Atividade hipolipidêmica do extrato de *Cordia salicifolia* em camundongos submetidos a dieta hiperlipidêmica

Hypolipidemic activity of Cordia salicifolia *extract in mice on a hyperlipidemic diet*

SILVIO CARDOZO – Acadêmico do Curso de Biomedicina – Centro Universitário Feevale.
LAURA RENATA DE BONA – Acadêmica do Curso de Biomedicina – Centro Universitário Feevale.
LÚCIA TEIXEIRA BARBOZA – Acadêmica do Curso de Biomedicina – Centro Universitário Feevale.
HUANDER FELIPE ANDREOLLA – Biomédico. Coordenador de Pesquisa Clínica – Gatroenterologia– HCPA.
ROSANGELA BOECK – Acadêmica do Curso de Biologia – Centro Universitário Feevale.
VINÍCIUS VIEIRA – Acadêmico do Curso de Biomedicina – Centro Universitário Feevale.
MIRIAM ALICE FRANTZ – Doutor. Professor Titular – Departamento de Biomedicina – Centro Universitário Feevale.
FERNANDO DALL PONTE MORISSO – Doutor. Professor Titular – Departamento de Química – Centro Universitário Feevale.
ADRIANA SIMON COITINHO – Doutora. Professora Titular – IPA.
REJANE GIACOMELLI TAVARES – Doutora. Professora titular.

Centro Universitário Feevale.

✉ Endereço para correspondência:
Rejane Giacomelli Tavares
Av. Grécia, 1100/1805
91350-070 – Porto Alegre, RS – Brasil
☎ (51) 9971-0259
(51) 3586-8800 ramal 9019
rejanetavares@feevale.br

RESUMO

Introdução: O objetivo do presente estudo foi analisar a eficácia da utilização da *Cordia salicifolia* em camundongos submetidos a dieta hiperlipidêmica, através do monitoramento dos índices sorológicos de colesterol e triglicerídeos. **Metodologia:** Para o experimento foram usados camundongos (*mus musculus*), com peso médio de 54 ± 5 g, e com idade de 50 ± 5 dias, que foram divididos em 4 grupos de 10 animais. Camundongos recebendo água e com dieta normal, camundongos recebendo água e com dieta hiperlipidêmica, camundongos com dieta normal e administração do extrato de *Cordia salicifolia* e camundongos com dieta hiperlipidêmica e administração do extrato de *Cordia salicifolia*. **Resultados e conclusões:** Houve redução nos níveis séricos de colesterol total, tanto no grupo que recebeu dieta normal + extrato como no grupo com dieta hiperlipidêmica + extrato. Também foi significativa a redução nos níveis séricos de triglicerídeos nos animais que receberam dieta hiperlipidêmica + extrato, quando comparados aos camundongos que receberam dieta hiperlipidêmica + água.

UNITERMOS: Cordia Salicifolia, Dislipidemia, Colesterol Total, Triglicerídeos.

ABSTRACT

Introduction: *The present study evaluates the effectiveness of* Cordia salicifolia *in reducing serum total cholesterol and triglyceride levels in mice on a hyperlipidemic diet.* ***Methodology:*** *40 specimens of mice (*Mus musculus, *mean weight 54 ±5 g and mean age 50 ± 5 days) were studied. They were divided into 4 groups of 10 animals each: mice on a normal diet receiving water, mice on a hyperlipidemic diet receiving water, mice on a normal diet receiving Cordia salicifolia extract, and mice on a hyperlipidemic diet receiving Cordia salicifolia extract.* ***Results and conclusion:*** *There was a serum total cholesterol reduction in the normal diet + extract group as well as in the hyperlipidemic diet + extract group. Also, the serum triglyceride reduction observed in animals on the hyperlipidemic diet + extract was significant as compared to mice on the hyperlipidemic diet + water.*

KEYWORDS: *Cordia Salicifolia, Lipid Disorder, Total Cholesterol, Triglycerides.*

INTRODUÇÃO

As dislipidemias são alterações metabólicas lipídicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo de lipídios que ocasionem repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas (1). Segundo a IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (1), essas podem ser classificadas em dislipidemias primárias ou secundárias.

