

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

EFEITO HIPOLIPIDÊMICO DE UM EXTRATO SECO DAS CASCAS DE UMA  
ESPÉCIE DE *BYRSONIMA* DA AMAZÔNIA EM RATOS WISTAR

Bolsista: Cirlane do Nascimento Mendes, CNPq

MANAUS  
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL  
PIB- S/0039/2009  
EFEITO HIPOLIPIDÊMICO DE UM EXTRATO SECO DAS CASCAS DE UMA  
ESPÉCIE DE *BYRSONIMA* DA AMAZÔNIA EM RATOS WISTAR

Bolsista: Cirlane do Nascimento Mendes, CNPq  
Orientador: Prof<sup>o</sup> Doutor Émerson Silva Lima

MANAUS  
2010

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, à Faculdade de Ciências Farmacêuticas e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

## SUMÁRIO

1. Resumo.....	06
2. Introdução.....	07
2.1 Doenças Cardiovasculares e hipercolesterolemia.....	07
2.2 Princípios ativos naturais com efeito hipocolesterolêmico.....	08
2.2.1 Ômega-3.....	09
2.2.2 Carotenóide.....	12
2.2.3 Polifenóis- Flavonóides e Isoflavonas.....	13
2.3 Gênero <i>Byrsonima</i> .....	15
3 Justificativa.....	17
4 Objetivos.....	19
4.1 Geral.....	19
4.2 Específicos.....	19
5 Metodologia.....	20
5.1 Preparação do extrato.....	20
5.2 Animais.....	20
5.3 Efeito hipolipidêmico após indução por dieta hipercolesterolêmica.....	21
5.4 Efeito da administração oral do extrato de <i>B. japurensis</i> , pós sobrecarga de triglicerídeos, sobre a trigliceridemia em ratos <i>Wistar</i> .....	21
5.5 Dosagens bioquímicas dos marcadores de hipercolesterolemia.....	22
5.6 Análise estatística dos dados.....	22
6 Resultados Parciais e Discussão.....	23
7 Conclusão.....	30
8 Cronograma.....	31
9 Referências.....	32

## RESUMO

As hiperlipidemias são importantes fatores de risco para as doenças cardiovasculares, que constituem uma das principais causas de morte no mundo moderno. Em função disso existem no mercado diversas opções terapêuticas com a finalidade de reduzir os lipídeos sanguíneos. Contudo, estas drogas podem expor o paciente a efeitos adversos especialmente no fígado, rins e músculo esquelético. Como alternativa, produtos de origem vegetal têm recebido considerável atenção como adjuvantes no tratamento das dislipidemias. O objetivo desse trabalho foi estudar o efeito hipolipidêmico de um extrato seco de *Byrsonima Japurensis* em ratos Wistar. No experimento agudo administrou-se uma solução hipercolesterolêmica juntamente com o extrato de *B. japurensis* (100mg/Kg ou 200 mg/Kg de peso). Realizou-se três coletas de sangue por punção cardíaca nos tempos: 0h, 2h, 4h e 6h e dosou-se os níveis de colesterol e triglicerídeos. Já no experimento crônico, os animais receberam uma dieta hipercolesterolêmica incorporada à dieta padrão e administrou-se extratos padronizados de *B. Japurensis* (50mg/Kg e 100mg/Kg de peso) durante trinta e cinco dias. O extrato de *B. japurensis*, pós-sobrecarga lipídica diminuiu os níveis plasmáticos de triglicerídeos, sendo a inibição 31,39% e 43,05% nas doses de 100mg/kg 200mg/kg respectivamente 4h após a administração da solução hiperlipídica. Neste experimento não houve redução significativa dos níveis de colesterol. No experimento crônico a análise dos resultados não demonstrou diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeo nas doses utilizadas. Os resultados obtidos corroboram aos achados previamente descritos para este extrato como inibição da lipase pancreática e podem servir como base para futuros trabalhos explorando o potencial hipolipemiante desta espécie.

## ABSTRACT

The hyperlipidemias are important risk factors for cardiovascular disease, which constitute a major cause of death in the modern world. As a result there are various treatment options on the market in order to reduce blood lipids. However, these drugs may expose patients to adverse effects especially in the liver, kidney and skeletal muscle. Alternatively, products of plant origin have received considerable attention as adjuvants in the treatment of dyslipidemia. The aim of this work was to study the hypolipidemic effect of a dry extract of *Byrsonima Japurensis* in rats. In the acute experiment we administered a hypercholesterolemic solution together with the extract of *B. japurensis* (100mg/kg ou 200 mg/kg b.w). Held three blood samples by cardiac puncture at times: 0h, 2h, 4h and 6h and dosed the levels of cholesterol and triglycerides. In the chronic experiment, animals received a hypercholesterolemic diet incorporated into the standard and we administered standardized extracts of *B. Japurensis* (50mg/Kg e 100mg/Kg b.w.) for thirty-five days. The extract of *B. japurensis*, post-overload triglycerides decreased plasma levels of triglycerides, the inhibition being 31.39% and 43.05% at doses of 100mg/kg 200mg/kg respectively 4h after administration of hyperlipidic solution. In this experiment there was no significant reduction in cholesterol levels. In a chronic experiment the analysis of results showed no reduction in cholesterol and triglyceride levels at the doses used. The results support the findings previously described for this extract as inhibition of pancreatic lipase and may serve as a basis for future work exploring the hypolipidemic potential of this species.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Doenças Cardiovasculares e hipercolesterolemia

A dislipidemia, condição na qual há concentrações anormais de lipídios ou lipoproteínas no sangue, é um fator de risco importante para o desenvolvimento de complicações da aterosclerose. Em diferentes populações, estão bem estabelecidas as correlações entre o risco para doença arterial coronariana (DAC) e concentrações séricas elevadas de colesterol total (CT), particularmente de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C), assim como concentrações reduzidas de lipoproteínas de alta densidade (HDL-C) (CERES et al, 2003).

A LDL, principal carreadora do colesterol plasmático, é protegida da oxidação pela paraoxonase presente no plasma humano, a qual é uma esterase associada com HDL que pode hidrolisar e reduzir os peróxidos lipídicos nas lipoproteínas e nas lesões ateroscleróticas (AVIRAM et al., 1998). O LDL-colesterol é um lipoproteína de baixa densidade e o seu excesso na circulação sanguínea lesa os vasos após ser oxidado pelos radicais livres, facilitando o depósito nesses canais e aumentando os riscos de provocar doenças cardiovasculares (ELIAS 2001).

A LDL transporta os ésteres de colesterol que vão interagir com as células endoteliais modificadas por algum fator, para entrar no seu espaço subendotelial. No subendotélio o LDL é oxigenado por oxigênios reativos (radicais livres) liberados pelos monócitos, e após se transformado em LDL-oxidado será incorporado por células de macrófagos (monócitos evoluídos). Os macrófagos incorporam o LDL-oxidado até virarem células espumosas,

estouram e liberam partes celulares necrosadas e colesterol que serão depositados na parede endotelial e obstruindo progressivamente a luz do vaso. Com o tempo há calcificação da lesão, fissura ou ulceração na placa, hemorragia intravascular, perda da elasticidade vascular e presença de placa fibrosa (METZE 2000). Pelo fato da oxidação da LDL na parede arterial ser um evento chave no início da aterogênese, os agentes que possam prevenir a oxidação dessa lipoproteína poderiam atenuar o desenvolvimento da aterosclerose (HERTOG et al., 1995).

Em geral, as manifestações clínicas das doenças cardiovasculares (DAC), como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica, têm início a partir da meia idade. No entanto, estudos indicam que o processo aterosclerótico começa a se desenvolver na infância. Estrias gordurosas, precursoras das placas ateroscleróticas, começam a aparecer na camada íntima da aorta aos 3 anos de idade e nas coronárias durante a adolescência, podendo progredir significativamente na terceira e quarta décadas de vida. O desenvolvimento da DAC sintomática tem sido correlacionado a fatores de risco para a aterosclerose. Entre os principais fatores estão a história familiar de DAC, dislipidemia, hipertensão arterial, diabetes melito, obesidade, tabagismo e sedentarismo (CERES et al, 2004).

