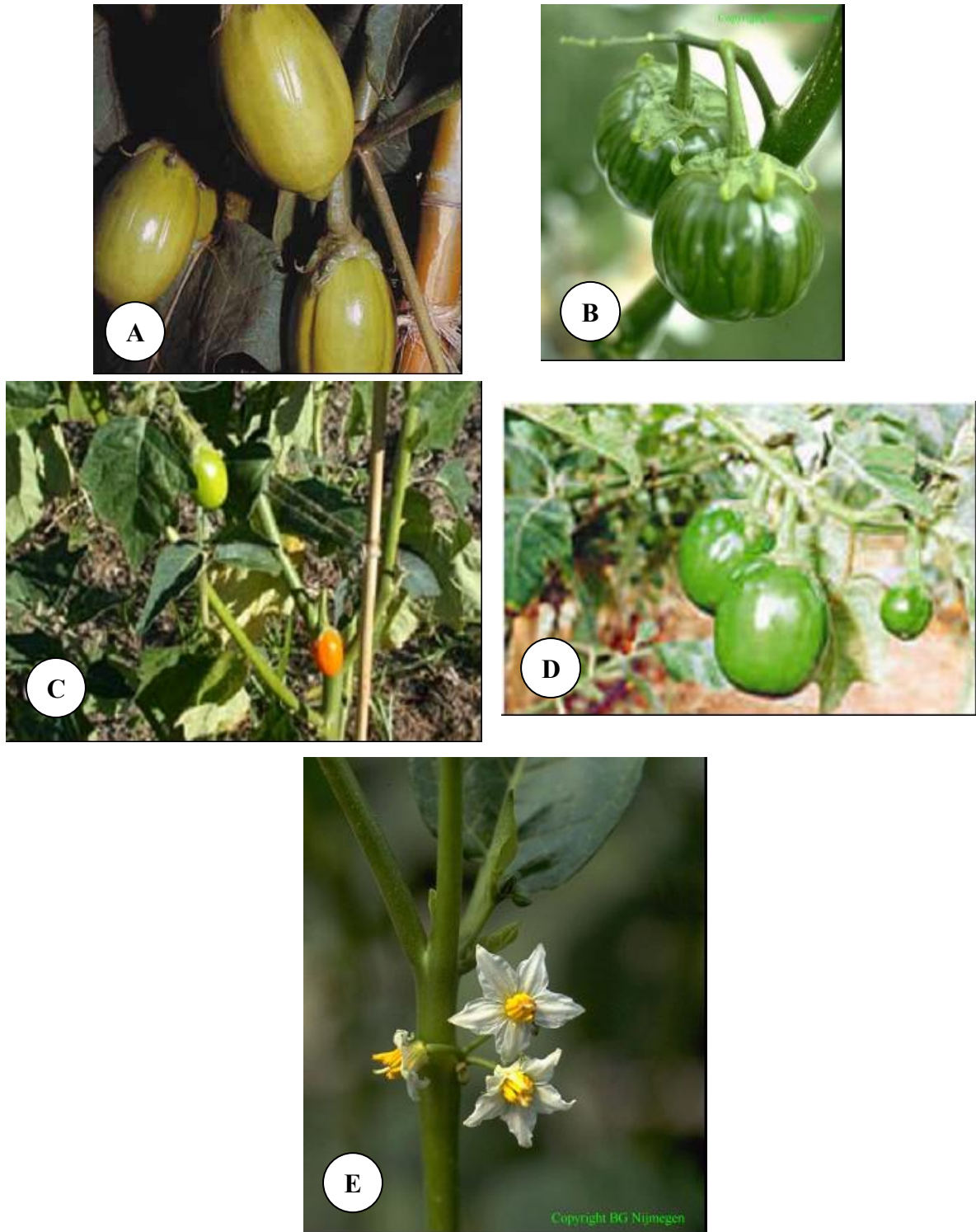


Figura 2:(A)- Frutos “jiló” comprido verde (SEMENTES FELTRIM *on line*, 2004).
 (B)- Frutos “jiló” redondo (BEGARD SCIENCE *on line*, 2004).
 (C)- Hábito “jiló” comprido (SPECIFIC CROPS *on line*, 2004).
 (D)- Hábito “jiló” redondo (ABH-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HORTICULTURA *on line*, 2004).
 (E)- Flor (BEGARD SCIENCE *on line*, 2004).

1.3- Os alcalóides esteróidicos da família Solanaceae

Os alcalóides esteróidicos são fonte de matéria-prima para a síntese de hormônios sexuais (figura 3) e corticosteróides, bem como de substâncias tóxicas e nocivas ao ser humano e aos parasitas predadores de plantas (VIEIRA E FREIRE DE CARVALHO, 1993 e SIMÕES *et al.*, 2000).

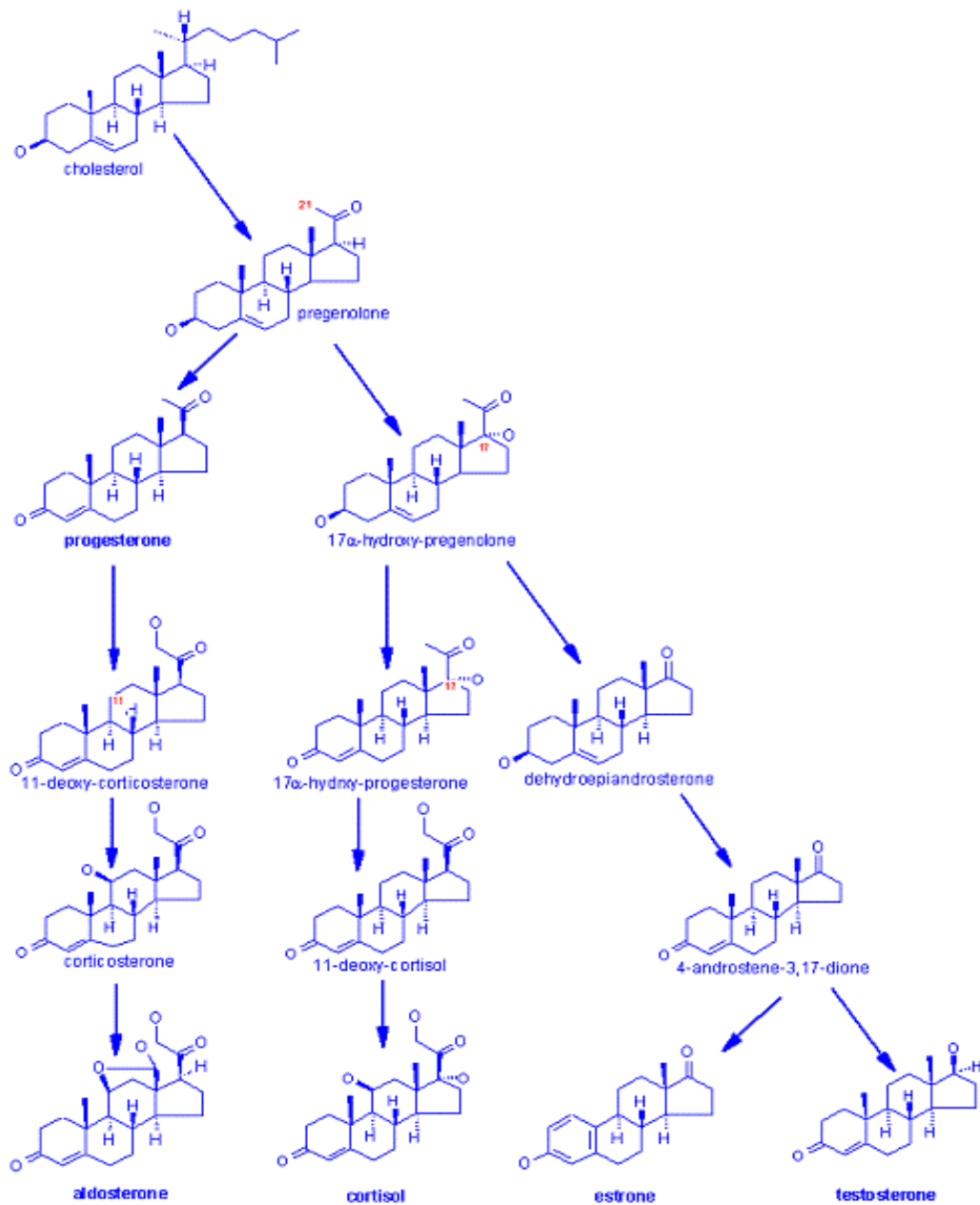


Figura 3: Biossíntese de hormônios sexuais a partir do colesterol (adaptado de:

ALBERGARIA & FERNANDES, 2002).

Na figura 3, a primeira reação, a conversão do colesterol em esteróides C18, C19 e C20, envolve a quebra de um grupo de 6 carbonos do colesterol e este é o passo principal, regulador e determinante da velocidade de reação de biossíntese de esteróides.

No trabalho desenvolvido por Vieira e Freire de Carvalho (1993), foi feito um levantamento bibliográfico das espécies do gênero *Solanum* e sua composição química, com especial referência aos alcalóides esteroídicos. Nesse estudo, a espécie *S. gilo* não foi classificada como uma das maiores produtoras de alcalóides esteroídicos do gênero *Solanum*, porém a presença da solasodina (figura 4), revela uma tendência clara na produção de certos alcalóides, que se pode correlacionar com a evolução das seções dos gêneros, o que mais à frente pode nos levar a estudos evolutivos e quimiosistemáticos.

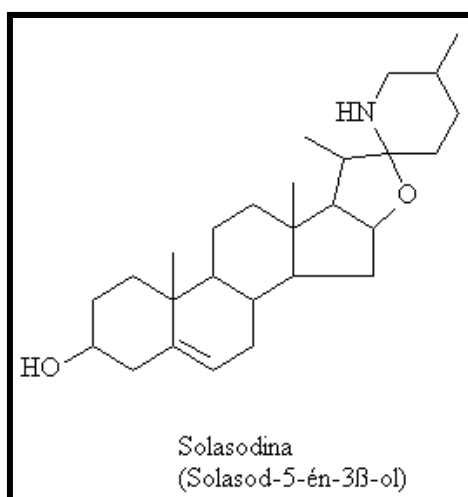


Figura 4: Estrutura da solasodina

1.4- Fitoquímica de *S. gilo*

Pouco foi encontrado na literatura sobre as substâncias do metabolismo especial da espécie *Solanum gilo* Raddi (“jiló”). Segundo trabalho de revisão realizado por VIEIRA e FREIRE DE CARVALHO (1993), assim como em diversas outras espécies do gênero *Solanum*, a solasodina foi identificada no *S. gilo*. Melo & Almeida (1993), citou ainda a presença de uma substância semelhante à acetilcolina no extrato aquoso do fruto do “jiló”.

1.5 – Metabolismo lipídico

1.5.1- Lipídeos

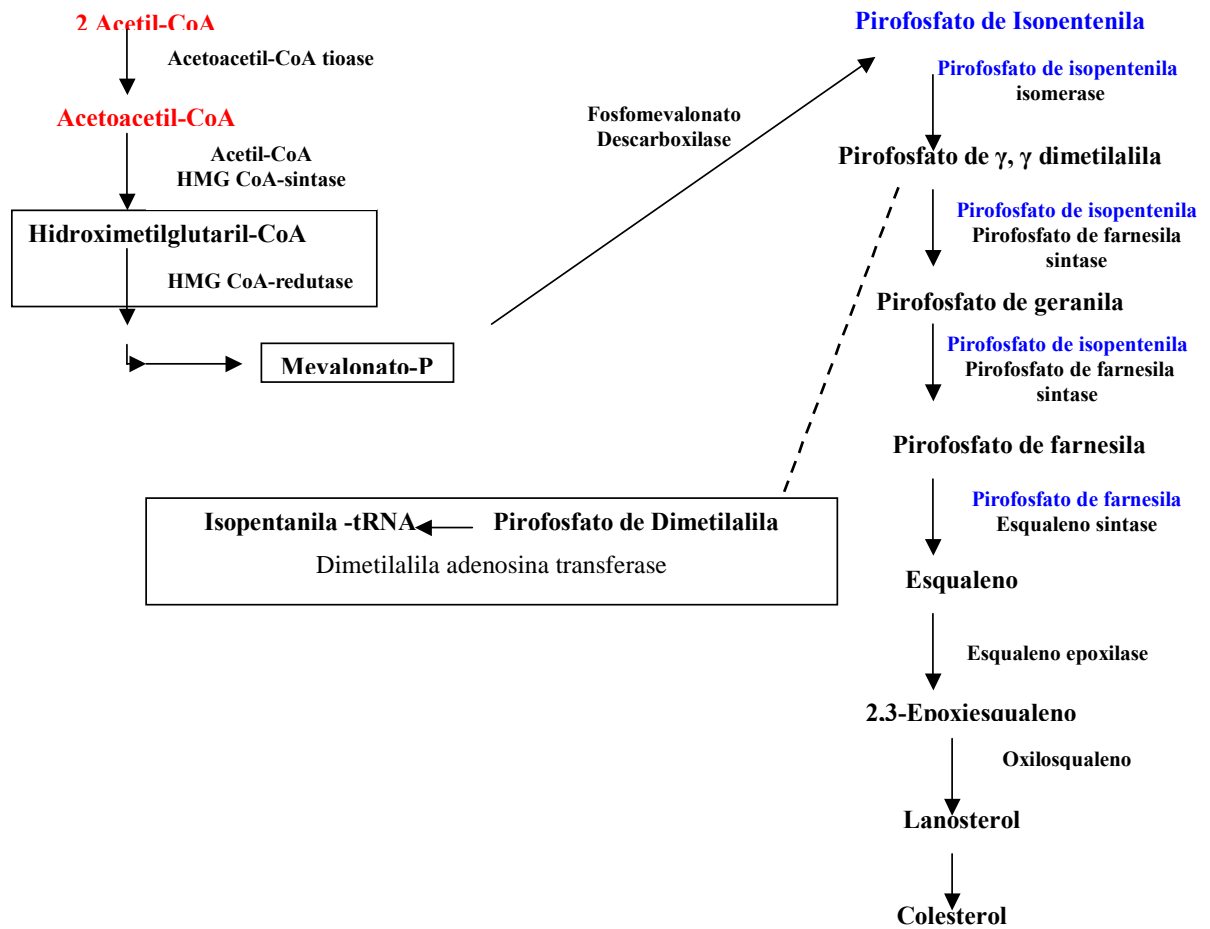
Os lipídeos formam um grupo heterogêneo de compostos relativamente insolúveis em água, porém solúveis em solventes orgânicos. Os lipídeos encontrados em maior quantidade no sangue são colesterol, triglicerídeos, fosfolipídeos e ácidos graxos não esterificados (LINSCHER & VERGROESEN, 1993 *apud* TAGLIAPIETRA, 2001).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeias hidrocarbônicas saturadas e/ou insaturadas. A composição e o tipo de ácido graxo da dieta parece contribuir para a prevalência de doença arterial coronariana em uma comunidade: ácidos graxos saturados são proaterogênicos, enquanto que os ácidos graxos insaturados são antiaterogênicos (ALEXANDER & PECK, 1991 *apud* TAGLIAPIETRA, 2001).

Os triglicerídeos ou triacilgliceróis são ésteres de ácidos graxos de glicerol; o estoque de energia como triglicerídeos no tecido adiposo é muito eficiente devido ao seu alto valor calorífico e baixo conteúdo de água. Os fosfolipídeos são similares na estrutura aos triglicerídeos, com exceção do fosfato e um grupo polar adicional, como um álcool, que estão ligados no terceiro átomo de carbono do glicerol. Esta estrutura resulta em uma seção polar e uma seção não polar da molécula, conferindo ao mesmo propriedades detergentes, o que o torna importante na estabilização de lipídeos hidrofóbicos no sangue, além de serem os principais constituintes lipídicos das membranas celulares (TAGLIAPIETRA, 2001).

Colesterol, esterol que ocorre na forma esterificada ou não. É um componente estrutural importante das membranas celulares e precursor para a biossíntese dos ácidos biliares, hormônios esteroídicos e da vitamina D (BACHORIK, LEVY & RIFKIND, 1995).

A biossíntese de colesterol dá-se pela condensação de unidades isoprenóides com cinco carbonos para formar um intermediário, o esqualeno. Por sua vez, as unidades isoprenóides são derivadas da reação de três unidades de acetil-CoA (figura 5).



Acetil CoA

Unidades Isoprenóides

Figura 5: Biossíntese do colesterol

1.5.2- Lipoproteínas

As lipoproteínas são partículas complexas que transportam lipídeos no sangue devido à limitada solubilidade dos mesmos no ambiente aquoso do plasma. Cada classe de lipoproteínas consiste de componentes similares que estão presentes em diferentes quantidades. Há um núcleo de lipídeos apolares (ésteres de colesterol e triglicerídeos), e um invólucro contendo lipídeos com grupos polares (fosfolipídios e colesterol) e proteínas (apolipoproteínas), que tem importantes funções estruturais e metabólicas (figura 6 e tabela 1) (FREDRICKSON, LEVY & LEES, 1967).

As apoproteínas formam a parte protéica das lipoproteínas e possuem três funções principais: como componentes estruturais das lipoproteínas ajudam a estabilizar os lipídeos apolares no plasma, ligam-se aos receptores na superfície celular para a interiorização da lipoproteína e regulam a atividade das enzimas que estão envolvidas no metabolismo das lipoproteínas. As principais apoproteínas são apoA, apoB-48, apoB-100, apoC e apoE (RIFAI, 1986 *apud* TAGLIAPIETRA, 2001), tabela 1.

A nomenclatura das lipoproteínas varia de acordo com a metodologia utilizada para isolá-las. Assim, a eletroforese separa as famílias individuais das lipoproteínas de acordo com sua mobilidade eletroforética em relação às proteínas séricas. Os quilomícrons, devido o seu reduzido conteúdo protéico, não têm migração eletroforética, enquanto que as outras lipoproteínas migram nas posições alfa e beta. As lipoproteínas ricas em triglicerídeos apresentam migrações variáveis em função do suporte utilizado (NOBLE, 1968), tabela 1.

A ultracentrifugação separa as lipoproteínas com base em suas densidades, e utiliza a densidade relativa para sua classificação: quilomícrons (Qm), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de densidade

intermediária (IDL), e lipoproteína de alta densidade (HDL) (SCANU & SPECTOR, 1986), como é possível observar na tabela 1.

Os quilomícrons são partículas grandes, produzidas pelo intestino, muito ricas em triglicerídeos de origem exógena (dietética), pobre em colesterol e fosfolídeos e contém 1 a 2% de proteínas. Devido à alta relação lipídeo/proteína, o quilomícron é consideravelmente menos denso que a água flutuando mesmo sem centrifugação. As apoproteínas que fazem parte dos quilomícrons são a apo B-48, apoA, apoC e apoE. A interação dos quilomícrons com a lipoproteína lipase resulta em uma partícula menor, depletada de triglicerídeos e alguns elementos de superfície, que é chamada de quilomícron remanescente (TAGLIAPIETRA, 2001), tabela 1.

As partículas de VLDL são menores que os quilomícrons e ricas em triglicerídeos, embora em menor concentração. Os triglicerídeos são de origem endógena, principalmente hepática e constituem aproximadamente a metade da massa da partícula. O colesterol e os fosfolídeos fazem parte em até 40% das partículas e aproximadamente 10% de sua constituição é de proteína (a maior parte apoB-100, apoC e uma pequena fração de apoE). A partícula de VLDL também sofre a ação da lipoproteína lipase resultando nas VLDL remanescentes e as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) (TAGLIAPIETRA, 2001).

A função da LDL é transportar o colesterol para os tecidos periféricos e regular a síntese de colesterol. Pois, a LDL é rica em colesterol esterificado que após sofrer hidrólise incorpora-se às membranas da célula. As partículas de LDL também constituem o plasma humano. As partículas de LDL são menores que as de VLDL e o conteúdo de colesterol, em sua maioria esterificado, representa 50% da massa total. Aproximadamente 25% é proteína - a maior parte apoB-100 com traços de apoC (TAGLIAPIETRA, 2001).

A figura 6 mostra um esquema tridimensional de uma partícula de LDL. O interior consiste de muitas moléculas de ésteres de colesterol (o grupo hidroxila do colesterol está

esterificado a ácido graxo insaturado, como o linoleato); na superfície uma proteína (apoproteína B-100) fosfolipídeos e colesterol não esterificado entram em contato com o meio aquoso do plasma. A porção protéica das partículas de LDL liga-se a sítios receptores na superfície de uma célula típica (CAMPBELL, 2000).

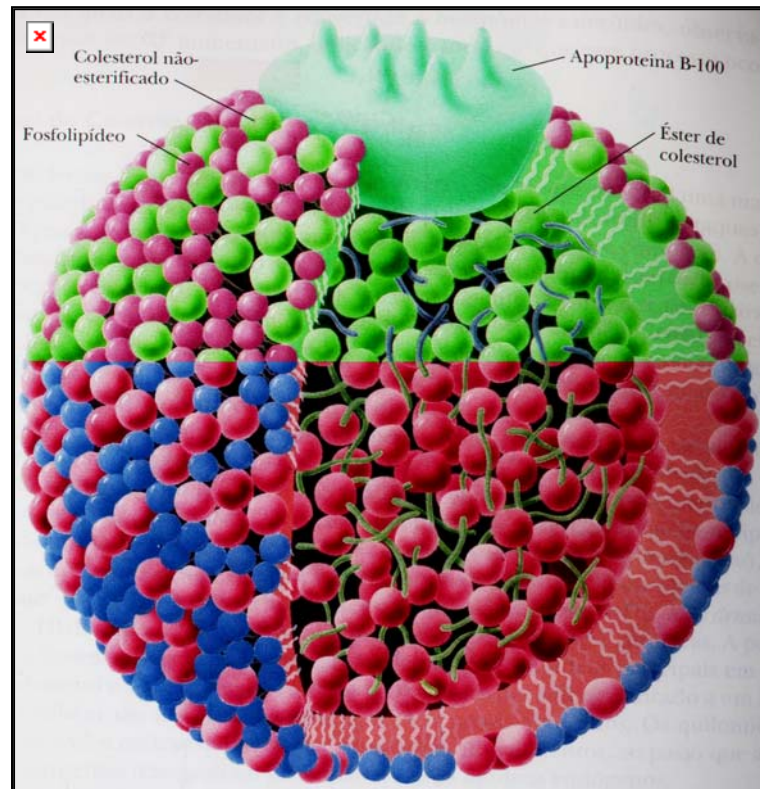


Figura 6: Diagrama esquemático de uma partícula de LDL (adaptado de CAMPBELL, 2000).

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é pequena, constituída de 50% de proteína (a maior parte apoA-I e apoA-II, mas também apoC e apoE), 20% de colesterol (a maior parte esterificado), 30% de fosfolipídeos e somente traços de triglicerídeos (GAUBATZ *et al.*, 1983).

Há uma forte relação entre as lipoproteínas e doenças cardiovasculares. Se por um lado às lipoproteínas de baixa densidade são responsáveis por um maior risco de DCC, por

outro as lipoproteínas de alta densidade são consideradas um fator de proteção (AGUILLA *et al.*, 2002).

A densidade da lipoproteína é inversamente proporcional ao diâmetro da partícula. Em outras palavras, a densidade aumenta quando o diâmetro diminui porque a densidade da capa externa é consideravelmente maior que a parte central (tabela1).

Tabela 1: Classificação das lipoproteínas e suas características

	DIÂMETRO (Å)	ORIGEM	AOPROTEÍNAS	DENSIDADE (G/CM ³)	%PROTEÍNA ♦	%FOSFOLÍPIDEO ♦	%COLESTEROL ♦	%TRIACILGLICEROL	%COLESTEROL ESTERIFICADO
Quilomícrons	750-12000	Intestino	C-I, II, III, B-48, A-I, II, IV, e E	< 0,95	1,5-2,5	7-9	1-3	84-89	3-5
VLDL Lipoproteínas de muito baixa densidade	300-800	Fígado	B-100, CI, II, III e E	< 1,006	5-10	15-20	5-10	50-65	10-15
IDL Lipoproteínas de densidade intermediária	250-350	Catabolismo VLDL	B-100, C III e E	1,006 – 1,019	15-20	22	8	22 ▲	30
LDL Lipoproteínas de baixa densidade	180-250	Catabolismo IDL	B-100 e C	1,019 – 1,063	20-25	15-20	7-10	7-10	35-40
HDL Lipoproteínas de alta densidade	50-120	Fígado e Intestino	A-I, II, C-I, II, III, E e D	1,063 - 1210	40-55	20-35	3-4	3-5	12

♦ - Partículas constituintes da capa

Adaptada de BISHOP *et al.*, 1996 e TAGLIAPIETRA, 2001.

1.5.3. Metabolismo de lipídeos e lipoproteínas

Os mecanismos pelos quais os lipídeos são utilizados, transportados e removidos no organismo humano são complexos, havendo três caminhos inter-relacionados pelos quais as lipoproteínas transportam os lipídeos para sua metabolização. Além disso, alguns hormônios, tais como: insulina, hormônio do crescimento, hormônios sexuais e hormônio da tireóide, também interferem no metabolismo das lipoproteínas (TAGLIAPIETRA, 2001).

1.5.3.1. Metabolismo dos lipídeos de origem exógena

Aproximadamente 40% das calorias da nossa alimentação se originam das gorduras da dieta. As restantes 60% são relativas a carboidratos e proteínas. Quando o bolo alimentar chega ao intestino delgado, as enzimas digestivas (amilases, peptidases e lipases) presentes no suco pancreático passam a digerir as moléculas complexas em pequenos polímeros, para facilitar a absorção (TAGLIAPIETRA, 2001).