As dislipidemias primárias são conseqüentes a causas genéticas, algumas só se manifestando em função da influência ambiental, devido à dieta inadequada e/ou ao sedentarismo. Essas englobam as hiperlipidemias e hipolipidemias. Já as dislipidemias secundárias são decorrentes de outras etiologias, e podem ser classificadas como: dislipidemia secundária a doenças, quando ocorrem como conseqüência de Diabetes Melito tipo 2, obesidade, hipotireoidismo e insuficiência renal crônica; dislipidemia secundária a medicamentos, quando são desencadeadas pelo uso de corticosteróides, ciclosporinas, isotretinoína ou anticoncepcionais orais e ainda em dislipidemia secundária a hábitos de vida inadequados, como tabagismo, etilismo, dieta e sedentarismo (1).

Uma importante observação a respeito da ocorrência das dislipemias é a sua relação com as doenças cardiovas-

Recebido: 3/7/2008 – Aprovado: 27/8/2008

10-220-atividade-hipolipidemica.pmd 182 15/10/2008, 11:00

culares. Durante os últimos 30 anos temos presenciado um declínio razoável da mortalidade por causas cardiovasculares, em países desenvolvidos, enquanto que elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido em países em desenvolvimento, dentre os quais o Brasil é um dos representantes. De acordo com as projeções da Organização Mundial de Saúde, essa tendência de elevação na doença cardiovascular tende a persistir, agravando ainda mais o quadro de morbidade e mortalidade elevadas nos países em desenvolvimento (1, 2).

Níveis elevados de LDL-colesterol e triglicerídeos, associados com níveis diminuídos de HDL-colesterol são fatores conhecidamente relacionados com o risco de doenças cardiovasculares (2, 3). Além disso, acúmulo de lipídios no fígado e nos músculos, decorrente de um excesso de ingestão calórica também induzem à produção de citocinas, como IL-6 e TNF-α, desencadeando o processo inflamatório, que também parece contribuir para o surgimento das doenças cardiovasculares (3).

Cordia salicifolia Cham, família *Boraginaceae*, ou *Cordia ecalyculata* Vell é popularmente conhecida pelos nomes de chá-de-bugre, porangaba, cafezinho, café-do-mato, chá-de-frade, louro-salgueiro e louro-mole, sendo bastante freqüente desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, tendo sido também encontrada na Argentina e no Paraguai (4). Sua utilização como medicinal é antiga, principalmente na forma de chá como diurético, estimulador da circulação, cardiotônico, diminuição de inchaço, diminuidor do apetite (no tratamento de obesidade), além de auxiliar na diminuição dos níveis de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG), prevenindo a deposição de gorduras nas artérias (4, 5, 6). Além das ações acima citadas, estudos demonstraram também sua atividade antiviral contra *Herpes simplex* tipo 1 (7) e antibacteriana contra *Helicobacter pylori* (8). Estudos químicos sobre a sua composição evidenciaram a presença de cafeína, alantoína, ácido alantóico e cloreto de potássio (4, 8).

Apesar de extensamente comercializada, a ponto de ser exportada para outros países, não se encontram na literatura dados comprovando efetivamente as suas atividades, principalmente as relacionadas com a ação hipolipidêmica, para a qual é bastante utilizada popularmente. Então, baseado no uso popular da *Cordia salicifolia,* este trabalho avaliou as alterações ocorrentes nos níveis séricos de colesterol total e triglicerídeos de camundongos submetidos a dieta sabidamente hiperlipidêmica, além de caracterizar os compostos químicos presentes, para estabelecer possíveis correlações entre os efeitos observados e o mecanismo de ação dos mesmos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal: Espécimes vegetais da *Cordia salicifolia* foram obtidos na área rural de Taquara, RS. As mesmas foram identificadas por botânico e armazenadas para secagem na sombra, em temperatura-ambiente. As espécies foram colhidas no mês de novembro e dezembro de 2007.