### **1.2 Princípios ativos naturais com efeito hipocolesterolêmico**

Estudos epidemiológicos sugerem que, o consumo habitual de dietas ricas em frutas e vegetais reduz o risco de desenvolvimento de tais condições (CARDOSO et al, 2004). Os principais compostos ativos responsáveis pela ação preventiva de doenças cardiovasculares pertencem ao grupo dos

polifenóis (flavonóides e isoflavonas), carotenóides e ômega-3; encontrados em alimentos usuais como; alho, tomate, berinjela, chocolate amargo, uva, vinho-tinto, peixe, oleaginosas, chá verde, soja, especiarias, leguminosas, cogumelos e maçãs (BRAGA et al, 2007). As drogas com efeitos hipocolesterolêmicos podem expor o paciente a efeitos adversos especialmente no fígado, rins e músculo esquelético. Como alternativa, produtos de origem vegetal têm recebido considerável atenção para o tratamento da hipercolesterolemia. Observa-se uma relação inversa entre a associação da ingestão de fibras alimentares e de polifenóis com o risco de doenças cardiovasculares. Fibras alimentares, especialmente as solúveis, reduzem os níveis de colesterol plasmático exercendo efeito protetor contra as doenças cardíacas. Por outro lado, a propriedade protetora mais importante dos polifenóis é a sua atividade antioxidante (Cardoso et al, 2004), o comportamento antioxidante dos compostos fenólicos parece estar relacionado à sua capacidade em quelar metais e captar radicais livres (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2000). O organismo humano não pode produzir estas substâncias químicas protetoras, podendo obtê-las através da alimentação ou em forma de suplementos (Aherne e Brien, 2002).

### **1.2.1 Ômega-3**

Ômega-3 são ácidos graxos capazes de provocar alterações nas funções plaquetárias, na resposta imune (atuando como se fossem ácido araquidônico), têm ação vasodilatadora e antiagregante plaquetária, redução de triglicerídeo plasmático devido a inibição da secreção hepática de VLDL; fatores esses que contribuem para a prevenção de doenças cardiovasculares.

As principais fontes são peixes de água frias e profundas; óleos de linhaça, de canola e de gérmen de trigo. (PIMENTEL, 2005) Os ácidos graxos ômega-3 e 6 são precursores de eicosanóides, substâncias que ajudam a regulação da pressão arterial, vasodilatação, lipólise e resposta imune. (PASCHOAL, 2001). Os trabalhos relatados na literatura em animais de experimentação apresentam resultados conflitantes, quando se referem ao efeito dos ácidos graxos ômega-3 sobre o perfil lipídico (PAULO et al, 1997). Em coelhos hipercolesterolêmicos, Ahtani (1995) *et al.*, verificaram que o grupo de animais tratados com ácidos graxos ômega-3 apresentou elevação significativa das BVLDL e LDL-C, assim como dos níveis de peróxidos no plasma (TBARS). Verificaram também aumento do número de células espumosas na íntima arterial. Por estes resultados os ácidos graxos ômega-3 induziriam a aterosclerose, agravando a peroxidação lipídica e elevando o colesterol plasmático. Adelstein (1992) *et al.*, em modelo experimental semelhante, verificaram elevação das LDL-colesterol e também dos triglicérides nos animais tratados com ácidos graxos ômega-3, embora não constatassem diferença significativa com o grupo controle em relação à concentração plasmática de TBARS. Yano (1995) *et al.*, de outro lado, observaram em coelhos hipercolesterolêmicos redução do colesterol total nas LDL e IDL, no grupo tratado com 300mg/kg de EPA-E por quatro semanas. Enquanto os primeiros autores não observaram diferença no número de ligações hepáticas para B-VLDL, estes últimos verificaram um significativo aumento do número destes receptores para LDL, a que atribuem o efeito hipolipidêmico da droga (JORGE *et al.*, 1997). Em humanos, os relatos indicam que o principal efeito dos ácidos graxos ômega-3 é a redução dos triglicérides e das VLDL (PHILLIPSON, 1985). Como as VLDL são precursoras das LDL, a

redução desta lipoproteína também é relatada. Estas observações referem-se a pacientes com hipertrigliceridemia. Em indivíduos com hipercolesterolemia e níveis normais de triglicérides, os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre o LDL e HDL-colesterol são inaparentes. Estudo recente verificou que em indivíduos com hipertrigliceridemia e também em indivíduos normais, a suplementação alimentar com ácidos graxos ômega-3 causou uma elevação paradoxal dos níveis da LDL apoproteínaB e uma diminuição dos valores dos triglicérides (JORGE *et al.*, 1997). A influência dos ácidos graxos ômega-3 sobre a função endotelial é pouco relatada na literatura. Shimokava (1987) *et al.*, referem aumento do relaxamento-dependente do endotélio em artérias coronárias de porco, sob dieta enriquecida com ácidos graxos ômega-3. É possível que os resultados aparentemente contraditórios, observados em relação ao perfil lipídico e a função endotelial, dependam da espécie animal estudada e das especificidades do seu metabolismo lipídico. A acentuação da peroxidação lipídica das LDL faz sentido lógico, considerando o maior número de duplas ligações nas moléculas dos ácidos graxos ômega-3. Em conseqüência, acentua-se a peroxidação da parede arterial e, por este mecanismo, somado à elevação do colesterol plasmático, compromete-se a função endotelial. De acordo com este raciocínio a administração de ácidos graxos ômega-3 deve induzir a aterogênese e agravar a aterosclerose. Entretanto, deve-se considerar o especial efeito destas substâncias sobre a agregação plaquetária, a fibrinólise e a formação das prostaciclina, que poderá compensar os efeitos adversos sobre a aterogênese. (JORGE *et al.*, 1997).

### 1.2.2 Carotenóides

Os carotenóides são substâncias lipossolúveis que estão em abundância nos alimentos (mais de 400 tipos), mas apenas uma pequena parcela desses compostos são consumidas em quantidades significativas para que os efeitos preventivos aconteçam. As principais fontes de carotenóides são: cenoura, abóbora, manga, mamão, tomate, goiaba, melancia, dentre muitos outros. (PIMENTEL, 2005) O licopeno é um dos muitos carotenóides que não se convertem em vitamina A e, além de ter ação antioxidante in vitro o dobro da do betacaroteno, acreditasse que tenha papel preventivo no câncer de próstata e nas doenças cardiovasculares ( PORRINI, 1998). Os representantes desse composto são: tomate, goiaba, melancia. ( PIMENTEL, 2005) A atividade da enzima HMGCoA redutase em células animais tem-se mostrado sensível a regulação negativa por esteróis e por produtos não-esteróis na via do mevalonato. (GOLDASTEIN, 1990). Seus precursores beta-caroteno e licopeno são sintetizados pelas plantas através do mevalonato por HMGCoA redutase. Em plantas, tais como em animais, a atividade desta enzima é regulada pela repressão dos produtos finais. (GARG, 1983). Moreno (1995) et al., mostrou num mostrou que o beta-caroteno regula a expressão de HGMCoA redutase no fígado de ratos por um mecanismo postranscricional. Um estudo realizado por Fuhrman (1997) et al., e seus colaboradores, observaram os efeitos do betacaroteno e licopeno no metabolismo de colesterol macrófagos. Os resultados deste estudo mostraram que macrófagos enriquecidos com licopeno e betacaroteno suprimiam a síntese do colesterol e aumentaram sua atividade no receptor LDL, mosntrando que o mostrado que o licopeno se comportar

como um agente hipolipemiante, e este efeito devido a capacidade de inibir a enzima limitante da síntese de colesterol 3metil hidroxi-3-glutaryl coenzima A (HMGCoA), resultando na depuração do colesterol plasmático, agindo como uma forma natural de estatina.