Os triglicerídeos são hidrolizados pelas lipases a ácidos graxos e monoglicerídeos que, juntamente com o colesterol, são rapidamente absorvidos pela mucosa intestinal. No retículo endoplasmático da mucosa entérica, ocorre a esterificação do glicerol e do colesterol para formar novamente os triglicerídeos e os ésteres de colesterol, que serão envolvidos pela apoB intestinal (apoB-48), apoA, fosfolipídeos e colesterol, formando uma partícula denominada quilomícron. Após o processamento intracelular dos quilomícrons, que também contém apoA, eles são secretados no sistema linfático, onde ocorre transferência de apoproteínas entre lipoproteínas: os quilomícrons adquirem apoC-II e apoE, principalmente de HDL, a qual recebe apoA dos quilomícrons (STEIN & MYERS, 1994).

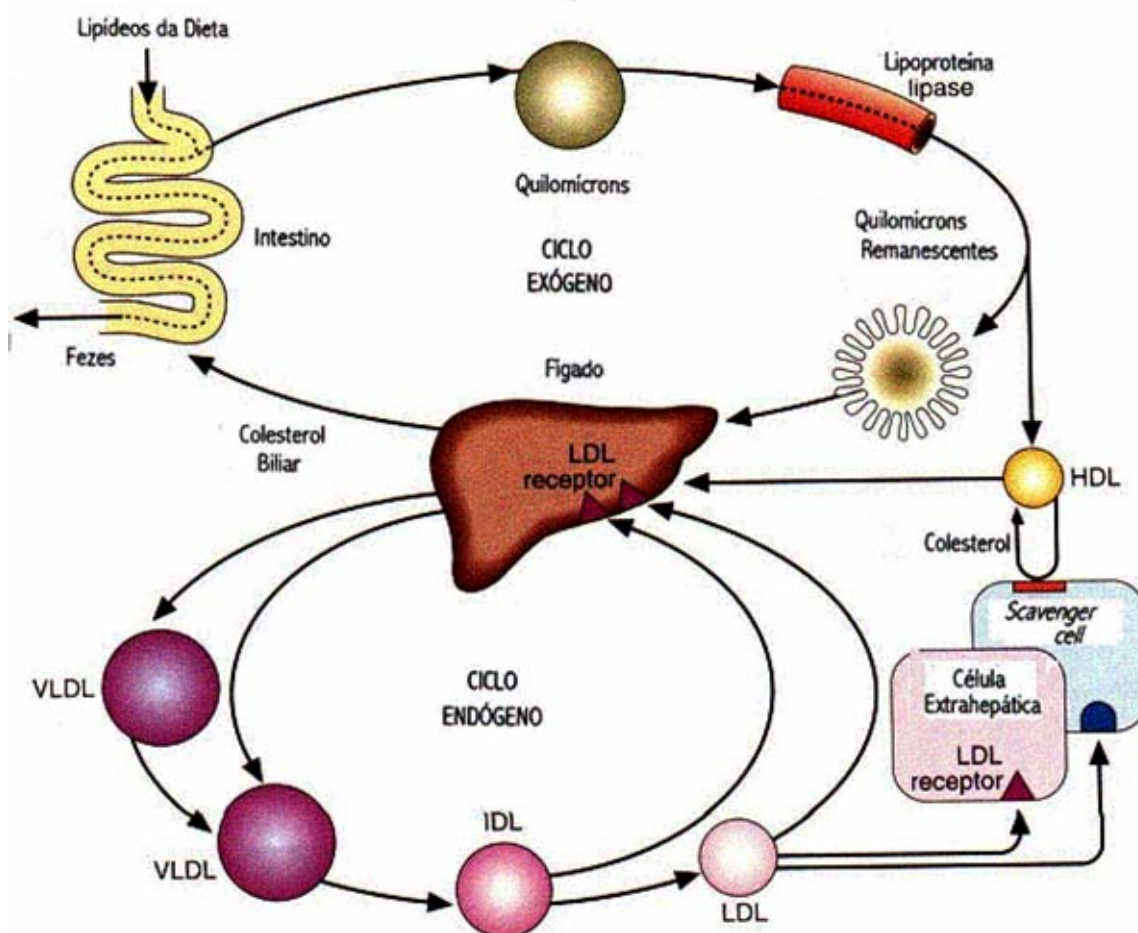


Figura 7: Metabolismo das lipoproteínas (adaptado de ALLAN, 1995).

Os quilomícrons são metabolizados principalmente no tecido adiposo e músculo esquelético. A apoC-II nos quilomícrons ativa a enzima lipoproteína lipase que está localizada no endotélio capilar desses tecidos, a qual hidrolisa os triglicerídeos presentes nos quilomícrons, liberando ácidos graxos para os tecidos onde eles serão usados para re-sintetizar triglicerídeos para estoque, ou como fonte de energia. O glicerol é também liberado e transportado no sangue para o fígado onde é convertido à glicose pelo processo da gliconeogênese. Os quilomícrons diminuem de tamanho quando os triglicerídeos e parte da camada externa contendo fosfolípidos, colesterol e apoproteínas, são separados e incorporados nas partículas de HDL. Como o éster de colesterol não é removido, este componente aumenta a proporção dos lipídeos no núcleo dos quilomícrons remanescentes.

Estes remanescentes são retirados da circulação pelo fígado, através de receptores na superfície da célula hepática que reconhecem e ligam apoE. Uma vez no fígado, enzimas lisossomais quebram os remanescentes para liberar ácido graxo livre, colesterol e aminoácidos. Parte do colesterol é convertido a ácido biliar. Os ácidos biliares e o colesterol (não esterificado) são excretados na bile e daí para o intestino, sendo que aproximadamente 50% do colesterol excretado no intestino é reabsorvido e retorna para o fígado e os outros 50% finalizam nas fezes como esteróides fecais neutros. Por outro lado, 97% dos ácidos biliares são reabsorvidos no intestino delgado, sendo o restante excretado nas fezes como esteróides fecais ácidos (GOTTO, POWNELL & RAVEL, 1986).

1.5.3.2. Metabolismo dos lipídeos de origem endógena

Uma grande quantidade dos triglicerídeos no fígado, que estão destinados a serem incorporados nas partículas de VLDL, são derivados da dieta depois da recirculação pelo tecido adiposo e, somente uma fração relativamente pequena parece ser sintetizada através dos carboidratos da dieta, enquanto que o colesterol por sua vez, é derivado de ambas as vias, da dieta e da síntese pelo fígado (TAGLIAPIETRA, 2001).

As partículas de VLDL, uma vez secretada na corrente sanguínea, sofrem um processo de degradação similar aos quilomícrons. Ao entrar em contato com a lipoproteína lipase (LPL), os triglicerídeos presentes na partícula de VLDL são hidrolisados com liberação de ácidos graxos e perda de uma pequena quantidade de apoproteína e fosfolipídeos de sua superfície. Depois deste processo, uma partícula residual chamada VLDL remanescente, permanece na circulação. Aproximadamente 50% das partículas de VLDL remanescente são removidas diretamente pelo fígado em um processo mediado pela apoE através de receptores na superfície dos hepatócitos e, através da ligação com os mesmos, internalizam a

lipoproteína. Contudo, uma fração das partículas de VLDL remanescente permanece na circulação e são convertidas a LDL, o que contribui para elevar a concentração sérica da partícula de LDL (BROWN, KOVANEN & GOLDSTEIN, 1981).

A partícula de LDL é a mais importante lipoproteína carreadora de colesterol e tem como função primária transportar colesterol para as células periféricas. A partícula de LDL liga-se a receptores específicos de alta afinidade na superfície celular e através da sua internalização, libera colesterol no interior das células (BROWN & GOLDSTEIN, 1986). A endocitose de uma partícula de LDL é seguida da degradação de seus componentes pelas enzimas lisossomais celulares e hidrolases: os triglicerídeos são hidrolisados em ácidos graxos livres e glicerol para serem usados pelas células para energia, ou são reesterificados para depósito. As apoproteínas são degradadas nos seus aminoácidos constituintes para uso pela célula (para obtenção de energia através do ciclo da uréia, ou para a re-síntese de novas proteínas), e o colesterol derivado da partícula de LDL degradada, pode ser utilizado nas membranas celulares para síntese de hormônios como, por exemplo, cortisol, testosterona, estrogênio e androgênio nos tecidos sintetizadores de esteróides, ou ser reesterificado para estoque (TAGLIAPIETRA, 2001).

A presença de colesterol na célula também regula três eventos metabólicos distintos: 1) suprime a atividade da enzima 3-hidróxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase (HMG-CoA redutase) que controla a síntese do colesterol, o que leva ao favorecimento da síntese de receptores de LDL; 2) o colesterol estimula a ação da enzima colesterol acil transferase que esterifica o colesterol recém-formado e, 3) este colesterol esterificado fica armazenado na célula na forma de gotículas lipídicas citoplasmáticas, diminuindo a exposição aos receptores de LDL (TAGLIAPIETRA, 2001). Como resultado da redução no número de receptores, a síntese intracelular de colesterol é inibida, e o nível de LDL no sangue aumenta, levando à deposição de placas ateroscleróticas (CAMPBELL, 2000).

O colesterol não utilizado para a síntese de membranas pode ser armazenado como ésteres de oleato ou de palmitoleato, nos quais o ácido graxo é esterificado ao grupo hidroxila do colesterol. A produção desses ésteres é catalisada pela acil-CoA-colesterol-acil-transferase (ACAT), sendo que a presença de colesterol aumenta a atividade enzimática da ACAT. Além disso, o colesterol inibe tanto a síntese como a atividade da enzima hidroximetilglutaril-CoA-redutase (HMGCoA-redutase). Essa enzima catalisa a produção de mevalonato, na reação que é o passo comprometido na biossíntese do colesterol. Esse ponto tem implicações importantes. O colesterol proveniente da dieta suprime a síntese de colesterol endógeno, especialmente em outros tecidos que não o hepático (CAMPBELL, 2000).

Devemos mencionar ainda as lipoproteínas de alta densidade (HDL). Diferentemente do LDL o HDL transporta o colesterol até o fígado, onde será degradado a ácidos biliares. É desejável ter baixos níveis de colesterol e LDL na circulação sanguínea, mas também é desejável ter uma proporção tão alta quanto possível de colesterol HDL. Sabe-se que altos níveis de LDL e baixos níveis de HDL estão correlacionados com o desenvolvimento de doenças cardíacas. Fatores conhecidos por aumentarem os níveis de HDL diminuem a probabilidade de doenças cardíacas, exercícios regulares aumentam a HDL, ao passo que o fumo tem efeito oposto (CAMPBELL, 2000).

1.5.3.3- Transporte reverso do colesterol

A maior função das lipoproteínas é o transporte do colesterol do fígado, através da corrente sanguínea, para os tecidos periféricos. Quando o suprimento excede a necessidade, o colesterol acumula-se nos tecidos e, do momento que o colesterol só pode ser excretado do organismo através do fígado como ácido biliar ou colesterol, o excesso de colesterol deve ser transportado para o fígado. É neste ponto que entra o importante papel da partícula de HDL na remoção do colesterol dos tecidos periféricos. Neste processo, a partícula de HDL nascente

produzida no fígado e no intestino, absorve colesterol das células periféricas e o converte a éster de colesterol através da enzima lecitina colesterol acil transferase (LCAT) e apoA-I e apoD (SMALL, 1987). Existem diversas rotas pelas quais a partícula de HDL pode liberar o colesterol esterificado para o fígado: internalização direta da partícula de HDL pelo fígado mediada por receptores específicos capazes de ligar apo A; a partícula de HDL contendo apo E pode entrar no fígado através da ligação da apo E ao receptor de LDL ou receptor de remanescentes no fígado e, finalmente, com a ajuda da proteína transferidora de éster de colesterol (CETP), o éster de colesterol presente na partícula de HDL pode ser transferido para a partícula de VLDL que são absorvidos pelo fígado através dos receptores de LDL. Este papel da partícula de HDL no transporte reverso do colesterol pode constituir a base da proteção atribuída a esta lipoproteína como um forte e independente fator de risco inverso para a doença arterial coronariana, pois se acredita que um dos fatores responsáveis pelo efluxo do colesterol da célula para o sangue seja a disponibilidade da HDL, que transporta o colesterol das lipoproteínas e das células para o fígado, onde os ésteres do colesterol são hidrolizados e excretados na bile. Portanto esta via de transporte ajudaria a evitar o acúmulo do colesterol nas células (JOHNSON *et al.*, 1991).

As evidências tendem a apoiar a sugestão de que a partícula de HDL atue também na remoção de lipídeos e apolipoproteínas, durante o catabolismo normal das partículas de quilomícrons e VLDL. As relações de HDL para VLDL e quilomícrons, são exemplificadas pelos defeitos no catabolismo de proteínas ricas em triglicerídeos, que estão comumente associadas com uma pronunciada redução nos níveis de HDL (STEIN & MYERS, 1994).

1.5.4. Papel dos receptores celulares de lipoproteínas

É fundamental que se saliente o mais importante mecanismo envolvido no metabolismo de lipoproteínas: a interação entre a apoproteína na superfície da lipoproteína e os receptores em várias superfícies celulares (BROWN & GOLDSTEIN, 1988).

Os receptores de LDL, por exemplo, reconhecem apoE e apoB-100, promovem a ligação celular, a absorção e a degradação da partícula de LDL e outras lipoproteínas que contenham apoB-100 (VLDL e IDL). Os receptores são sintetizados dentro da célula e então migram para regiões particulares da membrana celular chamada de vesículas ou “coated pits”. Receptores que migram para áreas da membrana celular fora dos “coated pits” são incapazes de ligar e internalizar as partículas de LDL. Após a partícula de LDL se ligar ao receptor, o complexo (LDL-receptor) entra na célula para sofrer a sua degradação. A síntese de receptores de LDL é inibida por altos níveis de colesterol intracelular. A mesma inibição ocorrerá quando existirem receptores insuficientes ou defeituosos, visto que haverá estímulo para a síntese intracelular do colesterol o que leva à inibição da produção de receptores viáveis para remover o colesterol LDL circulante, aumentando sua concentração na corrente sanguínea (BROWN & GOLDSTEIN, 1988).

Outra classe de receptores, os de limpeza ("scavengers") podem ser encontrados na superfície dos macrófagos e em algumas outras células, como as células musculares. Estes receptores promovem a remoção da partícula de LDL modificada, incluindo LDL oxidada e β VLDL (nome coletivo para quilomícrons e VLDL remanescentes), da corrente sanguínea. Diferentemente dos receptores nativos de LDL, a expressão destes receptores não é regulada pela concentração intracelular de colesterol. Os macrófagos podem continuamente absorver colesterol da partícula de LDL modificada através dos receptores de limpeza, resultando em acúmulo interno de colesterol com formação de células esponjosas ("foam cells"), que é o sinal de lesão aterosclerótica precoce (GOLDSTEIN & BROWN, 1983).

Existem ainda os receptores de remanescentes que reconhecem apoE e são os principais receptores para depuração de quilomícrons remanescentes e β VLDL da circulação. Esses receptores também podem ligar apoE da partícula de HDL e participar da sua depuração (SCHAEFER & LEVY, 1985).

1.6- Hipercolesterolemia

A hipercolesterolemia, junto com a hipertensão, a diabetes e o tabagismo formam os fatores de risco mais importantes para as doenças cardiovasculares. Assim a redução dos índices da lipoproteína de baixa densidade (LDL) produz diminuição considerável no desenvolvimento da aterosclerose (figura 08) e conseqüentemente na incidência e mortalidade de doenças cardiovasculares em geral (SBC, 1996).

Doenças cardiovasculares são as maiores causas de morte prematura no mundo (BIOSCA *et al.*, 1992).

De acordo com as estatísticas recentes, aproximadamente cinco milhões de pessoas sofrem de doença coronariana isquêmica, que é a principal causa de morte em homens maiores de 35 anos e em pessoas de ambos os sexos depois dos 45 anos. Paralelamente, quase a totalidade das mortes prematuras na América do Norte e em muitos países desenvolvidos (mortes essas definidas de forma arbitrária como aquelas que ocorrem antes dos 65 anos) é causada pela doença coronariana (SBC, 1996).

A Sociedade Brasileira de Cardiologia concluiu recentemente o maior levantamento já feito no país sobre os níveis de colesterol na população. Ao todo, foram examinadas 82.000 pessoas em sete estados. Pelas informações colhidas, é possível dizer que 40% dos adultos brasileiros têm colesterol alto, um dos principais fatores de risco para a saúde do coração. No início dos anos 90, esse número era de 30% (VIANA, *on line* 2004).

Um outro dado preocupante é o índice de colesterol entre as mulheres. Elas, atualmente, representam mais da metade de todas as vítimas da hipercolesterolemia. Conforme a idade avança, a situação torna-se ainda mais grave. Acima dos 55 anos, para cada homem com o problema há duas mulheres na mesma condição. Isso ocorre em boa parte porque, com a menopausa, elas perdem a proteção do hormônio estrógeno. Fabricada pelos ovários, a substância é uma grande aliada do coração, ao impedir o entupimento das artérias. Mas o “grande vilão” é mesmo o estilo de vida baseado em dietas ricas em gordura, sedentarismo e cigarro, um comportamento que, até duas décadas atrás, era predominantemente masculino (VIANA, *on line* 2004)

Na tabela 2 estão descritos valores desejáveis, limítrofes, que inspiram cuidados, e valores aumentados, para os quais a Portaria nº 1.015 de 23 de Dezembro de 2002 MS, preconiza tratamento com estatinas, além de outros aspectos. O efeito benéfico da diminuição de níveis séricos do colesterol está principalmente na prevenção de DCC (RAGHURAM, 1991).

Tabela 2: Valores de colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos para adultos em mg/dl.

	DESEJÁVEIS	LIMÍTROFES	AUMENTADOS
Colesterol total	Abaixo de 200	200-239	Acima de 240
LDL colesterol	Abaixo de 130	130-159	Acima de 160
HDL colesterol	Acima de 35	-	-
Triglicerídeos	Abaixo de 200	-	Acima de 200

Fonte: adaptado de QMCWEB *on line*, 2004

1.7- Aterosclerose

A aterosclerose é um tipo especial de espessamento e endurecimento das artérias, sendo um processo multifatorial tanto em suas origens como em suas manifestações anatômicas, bioquímicas e fisiopatológicas. No caso de hiperlipidemias crônicas, um aumento das lipoproteínas no plasma, principalmente da LDL oxidada, pode causar uma injúria ao endotélio arterial, desencadeando adesão plaquetária, aderência dos monócitos-macrófagos ao endotélio com a formação das células espumosas, e a formação de estrias gordurosas (figura 8) que vão aumentando de tamanho até a oclusão parcial ou total do vaso sanguíneo, causando isquemia miocárdica que pode levar ao infarto cardíaco (TAGLIAPIETRA, 2001)

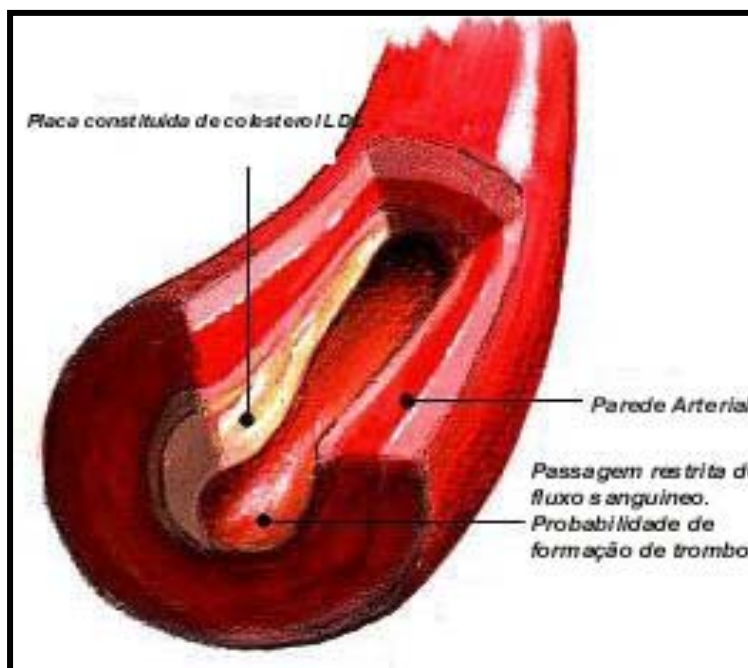


Figura 8: Formação da placa de ateroma

1.8- Tratamento das dislipidemias

A terapêutica das dislipidemias, de comprovada eficiência, tem por finalidade fundamental a prevenção primária e secundária da DCC, cerebrovascular e periférica.

Eventualmente, pode objetivar a regressão de xantomias e a diminuição dos riscos de pancreatite aguda. Deve ser indicada sistematicamente e mantida indefinidamente (SBC, 1996).

A terapêutica deve ser iniciada com mudanças individualizadas no estilo de vida, que compreendem hábitos alimentares saudáveis, busca e manutenção do peso ideal, exercício físico aeróbico regular, combate ao tabagismo e promoção do equilíbrio emocional. Não sendo atingidos os objetivos propostos, deve ser considerada a introdução de drogas isoladas ou associadas, dependendo das necessidades, com manutenção da dietoterapia (SBC, 1996).

Para a prevenção primária da aterosclerose devem ser atingidos valores de LDL-C < 160mg/dl na ausência de outros dois ou mais fatores de risco, e < 130mg/dl na presença dos mesmos. Na presença de apenas um fator de risco associado, o grau de controle dos níveis do LDL-C estará na dependência da gravidade do fator de risco. Para prevenção secundária, o Consenso preconiza valores de LDL-C < 100mg/dl, além do rigoroso controle dos outros fatores de risco. E em ambas situações, deve-se buscar, se possível, valores de HDL-C >35mg/dl e de TG < 200mg/dl (SBC, 1996).

1.8.1- Mecanismo de ação dos fármacos utilizados nas dislipidemias

1.8.1.1- Ácido nicotínico

O ácido nicotínico (figura 9) em altas doses é uma vitamina capaz de regular os níveis de lipídeos. A ação primária se dá através da inibição da lipase hormônio-sensível intracelular, do tecido adiposo, causando um decréscimo na síntese hepática e liberação da partícula de VLDL, diminuindo também os níveis circulantes das partículas de IDL e LDL,

por causa de um decréscimo na produção das partículas precursoras (SBC, 1996 e TAGLIAPIETRA, 2001).

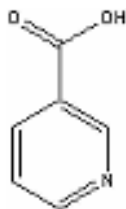


Figura 9: Estrutura do ácido nicotínico

Os derivados de ácido nicotínico são rapidamente absorvidos, quando ingeridos por via oral, distribuem-se para todos os tecidos e são eliminados pela urina. Dessas ações resultam diminuição do CT e LDL-C (até 30%), dos TG e das VLDL (até 80%) e elevação do HDL-C (até 30%). Alguns estudos sugerem diminuição dos níveis de Lp(a) (SBC, 1996).

A intolerância ao ácido nicotínico é freqüente, provocando rubor facial, prurido, eritema, arritmia, dores abdominais e náuseas. Ademais, pode causar aumento das transaminases hepáticas e do ácido úrico e hiperglicemia. O rubor cutâneo, efeito colateral mais freqüente, é limitante do seu uso, sendo provavelmente mediado pela liberação de prostaglandina. Pode ser minimizado pela ingestão de 100mg de aspirina antes de sua administração (SBC, 1996).

1.8.1.2- Sequestrantes dos ácidos biliares

Os sequestrantes dos ácidos biliares são resinas de troca iônica que se ligam aos ácidos biliares, são sais de amônio quaternário e seus principais representantes são o colestipol e a colestiramina. Estes agentes interrompem a circulação enteroepática dos ácidos biliares atuando como resinas policatiônicas que ligam o ácido biliar no lúmen intestinal e aumentam a perda fecal. Normalmente, em torno de 97% do ácido biliar endógeno é

reabsorvido e reciclado na circulação enteroepática e somente 3% é excretado. O aumento da excreção de ácido biliar com o uso dos sequestrantes de ácidos biliares causa um aumento na atividade de 7-alfa-hidroxilase (a enzima limitante da síntese de ácido biliar), o que aumenta a conversão de colesterol em ácido biliar. O triglicerídeo usualmente não é afetado, mas pode aumentar quando o indivíduo já é hipertrigliceridêmico antes da terapia (WITZTUM, 1996 *apud* TAGLIAPIETRA, 2001; SBC, 1996).

Os sequestrantes dos ácidos biliares podem provocar constipação intestinal, náuseas, meteorismo e dores abdominais. Também causam interações alimentares e medicamentosas, reduzindo a absorção de ácido fólico, vitaminas lipossolúveis e drogas, como tiroxina, digoxina, warfarina, probucol e fibratos (SBC, 1996).

O fármaco sequestrante de ácidos biliares mais prescrito é o Colestid[®] (figura 10).

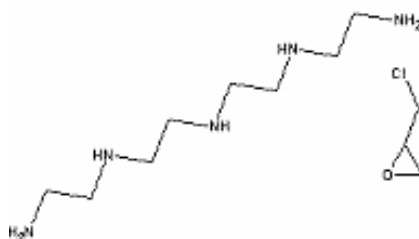


Figura 10: Estrutura química do Colestid[®]

1.8.1.3- Derivados do ácido fíbrico

O mecanismo de ação dos derivados do ácido fíbrico é complexo e ainda não bem elucidado. O maior efeito é um decréscimo na concentração de colesterol VLDL secundário a um aumento na atividade da lipoproteína lipase. A lipoproteína lipase hidrolisa os triglicerídeos da VLDL para formar IDL que, por sua vez, é removida pelos receptores B e E através do reconhecimento e ligação mediada pela apoE, ou posteriormente hidrolisada pela lipase hepática para formar LDL (TODD & WARD, 1988 *apud* TAGLIAPIETRA, 2001).