Preparo do extrato: Após seleção do material viável para o estudo, as amostras foram lavadas e posteriormente secadas e desidratadas em temperatura-ambiente, conforme técnica descrita por Costa e colaboradores (9). As folhas secas foram separadas e trituradas, sendo o pó utilizado para preparação do extrato alcoólico, onde foram colocadas 10g do material triturado e 10 vezes o peso do material em volume de etanol. Após maceração por 48h, o material foi filtrado para eliminação de resíduos e submetido à evaporação em rotavapor. O extrato seco foi pesado e reconstituído de forma a se obter uma solução 10 mg/ mL.

Análise fitoquímica: A análise fitoquímica foi realizada conforme descrito por Costa e colaboradores (9). Brevemente, foram analisados saponinas, alcalóides, heterosídeos cardiotônicos, compostos fenólicos, flavonóides, cumarinas, taninos e quinonóides.

Animais: Foram utilizados 40 camundongos *mus musculus*, machos, com peso médio de 54 ± 5 g, de 50 ± 5 dias de idade, fornecidos pelo biotério do Centro Universitário Feevale. Todos os procedimentos para o cuidado e uso dos animais estavam adotados de acordo com as regulamentações publicadas pela Sociedade Brasileira para Neurociência e Comportamento (SBNec), e os mesmos foram mantidos em caixas coletivas durante todo o período do experimento. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Feevale (nº 2.08.03.07.912). O número de animais foi calculado considerando uma margem de erro de 5 pontos percentuais e nível de confiança de 95%, sendo cada grupo constituído por 10 animais. Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos, cuja formação inicial foi mantida idêntica até o final do experimento, da seguinte forma: camundongos recebendo água e com dieta normal (grupo-controle normal), camundongos recebendo água e com dieta hiperlipidêmica (grupo-controle hiperlipidêmico), camundongos com dieta normal e administração do extrato de *Cordia salicifolia* e camundongos com dieta hiperlipidêmica e administração do extrato de *Cordia salicifolia.* Esses últimos receberam extrato de *Cordia salicifolia* (100 mg/kg/dia), por gavagem (1 administração diária), durante 15 dias. A dieta hiperlipidêmica e ração *ad libitum* foram administradas por um período inicial de 30 dias, para aumento dos níveis de colesterol e triglicerídeos, e também durante os 15 dias de tratamento.

Dieta hiperlipidêmica: A dieta hiperlipidêmica, previamente padronizada por Estadella (10), consistiu de uma mistura de alimentos hipercalóricos, na seguinte proporção: 15g de ração normocalórica Nuvilab (3,78 kcal/g); 10g de amendoim torrado (5,95 kcal/g); 10g de chocolate ao leite (5,4 kcal/g) e 5g de bolacha maizena (4,25 kcal/g). Esses ingredientes foram moídos, mis-

10-220-atividade-hipolipidemica.pmd 183 15/10/2008, 11:00

turados e oferecidos na forma de peletes, contendo por peso: 20% de proteína, 48% de carboidrato, 20% de lipídeos, 4% de celulose, 5% de vitaminas e minerais. O conteúdo energético da dieta hiperlipidêmica é de 21,4 kJ/g. A dieta normocalórica (controle) consistiu de ração comercial para ratos (Nuvilab®), contendo por peso: 19% de proteína, 56% de carboidrato, 3,5% de lipídeos, 4,5% de celulose, 5% de vitaminas e minerais, totalizando 17,03 kJ/g.

Dosagem de colesterol e triglicerídeos: O colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) foram dosados em soro, segundo métodos enzimáticos já padronizados no Laboratório de Biomedicina do Centro Universitário Feevale e disponíveis comercialmente, seguindo as instruções do fabricante dos *kits* (Labtest®). O sangue foi colhido no momento do sacrifício dos animais por decapitação, em tubos adequados. Os animais foram previamente submetidos a jejum prévio de 12 horas, para evitar possíveis interferentes nas dosagens.

Análise estatística: Os resultados foram expressos na forma de média ± desvio-padrão. Para análise estatística utilizou-se o teste da Anova (considerando significativo $p < 0,05$) seguido do teste de Tukey (GraphPad Prism 5.0) para comparação dos grupos entre si.

RESULTADOS

Após identificação botânica, foi realizada a triagem fitoquímica qualitativa da *Cordia salicifolia,* a partir do farmacógeno folhas, onde se observou a grande presença de alcalóides totais e saponinas, conforme descrito na Tabela 1. Nossos resultados são concordantes com estudo prévio de Saito e Oliveira (4), quando caracterizaram morfológica e quimicamente a espécie estudada.