### **1.2.3 Polifenóis- Flavonóides e Isoflavonas**

Os flavonóides são pigmentos naturais presentes em vegetais e que protegem o organismo humano de danos produzidos por agentes antioxidantes, como raios ultravioletas, poluição ambiental e substâncias químicas presentes nos alimentos. Estão amplamente distribuídos em plantas, frutas, verduras e em diversas bebidas e representam componentes da parte energética da dieta humana (Aherne e Brien, 2002). Seus efeitos benéficos são descritos em diversas patologias, tais como: diabetes melitus, alergia, câncer, infecções virais, cefaléias, úlceras duodenal e gástrica, inflamações, cardiopatias, arteriosclerose e osteoporose (Harbone e Williams, 2000).

Os flavonóides contêm em sua estrutura química um número variável de hidroxilas fenólicas e excelentes propriedades de quelar ferro e outros metais de transição, conferindo uma grande capacidade antioxidante (Havsteen, 1983, Peres, 1994). Há também evidências da sua capacidade de modificar a síntese de eicosanóides (com resposta anti-prostanóide e antiinflamatória), de prevenir a agregação plaquetária (efeito antitrombócito) e também de proteger as proteínas de baixa densidade de oxidação (prevenção de ateroma) (Pace-Asciak et al, 1995; Yang , 2000; Geleijinse, 2002). Após sofrerem metabolização no intestino delgado, os flavonóides atuam como antioxidantes, através da alteração da produção de radicais livres, eliminação de precursores

dos radicais livres, quelação de metais e elevação de antioxidantes endógenos. Acredita-se que a ingestão regular de alimentos fontes desses compostos auxilie a prevenção de doenças cardiovasculares, pois regulam a permeabilidade capilar permitindo o fluxo constante de oxigênio e nutrientes essenciais; além de relaxarem os músculos do sistema cardiovascular através de ações hipertensoras; evitam a formação de coágulos; previnem a oxidação de LDL por radicais livres. (PIMENTEL, 2005) Assim, os flavonóides têm ganhado cada vez mais interesse devido ao seu largo espectro de atividades farmacológicas e ao seu potencial efeito benéfico para a saúde e a maior parte dos estudos envolvendo flavonóides se concentra em suas propriedades bioquímicas e fisiológicas relacionadas ao potencial antioxidante na proteção dos sistemas biológicos durante estresse oxidativo. (Harbone e Williams, 2000; Di Carlo et al., 1999; Van Acker et al., 1998, Beecher, 2003).

As isoflavonas e lignanas também formam uma subclasse dos polifenóis, mas são discutidas como fitoestrógenos pois têm uma estrutura química comparada a um hormônio humano conhecido como estradiol. Existem mais de 800 vegetais com fitoestrógenos em sua composição, mas a soja e o cravo são os principais. (AÇÃO COST, 2001) Por serem polifenóis têm as mesmas funções que os flavonóides e outras específicas; dentre as ações preventivas das doenças cardiovasculares reduzem as concentrações de colesterol LDL-colesterol, além de terem efeitos antioxidantes. (PIMENTEL, 2005)

O consumo de compostos polifenólicos correlaciona-se negativamente com a incidência das doenças cardiovasculares, portanto, cada vez mais estudos estão sendo realizados com o objetivo de se avaliar o efeito da ingestão de flavonóides no desenvolvimento da aterosclerose (MOURA, 2006).

Experimentos realizados em ratos mostraram que flavonóides extraídos de beringela (*Solanum melongena*) apresentaram efeito na redução nos níveis sanguíneos de colesterol total e triacilgliceróis (SUDHEESH, 1997). Este efeito pode ser explicado, em parte, pelo aumento da atividade da enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), enzima presente na superfície das lipoproteínas de alta densidade (HDL), que converte o colesterol presente em quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), LDL e tecidos periféricos em ésteres de colesterol, transportando-os para o fígado para serem metabolizados, reduzindo assim os níveis de colesterol sanguíneo; e pelo aumento da atividade da enzima lipase lipoprotéica, que remove os ácidos graxos dos triacilgliceróis presentes em quilomícrons e VLDL para o tecido adiposo, resultando numa redução dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis (SILVA et al, 2001). Vários estudos em humanos também mostram uma correlação negativa entre consumo de flavonóides e incidência de aterosclerose. Hertog et al., 1993, avaliou a ingestão de flavonóides em 805 homens com idade entre 65-84 anos por um período de cinco anos e observou que a ingestão diária de flavonóides foi significativamente inversa à mortalidade por doenças cardíacas coronarianas e à ocorrência de infarto agudo do miocárdio.

### **1.3 Gênero *Byrsonima***

O gênero *Byrsonima* é composto de aproximadamente 150 espécies, cuja maioria se encontra na América do Sul. No Brasil, as espécies são encontradas principalmente no norte, nordeste e região central, podendo também ser encontradas em algumas regiões serranas do sudeste, onde

apresentam caracteres típicos das plantas do cerrado. São geralmente arbóreas, com galhos retorcidos e porte médio, podendo chegar a 7 metros de altura (CARDOSO, 2006).

As espécies desse gênero são comumente conhecidas como “murucis” e distinguem-se umas das outras pelas cores e locais de ocorrência. Dependendo da cor e da região onde crescem, recebem o nome de “muruci branco”, “muruci amarelo”, “muruci vermelho”, “muruci chapada”, “muruci do brejo”, “muruci da mata”, “muruci da várzea” entre outros. São plantas de fácil adaptação, desenvolvem-se bem em solos areno-argilosos, com clima quente e boa ventilação, cuja fase de floração e frutificação ocorre durante todo o ano, dependendo da ocorrência das chuvas. O cultivo dessas plantas ainda é bastante rudimentar, não existindo dados e parâmetros agronômicos seguros (CARDOSO, 2006).

A madeira das espécies deste gênero é leve e utilizada na construção civil para a fabricação de caibros e vigas, enquanto a casca de algumas espécies contém muito tanino e matéria tintorial, tendo sido empregadas, no passado, para curtume e para tingir tecidos. Com flores vistosas, frutos que atraem aves pelo rápido crescimento, tais espécies têm grande potencial como plantas ornamentais e também são úteis na recuperação de áreas degradadas (VICENTINI; ANDERSON, 1999). A investigação fitoquímica do gênero *Byrsonima*, ao longo do tempo, tem revelado a presença de esteróides, triterpenos, ésteres aromáticos, aminoácidos, proantocianidinas, flavonóides e catequinas (BONZANI, 1970; AMARQUAYE et al., 1994; BEJAR et al., 1995; GEISS, 1995; RASTRELLI et al., 1997; MENDES et al., 1999). Os triterpenos

que representam a classe de substâncias naturais de ocorrência mais freqüente no gênero (FELÍCIO, 1995).

As espécies deste gênero são comumente utilizadas como antiasmáticas, antifebris e no tratamento de infecções cutâneas (CACERES et al., 1993). A casca é relatada para diversos usos medicinais, desde picadas de cobras a inflamação da garganta. (ANDERSON, 1981). As folhas geralmente são utilizadas na forma de infusões para o tratamento de úlceras, como diuréticos e para outras enfermidades (BRITO et al., 2003).