Além do seu efeito nos níveis de lipoproteínas, os derivados do ácido fíbrico podem alterar a composição das mesmas, protegendo contra aterosclerose coronária, por alterar as partículas lipoprotéicas para um fenótipo menos aterogênico (SBC, 1996)

Além disso, os derivados do ácido fíbrico também promovem benefícios não lipídicos, interferindo na coagulação e fibrinólise. Uma redução na agregação plaquetária e reatividade em resposta à epinefrina têm sido relatados (ANDERSEN *et al.*, 1990).

Diminuem a síntese hepática das apoB e das VLDL, destas últimas pela menor disponibilidade de ácidos graxos livres; aumentam a lipólise das VLDL e a remoção de seus remanescentes devido à maior atividade da LLP; aumentam a atividade dos receptores hepáticos para as LDL; e elevam o nível do HDL-C (SBC, 1996).

Alguns estudos sugerem diminuição dos níveis elevados de Lp(a). Os derivados de ácido fíbrico diminuem a fibrinogenemia e a atividade do fator VII e aumentam a capacidade fibrinolítica do plasma (SBC, 1996).

Os fibratos são absorvidos rapidamente pelo intestino e excretados pela urina. Sua ação começa a ser verificada a partir do 5º dia de tratamento. Diminuem principalmente os níveis dos TG e das VLDL (até 70%) e também do CT e do LDL-C (até 20%). Elevam as taxas do HDL-C (até 25%) e não têm ação sobre os Qm. Em alguns casos com hipertrigliceridemia acentuada, pode ocorrer aumento transitório do LDL-C (SBC, 1996).

Os fibratos são bem tolerados, mas podem provocar sintomas gastrointestinais, tonturas, cefaléia, insônia, colestase, prurido, urticária, diminuição da libido, dores musculares, astenia e miosite. Não devem ser utilizados em pacientes com alteração da função renal ou hepática, litíase biliar e mulheres grávidas/lactantes. Exigem controle mais freqüente do tempo de protrombina e da glicemia, respectivamente, nos pacientes em uso de anticoagulantes e diabéticos. Recomenda-se controle rigoroso da anticoagulação, quando se inicia terapêutica com fibratos (SBC, 1996).

1.8.1.4- Inibidores da HMG CoA redutase – As estatinas (vastatinas)

Os inibidores da HMG CoA redutase representam o maior avanço terapêutico na terapia de regulação lipídica por causa de sua alta eficácia, tolerabilidade e facilidade de administração (TAGLIAPIETRA, 2001).

As vastatinas são substâncias originárias de culturas de fungos, sendo a primeira substância dessa família isolada, de uma cultura de *Penicillium citrinum* em 1976, a qual foi chamada de Compactina. Esta se revelou excelente inibidora da síntese do colesterol mas, por sua toxicidade, não reunia condições de uso clínico (ISSA *et al.*;1999).

Posteriormente, em 1987 foi isolada a lovastatina (figura 11) da cultura do *Aspergillus terreus*, produzida pela Indústria Farmacêutica Merck, para uso como anti-hiperlipidêmico e com igual propriedade da substância anterior, mas com mínima toxidez. Já em 1994, a fluvastatina, análogo sintético de um agente microbiano, foi produzida pela Sandoz para tratamento de obesidade (ISSA *et al.*, 1999 e YUNES & CALIXTO, 2001).

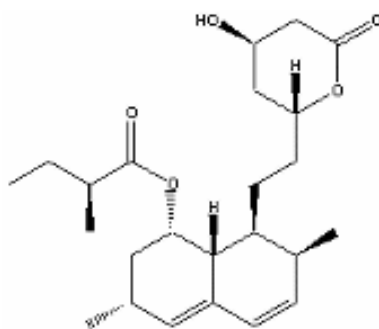


Figura 11: Estrutura química da lovastatina.

Desde então, foram produzidas várias outras substâncias com fórmulas estruturais semelhantes à acima referida, todas mostrando efeito inibidor da síntese do colesterol, recebendo a denominação genérica de vastatinas. Todas as vastatinas têm em comum um anel hidronaftaleno (ISSA *et al.*; 1999).

A pravastatina[®] foi obtida de cultura dos fungos *Nocardia autrophica*. A sinvastatina[®] resultou de pequena modificação na fórmula estrutural da lovastatina[®] (adição de radical metila). A fluvastatina, a atorvastatina[®], a crivastatina[®] e a pravastatina[®] são compostos ativos na forma de anéis abertos e a lovastatina[®] e a sinvastatina[®] são pró-drogas, sendo ativadas "in vivo", após metabolizadas para a forma de anel aberto. Essas drogas têm efeitos metabólicos muito semelhantes, ainda que haja entre elas várias diferenças farmacológicas (ISSA *et al.*;1999).

As vastatinas são absorvidas no intestino e extraídas do sangue na primeira passagem pelo fígado. Nas células hepáticas, são metabolizadas pelo citocromo P450 e transformadas em metabólitos ativos e inativos (ISSA *et al.*; 1999).

Os inibidores da HMG CoA redutase inibem a ação desta enzima, resultando na redução do colesterol intracelular, o que regula a produção de receptores B e E, aumentando a depuração de lipoproteínas que contém apoB ou apoE. Embora o efeito predominante seja diminuir os níveis de LDL circulantes, as partículas de VLDL e IDL também são removidas (ARAD, RAMAKRISHNAN & GINSBERG, 1990).

Todas as vastatinas são substâncias com a propriedade comum de inibir a síntese de colesterol endocelular, por competição com a enzima HMG-CoA redutase. Ao ocorrer redução intracelular de colesterol, há estímulo à formação de receptores de LDL na membrana da célula. A presença de maior número de receptores de LDL determina maior captação das LDL em circulação, com diminuição de seu nível plasmático. Há também elementos que demonstram que a diminuição da síntese do colesterol leva à menor produção hepática das VLDL, pois esse esteróide é usado na formação dessas partículas (ISSA *et al.*, 1999).

As vastatinas são geralmente bem toleradas, sendo muito baixa a ocorrência de efeitos adversos que obriguem a interrupção de tratamento (incidência de 2% independentemente do tipo de vastatina utilizado). As vastatinas têm dois efeitos metabólicos

comuns que merecem atenção: a) ação sobre os hepatócitos, podendo determinar elevação de enzimas hepáticas; e b) ação sobre fibras dos músculos esqueléticos, eventualmente expressa por aumento da concentração de creatinofosfoquinase total (CPK total). A cerivatatina[®], no entanto, possui uma incidência desse efeito colateral, com vários casos de óbito registrados, tendo sido por isso retirada do mercado (ISSA *et al.*, 1999).

Não foram evidenciadas diferenças relevantes na eficácia clínica das várias vastatinas em relação à idade e ao sexo (ISSA *et al.*, 1999).

A lovastatina[®] e a sinvastatina[®] são lipossolúveis, ao passo que as demais vastatinas são hidrossolúveis, particularidade que confere diferenças em relação à passagem pela barreira liquórica (ISSA *et al.*, 1999).

Com exceção da pravastatina[®], cuja ligação com a albumina plasmática é baixa (45%), as demais vastatinas têm ligação superior a 95%. Embora, a essa diferença tenha sido atribuída uma menor possibilidade de interação com outras drogas, o fato não parece ter relevância clínica (ISSA *et al.*, 1999).

Em razão do ritmo circadiano da HMG-CoA redutase, determinando maior síntese de colesterol no período noturno, as vastatinas devem ser administradas preferencialmente à noite, mas para a atorvastatina[®] não foram observadas diferenças em relação ao período de ingestão (ISSA *et al.*, 1999).

As vastatinas têm sua biotransformação por meio de citocromos mitocondriais. A fluvastatina[®] é fundamentalmente metabolizada no fígado via CYP2C9, diferentemente das demais que o são via CYP3A4. Como outras drogas são raramente metabolizadas pela via CYP2C9 há poucas as interações da fluvastatina com outros medicamentos. Inúmeras drogas têm maior afinidade pela CYP3A4, portanto interações são possíveis, como ocorre com a ciclosporina e a eritromicina (ISSA *et al.*, 1999).

Tem sido demonstrado que as vastatinas reduzem a proliferação e a multiplicação de células musculares lisas, efeito que é dependente da dose. Também, em cultura de macrófagos houve inibição de acúmulo de colesterol intracelular. O efeito está relacionado aos bloqueios da esterificação do colesterol e da endocitose de lipoproteínas modificadas (ISSA *et al.*, 1999).

Investigações com diferentes vastatinas têm demonstrado efeitos sobre fatores da cascata de coagulação, na interação entre plaquetas e fibrinogênio, na modulação de trombos plaquetários. Além disso, há pesquisas evidenciando possível papel antiinflamatório das vastatinas e como influenciadoras da oxidação de lipoproteínas (efeito antioxidante), (ISSA *et al.*, 1999).

1.8.2- Uso de plantas medicinais e produtos naturais

As plantas têm sido tradicionalmente usadas por populações de todos os continentes no controle de diversas doenças (SIMÕES *et al.*, 2000), incluindo as hiperlipidemias. O uso de infusões ou extratos de várias plantas medicinais, como a “alcachofra” (*Cynara scolymus*) e o “alecrim” (*Rosmarinus officinalis*) promovem redução dos níveis plasmáticos de colesterol (CORTELLA & POCHETTINO, 1997). A mídia vem ressaltando a mesma propriedade para a “berinjela” (*Solanum melongena*), embora a análise da literatura científica mostre que esse efeito tem sido relativamente pouco estudado (GUIMARÃES *et al.*, 2000).

Em um trabalho utilizando extrato das folhas de “alcachofra” foi demonstrado que além do efeito antioxidante, colerético e hepatoprotetor, existe também o efeito inibitório da síntese do colesterol (KRAFT, 1997). De acordo com outro estudo, a substância luteolina, age

inibindo a síntese de colesterol, diretamente na HMG CoA redutase, enzima chave para a biossíntese do colesterol (GEBHARDT 1996 *apud* KRAFT, 1997).

A aliina, presente no “alho” (*Alium sativum*) também é capaz de diminuir os níveis sanguíneos de colesterol e triglicerídeos, além dos seus efeitos de diminuir agregação plaquetária, como antiinflamatório e anti-helmínticos (BHC, 1990; WHO, 1999) Recentemente testes foram realizados em humanos com diminuição significativa para os níveis séricos de colesterol –LDL e VLDL (DURAKA, *et al.*, 2004).

Polissacarídeos são também apontados por pesquisadores como responsável pela atividade hipolipidêmica da “aveia” (*Avena sativa*) (ANDERSON, 1994).

Para as prontocianidinas do “ruibarbo” (*Rheum palmatum*), foi descrito o efeito hipolipidêmico em ratos pela inibição da enzima (SE) esqualeno epoxidase (ABE *et al.*, 2000).

Os flavonóides da “berinjela” (*Solanum melongena*) e da “garcinia” (*Garcinia Camboja*) são apontados por alguns autores como hipolipidêmicos, por aumentarem a atividade da enzima HMG CoA redutase, da lipoproteína lípase e da LCAT e por influenciarem a atividade da glucose 6 fosfato desidrogenase, resultando na degradação do colesterol e aumentando a excreção na bile hepática e fecal (SUDEHEESH *et al.*, 1997 e KOSHY *et al.*, 2001). Por outro lado, alguns autores afirmam que nenhum tipo de chá de “berinjela” apresentou efeito hipocolesterolêmico (GUIMARÃES *et al.*, 2000).

Estudos mostraram que um tipo de arroz utilizado na culinária chinesa é capaz de diminuir moderadamente os níveis séricos de colesterol, comparados as estatinas, com a vantagem de produzirem menos efeitos adversos, portanto uma alternativa no tratamento das dislipidemias (JORNOUD, 2004).

Em 1980, Sugano e colaboradores, concluíram que quando a “quitosana” é administrada na forma de uma mistura de oligossacarídeos de cadeia polimérica maior do que

6 unidades de glucosamina, em ratos alimentados com uma dieta rica em gorduras, o aumento de colesterol e de triglicerídeos no plasma é prevenido. No entanto, oligossacarídeos de cadeia polimérica menor do que 5 unidades de glucosamina não apresentam atividade. O efeito na redução do colesterol foi baseado pela observação de que a suplementação de “quitosana” em torno de 2 a 5% em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura por 20 dias resulta em uma significativa redução em torno de 25 a 30% do colesterol no plasma sem influenciar a quantidade de ingestão de alimento ou crescimento das cobaias.

Em meados de 1993 foi realizado trabalho relatando o efeito hipocolesterolêmico da “quitosana” em humanos. Neste trabalho Maezaki e colaboradores administraram a “quitosana” na dieta de 8 homens saudáveis por 2 semanas, e observaram uma significativa redução do colesterol total e um aumento do colesterol HDL, e que quando a ingestão foi suspensa os níveis voltaram a se elevar para os valores antes da ingestão. Os autores observaram também que as quantidades de ácidos biliares excretados aumentaram significativamente nas fezes, no entanto, a quantidade excretada diminuiu após a interrupção da ingestão de “quitosana”. A quantidade de coprostanol, metabólito reduzido de colesterol nas fezes, formado pela ação de bactérias, foi significativamente reduzido em todo o período de ingestão, o que pode ser atribuído à uma troca na flora bacteriana do trato intestinal devido à atividade da “quitosana” (UCHIDA, 1988), o que sugere que a “quitosana” se combina com os ácidos biliares no trato digestivo e o produto combinado é então, excretado nas fezes, reduzindo assim a reabsorção de ácidos biliares e conseqüentemente diminuindo os níveis de colesterol séricos.

2- OBJETIVO

O objetivo principal desta tese foi contribuir para o estudo farmacognóstico dos frutos cultivados de *Solanum gilo* Raddi, em especial para o conhecimento da morfologia, atividade biológica (direcionado para atividade hipocolesterolêmica) e fitoquímica, tendo em vista sua freqüente utilização não apenas na alimentação humana, mas também popularmente para tratar desordens gástricas e como agente hipocolesterolêmico.

Objetivos Específicos:

- Identificar os frutos de “jiló” comercializados nos grandes mercados, através do estudo da morfologia externa de amostras adquiridas diretamente de produtor e herbarizadas;
- Identificar o espécimen comercializado e relacionar estudos;
- Verificar atividade hipocolesterolêmica do extrato etanólico dos frutos do “jiló”;
- Estudar a fitoquímica dos frutos do “jiló”.

3- JUSTIFICATIVA

Os estudos sobre plantas empregadas como nutracêuticos e fitoterápicos para redução dos níveis de colesterol LDL são importantes, por consistirem em uma alternativa para melhoria da qualidade de vida de pessoas com pré-disposição para doenças cardiovasculares e/ou no tratamento auxiliar das mesmas.

O estudo farmacognóstico proposto para os frutos cultivados do “jiló”, em seus aspectos morfológicos, químicos e farmacológicos, justificam-se pelo interesse em validar a informação de uso popular como agente hipocolesterolêmico.

Adicionalmente, estaremos contribuindo para o conhecimento da composição em termos dos metabólitos especiais desta espécie e, também, para o conhecimento da morfologia dos frutos dessa espécie, que é praticamente desconhecida.

4- METODOLOGIA

4.1- Métodos gerais

Cromatografia - As separações cromatográficas foram efetuadas utilizando gel de sílica, seja com auxílio de cromatoplasmas Merck com indicação para Ultravioleta (UV), seja em cromatografia em coluna com gel de sílica Merck, 70-230 Mesh. Uma purificação foi realizada por cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 (Pharmacia).

A detecção das substâncias foi feita por cromatografia em camada fina, utilizando luz ultravioleta com comprimentos de onda 254 e 365 nm, além de revelação com reagente ácido sulfúrico em etanol 10 %, seguido de aquecimento direto em placa de aquecimento. Na busca por alcalóides com núcleo esteroídico foram utilizados também sistemas eluentes e reveladores específicos.

Crítérios de Pureza - Os critérios de pureza das frações adotados foram a observação de uma mancha única na cromatografia em camada fina. Todos os solventes utilizados foram do grau PA.

A eliminação de solventes dos extratos, de misturas reacionais e das frações de coluna cromatográfica foi feita em evaporador rotatório, sob pressão reduzida e aquecimento inferior a 50°C.

RMN - Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C foram registrados em aparelhos *Varian Gemini 50-200 MHz*, sempre com uso de solventes deuterados, utilizados como sinal de referência, além da utilização do tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em unidade

adimensional (δ) representando partes por milhão (ppm) da frequência aplicada e as constantes de acoplamentos (J) foram medidas em Hertz (Hz).

4.2- Estudo botânico e morfológico da espécie *Solanum gilo* Raddi

Foram preparadas exsicatas, a partir de um pequeno arbusto florido fornecido pelo produtor da marca AFC (Adenízio F da Costa), Itaocara/RJ, do qual compramos os frutos.

Sob a orientação da Professora Lúcia d'Ávila Freire de Carvalho do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ), especialista em Solanáceas, foi realizada a descrição morfológica da espécie por microscopia ótica e, a sua certificação, através de buscas na Fototeca do JBRJ e em bibliografias especializadas. Para flores e frutos foi feita a reidratação, seguida de caracterização microscópica.

Depósito da exsicata – Herbário do Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB-RJ), sob o número RB 395.836.

4.3- Investigação fitoquímica

4.3.1- Investigação preliminar do teor de umidade dos frutos de *S. gilo* Raddi

O teor de umidade dos frutos de *S. gilo* foi obtido segundo metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira 4ª Ed.

Cinco gramas de frutos foram pesados, cortados e transferidos para pesa-filtro da forma baixa, tarado e previamente dessecado. A amostra (frutos) foi então dessecada em estufa, com temperatura controlada entre 100 a 105°C por 5 horas. Em seguida, a mesma foi retirada da estufa e acondicionada em dessecador até esfriar e então, novamente pesada. A

operação foi repetida até que duas pesagens sucessivas não diferiram entre si por mais de 5 mg. A porcentagem de água em relação à droga foi dada pela equação: $p_u - p_s / p_a \times 100$, onde p_u = peso do pesa filtro com a amostra antes da dessecação, p_a = peso amostra e p_s = peso do pesa filtro com amostra depois da dessecação.

O teor de umidade obtido segundo técnica preconizada pela Farmacopéia Brasileira (2004) foi de 91,5%, segundo os cálculos demonstrados abaixo:

Massa da amostra= 5,0035g	Primeiro Peso= 31,6909
Massa porcelana vazia= 31,2640g	Segundo Peso = 31,6892g
	Média 31,6901g
Massa porcelana + resíduo= 29,4467g	Temperatura 100°C
	Teor de água= $\frac{(36,2675-31,6901) \times 100}{5,0035} = 91,5 \%$

4.3.2- Secagem, moagem e extração dos frutos

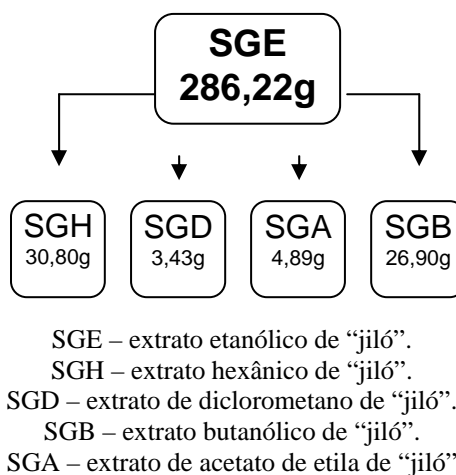
Imediatamente após a aquisição dos frutos, estes foram cortados e colocados em estufa ventilada, com bandejas perfuradas, e temperatura controlada digital em 60° C. Duração do processo de secagem: cinco dias. Após a secagem, os frutos adquiriram coloração verde acastanhada.

Os frutos secos (3,40 Kg) foram triturados em liquidificador doméstico, sem o uso de solvente, fornecendo um pó fino de cor castanho claro (3,31 Kg). Este pó foi então extraído exaustivamente com etanol comercial (96° GL), por técnica de maceração estática a frio (14 vezes, aproximadamente 4,0 L), em frascos de vidro.

O extrato obtido foi evaporado em evaporador rotatório, obtendo-se 1,116 Kg de extrato etanólico bruto (rendimento 34 %), denominado SGE.

4.3.3- Partição do extrato etanólico, SGE

Parte do SGE (286,22g) foi suspenso em água e transferido para uma ampola de separação, submetido a uma partição líquido-líquido entre água e solventes orgânicos de polaridade crescente: hexano (SGH), diclorometano (SGD), acetato de etila (SGA) e n-butanol (SGB). Esquema 1.



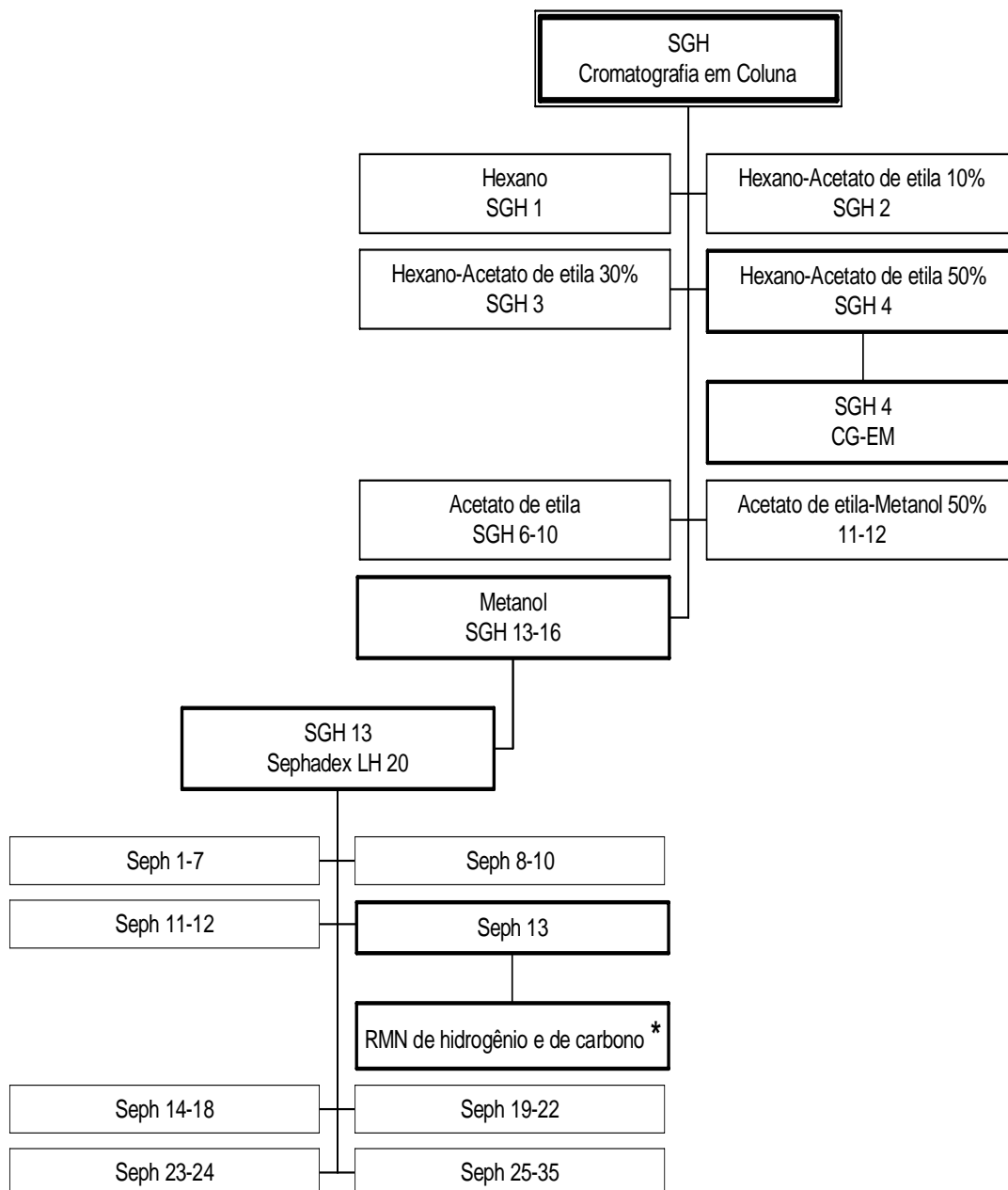
Esquema 1: Partição do extrato etanólico de *Solanum gilo* Raddi – SGE

Durante a partição ocorreu a formação de emulsão, dificultando a separação de fases, principalmente quando o solvente utilizado foi diclorometano. Para resolução do problema, parte da emulsão foi deixada em repouso, e à outra foi adicionado NaCl. Posteriormente, para ambas, foram utilizados ultra-som e resfriamento por dois dias, não resultando em quebra. Por fim a emulsão total foi levada ao evaporador rotatório para a retirada do diclorometano e dado continuidade ao experimento (partição).

4.3.4- Fracionamento de SGH

Parte da partição em hexano (SGH - 10,54g) foi fracionada por cromatografia em coluna com gel de sílica 60 (0,06-0,2 mm) Mesh 60-270, ($\phi=4$ cm, $h=64$ cm) eluída com

gradiente de solventes de polaridade crescente (hexano, acetato de etila, metanol), gerando várias frações segundo o Esquema 2.