Quando avaliada a ação do extrato de *Cordia salicifolia* no perfil lipídico dos animais, verificamos que esta foi capaz de diminuir tanto os níveis de CT (Figura 1), quanto os níveis de TG (Figura 2). A efetividade da dieta hiperlipidêmica no aumento das concentrações de CT e de TG também pode ser observada nas Figuras 1 e 2, respectivamente, quando comparamos o "grupo-controle normal" que recebeu a dieta normal e ingestão de água e o "grupo-controle hiperlipidêmico", que recebeu a dieta hiperlipidêmica e também a ingestão somente de água.

Tabela 1 – Composição química qualitativa da *Cordia salicifolia*

Composto	Resultado
Compostos fenólicos	negativo
Flavonóides (flavononas, flavonóis, flavonas)	negativo
Cumarinas	negativo
Taninos	negativo
Quinonóides (antraquinonas, naftoquinonas, benzoquinonas)	negativo
Saponinas	positivo
Alcalóides totais	positivo
Heterosídeos cardiotônicos (esteróides)	negativo
Heterosídeos cardiotônicos (deóxi-açúcares)	positivo
Mucilagens	negativo

DISCUSSÃO

Como já amplamente conhecido, as alterações no perfil lipídico (CT e TG) podem resultar em diversas doenças, entre elas as doenças cardiovasculares, promovendo a formação da placa de ateroma (11, 12). O principal achado desse estudo é que a dieta hiperlipidêmica, também conhecida como "dieta de cafeteria", resulta em um aumento nos níveis séricos tanto de CT quanto de TG, e que o uso do extrato aquoso de *Cordia salicifolia* promove uma diminuição significativa em ambos, de 24% e 50%, respectivamente. Resultados semelhantes ao do nosso estudo foram obtidos por Siqueira e colaboradores (6), onde se observou uma diminuição dos níveis de TG em torno de 20%. Nesse mesmo estudo, entretanto, não foram observadas variações nos níveis de CT. Esse achado pode ser explicado em função da menor dosagem utilizada (20 mg/kg/dia), bem como da menor duração do tratamento, sugerindo que os efeitos benéficos da planta possam ser decorrentes do uso mais prolongado da infusão (6). Para padronização da dose utilizada, como não existem na literatura relatos sobre a mesma, optou-se por utilizar a "experiência popular", o que resultou em uma dosagem de 100 mg/kg/dia.

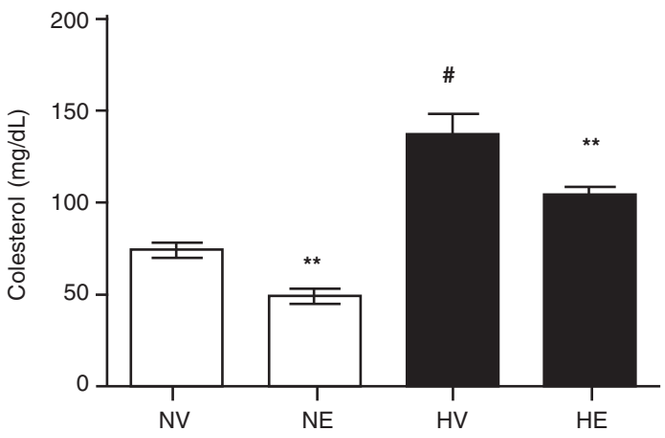


Figura 1– Efeito do extrato aquoso de *Cordia salicifolia* nos níveis séricos de colesterol total. Os dados estão expressos em média± SD (n=10), analisados por ANOVA, seguido do teste de Tukey. ** p