## **2. JUSTIFICATIVA**

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo, (ACCIOLY, 2002) sendo a aterosclerose considerada um problema de saúde pública, por ser uma doença que leva ao espessamento da parede e diminuição da elasticidade vascular (FERNANDES, 2004). A aterosclerose é a principal causa que predispõe infartos do miocárdio, acidentes vasculares cerebrais, doenças vasculares periféricas. É uma doença de lento desenvolvimento, com início precoce e tem o ateroma, que é depósito de lipídeos na íntima do vaso como característica. O início do processo aterosclerótico é desencadeado pela oxidação das moléculas de lipídeo que ficam circulante no plasma, essa oxidação acontece devido à atuação de radicais livres, moléculas de oxigênio modificadas que vão lesar ou desencadear alterações que vão causar patologias (aneurisma, infarto do miocárdio, gangrena, trombose). Os fatores e ações que desencadeiam a formação excessiva de radicais livres são tabagismo, etilismo, exercício físico, estresse. (PRADO, 2001)

Nesse contexto, novas tendências globais de uma preocupação com a biodiversidade e as idéias de desenvolvimento sustentável trouxeram novos ares ao estudo das plantas medicinais brasileiras. Novas linhas de pesquisa foram estabelecidas em Universidades brasileiras, algumas delas buscando bases mais sólidas para a validação científica do uso de plantas medicinais (LORENZI et al, 2002). Muitas das propriedades terapêuticas das plantas são relatadas pela população, as quais são confirmadas em sua maioria nos estudos científicos, comprovando a importância da pesquisa etnofarmacológica. Tais propriedades propiciaram o desenvolvimento de vários medicamentos (Maciel et al., 2002; Simões et al., 2002; Hostettmann, 2003). Assim, a busca de fontes naturais para conhecimento e aplicação de novos princípios ativos vem se caracterizando como uma das mais promissoras soluções do ponto de vista farmacêutico, e pode corresponder a uma importante área de exploração da biodiversidade nacional (MARQUES, 2006).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral:

Estudar o Efeito hipolipidêmico de um extrato seco de *Byrsonima Japurensis* em ratos Wistar

#### 3.2 Específicos:

- Conhecer o efeito da administração oral de um extrato padronizado de *Byrsonima Japurensis* sobre a hiperlipidemia induzida por uma solução hiperlipídica em ratos *Wistar*.

- Avaliar a atividade hipolipidêmica de um extrato padronizado de *Byrsonima Japurensis* sobre a hiperlipidemia induzida por dieta rica em colesterol em ratos da raça *Wistar*.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Preparação do Extrato:**

O extrato foi preparado segundo Souza., et al. (2008), pesaram-se 50 gramas do pó da planta e para uma solução de etanol a 40% e obteve-se um extrato de 500 mL. Colocou-se o pó da planta e o etanol em um balão de fundo redondo e levou-se a decocção sob refluxo num período de 15 min. Após 15 minutos o balão foi colocado para resfriar em água corrente, filtrou-se em pano e depois à vácuo. Colocou-se em um balão de 500 ml e completou-se o volume com a solução de etanol a 40%. Transferiu-se para um béquer adicionando-se 1,345 gramas de goma arábica (sob agitação constante e com o auxílio do agitador magnético) e será levado-se ao spray drier.

### **4.2 Animais**

Os ratos machos (linhagem Wistar) utilizados no experimento foram provenientes do biotério da Universidade Federal do Amazonas – UFAM. Os animais foram divididos em cinco grupos com seis animais cada, e acondicionados em gaiolas, em sala fechada e isolada, umidade  $60\pm 10$ , temperatura de  $22\pm 2$ , controlada por ar-condicionado. Todos animais foram manipulados de acordo com “Os Princípios Éticos da Experimentação Animal da União Internacional Protetora dos Animais” e da lei 6638 de maio de 1979.

### **4.3 Efeito hipolipidêmico após indução por dieta hipercolesterolêmica**

O Efeito hipolipidêmico após indução por dieta hipercolesterolêmica foi realizado segundo Seok, et al., (2004), no qual vinte ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos com cinco animais cada. Após 1 semana de aclimação, foi incorporada a dieta-padrão dos animais, 2,0% de colesterol, 0,5% de ácido cólico e 0,1% de Propiluracil e 10% de banha de porco durante 35 dias. O animais foram então separados em 4 grupos. Grupo I – que recebeu apenas a dieta hipercolesterolêmica sem nenhum tratamento; Grupo II- o qual foi administrado solução de Xenical 50mg diluídos na água administrada aos animais diariamente juntamente com a dieta hipercolesterolêmica, e os Grupos III e IV – para os quais foram administrados e extrato padronizados de *Byrsonima Japurensis Kunth* nas concentrações de 50mg e 100mg respectivamente, diluídos na água administrada aos animais junto a dieta hipercolesterolêmica. A dieta padrão foi retirada 10h antes de cada amostragem de sangue que foram coletadas por punção cardíaca a cada 7 dias durante um mês.

### **4.4 Efeito da administração oral do extrato de *B. japurensis*, pós sobrecarga de triglicerídeos, sobre a trigliceridemia em ratos *Wistar*.**

Após 1 semana de aclimação. Quinze ratos foram divididos em três grupos. Grupo I – realizou-se coleta de sangue por punção cardíaca, em seguida administrou-se 500µl/100g de solução salina, após trinta minutos administrou-se 500µl/100g da solução hipercolesterolêmica ( 1:1 banha de porco/óleo de oliva, 20mg/mL de colesterol e 20mg/mL de ácido cólico ). Grupo

II – realizou-se coleta de sangue por punção cardíaca, em seguida administrou-se 500µl/100g do extrato de *Byrsonima Japurensis Kunth* (100mg/kg), após trinta minutos administrou-se 500µl/100g da solução hipercolesterolêmica. Grupo III- realizou-se coleta de sangue por punção cardíaca, em seguida administrou-se 500µl/100g de Xenical (10mg/kg), após trinta minutos administrou-se 500µl/100g da solução hipercolesterolêmica. Foram realizadas quatro coletas de sangue nos animais dos três grupos nos tempos: 0h, 2h, 4h e 6h.

#### **4.5 Dosagens bioquímicas dos marcadores de hipercolesterolemia**

O colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e triglicérides em amostras séricas foram determinados colorimetricamente e enzimaticamente utilizando ensaio kits comerciais (Labtest, Minas Gerais, Brasil). Será utilizado o equipamento automatizado Cobas Mira Plus (Roche).

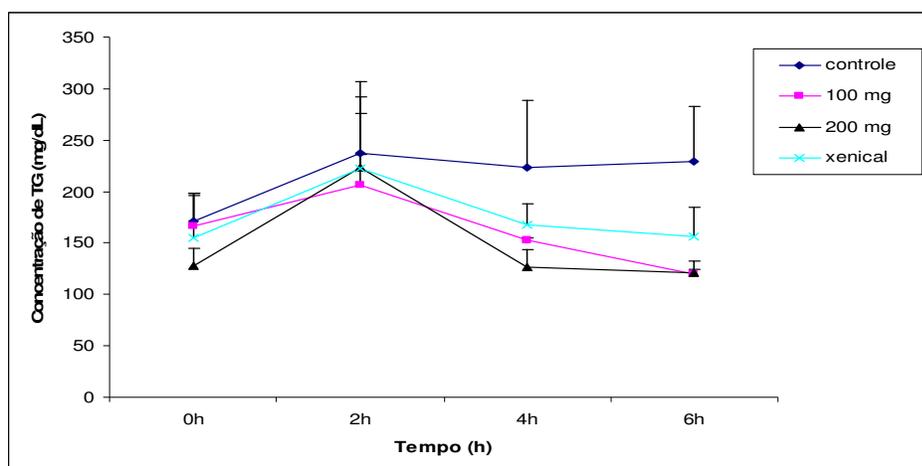
#### **4.6 Análise estatística dos dados**

Os resultados obtidos foram analisados com o programa SigmaStat (versão 3.5 para Windows; Systat Software, San Jose, California, EUA), expressos como média  $\pm$  desvio padrão e apresentados na forma gráfica por utilização do programa Excel (Microsoft®; Seattle, Washington, EUA). A comparação de mais de um grupo foi realizada utilizando um teste de análise de variância (ANOVA) e a comparação entre dois grupos foi realizado através do teste *t de student*. Utilizou-se um nível de significância de  $p < 0,05$ .