Esquema 2: Fracionamento de SGH

LEGENDA

CG-EM – Cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas

SGH – Extrato hexânico de “jiló”

Seph – Coluna Sephadex

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

* ^1H e ^{13}C

As frações de SGH que durante a investigação por CCF indicavam presença de triterpenos (mancha rósea), foram testadas com reagente de *Dragendorff*, específico para alcalóides, preparado segundo metodologia da Farmacopéia Bras IV Ed, pág 41-3.

Solução A:

1,7 g de subnitrato de bismuto

20,0g de ácido tártrico

70,0 ml de água

Solução B:

16,0 g de KI (Iodeto de potássio)

40,0 ml de água

Solução estoque= Solução A + B, foi borrifado na placa cromatográfica, solução preparada com 50,0ml da solução estoque, mais 50,0 ml de água, mais 100g de ácido tartárico.

4.3.4.1- Análise de SGH 4 por CG-EM

A fração de número 4 (Esquema 2) foi analisada em Farmanguinhos - FIOCRUZ, por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), e os dados obtidos foram comparados com espectros de uma biblioteca de espectros do aparelho (HP Chemstation Data Acquisition Software / Chemstation Integration).

Foi utilizado um cromatógrafo com fase gasosa modelo 6890N equipado com um detector seletivo de massas, modelo 5973, e um injetor automático modelo 5683, todos da Agilent Technologies. Como coluna cromatográfica, três diferentes tipos foram utilizadas para testar a seletividade dos sinais cromatográficos, HP-1 (100% dimetilpolisiloxano-apolar), HP-5 (5% fenil metilpolisiloxano-apolar) e HP-WAX (polietileno plicol-polar), a fim de selecionar a de melhor separação (figura 12).

Os dados foram adquiridos via HP CHEMISTATION Data Acquisition Software. Uma balança analítica modelo Sartorius BP-221S foi utilizada para pesar a amostra e um

banho ultrassônico modelo Odontobras 2840D utilizado para dissolução da mesma. As condições cromatográficas estão listadas a seguir:

Gás de arraste: Hélio; Detector: Massas; Temperatura do detector: 280° C; Temperatura do injetor: 270° C; Vazão: 1,0 ml/min.; Split: 1:20; Volume de injeção: 1,0 µl; Temperatura forno: inicial 70° C; programação forno: 4° C/min. até 220° C, isoterma de 50/min.

A amostra foi preparada pesando-se cerca de 5 mg do SG 4 em micro frascos tipo *vial* de 2,0 ml, posteriormente derivatizada com excesso de diazometano e evaporado. O resíduo da derivatização foi reconstituído em 1,0 ml de diclorometano, e uma alíquota de 1,0 µl foi injetada no sistema cromatográfico.



Figura 12: Cromatógrafo com fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (FIOCRUZ).

4.3.4.2- Isolamento e caracterização do 3-O- β -glucosil sitosterol

A fração SGH 13 (1,4359g) (Esquema 2), foi submetida a cromatografia em coluna empacotada de Sephadex LH-20, sendo eluída em metanol gerando outras 35 frações que foram reunidas após CCF.

A fração Seph 13 foi solubilizada em piridina deuterada e identificada como o 3- β -O-glucosil sitosterol, por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C e TMS como referência interna.

4.3.5- Cálculo do percentual de material graxo do SGE

Parte do SGE (53 g) foi solubilizado em 200 ml de ácido acético 5% e posteriormente lavado em funil de separação com 4 X 150ml de éter etílico, para a retirada de material graxo. Foi utilizada quantidade suficiente de éter até que o mesmo ficasse límpido, indicando a retirada do material resinoso da amostra.

A fração etérea foi evaporada para verificação do percentual de material graxo havia no SGE.

4.4- Atividade hipocolesterolêmica

O teste para avaliação da atividade hipocolesterolêmica foi realizado, com a colaboração dos laboratórios dos Professores: Patrícia Dias Fernandes (Departamento de Farmacologia Básica e Clínica, ICB, UFRJ) e Antônio Ferreira Pereira (IPMMG, Departamento de Microbiologia Geral, UFRJ).

4.4.1- Aquisição e manutenção dos animais

Foram utilizados 59 ratos brancos da raça *Wistar*, cedidos pelo Departamento de Farmacologia Básica e Clínica, sendo 30 machos e 29 fêmeas, e peso médio de $174,17 \pm 17,26$ g.

Os animais foram submetidos ao experimento após 30 dias do seu nascimento e mantidos por 45 dias em uma sala do Biotério do Departamento de Farmacologia Básica e Clínica da UFRJ sem controle de temperatura e umidade, com ciclo de luz de 12 horas.

Os animais foram divididos em 6 grupos de 10 animais (5 fêmeas e 5 machos), e colocados em caixas identificadas separados por sexo, à exceção do Grupo 6, que era constituído de 9 animais (5 machos e 4 fêmeas) em um total de 12 caixas.

4.4.2- Avaliação e definição dos grupos de animais

Admitiu-se um grupo controle, Grupo 1, que permaneceria somente com ração e dieta normal (Controle 1), e um Grupo (2) que receberia dieta hiperlipídica (Controle 2).

Para o Grupo 3, foi analisado o efeito placebo, tendo-se administrado água destilada, por gavagem (no mesmo volume de amostra que foi administrada aos outros grupos), diariamente, durante todo experimento. Como último controle administrou-se SGE ao Grupo 4 (Controle 3) sem disponibilizar a esses dieta hiperlipídica.

Os Grupos 5 e 6 receberam SGE mais dieta hiperlipídica, sendo que para o Grupo 6 somente recebeu SGE a partir do 22º dia.

Cada grupo foi codificado com cor diferente, o que facilitou a manipulação dos dados e animais (tabela 3).

Tabela 3: Classificação dos grupos quanto às cores utilizadas no experimento

Grupo 1		Controle 1 - Dieta normal (ração)
Grupo 2		Controle 2 - Dieta hipercolesterolêmica
Grupo 3		Placebo - Dieta normal
Grupo 4		Controle 3 - Dieta normal com extrato
Grupo 5		Dieta hiperlipídica - Extrato a partir do 1º dia de experimento
Grupo 6		Dieta hiperlipídica - Extrato a partir do 22º dia de experimento

Grupo 1 (Branco) – Grupo controle 1: dieta normal, sem administração do extrato, animais reservados em 2 caixas identificadas, sendo uma caixa com 5 animais machos e outra caixa com 5 animais fêmeas.

Grupo 2 (Preto) – Grupo controle 2: dieta hiperlipídica a partir do 1º dia de experimento, sem administração do extrato, animais reservados em 2 caixas identificadas, sendo uma caixa com 5 animais machos e outra caixa com 5 animais fêmeas.

Grupo 3 (Azul) – Grupo placebo: dieta hiperlipídica a partir do 1º dia de experimento, sem administração do extrato, administração de água destilada por gavagem (placebo) também a partir do 1º dia de experimento, animais reservados em 2 caixas identificadas, sendo uma caixa com 5 animais machos e outra caixa com 5 animais fêmeas.

Grupo 4 (Vermelho) – Grupo controle 3: dieta normal com administração do extrato a partir do 1º dia de experimento, animais reservados em 2 caixas identificadas, sendo uma caixa com 5 animais machos e outra caixa com 5 animais fêmeas.

Grupo 5 (Verde) – Grupo teste: dieta hiperlipidica com administração do extrato a partir do 1º dia de experimento, animais reservados em 2 caixas identificadas, sendo uma caixa com 5 animais machos e outra caixa com 5 animais fêmeas. Na primeira semana de experimento houve a morte de um animal macho desse grupo restando então 4 machos.

Grupo 6 (Amarelo) – Grupo teste: dieta hiperlipidica a partir do 1º dia de experimento e com administração do extrato a partir do 22º dia, reservados em 2 caixas identificadas, sendo uma caixa com 5 animais machos e outra caixa com 4 animais fêmeas.

4.4.3- Dieta administrada aos animais: dieta normal (ração e água) e dieta hiperlipidica (ração e bacon).

Dieta Normal

A água e a ração foram disponibilizadas para todos os animais. A água utilizada era destilada e a composição da ração está descrita a seguir.

Marca: GUABI MOGIANA ALIMENTOS / CNPJ 45710423/0001-33

GUABI NUTRILABOR RATOS E CAMUNDONGO

Composição: Calcário calcítico, farelo de gluten de milho, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, milho integral moído, gordura vegetal estabilizada, “premix” vitaminico mineral, aminoácido.

Eventuais Substitutivos: Farelo de arroz, farelo de girassol, farelo de soja extrusado, feno de alfafa, levedura seca de cana de açúcar, farinha de peixe, sorgo integral moído.

Enriquecimento por kg de produto: ácido fólico 3 mg, colina 1200 mg, cobre 10 mg, cobalto 1,5 mg, ferro 50 mg, iodo 2 mg, manganês 70 mg, selênio 0,01 mg, vitamina A 24000 U.I, vitamina B1 8 mg, vitamina B12 40mg, vitamina B2 30mg, vitamina B6 14mg, vitamina D

4000 U.I vitamina E 60 U.I, vitamina K 6mg, zinco 70 mg, pantotenato de cálcio 50 mg, niacina 80 mg, biotina 0,10 mg.

Proteína bruta (mín) 2,2%, extrato etéreo 4% (min), calcio (máx)1.2%, fósforo 0,80 % (mín) , matéria fibrosa 10 % (máx), material mineral 10n % (máx), umidade 13% (máx).

Dieta hiperlipídica (ração e bacon)

O bacon (carne suína com alto teor de gorduras saturadas) foi o alimento de escolha para tornar a dieta dos grupos específicos (Grupos 2 ,3 ,5 e 6) hiperlipídica. A composição do bacon está descrita a seguir.

Informação Nutricional (Quantidade por 15 g de porção comestível do produto): Calorias: 71 Kcal, carboidratos: 2g, proteínas: 3g, gordura total: 6g, gordura saturada: 5g, colesterol: 15mg, fibra: 0, cálcio: 2mg, ferro: quantidade não significativa, sódio 176 mg.

Foi utilizado o mesmo lote do bacon durante todo o experimento, para isso foram comprados aproximadamente 11 Kg de bacon da marca Nobre. A cada dois dias o bacon era verificado e pesado. Certas vezes, quando apresentava aspecto e coloração alterada era trocado pela mesma quantidade.

4.4.4- Preparação e administração do extrato – Protocolo experimental

O SGE foi suspenso em água destilada e administrado (500 µl) diariamente por gavagem na dose de 100 mg/Kg. Para os animais do Grupo 3 (azul) foi administrado o mesmo volume de água destilada ao invés de extrato.

Todos os procedimentos visavam avaliar os animais quanto às condições de saúde e aceitação da dieta.

➤ Atividades diárias

Para o experimento de 45 dias, diariamente foram realizados os seguintes procedimentos:

- ✓ Limpeza das gaiolas
- ✓ Reposição de ração e água
- ✓ Verificação e reposição de bacon – Diariamente era observado se o bacon colocado já havia sido totalmente consumido, e, se necessário, era feita a reposição. Todo o bacon disponibilizado para os animais era pesado e, na necessidade de troca, a quantidade do que era retirado também era registrado para recolocação da mesma quantidade. Foi utilizada balança portátil com uma casa decimal. Marca: Dxaus LS 2000
- ✓ Administração via oro gástrica (gavagem) do extrato (grupos 4, 5 e posteriormente o 6), e água para o Grupo 3, como mostrado no item 5.2.4.

➤ Atividades semanais

- ✓ Verificação do peso médio dos animais de cada Grupo (machos e fêmeas) – Para fins de correção da concentração do extrato a ser administrado. Foi utilizada balança portátil com uma casa decimal. Marca: Dxaus LS 2000 como mostra a figura a seguir.



Figura 13: Pesagem individual do animal realizada semanalmente para correção

- ✓ A partir da média do peso dos animais eram preparadas as suspensões de SGE em água destilada, que eram separados por grupo e por sexo, com quantidade suficiente para 7 dias, sempre com a manutenção de 100mg/Kg e quantidade suficiente para sete dias.

No 45º dia de experimento, os animais foram sacrificados segundo seguinte procedimento: após serem anestesiados com éter etílico, os animais foram pesados individualmente e o tórax foi aberto para a retirada de cerca de 2 ml de sangue do átrio direito, utilizando seringas previamente heparinizadas.

O sangue obtido dos animais foi colocado em tubos de ensaio à temperatura ambiente e o plasma foi separado por centrifugação (40000rpm/10min).

O plasma separado foi cuidadosamente transferido (cada amostra) para 2 *ependorffs*, identificados pela cor correspondente a cada grupo e, ainda, por sexo, com a utilização de pipetas automáticas, posteriormente foram deixados no congelador a -70° C até a análise dos lipídios.

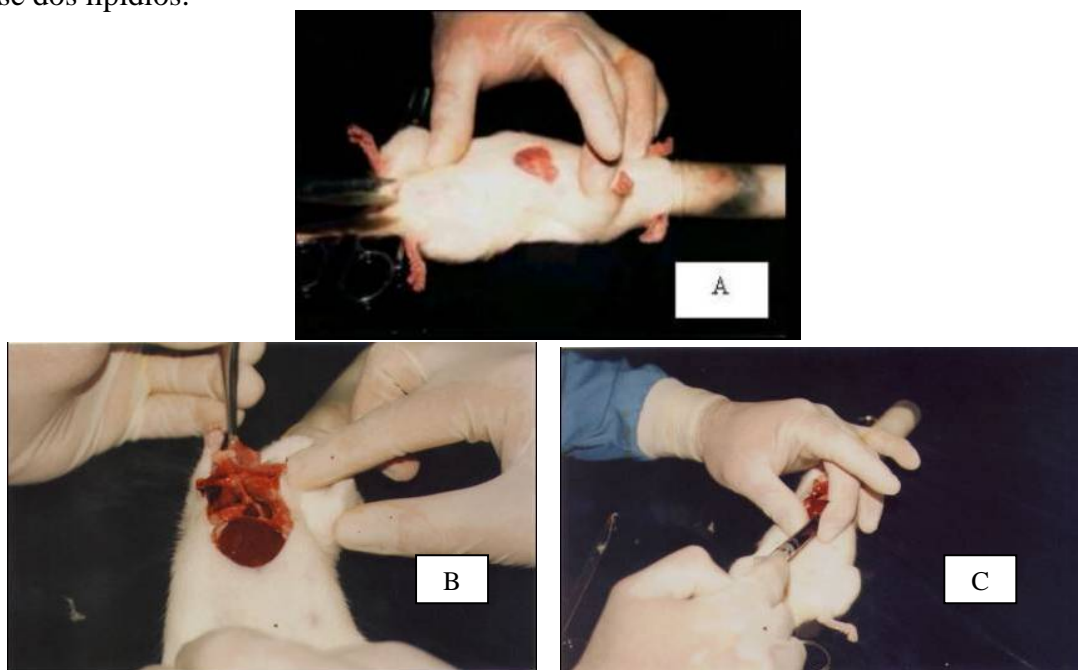


Figura 14: Procedimentos para coleta do sangue dos animais.

A: CORTE DO PÊLO SUPERFICIAL,

B: ABERTURA DO ACESSO PARA COLETA INTRACARDÍACA,

C: COLETA DO SANGUE COM SERINGA HEPARINIZADA

4.4.5- Dosagem dos níveis séricos de LDL e colesterol total

As amostras de plasma foram levadas congeladas para o Laboratório Tuffic – Barra do Piraí, onde foi utilizado do aparelho Vitalab Selectra 2 Bayer, para realização das leituras.

Após descongeladas (processo natural), cada amostra novamente identificada foi levada para o aparelho previamente calibrado e controlado.

Controles: Bio Rad QS Control Level 1 (lote 44761) e 2 (lote 44762)

Foi utilizado kit de reagente para diagnóstico LDL-C Select FS/ Diasys Systems International (Diasys), lote 60013442, para determinação quantitativa *in vitro* do colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) em plasma, através de sistemas fotométricos.

Foi utilizado também kit de reagente para diagnóstico Colesterol FS/ Diasys, lote 2254, para determinação quantitativa *in vitro* do colesterol total em plasma, através de sistemas fotométricos.

As leituras foram reservadas até análise estatística e avaliação dos resultados.

4.4.6- Tratamento dos dados

Os programas de escolha para tratar os dados foram o Sigma Plot 8,0 e o Excel 2000 Microsoft Office, que não só avaliou os níveis séricos de colesterol total e colesterol LDL, mas também todos os outros parâmetros avaliados como a alimentação e a variação de peso dos animais.

As planilhas, tabelas e gráficos foram obtidos a partir dos resultados experimentais e apresentadas por grupo e também por sexo.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Investigação dos aspectos botânicos

As exsiccatas preparadas a partir de plantas inteiras obtidas diretamente do produtor em Itaocara-RJ, foram enviadas para o Jardim Botânico do Rio de Janeiro, e foram depositadas no Herbário JB-RB e registrado sob o número 395.836 (figuras 15 e 16).

As exsiccatas de *S.gilo* foram comparadas com o único exemplar de *S. aethiopicum* (RB 200.588), considerada sinonímia, que foi enviada por Michael Nee do Jardim Botânico de Nova York para o Herbário JB-RB (figura 17).

5.1.1- Resultados da caracterização morfológica realizada no Jardim Botânico do material testemunho de *Solanum gilo*

Arbusto de 1,5m de altura, ramos pubescentes, com tricomas estrelados sésseis ou pedicelados apiculados. As folhas são alternas, simples, membranáceas, lâmina de inteira a partida com cerca de 20 cm de comprimento e de 13 cm de largura, tomentosa na face abaxial e pubescente na face adaxial, tricomas estrelados sésseis e/ou pedicelados, nervação craspedódroma (nervuras terminando na margem foliar); pecíolo com até 3 cm de comprimento, tomentoso. Flores aos pares alvas: cálice verde, campanulado 5-6 lacineado (característica do gênero *Solanum*), lanceolado pubescente na face externa; corola rotácea (característica da família Solanaceae), cerca de 12 cm, 5-7 lanceolada, pubescente na face externa; androceu pentâmero com anteras amarelas, porícidas, de poros apicais, ca. 7mm de comprimento; estigma capitado com ca. 7 mm de comprimento; ovário súpero, pluriovulado, glabro. Fruto de cor verde claro, bacáceo, oblongo, com cálice persistente.



Figura 15: Exsicata RB 395.836, *Solanum gilo* Raddi

Brasil, Rio de Janeiro – Itaocara. Planta cultivada para fins comerciais, arbusto de ca 1,5m altura, flores alvas. Coleta: Adenísio F da Costa e Michele Feitoza Silva (06/2003).



Figura 16: Exsicata RB 395.836, *Solanum gilo* Raddi

Brasil, Rio de Janeiro – Itaocara. Planta cultivada para fins comerciais, arbusto de ca 1,5m altura, flores alvas. Coleta: Ademísio F da Costa e Michele Feitoza Silva (06/2003).

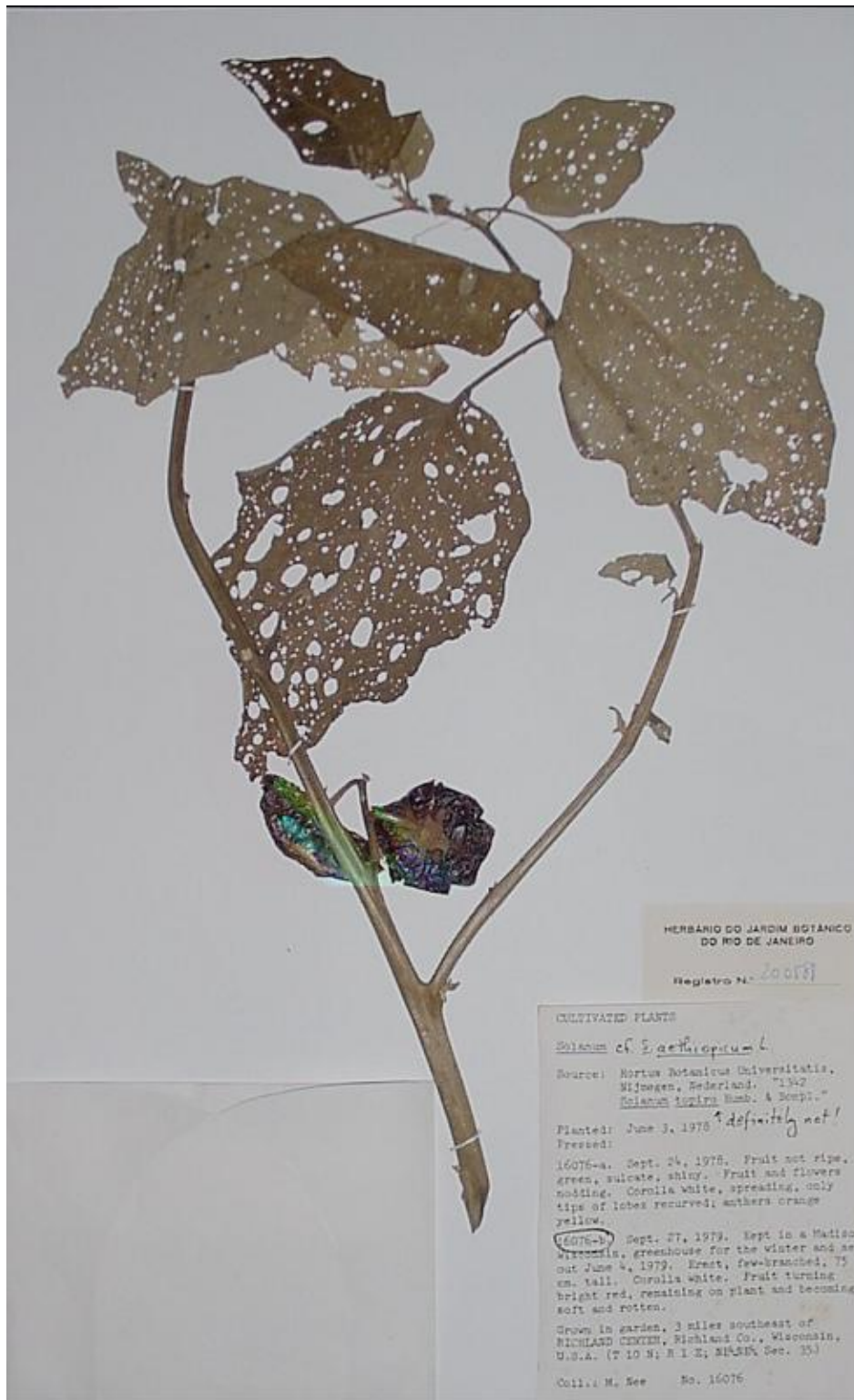


Figura 17: Exsicata RB 200.588, *Solanum aethiopicum* L

Estados Unidos da América, Nova York. Planta cultivada para fins de pesquisa. Coleta e envio para o Brasil: Michael Nee.

5.1.2- Considerações

Foram observadas características marcantes do gênero *Solanum* (corola e anteras) para o exemplar da espécie *Solanum gilo* analisado e também diferenças significativas, principalmente na lâmina foliar, quando comparada à espécie *Solanum aethiopicum*, considerada sinonímia, e também nos frutos que em *S.aethiopicum* são arredondados.

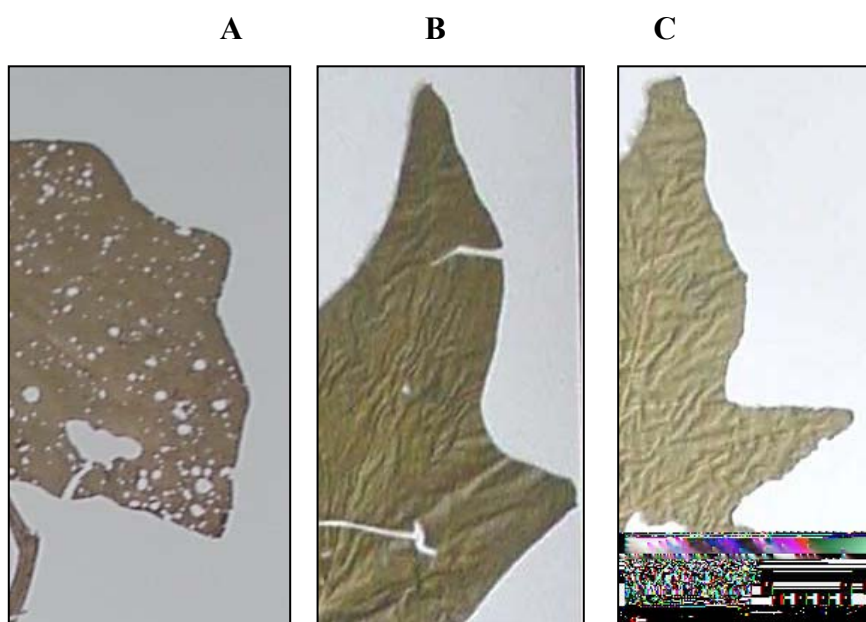


Figura 18: Lâminas em detalhe das exsicatas de *S aethiopicum* (A) e *S gilo* (B e C)

A análise das lâminas foliares da figura 18 apresentou diferenças significativas, onde em *S.gilo* a lâmina foliar é inteira a partida com ápice acuminado, e em *S.aethiopicum* é inteira com ápice agudo.

Michael Nee, pesquisador americano, especialista em Solanáceas, que em julho de 2001 apresentou um índice de epítetos de *Solanum* e gêneros associados, onde várias sinonímias, subespécies e variedades e o holótipo para o *S. gilo* foram citadas. (tabela 4, NEE, 2001).