10-220-atividade-hipolipidemica.pmd 184 15/10/2008, 11:00

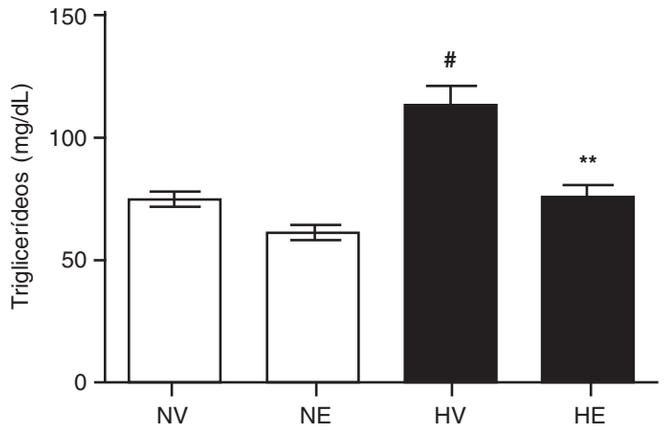


Figura 2 – Efeito do extrato aquoso de *Cordia salicifolia* nos níveis séricos de triglicerídeos. Os dados estão expressos em média± SD (n=10), analisados por ANOVA, seguido do teste de Tukey. ** p

Interessantes resultados foram obtidos quando avaliados os níveis de CT. Nossos dados demonstram que o extrato aquoso de *Cordia salicifolia* foi capaz de diminuir os níveis não somente dos animais submetidos a dieta hiperlipidêmica, mas também dos animais submetidos a dieta normocalórica.

A regulação dos níveis de CT plasmático envolve fatores que influenciam o metabolismo intracelular e extracelular do colesterol. As duas enzimas chaves envolvidas são a hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, enzima limitante da síntese do colesterol, e a acil CoA colesterol-O-aciltransferase, enzima que esterifica o colesterol livre utilizando ácido graxo para ser armazenado na célula como gotículas ou, no caso do fígado, ser incorporado às VLDL e "exportado" para o plasma. A inibição da enzima HMG-CoA redutase também leva a um aumento no número de receptores hepáticos para LDL e, conseqüentemente, diminui o nível plasmático de colesterol-LDL (13, 14, 15). Vários estudos utilizando plantas têm relacionado a ação hipocolesterolemiante das mesmas à inibição dessas enzimas, principalmente por flavonóides, comparando o seu mecanismo de ação com aquele já bem descrito das estatinas (13, 14, 15, 16).

Outros estudos relacionam ainda a atividade hipocolesterolemiante de determinadas plantas, como, por exemplo, *Ilex paraguariensis*, à atividade antioxidante dos seus constituintes, como flavonóides e cafeína, através da diminuição da lipoperoxidação e aumento da atividade das enzimas antioxidantes (12). Em relação a *Cordia salicifolia*, nosso estudo demonstrou a presença de alcalóides totais, dentro dos quais podemos citar a cafeína, bem como de saponinas, corroborando o estudo desenvolvido por Saito e Oliveira (4). Ainda sobre a composição química da espécie e ação farmacológica dos seus princípios ativos, embora se possa fazer uma associação entre o mecanismo proposto para *Ilex paraguariensis* e *Cordia salicifolia*, em decorrência da presença de cafeína em ambas, estudos para determinar o mecanismo exato ainda se fazem necessários.

TG são compostos de complexos agregados de lipoproteínas. A hipertrigliceridemia reflete os TGs contidos em lipoproteínas como VLDL, IDL e quilomícrons, lipoproteínas que também auxiliam no transporte de colesterol (17, 18). Em nosso estudo observamos a diminuição dos níveis de TG somente no grupo que estava em dieta hiperlipidêmica. Da mesma forma que o exposto para CT, o exato mecanismo de ação não pode ser indicado, entretanto pode-se sugerir que a diminuição observada seja uma conseqüência das alterações nos níveis de CT, ou ainda que os componentes da *Cordia salicifolia* possam exercer ação inibitória sobre a lipase salivar e pancreática, impedindo assim a absorção dos TGs advindos da dieta, e aumentando a excreção fecal dos mesmos. Outro mecanismo possível é a ativação da lipase lipoproteica, enzima responsável pela degradação de quilomícrons e VLDL.