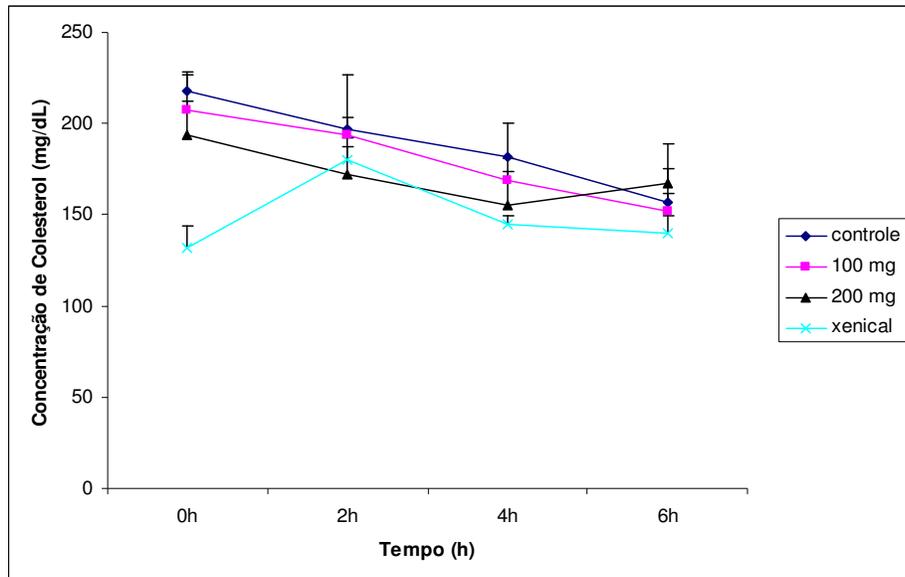
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo avaliou-se o extrato de *B. japurensis*, pós sobrecarga de triglicerídeos o qual demonstrou possuir atividade sobre a trigliceremia em ratos *Wistar* em teste agudo com administração de uma solução hipercoleterolêmica num período de 6h de experimento (Figura 1), o que não foi observado de forma significativa sobre a colesterolemia (Figura 2). Observou-se níveis elevados de triglicerídeos no decorrer do tempo, e a redução desses níveis nos animais aos quais se administrou o extrato de *B. japurensis* (100mg/kg e 200mg/kg) a partir de 4h de experimento, sendo a inibição 31,39% e 43,05% nas doses de 100mg/kg e 200mg/kg respectivamente, 4h após a administração da solução hiperlipídica (Figura 3), o que pode ser explicado pela possível inibição da lipase pancreática. Na colesterolemia, não houve redução significativa (Figura 4).

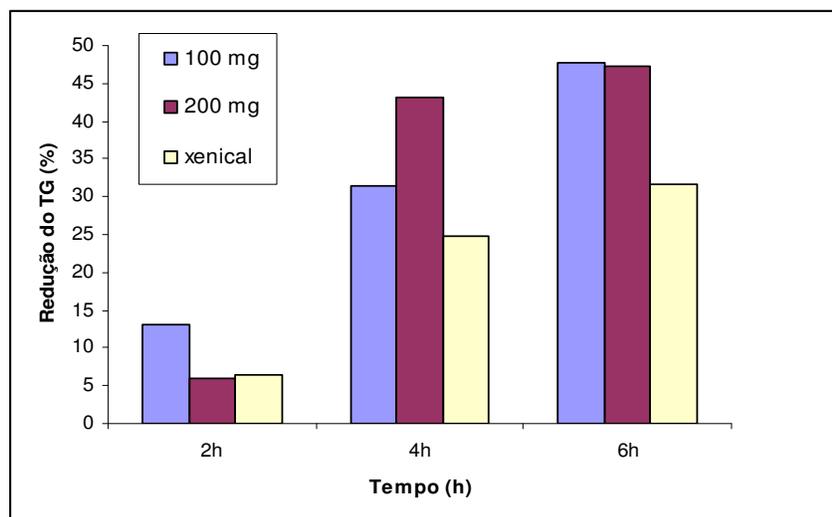
**Figura 1.** Efeito da administração oral de extratos de *B. japurensis* ( 100 e 200 mg/kg de peso) e Xenical (10 mg/kg de peso), pós-sobrecarga de triglicerídeos, sobre a trigliceridemia em ratos *Wistar*.



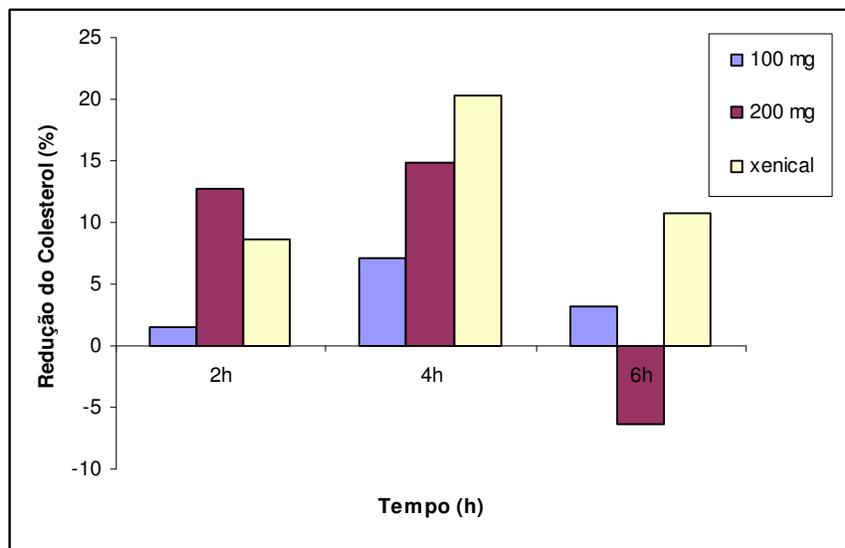
**Figura 2.** Efeito da administração oral de extratos de *B. japurensis* (100 e 200 mg/kg de peso) e Xenical (10 mg/kg de peso), pós-sobrecarga de triglicerídeos, sobre a colesterolemia em ratos Wistar.



**Figura 3.** Efeito da administração oral de extratos de *B. japurensis* (100 e 200 mg/kg de peso) e Xenical (10 mg/kg de peso), pós sobrecarga de triglicerídeos, sobre a trigliceridemia em ratos Wistar.



**Figura 4.** Efeito da administração oral de extratos de *B. japurensis* ( 100 e 200 mg/kg de peso) e Xenical (10 mg/kg de peso), pós sobrecarga de triglicerídeos, sobre a trigliceridemia em ratos *Wistar*.