Tabela 4: Índice dos epítetos de *Solanum*, adaptado de NEE, 2001

NOMENCLATURA E SINONÍMIAS	OBSERVAÇÕES CITADAS
<i>S gilo</i> Raddi – (1820) / Sinonímia <i>S aethiopicum</i> L	Tipo Brasil Subgênero <i>Lepstostemonum</i>
<i>S gilo</i> Raddi ssp <i>gilo</i> var <i>ellipsoideum</i> Bitter – (1923)	-
<i>S gilo</i> Raddi ssp <i>gilo</i> var <i>erectifructum</i> Bitter – (1923)	Tipo Cameroon
<i>S gilo</i> Raddi ssp <i>gilo</i> var <i>pierreanum</i> (Paillieux & Bois) Bitter – (1923)	
<i>S gilo</i> Raddi ssp <i>megalacanthum</i> Bitter – (1923)	Tipo Unterer Kongo Holótipo B
<i>S gilo</i> Raddi <i>monteiroi</i> (C.H. Wright) Bitter – (1923)	-
<i>S gilo</i> Raddi <i>monteiroi</i> (C.H. Wright) Bitter var <i>sparseaculeatum</i> Bitter – (1923)	Tipo Solanum 4 B Holótipo UPS
<i>S gilo</i> Requien ex Dunal in DC- 1852 / Sinonímia <i>S texanum</i> Dunal	Subgênero <i>Lepstostemonum</i> -

Na tabela 4, observamos várias subespécies e variedades que, através de estudos mais específicos, poderiam esclarecer quanto às diversas variedades no mercado, e fundamentar aspectos taxonômicos e futuras investigações fitoquímicas desses táxons infraespecíficos.

Child e Lester (2000), estabeleceram seções e séries, e ainda grupos informais das espécies de *Solanum*. Neste trabalho, *S aethiopicum* foi classificada e *S. gilo* não foi citado.

Classificação segundo Child e Lester para *S. aethiopicum*(2000):

Seção: *Oliganthes* (Dunal) Bitter (55-60 espécies de arbustos, subarbustos e ervas, na maioria retos); Série: *Aethiopica* Bitter (representa formas cultivadas domesticadas na África de *S. anguivi*), Monotípico: *S aethiopicum* L

Para confirmar a dificuldade de dados taxonômicos para espécies do gênero *Solanum*, temos que um estudo preliminar de Garcia (2001) considerou que as espécies de *Solanum* compartilham entre si um menor número de caracteres quando comparado a outras espécies pertencentes a outros gêneros (com grande número de espécies como *Solanum*). Garcia (2001) cita ainda que algumas diferenças importantes também podem ser observadas entre espécies de *Solanum*. Knapp (2002), que comparou 180 espécies do gênero *Solanum*

com outros grupos taxonômicos, também na América Tropical, percebeu a deficiência de dados quantitativos para esse gênero, e discute os problemas, ressaltando principalmente a taxonomia deficiente.

Em um “Workshop”, da XII Conferência de Genomas de Plantas & Animais, Knap (2004) apresentaram a família Solanaceae como um modelo para discutir aspectos genômicos. O trabalho será iniciado pelo gênero *Solanum*, e pretende avaliar as informações de nomenclatura, taxonomia, morfologia, e outras para todas as espécies, aproximadamente 1500, para o gênero.

Segundo Knapp (2004) o sistema filogenético trará benefícios para outros trabalhos em *Solanum*, como o que foi desenvolvido nesta tese, estimulando discussões a cerca de conexões entre estudiosos de aspectos genômicos e taxonômicos, e melhor compreensão dessa importante família vegetal.

Neste trabalho investigamos aspectos botânicos na variedade comprido verde, sem comparação com outra exsicata já depositada no JB-RB, onde foi desenvolvido o estudo.

Vale ressaltar que análise morfológica, apesar de caracterizar uma espécie da Família Solanaceae, não foi capaz de esclarecer quanto à espécie utilizada, o que nos impulsiona a buscar mais dados para certificar que a espécie coletada é a mesma utilizada como agente hipocolesterolêmico pela população. E, ainda, que as diferentes variedades podem ser de espécies diferentes para cada cultivar.

Levando em consideração um grande número de variedades e sinônimas para a espécie *Solanum gilo* Raddi, descritas por NEE (2001), além dos demais trabalhos que referem a dificuldade da taxonomia de espécies do gênero *Solanum*, principalmente as cultivadas, surge a necessidade de novos estudos que visem estabelecer cientificamente a caracterização das espécies do gênero *Solanum*, além de uma revisão taxonômica para as variedades e principalmente sinônimas como é o caso da *Solanum aethiopicum*.

5.2- Investigação Fitoquímica

5.2.1- Obtenção do SGE a partir de frutos de *S. gilo* obtidos do comércio

Por não ter sido encontrado na literatura, foi considerada imprescindível a determinação do teor de umidade dos frutos de “jiló”, a fim de conhecer qual a quantidade de frutos que deveria ser adquirida para se obter cerca de 3 kg de frutos secos. Considerou-se que essa quantidade deveria ser adequada para o preparo de extrato e suficiente para o estudo fitoquímico e toda a experiência da atividade biológica, visando manter um lote único para todo o estudo.

Pela proximidade botânica com a espécie *Solanum melongena*, esperava-se um alto teor de umidade para os frutos do “jiló”, o que realmente se verificou pelo resultado obtido de 91,5% de umidade.

O “jiló” é uma hortaliça de clima quente, que exige temperaturas elevadas para que haja boa produção. Nas regiões quentes, o semeio acontece o ano todo, por isso não houve dificuldade na aquisição.

Após a determinação do teor de umidade, aproximadamente 38 kg de frutos de “jiló” foram comprados visando garantir um mesmo lote para todo o estudo. Os frutos foram comprados no mercado de frutas e legumes CADEG em São Cristóvão em agosto de 2002, visando obter material da mesma forma que é obtido para o uso popular, aproximando ao máximo o estudo fitoquímico à utilização popular.

Adquirimos os de forma comprida, de coloração verde-claro, de casca fina, lisa e brilhante, firmes e sem machucados, cultivados e vendidos no Rio de Janeiro. Seleccionamos então, para o estudo, os de cor verde por igual, pois manchas amarelas indicariam que o fruto

já havia amadurecido. A polpa do jiló mostrou-se macia, porosa e com pequenas sementes brancas, observadas enquanto cortávamos os frutos para secagem.

Para extração dos frutos para o ensaio farmacológico e estudo fitoquímico escolheu-se utilizar o etanol como solvente baseado em trabalho da literatura, onde este solvente foi utilizado para extrair substâncias hipocolesterolêmicas de outras espécies vegetais (RAGHURAM, 1991).

5.2.2- Partição do extrato etanólico, SGE.

Parte do extrato etanólico SGE dos frutos de *S. gilo* foi submetido a partição entre água e solventes orgânicos de polaridade crescentes.

O rendimento das partições em diclorometano e acetato de etila, foi extremamente reduzido (Esquema 1) devido à formação de uma forte emulsão. Desta forma, decidiu-se não investigá-los inicialmente.

Esse fato nos levou a imaginar que o extrato dos frutos de *S. gilo* fossem extremamente rico em saponinas, que é uma característica do gênero *Solanum* ou em outras substâncias com características também, anfífilicas.

As saponinas, por possuírem uma parte da molécula com característica apolar e a outra com característica polar, interagem, na maioria das vezes com outras substâncias formando um complexo insolúvel, ou que poderia no caso da partição líquido – líquido, ser parcialmente solubilizada nos dois líquidos (SIDHU, 1977). Saponinas e ácidos biliares são compostos anfífilicos, parcialmente hidrofóbicos e parcialmente hidrofílicos. Em soluções aquosas eles formam pequenas micelas, o que também poderia explicar o que ocorreu.

Além de saponinas, muitas espécies de Solanaceae acumulam também alcalóides esteroídicos. Essas substâncias são essencialmente análogos de nitrogênio de saponinas

esteroídicas, sendo que estão geralmente presentes na forma de glicosídeos, os quais apresentam atividade tensoativa e propriedades hemolíticas como as das saponinas (ESTEVESSOUZA *et al.*, 2000), o que também poderia acarretar a formação de emulsão de difícil quebra no nosso experimento. Embora já tenham sido descritos para outras espécies de *Solanum* (VIEIRA E FREIRE DE CARVALHO, 1993), os esteróides foram pouco evidenciados para a espécie em questão.

5.2.3- Fracionamento de SGH

Como o *S. gilo* não possui marcadores e princípios ativos definidos, foi necessária uma etapa de análise fitoquímica investigativa. Foram utilizadas técnicas comumente usadas em fitoquímica tais como cromatografia com uso de suportes sólidos variados, além da partição líquido-líquido (Esquema 2).

As cromatografias em camada fina foram realizadas usando sílica como fase estacionária cromatoplaças Merck com indicação para ultravioleta (UV) e como fase móvel a mistura dos solventes hexano/acetato de etila em diversas proporções e como revelador químico VAS.

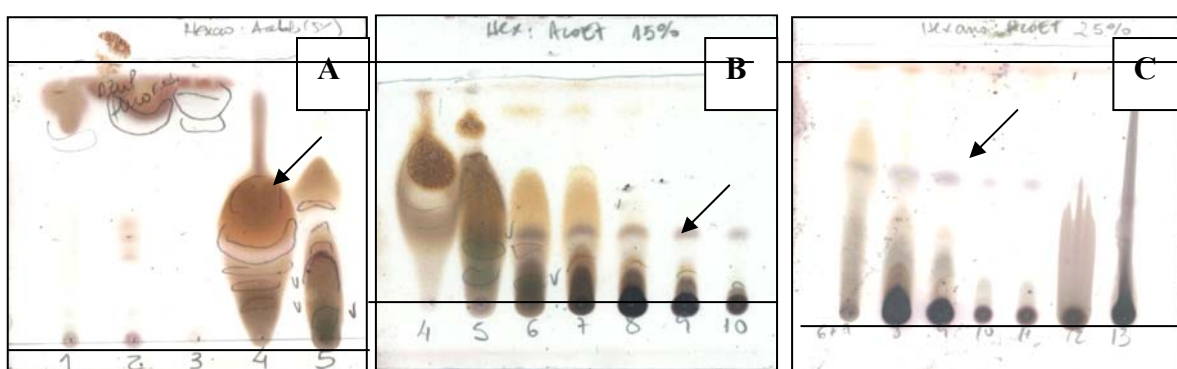


Figura 19: Cromatografia em camada fina das frações obtidas na coluna de sílica gel do SGH eluídas na mistura de hexano: acetato de etila na proporção de: A= 19:1, B= 17:3 e C= 4:1 usando como revelador químico o VAS.

Na placa A observamos a fração SGH4 que apresentava aspecto oleoso e que depois de evaporada, apresentou aspecto pastoso com odor de graxa.

Nas placas B e C foi observada coloração rósea intensa (mostradas por setas) indicando a possível presença de triterpenos.

Certas vezes, com o objetivo de caracterizar alcalóides, principalmente alcalóides esteroídicos comuns a essa família vegetal, foram utilizados outros reveladores.

As frações de SGH que durante a avaliação por CCF indicavam presença de triterpenos (mancha rósea), foram avaliadas utilizando reagente de Dragendorff como revelador, específico para alcalóides (figura 20).

A revelação mostrou resultados duvidosos para as frações 14 a 18 e negativo para a fração 12. Na mesma placa também foram aplicados o SGE e a partição em butanol (SGB), além do padrão sulfato de quinino. Observou-se resultados positivos para ambas, quando comparadas com o sulfato de quinino (Q).

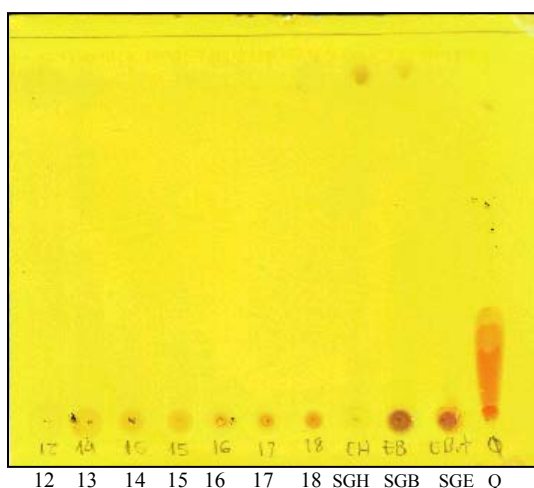


Figura 20: Cromatografia em camada fina das frações (12 a 18) obtidas da coluna de gel de sílica de SGH, SGH, SGB, SGE (EB) e alcalóide padrão (Q), eluídas no sistema: acetato de etila/ acetona/ água (25:8:2), usando como revelador o reagente de Dragendorff.

A fração SGH13 da coluna de SGH (Esquema 2), precipitou logo após ser concentrada. O precipitado foi então filtrado e lavado, sendo posteriormente submetido a novo fracionamento em coluna de Sephadex LH-20, eluída com metanol.

Antes do fracionamento, entretanto, investigamos a pureza da amostra (SGH13) e a presença deste sólido em outras frações da coluna.

Foram utilizados três sistemas de solventes (A= clorofórmio : metanol : água (70:30:4), B= clorofórmio : metanol (95:5) e C= acetato de etila/ acetona/ água (25:8:2)), sendo que o melhor foi CHCl_3 -MeOH; (95:5)

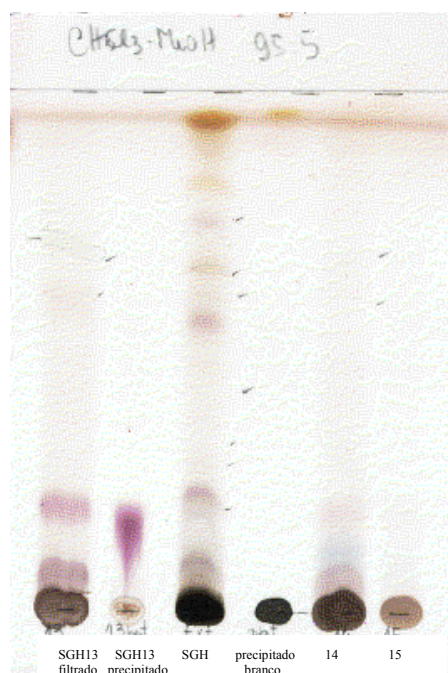


Figura 21: Cromatografia em camada fina das frações e precipitados de SGH13 obtido da coluna de sílica gel de SGH, eluídas com mistura de: clorofórmio/ metanol (95:5) usando como revelador químico o VAS.

Pode-se, ainda, observar que o cromatograma referente ao SGH-13 precipitado apresentou-se como mancha única, com alguma impureza na origem. Devido à pequena

quantidade de precipitado obtido procedeu-se com a purificação de SGH 13 em coluna de Sephadex LH-20.

5.2.3.1- Análise de SGH 4 por CG-EM

A fração de número 4 da coluna de SGH (Esquema 2 e figura 19), apresentava aspecto e odor de graxa. Parte dela foi então analisada por cromatografia em camada fina (figuras 19-A e 19-B) e outra, enviada para análise por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), e os dados obtidos foram comparados com espectros de uma biblioteca de espectros do aparelho.

O cromatograma da fração SGH4 está representado pela figura 22, indicando a presença de pelo menos 6 substâncias, sendo uma delas o ácido ftálico um contaminante característico de solventes.

As substâncias restantes (21,4; 23,8; 24,2 min) estão apresentadas na tabela 5, sendo que somente três delas puderam ser identificadas com alto grau de segurança, através de dados comparativos da biblioteca de espectros do aparelho (Tabela 5).

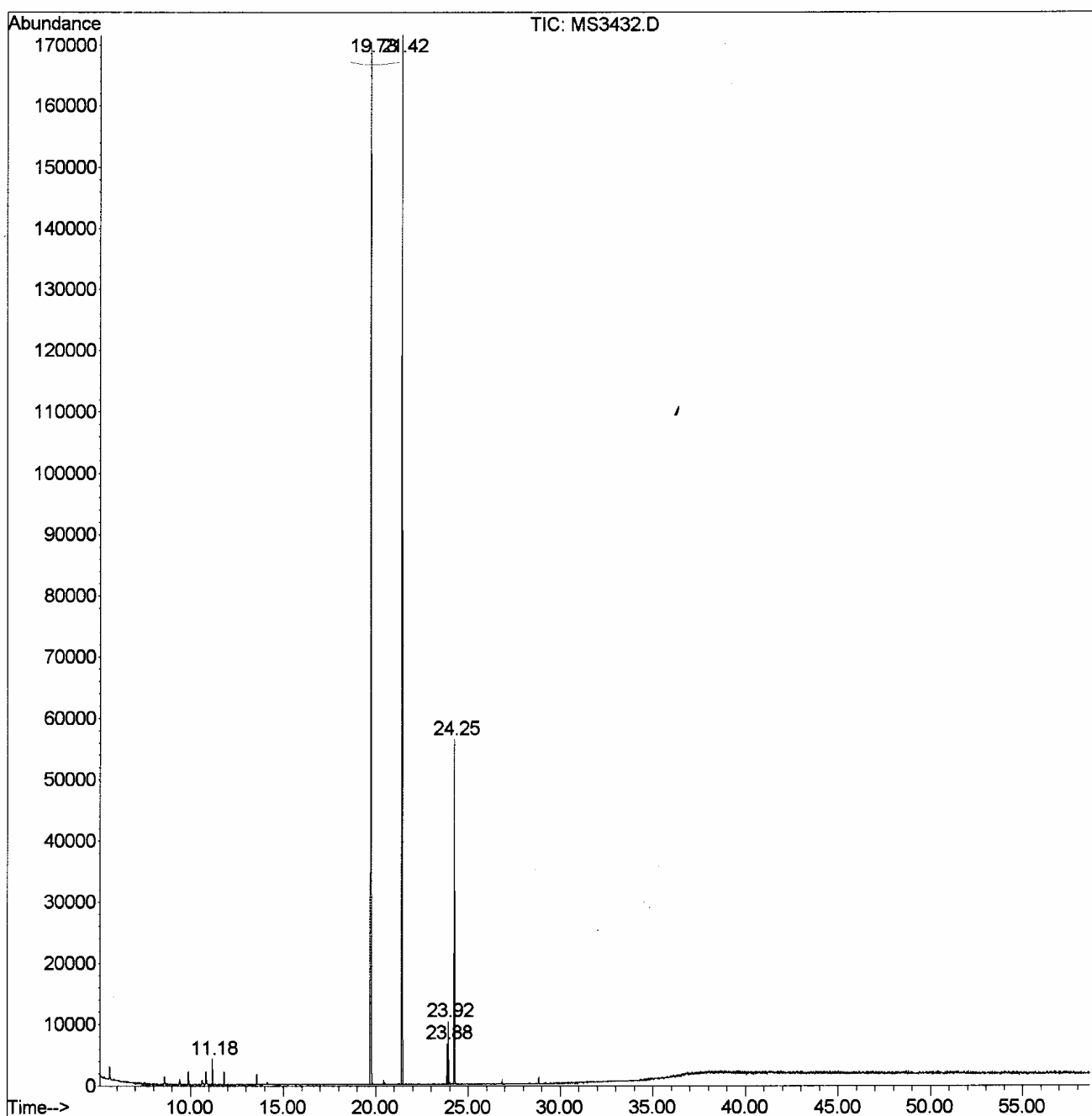


Figura 22: Cromatograma da fração SGH4

O cromatograma mostrado anteriormente está caracterizado pela Tabela 5, onde além do tempo de retenção (minutos), estão apresentados as fragmentações e as substâncias que foram possíveis de identificação.

Tabela 5: Principais sinais obtidos por CG/EM, da fração SGH4 da coluna cromatográfica

Tempo de retenção (minutos)	Fragmentação (íons principais) (m/z)	(%) relativo	Substância
11,1	57.1; 71.1; 43.1; 85.1; 41.0	0,8	
19,7	149.0; 57.1; 150.0; 223.1; 104.0	44,4	ácido 1,2 benzeno dicarboxílico
21,4 (A)	88.1; 101.1; 43.1; 157.1; 55.1	39,4	palmitato de etila (hexadecanoato de etila)
23,8 (B)	67.10; 81.10; 55.10; 95.10; 82.10	1,2	linoleato de etila
23,9	55.10; 69.10; 97.10; 88.10; 83.10	2.1	
24,2 (C)	88.10; 101.10; 312.10; 43.10; 157.10	12,1	octadecanoato de etila

Para as três substâncias (A, B, C) identificadas a partir de comparação de sinais da biblioteca “CHEMSTATION INTEGRATOR” de espectros do aparelho, apresentamos a seguir os espectros de massa correspondentes (figura 23 a 25).

A seguir estão demonstrados separadamente o espectro de massa do palmitato de etila, linoleato de etila e octadecanoato de etila, respectivamente.

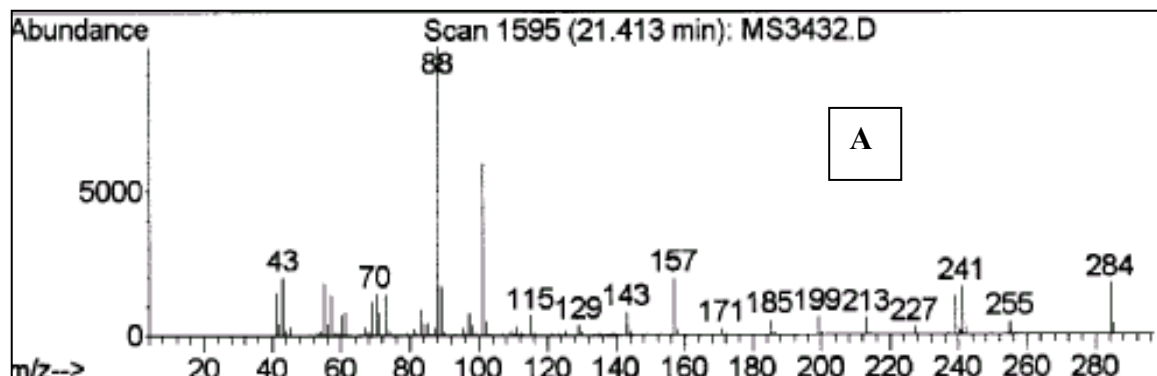


Figura 23: Espectro de Massas de palmitato de etila

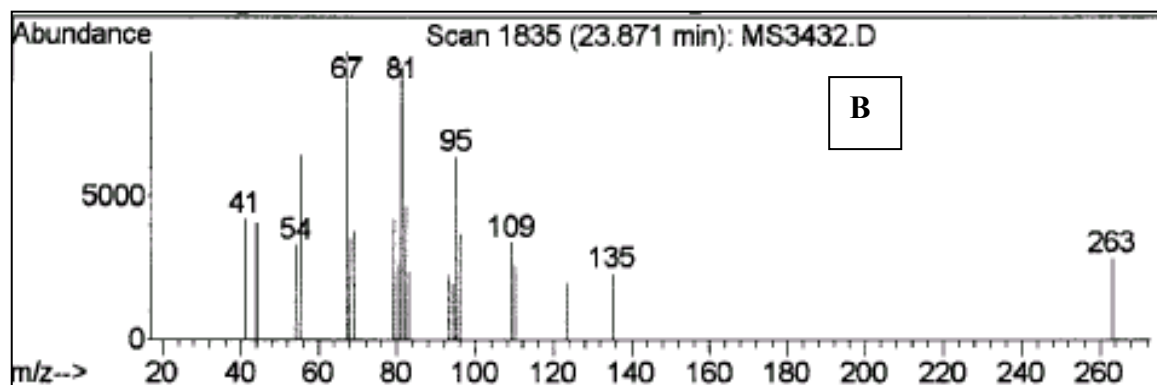


Figura 24: Espectro de Massas de linoleato de etila

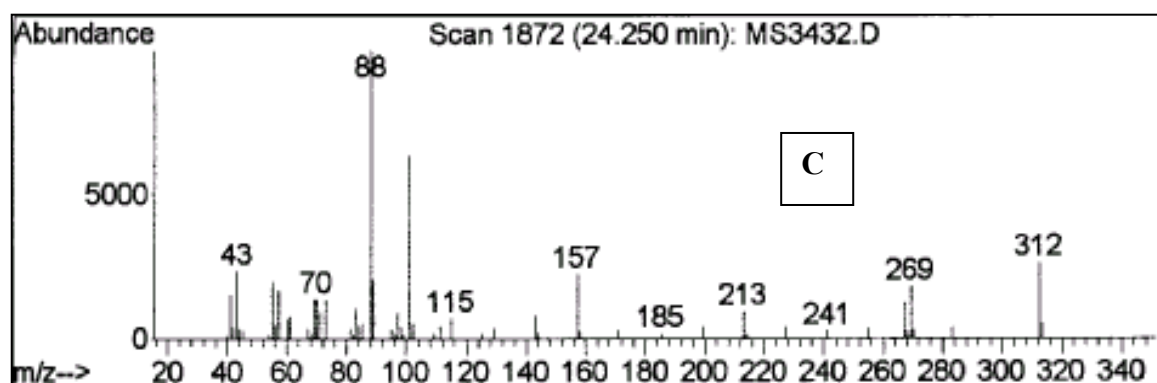


Figura 25: Espectro de Massas de octadecanoato de etila

5.2.3.2- Isolamento e caracterização do 3-O- β -glucosil sitosterol

A fração SGH 13 da coluna SGH (1,4359g) (Esquema 2), foi submetida a uma nova cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, eluída em metanol, gerando outras 35 frações que foram reunidas após CCF.

A placa mostrada na figura 26 foi preparada a partir das frações da coluna de Sephadex da fração SGH13.