Assim, nosso estudo colabora para a validação científica do uso popular de *Cordia salicifolia,* através da avaliação dos efeitos hipolipidêmicos da mesma. Entretanto, maiores estudos para a avaliação de seus efeitos na perda de peso, bem como para a elucidação dos possíveis mecanismos de ação envolvidos nestes achados, se fazem necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia). Arq. Bras. de Cardiologia 2007; 88 (I): 2-19.
2. Evans M, Roberts A, Daviers S, Rees A. Medical lipid-regulating therapy: current evidence ongoing trials and future developments. Drugs 2004; 64 (11): 1181-1196.
3. Matafome P, Monteiro P, Nunes E, Louro T, Amaral C, Moedas AR, Gonçalves L, Providência L, Seiça R. Therapeutic association of atorvastatin and insulin in cardiac ischemia: Study in a model os type 2 diabetes with hyperlipidemia. Pharmacol. Res. 2008; "no prelo". doi:10.1016/j.phrs.2008.07.005.
4. Saito ML, Oliveira F. Morfodiagnose e Identificação Cromatográfica em Camada Delgada de Chá de Bugre – *Cordia ecalyculata* Vell. Revista Brasileira de Farmácia 1986; 67: 1-16.
5. Matsunaga K, Sasaki S, Ohizume Y. Excitatory and inhibitory effects of paraguayan medicinal plants *Equisetum giganteum*, *Acanthpspermum australe*, *Allophylus edlis* and *Cordia salicifolia* on contraction of rabbit aorta and giuneapig left atrium. Natural Medicines 1997; 51: 478-81.
6. Siqueira VLD, Cortez DAG, Oliveira CE, Nakamura CV, Bazotte RB. Pharmacological studies of *Cordia salicifolia Cham* in normal and diabetic rats. Brazilian Ar-

10-220-atividade-hipolipidemica.pmd 185 15/10/2008, 11:00

chives of Biology and Technology 2006; 49 (2): 215-218.
7. Hayashi K, Hayashi T, Morita N, Niwayama S. Antiviral activity of an extract on *Cordia salicifolia* on herpes simples virus type 1. Planta Med 1990; 56 (5): 439-443.
8. Menghini L, Epifano F, Leporini L, Pagiotti R, Titilini B. Phytochemical investigation on leaf extract of *Cordia salicifolia* Cham. J Med Food 2008; 11(1): 193-194.
9. Costa AF. Farmacognosia. 3.ed. v. 3 Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 2001, 1032 p.
10. Estadella D. Efeitos da dieta de cafeteria e de ciclos alternados de dieta padrão com dieta de cafeteria sobre o metabolismo de ratos sedentários ou exercitados. Dissertação Mestrado em Nutrição. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, 2001.
11. Gus I, Fischmann A, Medina C. Prevalência dos Fatores de Risco da Doença Arterial Coronariana no Estado do Rio Grande do Sul (Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul). Arq. Bras. de Cardiologia 2002; 78 (5): 478-83.
12. Stein FLP, Schmidt B, Furlong EB, Souza-Soares LA, Soares MC, Vaz MR, Muccillo Baisch AL. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. Biological Research For Nursing 2005; 7 (2): 146-56.
13. Silva RR, Oliveira TT, Nagem TJ, Pinto AS, Albino LFT, Almeida MR, Moraes GHK, Pinto JG. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringina e rutina. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2001; 51 (3): 258-264.
14. Rosendo AB, Dal-Pizzol F, Fiegenbaum M, Almeida S. Farmacogenética e Efeito Antiinflamatório dos Inibidores da HMG-CoA Redutase. Arq Bras Endocrinol Metab 2007; 51 (4): 520-525.
15. Bursill CA, Abbey M, Roach PD. A green tea extract lowers plasma cholesterol by inhibiting cholesterol synthesis and upregulating the LDL receptor in the cholesterol-fed rabbit. Atherosclerosis 2007; 193 (1): 86-93.
16. Oliveira TT, Gomes SM, Nagem TJ, Costa NMB, Secom PR. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. Revista de Nutrição de Campinas 2002; 15 (1): 45-51.
17. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (Sociedade Brasileira de Cardiologia). Arq. Bras. de Cardiologia 2005; 84 (I): 1-28.
18. Castelli WP. The triglyceride issue: a view from Framingham. Am Heart Journal 1986; 112 (2): 432-437.

10-220-atividade-hipolipidemica.pmd 186 15/10/2008, 11:00