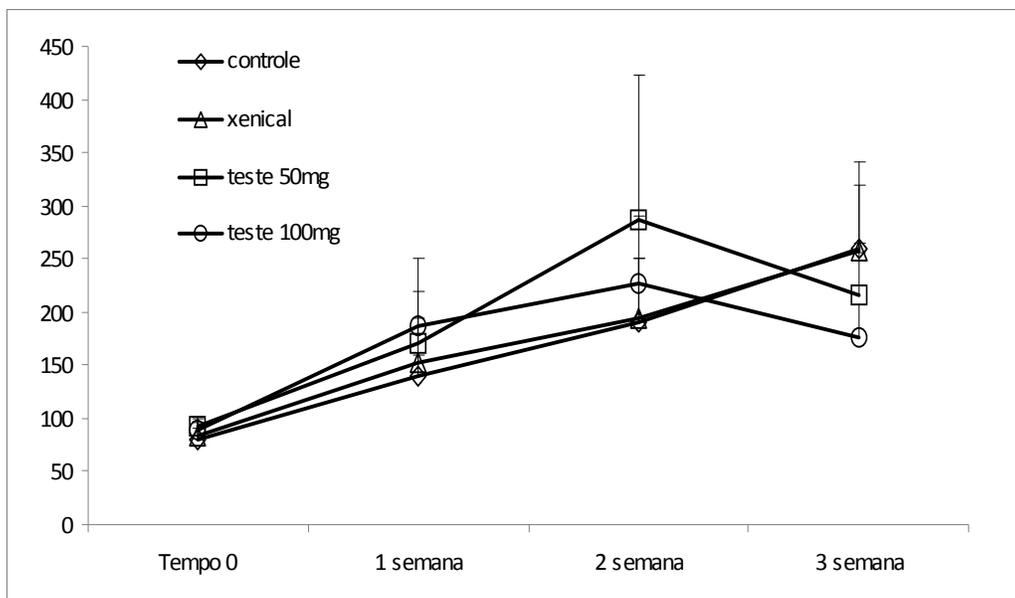


Vários trabalhos têm demonstrado a correlação entre as lipoproteínas ricas em triglicerídeos e a aterogênese. Karpe et al (1994), demonstraram que níveis plasmáticos pós-prandiais dos remanescentes pequenos dos quilomícrons correlacionam-se positivamente com a taxa de progressão da doença arterial coronariana. Isso porque cerca de 95% da gordura ingerida está na forma de triglicerídeos que são digeridos no estômago e no intestino pelas respectivas lipases. Tais produtos lipolíticos são solubilizados pelos ácidos biliares, formando micelas lipídicas absorvidas pelos enterócitos. Dentro destas células, os ácidos graxos livres e os monoglicerídeos são reesterificados, formando novamente os triglicerídeos que, no complexo de Golgi, formarão grandes moléculas (quilomícrons) através da adição de apolipoproteínas determinantes de características estruturais e funcionais (Apo B-48, A-I, A-II e A-IV). Os quilomícrons, por exocitose, são lançados nos espaços intercelulares e daí ganham a circulação sistêmica via vasos linfáticos.

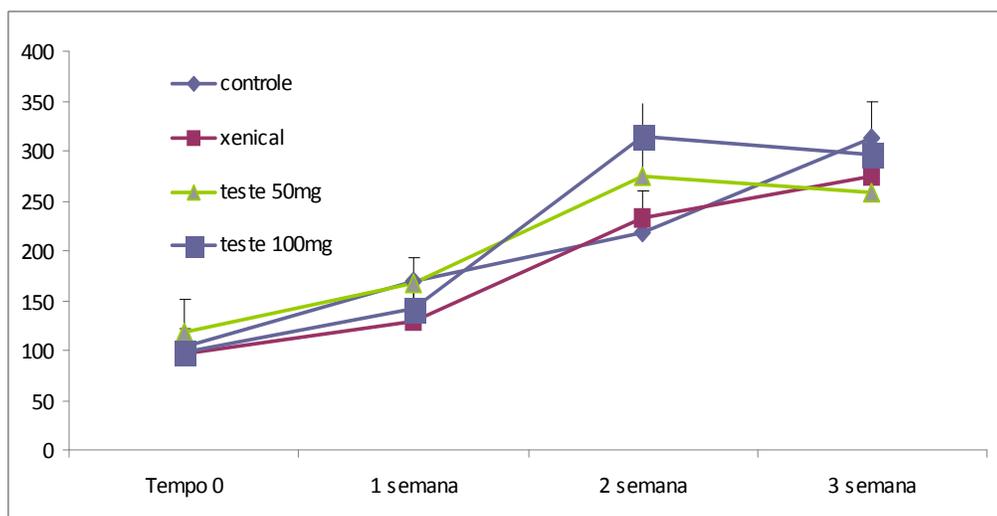
Seu catabolismo se inicia com a ação da lipase lipoprotéica localizada na superfície das células endoteliais e depende da presença da Apo C-II proveniente do HDL circulante. Cerca de 80 a 90% do triglicerídeo é degradado, reduzindo-se então o diâmetro dos quilomícrons de 50-500nm para 50-100nm. Apo A e C são transferidas juntamente com fosfolipídios para o HDL que, por sua vez, doa apo E aos remanescentes que têm papel importante no reconhecimento e captação desses remanescentes de quilomícrons pelo fígado. Nestes remanescentes ainda permanecem ésteres de colesterol e apo B-48 (COHN, 1998). Em função disso os resultados observados no experimento agudo reduzindo apenas os níveis de triglicerídeos em relação as de colesterol podem indicar que o mecanismo dessa redução seria por inibição de lípases pancreáticas, atividade esta demonstrada para este extrato pelo nosso grupo (dados não publicados).

No experimento crônico além do efeito hipolipidêmico foram também analisados os níveis de ácido úrico, glicose e TGO dos animais visando verificar outras alterações metabólicas ou tóxicas devido a administração do extrato. Quanto ao efeito hipolipidêmico após indução por dieta hipercolesterolêmica, avaliou-se que não houve diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeo nas doses utilizadas. (Figuras 5 e 6). Estes resultados negativos principalmente para os triglicerídeos podem ser explicados pela forma de administração do extrato, uma vez que no experimento agudo na administração foi realizada por gavagem e houve redução dos níveis plasmáticos de triglicerídeos, e no crônico o extrato foi diluído em água e administrado diariamente *ad libitum*. Outro fator que pode ter interferido nos resultados foi à

diluição dos extratos, que na maioria das vezes não se apresentou totalmente solubilizado, o que pode ter ocasionado perdas do princípio ativo da solução.

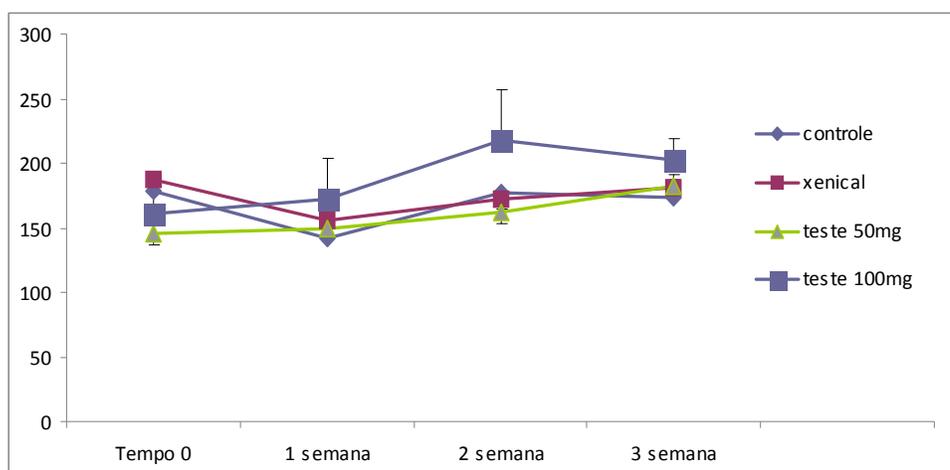


**Figura 5.** Efeito hipolipidêmico de *B. japurensis* ( 50 e 100 mg/kg de peso) e Xenical (50 mg/kg de peso) após indução por dieta hipercolesterolêmica sobre os níveis de Colesterol em ratos *Wistar*.

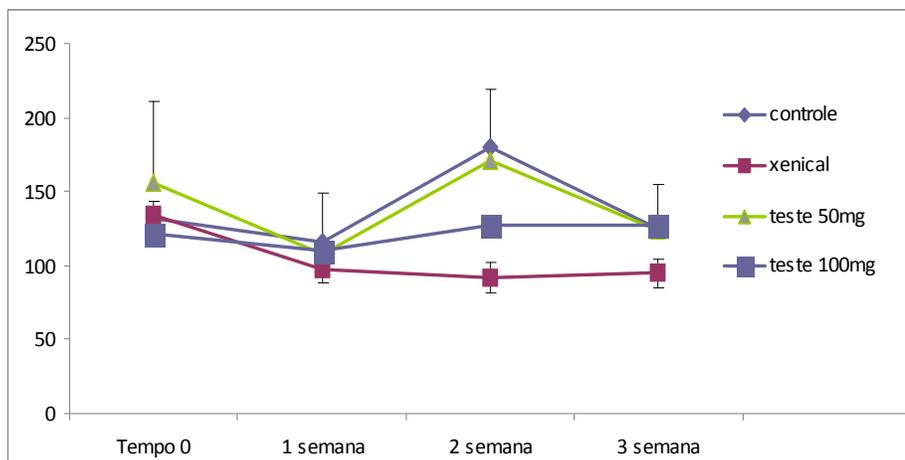


**Figura 6.** Efeito hipolipidêmico de *B. japurensis* ( 50 e 100 mg/kg de peso) e Xenical (50 mg/kg de peso) após indução por dieta hipercolesterolêmica sobre os níveis de Triglicerídeos em ratos *Wistar*.