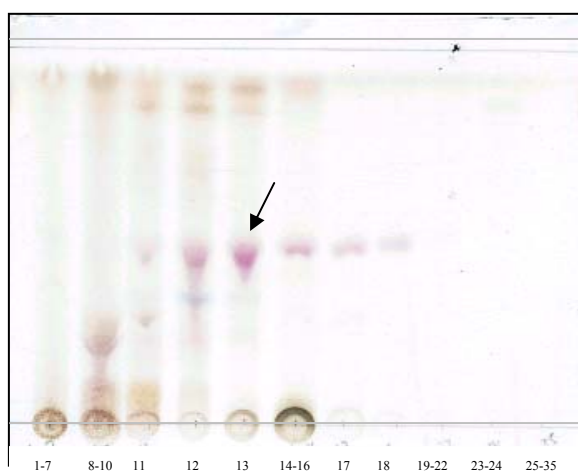
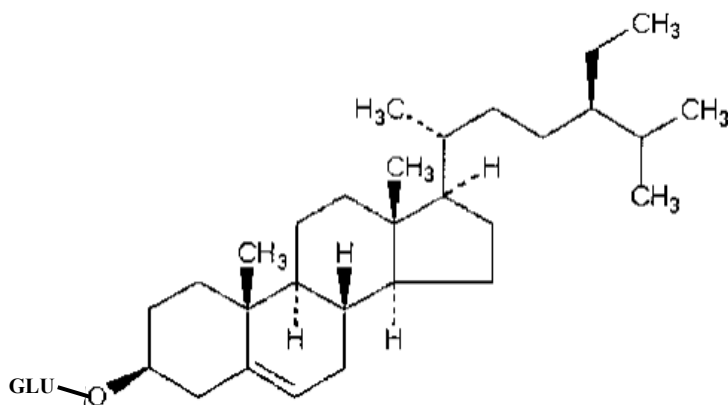


Figura 26: Cromatografia em camada fina das frações obtidas na coluna de Sephadex do SGH 13, eluídas no sistema: CHCl_3 etanol, 1% amônia, usando como revelador químico SnCl_3 em Clorofórmio.

A fração Seph 13 observada na figura acima, apresentou uma mancha, por isso foi enviada para RMN- ^1H e ^{13}C .

O sólido obtido da fração 13 (Seph-13 – esquema 2) foi purificado por recristalização e solubilizado em piridina deuterada e identificada como o 3- β -O-glucosil sitosterol por comparação de seus espectros com os da literatura (SANTOS, 2000 e MENEZES, 1996, por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C (Tabela 6).

A estrutura química do glicosil sitosterol está demonstrada na figura 27, onde na substância isolada, na posição 3 está ligada uma molécula de glicose.



Glu= Molécula de glicose

Figura 27: Estrutura química do sitosterol

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 28) de Seph 13 evidenciou a presença de carbonos carbinólicos com deslocamentos químicos δ 102,6 (anomérico de açúcar), 75,3, 78,5, 71,7, 78,1 e 62,8 ppm, sugerindo que a molécula seja um heterosídeo. A presença da ligação dupla está evidenciada pelos sinais em 121,9 e 140,9 ppm. A presença da β glicose foi confirmada ao analisarmos o espectro de RMN de ^1H através do sinal com deslocamento químico δ 5,06 ppm um dubleto e com constante de acoplamento J de 7,69 Hz, sendo esse sinal referente ao hidrogênio anomérico do açúcar, nesse caso a glicose.

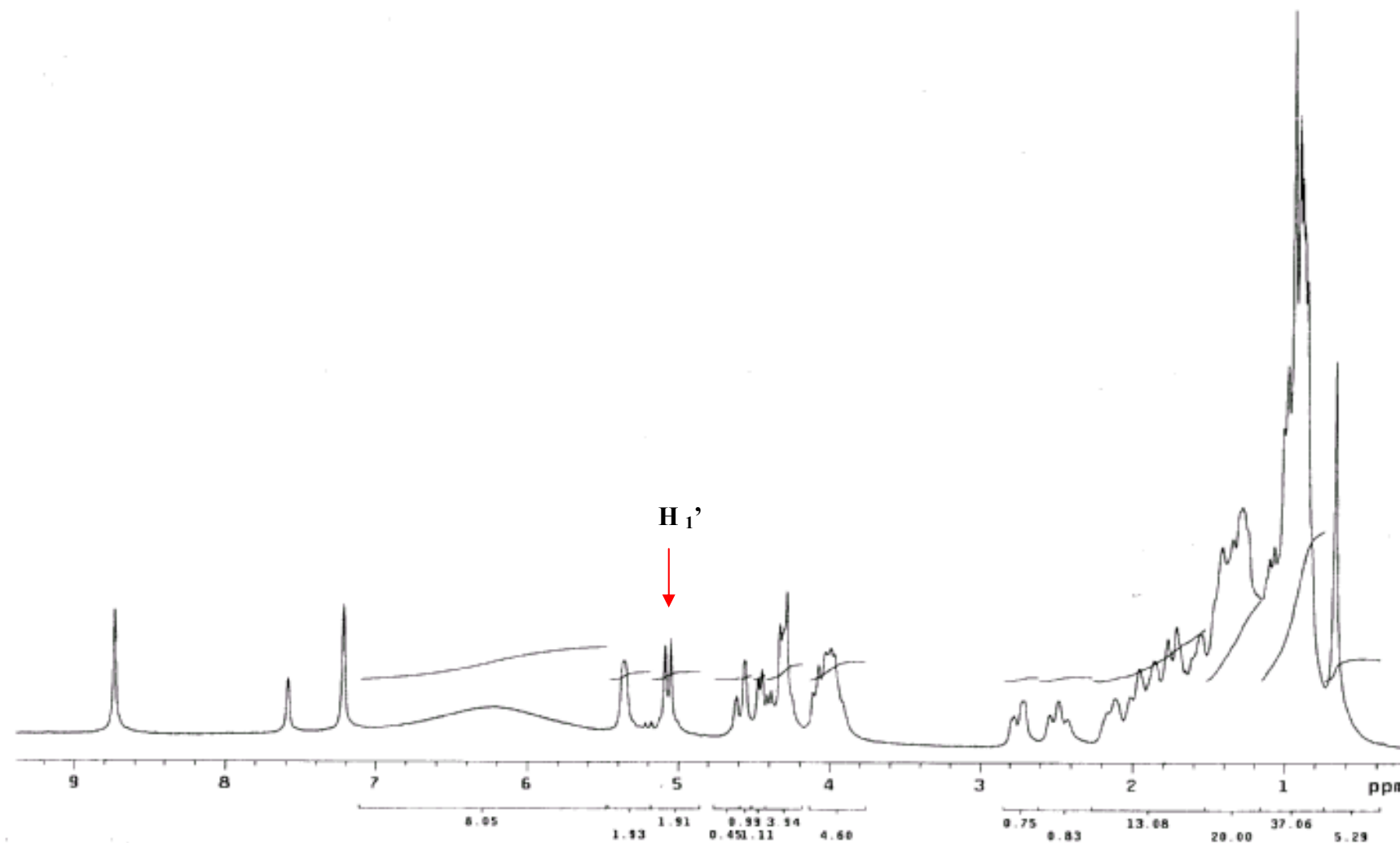


Figura 28: Espectro RMN- H^1 de Sph13, py-d6

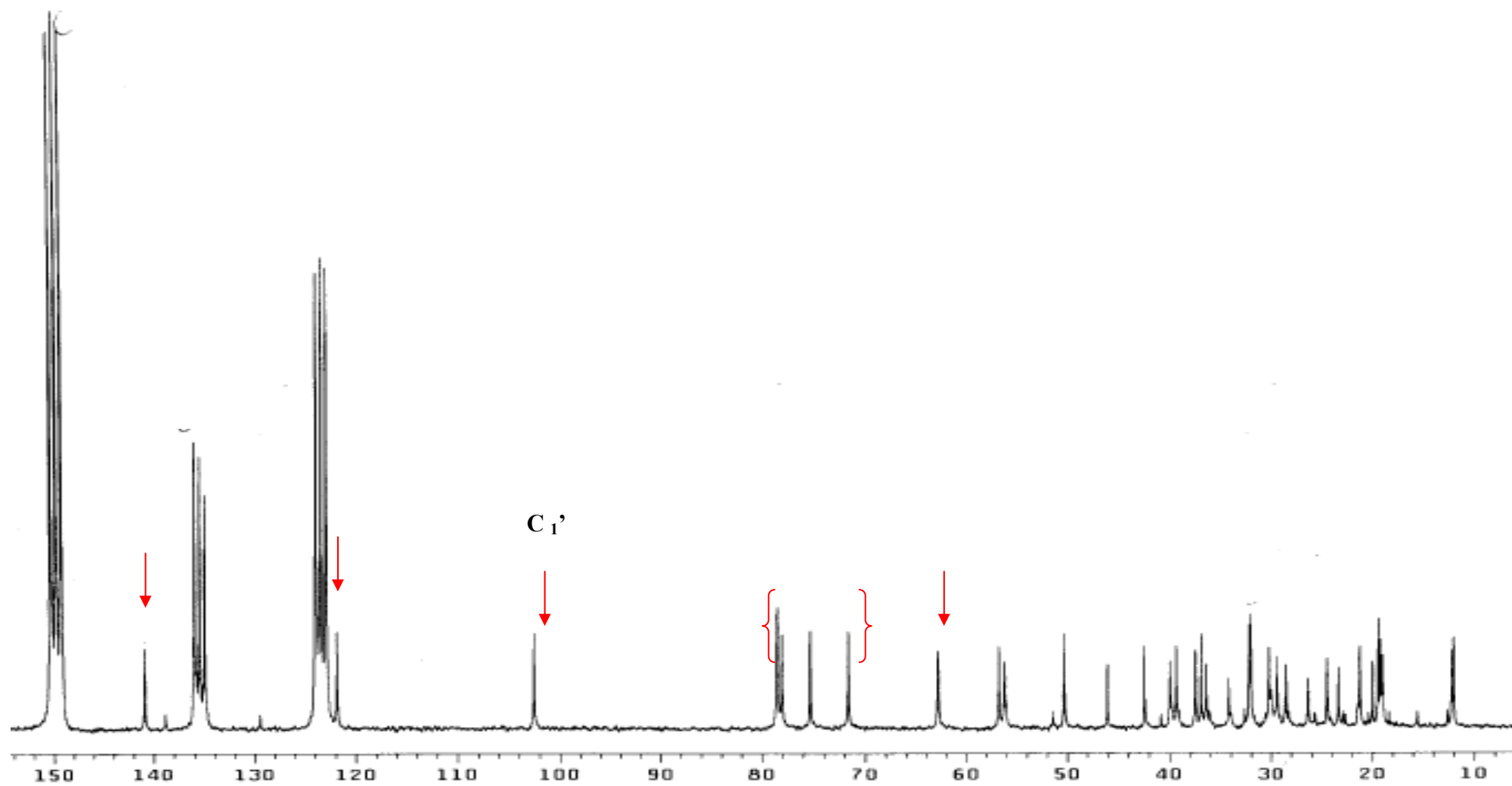


Figura 29: Espectro RMN- C^{13} de Seps13, py-d_6

As variações encontradas para os deslocamentos químicos dos sinais de RMN ^{13}C estão mais próximos aos encontrados no trabalho de Menezes (1996), do que os valores observados em Santos (2000) ao usar CD_3OD como solvente.

Tabela 6: Dados de RMN ^{13}C de Seph13 (3-O- β glucosil sitosterol) comparados com os da literatura

Carbono	Valores experimentais δ (ppm)	δ (ppm) (SANTOS, 2000)	δ (ppm) (MENEZES, 1996)
1	37,5	37,3	37,5
2	30,3	30,1	30,2
3	78,6*	77,9	78,5
4	39,3	39,2	40,0
5	140,9	140,7	140,9
6	121,9	121,7	121,8
7	32,2	34,0	32,1
8	32,1	32,0	22,1
9	50,3	50,2	50,3
10	36,9	36,7	36,9
11	21,3	21,1	21,3
12	40,0	39,8	39,3
13	42,5	42,3	42,5
14	56,8	56,6	56,9
15	24,5	24,3	24,5
16	28,6	28,4	28,6
17	56,3	56,1	56,3
18	12,0	11,8	12,0
19	19,4	19,2	19,4
20	36,4	36,2	36,4
21	19,0	19,2	19,1
22	34,2	-	34,3
23	26,4	26,2	26,5
24	46,0	45,9	46,1
25	29,5	29,3	29,5
26	19,2	19,8	19,2
27	20,0	19,8	20,0
28	23,4	23,2	23,4
29	12,2	12,0	12,2
1'	102,6	102,4	102,5
2'	75,3	75,1	75,2
3'	78,5*	78,4	78,3
4'	71,7	72,4	71,7
5'	78,1	78,3	78,2
6'	62,8	62,5	62,8

* intercambiáveis

5.2.4- Cálculo do percentual de material graxo do SGE

A fração etérea obtida foi evaporada e resultou em 7,9g, indicando que, aproximadamente 15% do SGE administrado para os animais era composta de material graxo, e ainda, que esse material corresponde a cerca de 0.05% de frutos secos.

Como os experimentos foram realizados utilizando extrato elaborado a partir dos frutos secos (SGE), temos que um animal de 250 gramas por exemplo, ingeriu o equivalente a 756 mg de frutos por dia .

5.3- Atividade hipocolesterolêmica

Em paralelo à investigação fitoquímica e à caracterização morfológica realizada com a colaboração da Professora Dr^a Lúcia Freire de Carvalho (JB-RJ), foram realizados testes para avaliação dos níveis plasmáticos de colesterol, a fim de verificarmos a indicação popular de uso dos frutos do jiló como agente hipocolesterolêmico.

O teste farmacológico foi realizado com a colaboração dos laboratórios dos Professores: Dra Patrícia Dias Fernandes (Departamento de Farmacologia Básica e Clínica, ICB, UFRJ) e Dr Antônio Ferreira Pereira (Departamento de Microbiologia Geral -IMPPG, UFRJ).

O estudo da atividade hipocolesterolêmica foi realizado com o extrato etanólico total, SGE, obtido a partir dos frutos de “jiló”. A avaliação se limitou aos níveis de colesterol total e LDL-Colesterol (através de dosagem direta).

5.3.1- Animais

Para os ensaios foram utilizados 59 ratos da raça *Wistar* divididos em 6 grupos e subdivididos por sexo (12 grupos), com peso médio de $174,17 \pm 17,26$ g, como demonstrado na figura 30.

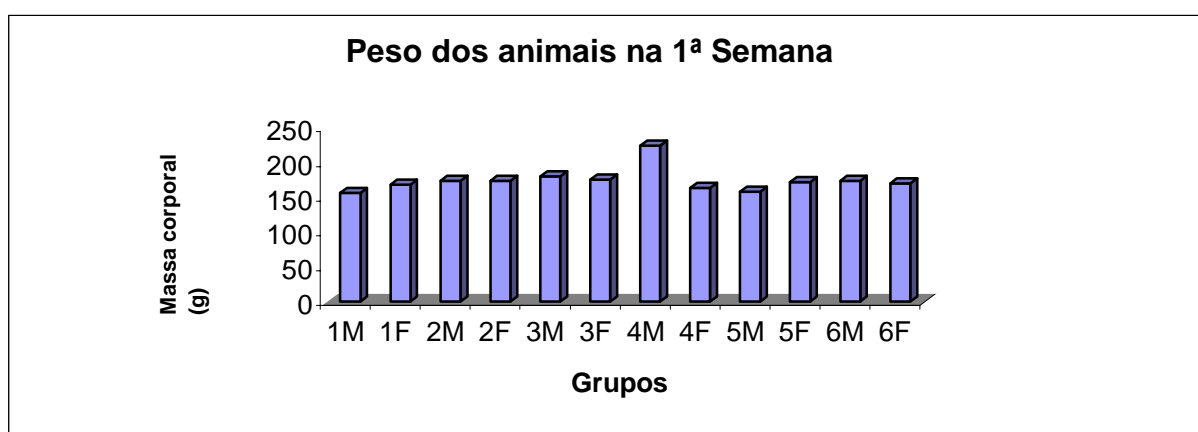


Figura 30: Peso médio dos animais no início do teste (M=machos, Fêmeas=fêmeas).

5.3.1.1- Divisão dos grupos de animais

O protocolo do experimento, com a admissão de 6 grupos de animais, sob diferentes condições, visou atender à verificação dos seguintes aspectos:

A) Grupo 1 – dieta normal – ração (controle 1): A proposta desse grupo foi imprescindível e é unânime em todos os estudos biológicos consultados, com exceção de um estudo realizado em humanos que não utilizou grupo normolipidêmico. Este grupo possibilitou o conhecimento dos valores normais de colesterol e LDL dos animais com dieta normal, normolipidêmicos, para desta forma, compará-los aos demais.

B) Grupo 2 (controle 2) recebeu dieta hiperlipídica, com o objetivo de avaliar as alterações lipídicas com a dieta testada (hiperlipídica - gordura animal) e se essas alterações foram ou não significativas.

C) Para o terceiro grupo (Grupo 3) verificou-se a possibilidade da administração oro-gástrica influenciar no metabolismo lipídico dos animais devido ao estresse. Para esse grupo, administrou-se água destilada como placebo (diariamente) por gavagem, durante todo experimento.

D) Ao último controle, Grupo 4, administrou-se somente SGE (Controle 3), sem disponibilizar a esses animais dieta hipercolesterolêmica, com o objetivo de verificar os efeitos hipocolesterolêmicos do extrato em indivíduos normais (sem dieta hiperlipídica).

E) Os Grupos 5 e 6 receberam SGE e a dieta hiperlipídica, sendo que para o Grupo 6 somente iniciou-se a administração do extrato a partir do 22º dia. O objetivo do Grupo 6 foi verificar se, após a dieta hiperlipídica e sob a hipótese de uma hiperlipidemia já instalada, poderia ser observada diminuição dos níveis séricos de colesterol total e LDL. Desta forma, os Grupos 5 e 6 tiveram o objetivo de verificar se a administração do extrato foi capaz de diminuir os níveis séricos de Colesterol e LDL dos animais submetidos a dieta hiperlipídica.

5.3.2- A ração e a água

A água e a ração foram disponibilizadas *ad libitum* para todos os grupos. Houve uma atenção especial aos grupos submetidos ao SGE (Grupos 4, 5 e 6), quanto à possibilidade do extrato influenciar ou não na alimentação. Nenhum grupo apresentou problemas sob esse aspecto. Também não foram observadas prostração dos animais ou irritabilidade excessiva.

5.3.3- A dieta hiperlipídica

Cada grupo consumiu em média 615g de bacon em 45 dias, o que fornece um consumo diário de 13 a 14 g de bacon, equivalentes a valores próximos de 10% do peso corporal dos animais. Se extrapolarmos para o consumo de um humano de 70 kg, poderíamos expressar o consumo de aproximadamente 6 kg de bacon por dia.

A escolha da dieta hiperlipídica levou em consideração a praticidade da forma de administração de lipídeos extra, apesar de não assegurar igualdade de ingesta de bacon entre os animais da mesma caixa. Ou seja, um animal poderia ingerir mais bacon que o outro. Entretanto, durante o desenvolvimento do protocolo de ensaio, foi a dieta escolhida, por ser menos dispendiosa do que preparar ou adquirir uma ração específica para um experimento pequeno (59 animais) e ainda, por temer o estresse causado por duas injeções por gavagem em cada animal, no caso de optar-se por administrar “gordura” extra por via oral.

Ao final do experimento os resultados bioquímicos não mostraram diferenças significativas entre o Grupo Controle 1 e o Grupo 3 tanto para os níveis de colesterol total, quanto para LDL ($p < 0,05$). Com os resultados obtidos, percebeu-se que teria sido mais adequado, além da administração do SGE por gavagem, fazer a administração da dieta hiperlipídica também por gavagem. Desta forma estaria garantido que todos os animais, para os quais fossem administradas dietas hiperlipídica, receberiam a mesma quantidade.

5.3.4- Preparação e administração do extrato

O SGE foi administrado até os primeiros 21 dias de experimento somente aos Grupos 4 e 5 e, a partir desse dia (equivalente ao início da 4ª semana), foi iniciada a administração ao Grupo 6.

As médias do peso dos animais de cada grupo, em cada semana foi utilizada para preparar as soluções da amostra, a fim de se administrar o SGE na dose de 100mg/kg peso animal.

Nas tabelas 7 e 8 pode-se observar que todos os grupos tiveram aumento de peso, ao compararmos o início e o final do experimento.

Tabela 7: Variação ponderal dos grupos que receberam SGE

Semanas	Machos			Fêmeas		
	G4	G5	G6	G4	G5	G6
1ª Semana (1º dia)	224 ± 32	158 ± 48		164 ± 23	172 ± 16	
2ª Semana	240 ± 34	170 ± 40	-	167 ± 17	181 ± 20	-
3ª Semana	254 ± 36	218 ± 26	-	180 ± 17	193 ± 17	-
4ª Semana (22º dia)	271 ± 39	234 ± 23	250 ± 26	190 ± 14	200 ± 19	207 ± 27
5ª Semana	281 ± 42	254 ± 22	256 ± 16	186 ± 18	199 ± 21	211 ± 23
6ª Semana	294 ± 46	275 ± 26	264 ± 15	194 ± 17	214 ± 20	213 ± 25
7ª Semana	305 ± 48	289 ± 30	282 ± 10	190 ± 17	208 ± 20	282 ± 25
Acréscimo de massa %	26	45	38	14	17	20

• Unidade = gramas (g)

Tabela 8: Diferenças percentuais entre o peso dos animais

	1º Semana	7º Semana	Diferença%
1M	172 *	212	19
1F	168	288	42
2M	174	312	44
2F	174	215	19
3M	180	288	38
3F	176	220	20
4M	224	305	27
4F	164	190	14
5M	158	289	45
5F	172	208	17
6M	174	282	38
6F	170	213	20

* gramas (g)

É importante destacar que a média dos pesos para os grupos de animais machos apresentava desvio padrão maior que para os animais fêmeas. Como pode ser observado na Tabela 8, houve um aumento percentual duas vezes maior para os animais machos em relação as fêmeas, com exceção do Grupo 1 (machos e fêmeas), onde a situação é inversa.

Verificou-se que o peso corpóreo dos animais do Grupo 1 ao final do experimento foi significativamente maior para as fêmeas quando comparados aos animais machos ($p=0,001$), e que não havia diferença significativa entre os sexos no início do experimento ($p=0,56$) para esse grupo (controle).

Não houve diferença significativa nos pesos dos animais submetidos à dieta hiperlipídica (Grupo 2) ao final do experimento comparados ao Grupo controle. ($p=0,140$, para machos e $p= 0,877$ para fêmeas). Entretanto, houve diferença significativa entre o peso de machos e fêmeas ($p= 0,00007$) do Grupo 2 ao final do experimento (45° dia), o que não foi observado ao iniciar o experimento (1° dia).

Coincidentemente foram obtidos valores séricos de colesterol LDL significativamente maiores para os animais machos do Grupo 2 quando comparados às fêmeas desse Grupo ($p= 0,00002$).

Tentativamente podemos correlacionar o valor médio do peso corpóreo, cerca de duas vezes maior nos machos, com os níveis séricos de LDL obtidos para esses animais que como já apresentado, também foram duas vezes maior que os valores obtidos para as fêmeas.

Contudo, a observação mais relevante é o fato de nenhum animal ter perdido peso ao longo do experimento de uma semana para outra (figuras 31 e 32). Este dado é curioso pois, quando se opta por uma dieta exclusivamente lipídica, geralmente, é comum a perda de peso, consequência de dietas com ausência de carboidratos.

Variação ponderal verificado semanalmente para os grupos

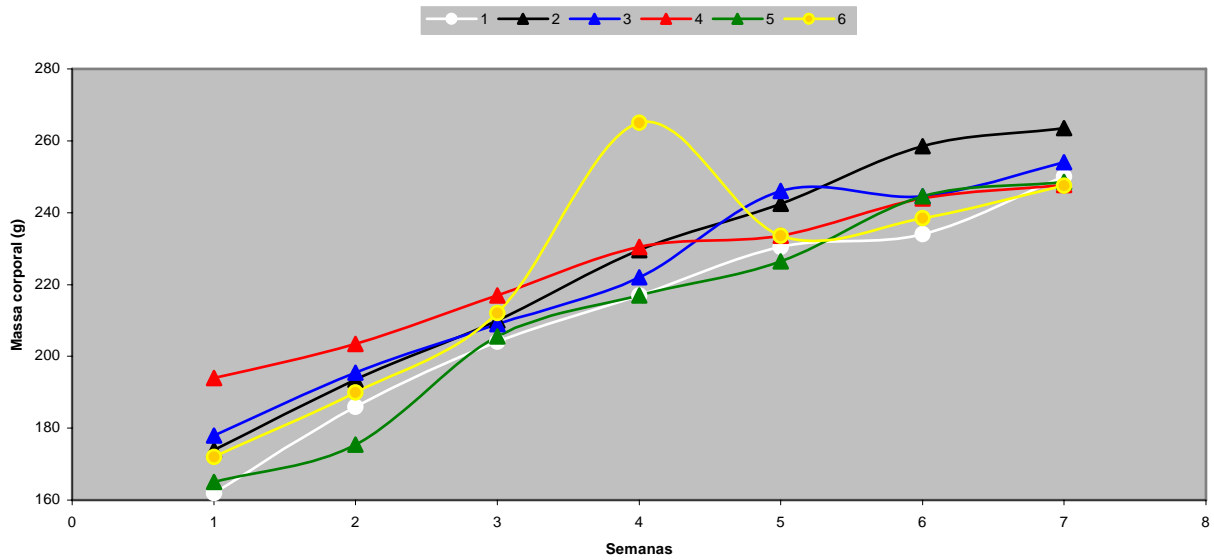


Figura 31: Gráfico do acompanhamento da variação ponderal dos grupos.

(valores médios, n=10 para cada grupo)

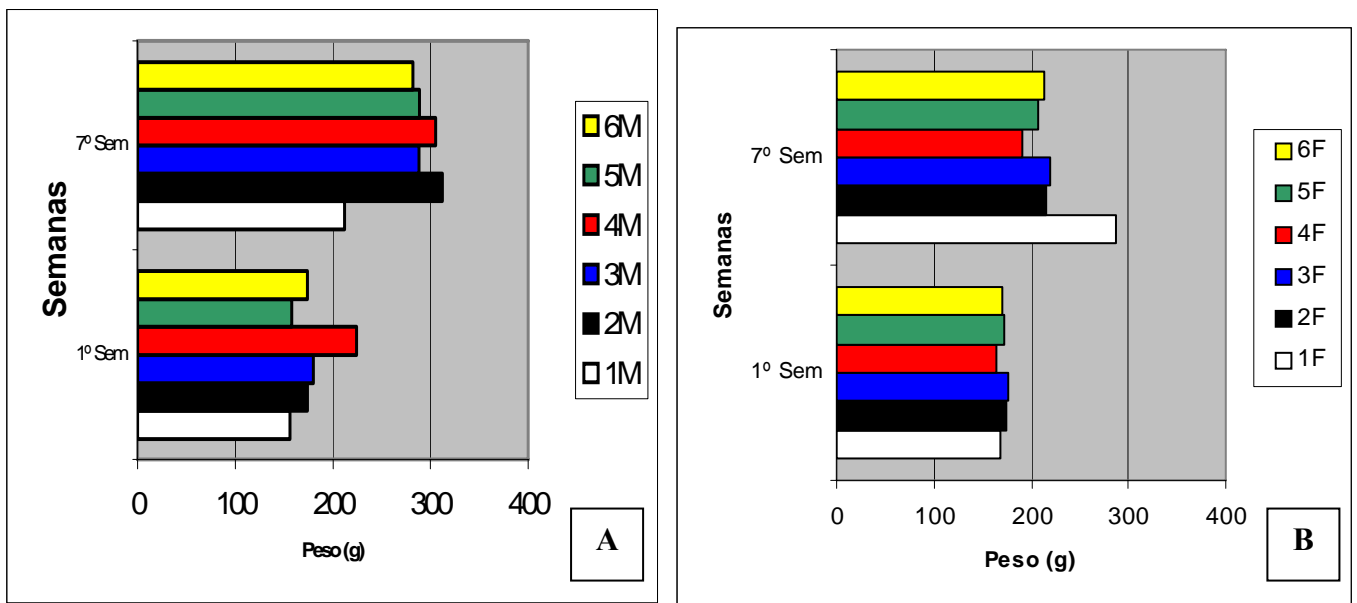


Figura 32: Análise da variação de peso dos machos (painel A) e das fêmeas (painel B).

(valores médios, n=5 para cada grupo)

1		Dieta normal (ração)
2	■	Dieta hipercolesterolêmica
3	■	Placebo - Dieta normal
4	■	Dieta normal com extrato
5	■	Extrato a partir do 1º dia
6	■	Extrato a partir do 22º dia

Na figura 31 pode-se observar a variação para o G6 (amarelo), que na quarta semana apresentou aumento de peso maior que as médias semanais anteriores, seguido de queda na quinta semana. Para investigar e interpretar melhor esse resultado, deveria-se conhecer o cálculo das fezes e urina dos animais durante todo o experimento e conseqüentemente avaliar o balanço nitrogenado, deste grupo em especial, que pode ter ficado comprometido.

5.3.5- Dosagem dos parâmetros bioquímicos

A dosagem dos níveis de colesterol-LDL e colesterol total no sangue dos ratos foi realizada em parceria com o laboratório do professor Antônio Ferreira Pereira (IMPPG, UFRJ), segundo metodologia de dosagem direta demonstrada por Tagliapietra (2001).

A metodologia empregada para a dosagem direta de colesterol total consiste em um método enzimático onde a colesterol esterase cataliza a hidrólise dos ésteres de colesterol, produzindo colesterol livre e ácidos graxos. Em presença da enzima colesterol oxidase, o colesterol livre se oxida a 3-colestenona e peróxido de hidrogênio. O HBA e a 4-aminoantipirina se combinam com o peróxido de hidrogênio, em presença de peroxidase, para produzir uma quinoneimina vermelha, que tem uma absorbância máxima a 500 nm. A intensidade da cor produzida é diretamente proporcional à quantidade de colesterol LDL na amostra (ALLAIN *et al.*, 1974 *apud* TAGLIAPIETRA, 2001).

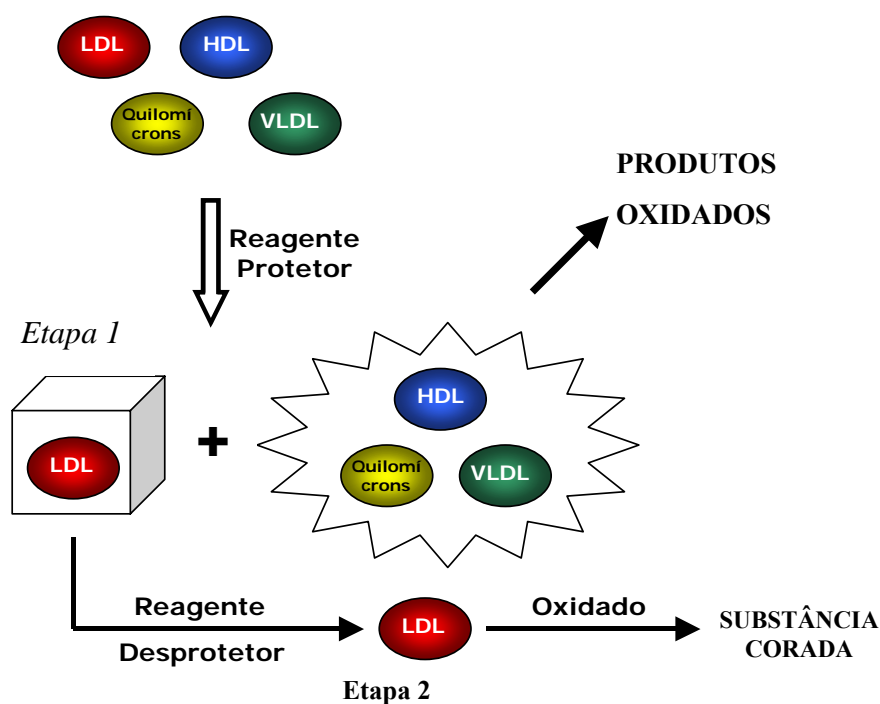


Figura 33: Esquema para o método de dosagem direta do Colesterol-LDL

A dosagem direta do colesterol LDL ocorre em duas etapas (DIASYS, 2000)

Na primeira, a partícula de LDL é seletivamente protegida por um surfactante não iônico (polioxietileno fenil éter), enquanto que as outras lipoproteínas são enzimaticamente processadas. Figura 33

Na segunda etapa, a partícula de LDL é liberada, e o colesterol LDL determinado seletivamente em uma reação enzimática, com a participação da enzima colesterol oxidase e do colesterol esterase, para formar colesteno e peróxido de hidrogênio. Este peróxido reage com a 4-aminoantipirina na presença de peroxidase, resultando em produto colorido com absorvância entre 600/700 nm, proporcional à concentração de colesterol LDL na amostra (OKADA *et al.*, 1998).

Antes da existência de “kits” para determinações bioquímicas diretas, os valores calculados de LDL eram obtidos através da clássica, e largamente utilizada, equação de Friedewald (FRIEDEWALD, LEVI & FREDERICKSON, 1971), onde a concentração de colesterol LDL é: $\text{colesterol total} - (\text{colesterol HDL}) + (\text{triglicerídeos} \div 5)$.

5.3.6- Discussão sobre animais utilizados e definição dos grupos

Para esta tese, utilizamos ratos como modelo experimental. Esses animais têm sido utilizados para diversos estudos sobre o sistema cardiovascular, devido à similaridade geral entre seu sistema cardiovascular e outros animais incluindo o homem. (AGUILLA, 2002).

Por outro lado, outros estudos indicaram que ratos são diferentes de humanos no que diz respeito à constituição de lipídios séricos, e é muito difícil produzir hiperlipidemia permanente. (GILL *et al.*, 1989). Entretanto esta dificuldade não impede a utilização dessa espécie em estudos dessa natureza, pois segundo Gil e colaboradores, (1989) dietas especiais podem produzir efeito de aumento de colesterol de sangue assim como podem induzir hipertensão arterial e doenças renais.

Para definir os 6 grupos de animais, utilizamos os trabalhos descritos na tabela 9 que resume uma série de publicações sobre a investigação da atividade hipocolesterolêmica *in vivo*.

Tabela 9: Publicações sobre atividade hipolipidêmica e respectivos grupos de estudos

Grupos							Referência
Normal	Controle Positivo	Placebo	Controle Negativo	Teste	Teste diferenciado	Nº de Grupos	
✓	✓			✓		3	Jahromi <i>et al.</i> , 1992
✓	✓			✓	✓	4	Dixit <i>et al.</i> , 1991
✓				✓	✓	3	Yokozawa e Oura, 1991
✓	✓			✓		3	Aguilla <i>et al.</i> , 1997
✓			✓	✓		3	Sudeheesh <i>et al.</i> , 1997
✓			✓	✓		3	Vijayaalakshmi, 2001
		✓		✓	✓	3	Guimarães, 2000
✓				✓	✓	3	Raghuram, 1991
✓				✓	✓	3	Rasekh <i>et al.</i> , 2001
✓	✓			✓		3	Jorge, 1998
✓	✓			✓	✓	4	Parab, 2002

Na tabela anterior, o grupo que denominamos normal se refere àquele que não sofre nenhum tratamento e, portanto serve de comparativo para todos os demais grupos. O que consideramos controle positivo, seria aquele onde se promove a alteração que se quer curar, ou seja, apresenta processos de hiperlipidemia.

Já o controle negativo, foi considerado o grupo para o qual se administrou a substância, medicamento ou mistura investigada, sem alteração das condições normais, visando avaliar o efeito da droga em animais normolipidêmicos, por exemplo. Este grupo pode ainda nortear estudos mais específicos quanto à toxidez.

O grupo teste é muito importante, já que visa determinar, confirmar ou indicar a veracidade da informação inicial ou que despertou o estudo. O teste diferenciado ocorre quando qualquer aspecto utilizado no grupo teste é alterado, também confirmando ou reafirmando a investigação.

Analisando os grupos de animais estudados nos trabalhos elencados na tabela 9, podemos justificar os grupos utilizados nesta tese, além do grupo placebo que avaliou o estresse causado pela administração de extrato e água.

Os grupos utilizados neste trabalho visaram avaliar a atividade hipolipídica do SGE, utilizando diferentes variáveis.

5.3.7- Resultados e discussão dos valores de colesterol total e LDL-colesterol para os Grupos 1 a 6.

No gráfico a seguir (figura 34) os resultados obtidos a partir do plasma dos animais dos Grupos de 1 a 6 para colesterol total e LDL-colesterol estão representados numericamente sem os valores dos seus respectivos desvios-padrão. Esses resultados estão apresentados na tabela 10

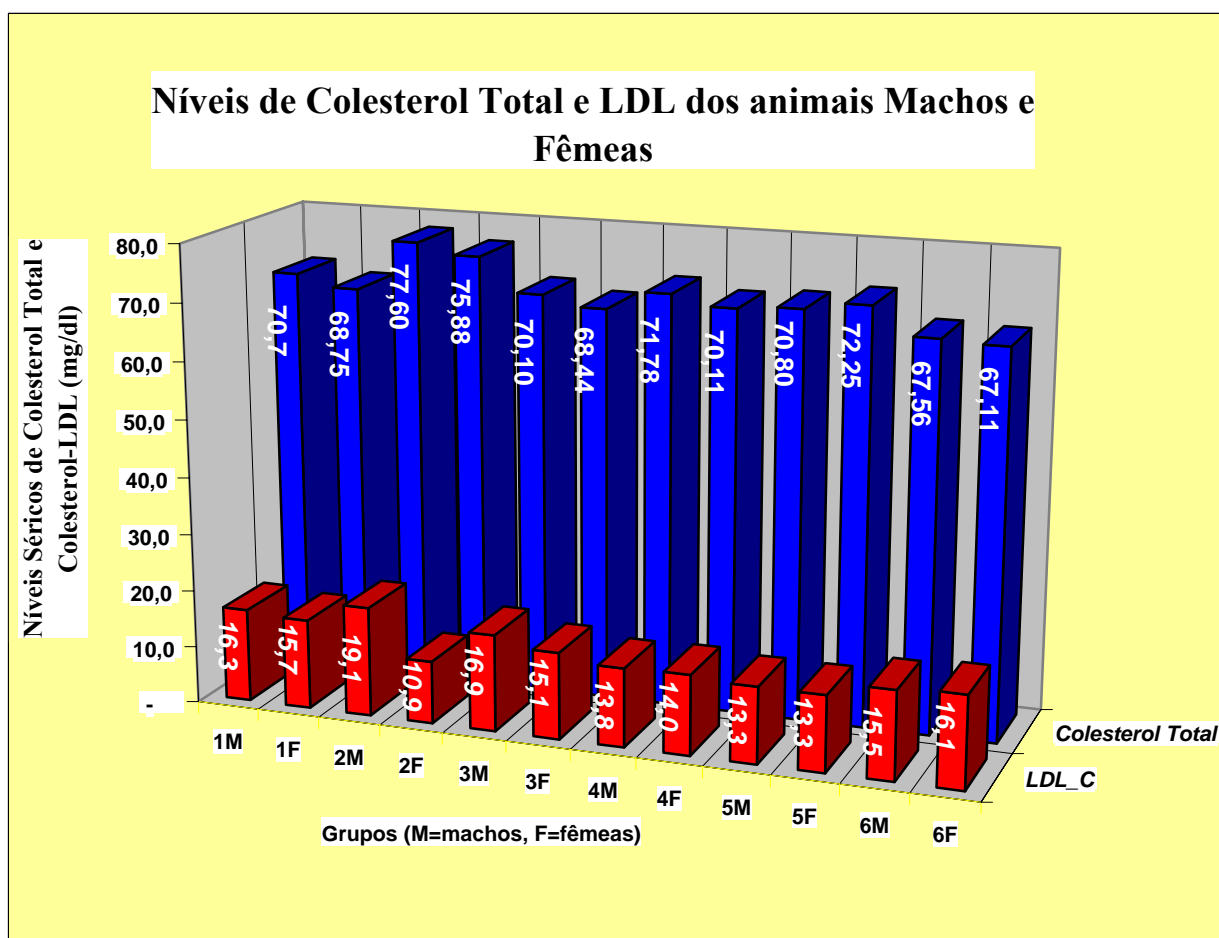


Figura 34: Níveis séricos de colesterol total e colesterol LDL para animais machos e fêmeas

Na análise estatística foram comparados os valores médios mostrados no gráfico anterior, não só considerando valores absolutos, mas também os desvios padrões calculados a partir dos resultados bioquímicos de todas as amostra.

O limite de significância estatística estabelecido para comparações entre os grupos foi de valores com $p < 0,05$.

Os resultados obtidos para os níveis de colesterol total e colesterol-LDL para os animais machos e fêmeas estão expressos na tabela 10.

Tabela 10: Valores dos níveis séricos de colesterol total e colesterol LDL

		Colesterol Total (mg/dl)	Colesterol-LDL (mg/dl)
Machos	G1	70,7 ± 9,32	16,3 ± 5,44
	G2	77,6 ± 3,81 *	19,1 ± 3,75
	G3	70,1 ± 9,43	16,9 ± 5,58
	G4	71,8 ± 9,92	13,8 ± 2,49 **
	G5	70,8 ± 7,04 **	13,3 ± 2,60 **
	G6	67,6 ± 7,28 **	15,5 ± 4,99
Fêmeas	G1	68,7 ± 8,55	15,7 ± 5,45
	G2	75,8 ± 3,60 *	10,9 ± 1,96 *
	G3	68,4 ± 7,54	15,1 ± 4,61
	G4	70,1 ± 11,73	14,0 ± 4,12 **
	G5	72,2 ± 8,94	13,3 ± 3,25
	G6	67,1 ± 7,18 **	16,1 ± 6,13 **

Resultados estão apresentados como média ± desvio padrão

* $p < 0,05$ versus o Grupo controle

** $p < 0,05$ versus o Grupo 2

Os resultados obtidos para os Grupos 1, 2 e 4 serviram como controles.

Verificou-se que os níveis de colesterol total para o G2, submetidos a dieta hiperlipídica (ingestão de bacon), foi significativamente maior que os dos animais do Grupo controle, tanto para os machos ($p=0,0439$) quanto para as fêmeas ($p=0,047$) evidenciando a eficácia da dieta hiperlipídica escolhida (figuras e tabelas).

Por outro lado, os valores obtidos de colesterol total do G3 (placebo) não apresentaram diferença significativa comparados ao Grupo controle 1 (dieta normal) (figuras 34 e 35), tanto para animais machos ($p=0,8878$), quanto fêmeas ($p=0,6423$), o que sugere que o estresse da administração por gavagem não influenciou nos níveis séricos de colesterol total.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis séricos de colesterol dos animais machos ($p=0,8100$) e fêmeas ($p=0,7907$) do G4 quando comparados

aos animais do Grupo controle, evidenciando que o extrato SGE não apresentou algum efeito hipocolesterolêmico em animais normolipidêmicos (dieta normal).

Não houve variações significativas quando comparados os resultados obtidos para colesterol total dos animais do G5, tanto machos ($p=0,9787$), quanto fêmeas ($p=0,4368$) com o G1, (controle). O mesmo foi observado para os valores de colesterol do G6, machos ($p=0,4277$) e fêmeas ($p=0,6735$), para os quais também não houve diferenças significativas (figura 35 e tabela 10).

Ao final do experimento também não foram observadas diferenças significativas entre os Grupos 5 e 6 para machos ($p=0,337$) e fêmeas ($p=0,2087$) (figura 36 e tabela 10).

Os valores de Colesterol-LDL foram analisados para todos os grupos e apresentaram altos valores de desvio padrão, indicando heterogeneidade nos resultados.

Inesperadamente, os níveis séricos de Colesterol-LDL dos animais fêmeas do G2 (dieta hiperlipídica – sem administração de SGE) foram significativamente menores ($p=0,025$) quando comparados aos das fêmeas do Grupo controle. Para os animais machos do G2, apesar de nível sérico médio maior, não houve diferença significativa ($p=0,1969$) para os níveis de LDL em relação ao G1. A diferença significativa nos níveis séricos dos animais fêmeas e machos do G2, poderia sugerir uma similaridade entre ratos fêmeas com mulheres em idade fértil, que apresentam menor incidência de DCC quando comparados a homens da mesma faixa etária (figura 36). Além disso pode-se sugerir que a dieta hiperlipídica nas cobaias fêmeas (idade fértil) tenha influenciado na síntese de hormônios que utiliza o colesterol na sua biossíntese.

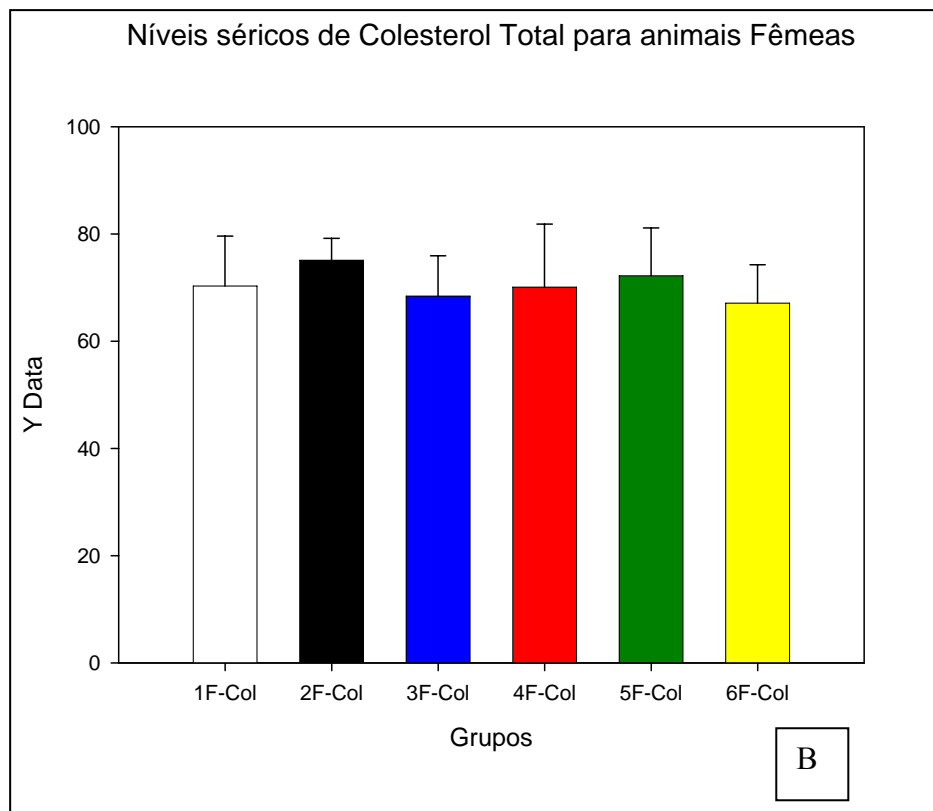
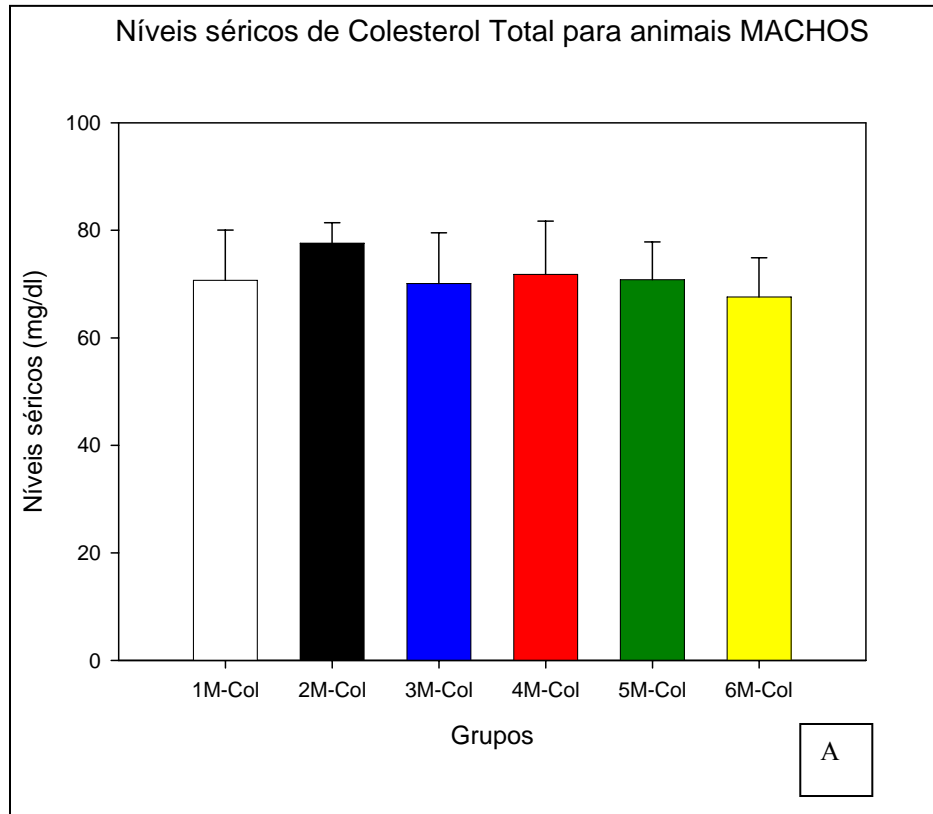


Figura 35: Valores dos níveis séricos de colesterol total dos animais machos (A) e fêmeas (B).