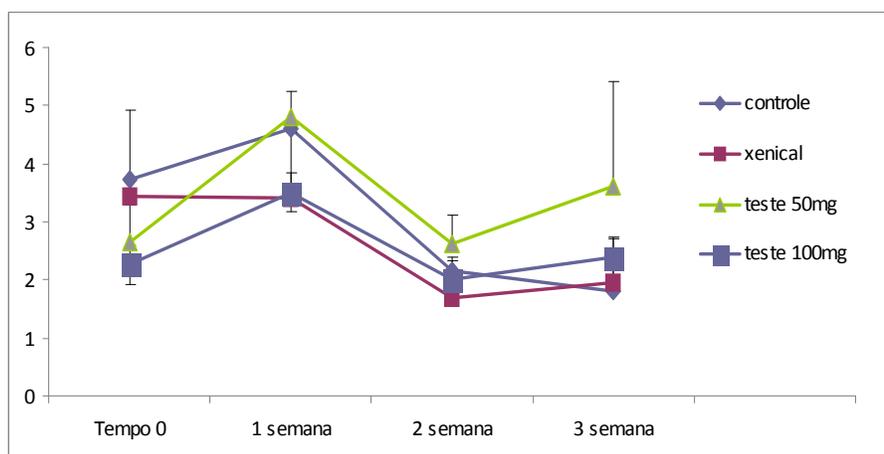
Não foi observado alterações nos níveis de glicose ( Figura 7), Ácido úrico (Figura 8) e TGO (Figura 9). Esses resultados indicam não haver alterações metabólicas significativas no caso dos níveis de glicose e ácido úrico e também parece não haver efeito hepatóxico significativo pelo uso crônico do extrato nas doses administradas indicados pela não alteração dos níveis de TGO.



**Figura 7.** Efeito hipolipidêmico de *B. japurensis* ( 50 e 100 mg/kg de peso) e Xenical (50 mg/kg de peso) após indução por dieta hipercolesterolêmica sobre os níveis de Glicose em ratos *Wistar*



**Figura 8.** Efeito hipolipidêmico de *B. japurensis* ( 50 e 100 mg/kg de peso) e Xenical (50 mg/kg de peso) após indução por dieta hipercolesterolêmica sobre os níveis de transaminase glutâmico oxalacética (TGO) em ratos Wistar.



**Figura 9 .** Efeito hipolipidêmico de *B. japurensis* ( 50 e 100 mg/kg de peso) e Xenical (50 mg/kg de peso) após indução por dieta hipercolesterolêmica sobre os níveis de Ácido úrico em ratos *Wistar*.

## 6. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que o extrato de *B. japurensis*, possui atividade hipolipemiante pós-sobrecarga de triglicerídeos em ratos *Wistar*, pois no experimento agudo houve redução dos níveis plasmáticos de triglicerídeos após administração da solução hiperlipídica após 4h, e em diferentes concentrações, contudo não houve redução significativa dos níveis de colesterol. No experimento crônico, a análise dos resultados não demonstrou diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeos nas doses utilizadas após indução por dieta hipercolesterolêmica. Nesses aspectos, os resultados obtidos corroboram aos achados previamente descritos para este extrato como inibição da lipase pancreática e podem servir como base para futuros trabalhos explorando o potencial hipolipemiante desta espécie, visando uma futura alternativa para o tratamento de hiperlipidemias,

## 7. CRONOGRAMA

Nº	Descrição	Ago 2009	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2010	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
	Estudo piloto	R	R	R	R								
	Teste com dieta hipercolesterolemica				R		R	R	R	R	R		
	Apresentação oral parcial				R								
	Elaboração do relatório parcial						R						
	Elaboração do Resumo e Relatório Final											R	
	Preparação da Apresentação Final para o Congresso												X

R = realizado; X = não realizado

## 8.REFERÊNCIAS

- AÇÃO COST 916 da União Européia. Componentes bioativos dos alimentos vegetais, 2001.
- ACCIOLY, Elizabeth et al. Efeito Antioxidante das vitaminas A,C,E e atergênese. *Revista Nutrição Brasil. Bimestral*, jul-ago.2002.
- ACHTANI, C.; AWTADE, A.; VASISHT, S. SRIVASTAVA, L.M. Effect of max EPA (fish oil) on lipoprotein and its receptors in hypercholesterolemic rabbits. *Mol Biol Int* 1995;37: 489-98.
- ADELSTEIN, R.; FERGUSON, L.D.; ROGERS, K.A. Effects of dietary N-3 fatty acid supplementation on lipoproteins and intimal foam cell accumulation in the casein-fed rabbit. *Clin Invest Med* 1992; 15: 71-81.
- AHERNE, S.A.; O`BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content and metabolism. *Nutrition* 2002; 18: 75-81.
- ALVES, M.J.Q.F.; MESQUITA, F.F.; SAKAGUTI, M.; TARDIVO, A.C. Efeito hipocolesterolêmico dos ácidos caféicos da própolis. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.10, n.1, p.100-105, 2008.
- AMARQUAYE, A.; CHE, C.T.; BEJAR, E. MALONE, M.H.; FONG, H.H.S. A new glycolipid from *Byrsonima crassifolia*. *Planta Med* 1994; 60(1): 85-86.
- AVIRAM, M.; ROSENBLAT, M.; BISGAIER, C.L. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J. Clin. Invest.*, v.101, p.1581-1590, 1998.
- BEECHER, G.R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 2003; 133 (10):3248S-3254S.
- BEJAR, E.; AMARQUAYE, A.; CHE, C.T.; MALONE, M.H.; FONG, H.H.S.; Constituents of *Byrsonima crassifolia* and their spasmogenic activity. *Int. J. Pharmacogn.*, vol. 33, p. 25, 1995.

- BRAGA, A.A.D.; BARLETA, V.C.N. Alimento Funcional: Uma Nova Abordagem Terapêutica das Dislipidemias como Prevenção da Doença Aterosclerótica. *Cadernos UniFOA, Volta Redonda*, ano 2, n.3, março, 2007.
- BRITO, A.R.M.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; Estudo químico preliminar do extrato polar de *Byrsonima crassa* (Malpighiaceae). Resumo apresentado à Sociedade Latino-Americana de Etnomedicina, 2003.
- BONZANI, J.;  $\beta$ -Amyrin in roots of *Byrsonima intermedia*. *Ver. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo*, vol. 8, n. 1, p. 53-67, 1970.
- CACERES, A.; FIGUEROSA, L.; TARACENA, A. M.; SAMAYOA, I.; J. *Ethnopharmacol.* 1993, 39, 77.
- CARDOSO, Silvana; PINTO, Wagner; REYES, Félix; AREAS, Miguel. Efeitos da polpa de laranja sobre lipídeos plasmáticos, capacidade antioxidante e parâmetros cardiovasculares em hamsters hipercolesterolêmicos. *Revista de Tecnologia e Higiene de los Alimentos*, 354: 121-124 – junho/2004.
- CERES, C.; ROMALDINI, Hugo; CARDOSO, Ary.L.; DIAMENT, Jayme; FORTI, Neusa. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. *J Pediatr (Rio J)*. 2004; 80(2):135-40.
- COHN, JS. Postprandial lipemia: emerging evidence for atherogenicity of remnant lipoproteins. *Can J Cardiol* 1998;14 (Suppl B):18B-27B.
- DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A.A.; CAPASSO, F. Review article: Flavonoids – Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 1999; 65(4): 337-53.