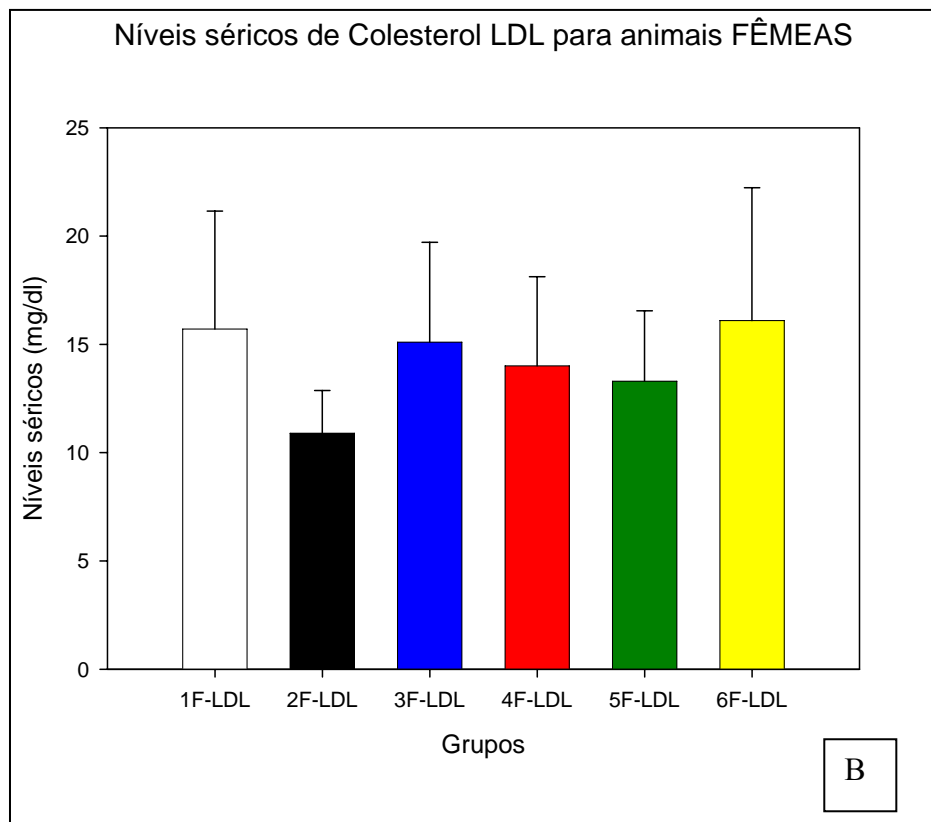
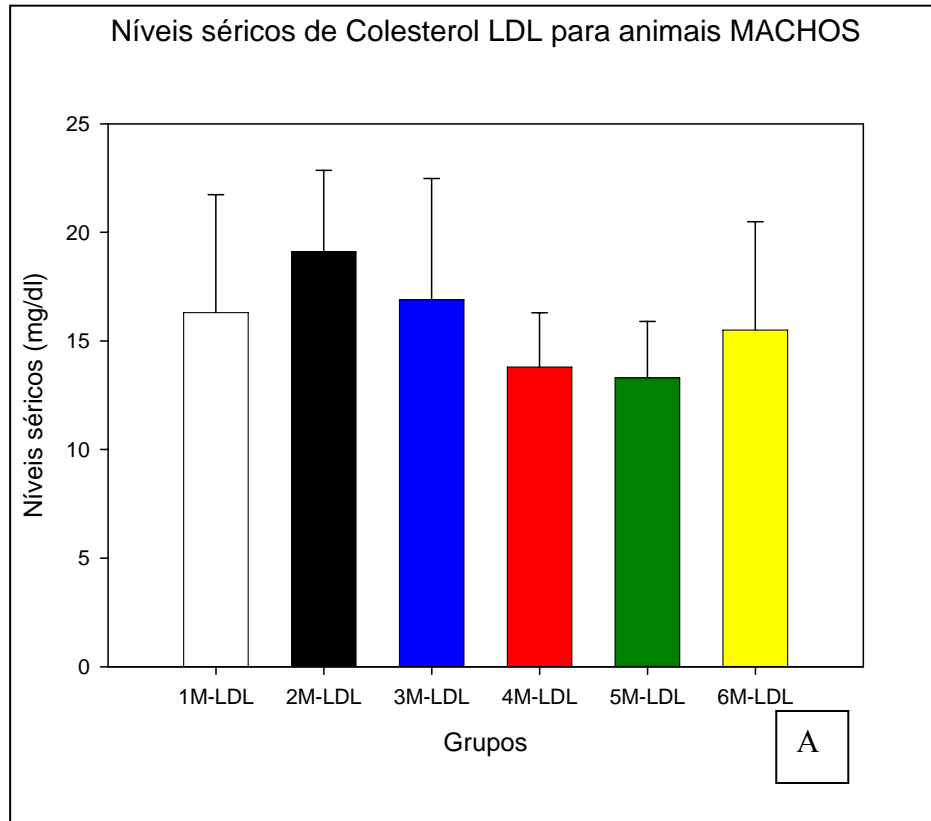


Figura 36: Valores dos níveis séricos de colesterol LDL dos animais machos (A) e fêmeas (B)

Para o grupo placebo (Grupo 3) em relação ao controle 1 (dieta normal) não foram observadas diferenças significativas nos níveis séricos de LDL, o que indica a não influencia da administração por gavagem.

Não foram determinadas diferenças significativas entre os níveis séricos de LDL dos animais machos ($p=0,2393$) e fêmeas ($p=0,7845$) do Grupo 4 quando comparados aos animais do Grupo controle.

Não houve diferença significativa para os níveis de LDL entre os Grupos testes (5 e 6) e o Grupo controle para ambos os sexos.

Os resultados obtidos de LDL para os Grupos 5 e 6 não foram diferentes significativamente entre si tanto para machos ($p=0,1347$) quanto para fêmeas ($p=0,6292$), ou em relação ao Grupo controle ($p>0,05$) indicando que, ou o fruto da espécie *Solanum gilo* utilizado popularmente não é eficaz para dislipidemias, ou os outros integrantes do exame lipidograma total, com a quantificação dos níveis de triglicerídeos. utilizados para este ensaio devem ser reavaliados. Durante o estudo não foi possível realizar doseamento dos níveis séricos de HDL e dos triglicerídeos, devido à falta de recurso existente para o experimento, já que além do ensaio farmacológico foram realizados, também, a investigação fitoquímica e botânica da espécie em questão.

6- CONCLUSÃO

A análise comparativa das exsiccatas de *Solanum gilo* e de *Solanum aethiopicum*, considerada sinonímia, mostrou para a primeira, características marcantes da família Solanaceae. Entretanto, as amostras apresentaram diferenças significativas entre si, o que deve ser investigado, principalmente, com enfoque taxonômico.

A partir do extrato obtido dos frutos secos de *Solanum gilo*, foi isolado a substância 3-O- β glucosil sitosterol, isolado pela primeira vez na espécie.

A dieta suplementada com bacon influenciou os níveis séricos de colesterol total, tanto para machos, quanto para fêmeas.

A massa corporal dos animais variou ao longo do experimento e, ao final dos 45 dias e em todos os grupos, observamos variações significativas ($p > 0,05$), em relação ao peso verificado no início do experimento. Houve variação significativa também entre a massa corporal dos animais fêmeas e machos dos grupos 1 e 2.

Em ratos do grupo 2 observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) comparado aos níveis séricos de colesterol total obtidos para machos e fêmeas do Grupo controle. Entretanto para os níveis de LDL só houve diferença significativa nos resultados obtidos para animais fêmeas.

Não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos de colesterol total e LDL, de machos e fêmeas, para o G1 e G3, portanto podemos sugerir que a administração por gavagem não influenciou nas análises bioquímicas desse experimento. Isto porque valores altos de colesterol total poderiam imbutir valores altos de HDL, o que poderia ser considerado um resultado positivo para o *Solanum gilo*, ou seja, apesar de não evidenciar diminuição nos níveis séricos de colesterol total, poderia estar ocorrendo um aumento dos níveis de HDL, já que $\text{Colesterol total} = \text{Quilomícron} + \text{LDL} + \text{HDL} + \text{VLDL}$.

Concluimos que para essa avaliação, conhecer os valores de Colesterol-HDL e dos triglicerídeos seria fundamental para elucidar a atividade desse extrato.

Inicialmente consideramos a utilização do extrato aquoso, entretanto, a escolha da de um extrato etanólico contou não só com a facilidade e conservação na manipulação comparada com o aquoso, mas também pela citação de outros autores que ao testarem extratos aquosos comparando-os com extratos etanólicos de uma outra espécie, obtiveram resultados mais significativos para o etanólico.

Outro ponto a ser observado é a utilização de ratos, questionado por alguns autores, porém esses animais foram utilizados pela facilidade de aquisição de um número maior para análises estatísticas mais confiáveis.

E ainda, os testes bioquímicos realizados inicialmente (colesterol total e LDL) foram escolhidos correspondendo o objetivo da Tese que era validar a informação popular de diminuição dos níveis séricos de colesterol.

Hoje entendemos que estudos posteriores deverão traçar perfil lipídico completo, validando ou não o efeito nos níveis séricos de Colesterol-HDL e também triglicerídeos.

Neste estudo os resultados apresentados sugerem que o etanol pode não ser o melhor solvente para a extração dos princípios ativos desta planta responsáveis por diminuir o colesterol ou que o fruto da espécie planta é desprovida de ação. Os parâmetros utilizados para este ensaio devem ser revisados sobre o extrato, posologia, ensaios bioquímicos e animais testados. Com objetividade e reavaliação dos resultados, poderão surgir alternativas seguras para o tratamento de dislipidemias, seja como substituinte ou complementar ao tratamento tradicional com as estatinas, atenuando as reações adversas e efeitos colaterais.

Este estudo não comprovou o efeito hipolipidêmico do “jiló”, entretanto, foram apresentados dados botânicos e químicos importantes e inéditos sobre a espécie *Solanum gilo*, além do desenvolvimento de uma metodologia para teste de atividade hipolipidêmica.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, I *et al.* Galloyl esters from ruibarb are potent inhibitors of squalene epoxidase, a key enzyme in cholesterol biosynthesis. *Planta Med*, 66-2000, p 753:755

ABH (Associação Brasileira de Horticultura). Disponível em <http://www.horticiencia.com.br/saude/detalhe.asp?id=18>. Acesso em 14 de junho de 2004.

AGUILLA, M. B.; LOUREIRO, C. C.; PINHEIRO A. R.; MANDARIM DE LACERDA C. A. **Metabolismo lipídico de ratos alimentados com diferentes tipos de lipídios.** *Arq Bras Cardiol*, 78 (1), 25-31, 2002. *et al.*, 2002.

ALBERGARIA I.; FERNANDES, M. Faculdade de Ciência e Tecnologia. Universidade de Lisboa. **Disciplina de Biossíntese de Produtos Naturais**, 2002. Disponível em <http://www.dq.fct.une.pt/qoa/bpn2002/estradiol/2.htm>. Acesso em 12 de dezembro de 2002.

ALEXANDER, J. W. & PECK, M. D. Future considerations for nutrition. In: **Total Parenteral Nutrition**, 2nd ed. J. Fisher, Boston, Little Brown & Co, 447-466, 1991.

ALLAN *et al*, 1995. **An Illustrated colour text-clinical biochemistry.** New York, p121, Ed Churchil Livingston, 1995.

ALLAIN, C. C., POON, L. S., CHAN, C. S. G., RICHMOND, W., FU, P. C. **Enzymatic determination of total serum cholesterol**, *Clin. Chem.* 4 p.470-475, 1974.

ANDERSEN, P., *et al.* **Effects of gemfibrozil on lipids and haemostasis after myocardial infarction.** *Thromb. Haemost.* 63, 174, 1990.

ARAD, Y., RAMAKRISHNAN, R. & GINSBERG, H.N. **Lovastatin therapy reduce low density lipoprotein apoB levels in subjects with combined hyperlipidemia by reducing the production of apoB-containing lipoproteins: Implications for the pathophysiology of apoB production.** *J. Lipid Res.* 31, 567, 1990.

BACHORIK, P. S., LEVY, R. I. & RIFKIND B. M., Lipids and dyslipoproteinemia, in: HENRY J. B. **Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods** Saunders p. 215-244, 1995.

BEGARD SCIENCE. Disponível em: <http://www.bgard.science.ru.nl/images/46594365.jpg> & <http://www.bgard.science.ru.nl/images/28896288.jpg>. Acesso em 14 de junho de 2004.

BHC, British Herbal Compendium, Volume 1. A handbook of scientific information on widely used plant drugs, edited by Peter R. Bradley, 1990.

BIOSCA, G. *et al.* **The effect of nutritional prevention of cardiovascular diseases on longevity.** *Nutr. Rev.* 12: 407-412. 1992.

BISHOP, M. L., *et al.* **Clinical chemistry: Principles, procedures and correlations.** *Lippincott-Raven Publishers,* 318-333, 1996.

BOIS, D. **Les Plantes Alimentaires Chez Tous Les Peuples**, *Encyclopédie Biologique*, Volume I, Paul Lechevalier Editeur, Paris, 1927.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 251** de 1997. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília.

BROWN, M. S. & GOLDSTEIN, J. L. **The LDL receptor concept: clinical and therapeutic implications**, in: STOKES J. III, MANCINI M., *Hypercholesterolemia: Clinical and Therapeutic Implications*, 18. *Atherosclerosis review*, New York Raven press, 85, 1988.

BROWN, M. S. & GOLDSTEIN, J. L. **A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis**. *Science*, 232, 34, 1986.

BROWN, M. S., KOVANEN, P. T. GOLDSTEIN, J. L. **Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors**. *Science*, 212, 628, 1981.

CAMPBELL, Mary K. **Bioquímica**. 3.ed. ARTMED – BOOKMAN 2000.

CHILD A.; LESTER R. N. **Synopsis of the genus *Solanum* L and its infrageneric taxa**. Birmingham, University Botanic Gardens, Winterbourne. UF, 2001.

CORREA, M.P, **Dicionário das Plantas Úteis no Brasil e das Exóticas Cultivadas**. IV – Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1926-1978.

CORTELLA, A. & POCHETTINO, M. L. **Análisis y evaluación de los “tes” comercializados para el tratamiento del colesterol.** *La Alimentación Latinoamericana*, 31(217): 49-57, 1997.

D'ARCY, W. G., *The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography.* In: **Solanaceae III – Taxonomy, chemistry, evolution**, Ed. J. G. Hawkes, R. N. Lester, M. Nee, and N. Eschad, Royal Botanic Gardens, Kew, Londres, 1991. p.75-137

DERIVI, S. C. N.; MENDEZ, M. H. M.; SILVA, M. B. **Efeito hipoglicêmico de alimentos ricos em fibra solúvel. Estudo com Jiló (*Solanum gilo* Raddi).** *Alim Nutr.*, São Paulo, 9: 53-64, 1998.

DIASYS, LDL-C Select FS – **Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in serum or plasma on photometric systems.** 2000.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/laborato/pos_colheita/jilo.htm>. Acesso em 23 fevereiro de 2003.

ESTEVES-SOUZA *et al.* **Cytotoxic activities against Ehrlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species.** *J Braz Chem. Soc.*, 13, nº 6, 898-842, 2002

FARMACOPEIA BRASILEIRA, IV Ed, Brasil, 1988

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura**. São Paulo. Ed. Agronômica Cêres, 1972, 451p.

FREDRICKSON, D. S., LEVY, R. I. & LEES, R. S. **Fat transport in lipoproteins: An integrated approach to mechanism and disorders**. *N. Engl. J. Med.* 276, (p 34, 94, 148, 215, 273), 1967.

FRIEDEWALD, W.T., LEVY, R.I. & FREDERICKSON, D.S. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge**. *Clin. Chem.* .18 (6) 499-502, 1971.

GARCIA, C. C., **Studies on the androecium of Lycopersicon (Solanaceae) and related Solanum species: ontogeny, character analysis and possible taxonomic relationships. Preliminary results**. *Deep Morphology*, p 32-33, Viena, 2001

GAUBATZ, J. W., *et al* (1983) **Human plasma lipoprotein(a): Structural properties**. *J. Biol. Chem.* 258, 4582, 1983.

GEBHARDT, R. **Antioxidant and hepatoprotective effects of artichoke extracts and constituents in culture rat hepatocytes**. *Toxicology in vitro*, in press 1996.

GILL III, T. J.; SMITH, G. J.; WISSLER, R. W.; KUNZ, H. W. **The rat as an experimental animal**, *Science*, 245, 269-276, 1989.

GOLDSTEIN, J. L. & BROWN, M. S. **Lipoprotein metabolism in the macrophage: Implications for cholesterol deposition in atherosclerosis.** *Ann Rev Biochem*, 52: 223, 1983.

GOTTO, A. M. JR., POWNELL, H. R. & RAVEL, R. J. **Introduction to plasma lipoprotein.** *Methods Enzymol.* 128: 3-41, 1986.

GUIMARÃES, P., R. *et al.* **Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on hypercholesterolemic subjects.** *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 33: 1027-1036, 2000.

HORTFORT – Grupo HortFort Com. Imp. e Exp. Ltda. Disponível em: http://www.hortfort.com.br/produtos.php?id_pro=35. Acesso em 23 fevereiro de 2003.

ISSA, J.S; GIANNINI, S. D.; DIAMENT, J; FORTI, N. **Aspectos terapêuticos das dislipidemias - Tratamento farmacológico - Vastatinas: semelhanças e diferenças;** *Rev. Soc. Cardiol.* Estado de São Paulo 1999, 1.

JAHROMI, M.A *et al.* **Hypolipidaemic activity in rats of bergenim, the major constituent of *Feneggea microcarpa*.** *Phytotherapy Research*, 6, 180-192, 1992.

JOHNSON, W. J., MAHLBERG, F. A., ROTHBLAT, G. H. & PHILIPS, M. C. **Cholesterol transport between cells and high density lipoproteins.** *Biochem. Biophys. Acta.* 1085-273, 1991.

JORGE, P. A. *et al.* **Efeito da berinjela sobre os lipídeos plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção Endotelial na Hipercolesterolemia Experimental.** *Arq. Bras Cardiol.* 70 (2): 1-11, 1998.

JOURNOUD, M.; JONES, P.J.H. **Red yeast rice: a new hypolipidemic drug.** *Life Sciences.* 74: 2675–2683, 2004.

KNAPP, S. **Assessing patterns of plant endemism in Neotropical uplands.** *Bio One*, 68 (1): 22-37, 2002

KNAPP, S.; BOHS, L.; NEE, M.; SPOONER, D. M. **Solanaceae A model for linking Genomics with organisms.** *International Plant & Animal Genomes XII Conference*, San Diego, CA, 2004.

KOSHY, L. ANILA, N.R. VIJAYALAKSHMI. **Flavonoids from *Garcinia cambogia* lower lipid levels in hypercholesterolemic rats.** *Food Chemistry.* 72: 289-294, 2001.

KRAFT, K. **Artichoke leaf extract - Recent findings reflecting effects of lipid metabolism, liver and gastrointestinal tracts.** *Phytomedicine*, 4 (4): 369-378, 1997.

LIDERNET. Disponível <http://www.lidernet.com.br>. Acesso em 14/06/2004

LINSCHAEER, W. G. & VERGROESEN, A. J. **Lipids**, in Shils M. E., Olson, J. A. and Shike, M. editors: *Modern Nutrition in Health and Disease*, ed 8. Philadelphia, Lea & Febiger, 1993.

MAEZAKI Y., *et al*, **O Efeito hipocolesterlêmico da quitosana em adultos do sexo masculino**, *Biosci. Biotech. Biochem.* 57(9): 1439-1444, 1993.

MELLO, A. C. & ALMEIDA, E., R. **Plantas medicinais brasileiras**. São Paulo: *Hemus*, p. 20, 1993.

MENEZES, F. S. ***Raphiodon echinus* e *Marsypianthes chamaedrys* (Lamiaceae): Aspectos químicos e farmacológicos**. Tese de doutoramento, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, p. 171, 1997.

MORGADO, H.S.; DIAS, M.J.V. **Caracterização da coleção de germosplama de jiló do CNPH/EMBRAPA**, *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 10, n. 2, p. 86 – 88, 1992.

NEE, M. **The New York Botanical Garden**. Disponível em <http://www.nybg.org/bsci/staf/nee.html>. Acesso em 08/04/2004 referente ao artigo 2001.

NOBLE, R. P. **Electrophoretic separation of plasma lipoproteins in agarose gel**. *J. Lipid. Res.* 9: 693-700, 1968.

OKADA, M., MATSUI, H., ITO, Y., FUJIWARA, A. & INANO, K. **Low density lipoprotein cholesterol can be chemically measured: A new superior method**. *J. Lab. Clin. Med.* 132 (3): 195-201, 1998.

PARAB, R. S.; Mengi, S. A. **Hypolipidemic activity of *Acorus calamus* L. in rats.** *Fitoterapia*, 73: 451-455, 2002.

PESAGRO/RJ, Pesquisa agropecuária do Estado do Rio de Janeiro. A cultura do jiló: Perspectivas – tecnologias – viabilidade, Nierói/RJ, 2001.

PLANTAS E ERVAS MEDICINAIS Disponível em: <http://www.plantamed.hpg.ig.com.br>
Acesso em 23 fev. 2003.

QMCWEB - REVISTA ELETRÔNICA DE QUÍMICA. Disponível em:
<<http://www.qmcweb.org>. e em <http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/colesterol.html>.
Acesso em 23 fev. 2004.

RAGHURAM T. C.; SHARMA R. D. E RAO, V. D. . **Hypolipidaemic effect of Fenugreek Seeds. A clinical study.** *Phytotherapy Research*, 5 145-147, 1991.

RASEKH, H.R.; KHOSHNOOD-MANSOURKHANI, M.J.; KAMALINEJAD, M.
Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *Fitoterapia*. 72: 937-939, 2001.

RIFAI, N. **Lipoproteins and apolipoproteins: Composition, metabolism and association with coronary heart disease.** *Arch. Path. Lab. Med.* v. 110, 694-701, 1986.

SANTOS, T.C. **Estudo químico de espécies brasileiras do gênero *Vitex*.** Tese de doutorado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, p. 130.2000.

SBC-SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA-SBC. 2º Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias da Sociedade Brasileira de Cardiologia – Detecção, Avaliação e Tratamento, 67: 1-16 e 109-128, 1996.

SCANU, A. M. & SPECTOR, A. **A Biochemistry and biology of plasma lipoproteins**, New York, Marcel Dekker, 1986.

SCHAEFER E. J. & LEVY, R. I. **Pathogenesis and management of lipoprotein disorders.** *N. Engl. J. Med* v. 312, 1300, 1985.

SEMENTES FELTRIN. Disponível em
<http://www.sementesfeltrin.com.br/meio/hortalicas/jilo/comprido.htm> &
<http://www.sementesfeltrin.com.br/meio/hortalicas/jilo/redondo.htm>. Acesso em 14 de junho de 2004

SIDHU, G. S.; OAKENFULL D. G. **A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins.** *British Journal of Nutrition.* 55: 643-649, 1977.

SIMÕES, C.M.O. *et al* (Organizadores). **Farmacognosia – da Planta ao Medicamento.** 2ª Edição Porto Alegre, Florianópolis: Editora Universidade/UFRGS/Ed da UFSC, 2000. (821p).

SMALL, D. M. **The HDL system: A short review of structure and metabolism.** *Atherosclerosis Rev.* v16, 1, 1987.

SPECIFIC CROPS. Disponível em:

http://www.umassvegetable.org/soil_crop_pest_mgt/specific_crops/specialty_crops/jilo/.

Acesso 14 de junho de 2004.

STEIN, E. A. & MYERS, G. L. **Lipid lipoproteins and apolipoproteins**, in: TIETZ. Textbook of Clinical Chemistry, Ashwood, Eds. Philadelphia, W. B. Saunders, 2 nd ed, 1002, 1994.

SUDEHEESH, S. *et al.* **Antioxidant activity of flavonoids from *Solanum melongena***. *Phytotherapy Research*, 13: (5) 393-396, 1996.

SUDEHEESH, S. *et al.* **Hypolipidemic effect of flavonoids from *Solanum melongena***. *Plant Foods for Human Nutrition*, 51: 321-330, 1997.

SUDO, S.; RIBEIRO, R.L.D.; ROBES, C.F. **Principais doenças fungicas do jiló (*Solanum gilo* Raddi) na região produtora carioca-fluminense**. *Revista Brasileira de Olericultura*, v.1, p.90-93, 1966.

SUGANO M., *et al.* **Um novo uso da quitosana como agente hipocolesterolêmico em ratos**, *Am J. Clin. Nutri*, 33, 787-793, 1980.

TAGLIAPIETRA, J. I.; **Avaliação de uma nova técnica de dosagem direta de colesterol LDL para diagnóstico e acompanhamento de cardiopatias no laboratório clínico**. 2001. xyz f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia- UFRJ, RJ.

TAKATSU, A. **Estudos sobre os agentes causais das antracnoses dos frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.), berinjela (*Solanum melogenum* L.) e jiló (*Solanum gilo* Raddi) que ocorrem nos núcleos rurais do Distrito Federal.** 69f. (Tese de Doutorado) Piracicaba, ESALQ – USP, 1970.

TODD, P. A.& WARD, A. **Gemfibrozil: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in dyslipidaemia.** *Drugs*, 36: 314, 1988.

UCHIDA Y., **Propriedade antibacteriana da Quitosana,** *Food Chemistry*, 2: 22-29, 1988.

VIANA, S. – **Senador Sebastião Viana sobre inimigo silencioso.** Disponível em <http://www.senado.gov.br/web/senador/tiaovian/online/tiaonline/2002/sete..../09092002.ht>. Acesso em 06 de janeiro de 2004.

VIEIRA, R., F. & FREIRE DE CARVALHO, L.D.A. **Espécies do gênero *Solanum* produtoras de alcalóides esteroidais.** *Rev. Bras. Farm.*, 74(4): 97-111, 1993.

VIJAYALAKSHMI. NR; ANILA L., KOSHY A.S., **Flavonoids from *Garcinia cambogia* lower lipid levels in hypercholesterolemic rats.** *Food Chemistry* 72: 289-294, 2001.

WHO monographs on select medicinal plants, I, World Health Organization, Geneva, 1999.

WITZTUM, J. L. **Drugs used in the treatment of hyperlipoproteinemias.** In Hardman, J. G., (eds): *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*, 9 th ed. new York, McGraw-Hill, 875-898, 1996.

YUNES, R. A.; & CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais- Sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Editora Argos, (500p), 2001

ZOMLEFER, W.B.: **Guide to flowering plant Families**. The University of North Caroline Press, Chapel Hill & London. 1994. 430p. il.