- ELIAS, M.C.; ITO, M. T.; SLEIMAN, J. Atualizações no Tratamento Dietoterápico das Dislipidemias. *Revista Nutrição Saúde e Performance: Anuário de Nutrição Clínica*. a.3.n.13.out-nov. São Paulo, 2001.
- FELÍCIO, J.D.; GONÇALEZ, E.; LINS, A.L.; BRAGGIO, M.M; DAVID, J.M.. *Arq. Inst. Biol.* 1995, 62, 91.
- FERNANDES, Ana et al. Influência da dieta hipercalórica sobre parâmetros bioquímicos séricos, hepáticos, cardíacos em ratos. *Nutrição em Pauta. Bimestral*, mar-abr, São Paulo, 2004.
- FUHRMAN, Bianca.; AVISHAY, Elis.; AVIRAM, Michael. Hypocholesterolemic Effect of Lycopene and b-Carotene Is Related to Suppression of Cholesterol Synthesis and Augmentation of LDL Receptor Activity in Macrophages. *Biochemical and Biophysical Reserch Communications* 233, 658-662 (1997).
- GARG, V.K. and DOUGLAS, T.K. (1983) in Hydroxy-methylglu- taryl Coenzyme A Reductase (Sabine, J. R., Ed.), pp. 29-37, CRC Press, Boca Raton, FL.
- GEISS, F; HEINRICH, M.; HUNKLER, D.; RIMPLER, H.; Proanthocyanidins with (+)- epicatechin units from *Byrsonima crassifolia* bark. *Phytochem.*, vol. 39, p. 635-643, 1995.
- GOLDSTEIN, J. L., and BROWN, M. S. (1990) *Nature* 343, 425-430.
- HARBONE, J.F; WILLIAMS, C.A. Review - Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 2000; 55:481-504.
- HERTOG, M.G.L.; KROMHOUT, D.; ARAVANIS, C.; BLACKBURN, H.; BUZINA, R.;FIDANZA. Flavonoids intake and long term risk of coronary heart disease 34 and cancer in the Seven Countires study. *Arch. Interm. Med.*, v.155, p.381-386, 1995.

- HERTOG, M.; HOLLMAN, P.; KATAN, M.; KROMHOUT, D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands. *Nutrition and Cancer*, v.20, p.21-29, 1993.
- HOSTETTMANN, K. History of a plant: the example of Echinacea. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd* 2003; 10 (1): 9-12.
- JORGE, Paulo.; NEYRA, Regina.; OZAKI, Eros. Efeito dos Ácidos Graxos Ômega-3 sobre o Relaxamento-Dependente do Endotélio em Coelhos Hipercolesterolêmicos. *Arq Bras Cardiol*, volume 69 (nº 1), 13-18, 1997.
- KARPEF.; STEINER, G.; UFFELMAN, K.; OLIVECRONA, T.; HAMSTAN, A. Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1994;106:83-97.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais no Brasil nativas e exóticas. *Intituto Plantarium* 2002; 16.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Quím. Nova* 2002; 25(3): 429-38.
- MARQUES, V.A.A. Investigação dos efeitos do extrato bruto de *Tabebuia avellanedae* e do principio ativo isolado 'beta'-Lapachona sobre alguns parametros imunologicos em camundongos portadores do tumor ascitico de Ehrlich. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),SP,2006.
- MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de nutricion*, 50: , 5-18, 2000.

- MENDES, C.C.; CRUZ, F.G.; DAVID, J.M.; NASCIMENTO, I.P.; DAVID, J.P.;  
Triterpenes esterified with fatty acid and triterpene acids isolated from  
Byrsonima microphylla. *Quim. Nova*, vol. 22, p.185, 1999.
- METZE, K.; MONTENEGRO, M.R. Artérias, veias e linfáticos. In: BRASILEIRO  
FILHO, Geraldo. *Bogliolo Patologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,  
2000.
- MORENO, F.S.; ROSSIELLO, M.R.; MANJESHWAR, S. NATH, R.; RAO, R.M.;  
SARMA, D.R. (1995) *Cancer Letters* 96, 201-208.
- MOURA, Maysa. Papel do flavonóide diocleína no desenvolvimento de  
aterosclerose em camundongos deficientes no gene que codifica a  
apolipoproteína E. Tese (Mestrado) - Faculdade de Farmácia. Universidade  
Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, 2006.
- PAGE-ASCIAK, C.R.; HAHN, D.; SOLEAS, G.D. The red wine phenolics trans-  
resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid  
synthesis: implication for protection in against coronary heart disease. *Clin  
Chim Acta* 1995; 219: 207-19.
- PASCHOAL, Valéria. Alimentos para a saúde. *Revista Sadia Light*. dez. São  
Paulo, 2001.
- PERES, W. Radicais livres em níveis biológicos. Brasil: Ed. Universidade  
Católica de Pelotas 1994. p.49-81.
- PHILLIPSON, B.E.; ROTHOROCK, D.W.; CONNOR, W.E.; HARRIS, W.S.;  
ILLINGWORTH, D.R. Reduction of plasma lipids, lipoproteins, and  
apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl J  
Med* 1985; 312: 1210

- PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M. F.; GOLLUCKE, A. P. B. Alimentos Funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela, 2005.
- PORRINI, M.; RISO, P.; TESTOLIN, G. Absorption of lycopene from single or daily portions of raw and processed tomato. *Br J Nutr* 1998;80:4:353-61.
- PRADO, F. Cintra; RAMOS, Jairo; VALLE, J. Atualização Terapêutica. Ed. 20. São Paulo: Artes Médicas, 2001.
- RASTRELLI, R.; TOMMASI, N.; BERGER, I.; CACERES, A.; SARAVIA, A.; SIMONE, F., Glycolipids from *Byrsonima crassifolia*. *Phytochem.*, vol. 45, p. 647, 997.
- SEOK, Seung.; PARK, Jong.; CHOA, Sun.; CHOI, Song.; PARK, Jae. Cholesterol lowering effect of SG-GN3, the extract of salted and fermented small shrimps, *Acetes japonicus*, in Triton WR-1339 or high cholesterol-diet induced hypercholesterolemic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 91 (2004) 231–235.
- SIMÕES, C.M.O. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2002. p. 833.
- SHIMOKAWA, H.; LAM, J.Y.T.; CHESEBRO, J.H.; BOWIE, E.J.W.; VANHOUTE, P.M. Effects of dietary supplementation with cod-liver oil on endothelium-dependent response in porcine coronary arteries. *Circulation* 1987; 76: 898.
- SILVA, Rosimar.; OLIVEIRA, Tânia.; NAGEM, Tanus.; PINTO, Aloísio.; ALBINO, Luiz.; ALMEIDA, Márcia.; MORAES, George.; PINTO, José. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. ALAN v.51 n.3 Caracas set. 2001.
- SOUZA, Tatiane.; LIMA, Emerson.; PACHECO, Carolina. Projeto de Iniciação Científica. Desenvolvimento de Produto Seco por Aspersão de *Byrsonima*

japurensis (Malpighiaceae) e Avaliação da Atividade Inibitória da Lipase Pancreática. 2008.

VAN ACKER, S.A.; VAN BALEN, G.P.; VAN DEN BERG, D.J.; BAST, W.J.

Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem Pharmacol* 1998, 56(8): 935-43.

YANG, K.; LAMPRECHT, S.A.; LIU, Y. Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. *Carcinogenesis* 2000. 21: 1655- 60.

YANO, T.; MIZUGUCHI, K.; TANAKA, Y.; SATO, M. Effects of ethyl all-cis 5,8,14,17-icosapentaenoate on low density lipoprotein in rabbits. *Yakugaku-Zasshi* 1995; 115: 843-51.