

Compostos fenólicos da casca de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos e efeitos do extrato aquoso no perfil lipídico, glicêmico e na lipoperoxidação em ratos diabéticos

GROCHANKE, B.S.^{1,2}; GEHRKE, I.T.S.^{1*}; GOETTEMES-FIORIN, P.B.^{1,2}; BRUXEL, M.A.³; BASSO, E.G.P.^{1,2}; HECK, T.G.^{1,4}; LUDWIG, M.S.^{1,4}

¹ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI) – Departamento de Ciências da Vida (DCVida), 98700-000 Ijuí – RS, Brasil ² Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS), 90050-170 Porto Alegre – RS, Brasil. ³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia (PPGFisio), 90050-170 Porto Alegre – RS, Brasil. ⁴ Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI) – Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS), 98700-000 Ijuí – RS, Brasil. *Autor para correspondência: ilaine@unijui.edu.br

RESUMO: A preocupação com o tratamento do Diabetes *mellitus* (DM) leva a uma crescente busca por terapias alternativas, como o uso de plantas medicinais, entre as quais, destaca-se o uso de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (popular Ipê roxo). Neste estudo realizamos a investigação química da presença de compostos fenólicos em *H. heptaphyllus* e o efeito do tratamento com o extrato aquoso da casca desta planta em parâmetros bioquímicos e nos níveis de lipoperoxidação tecidual e plasmática em animais diabéticos. Metodologia: Ratos Wistar machos foram submetidos ao desenvolvimento do quadro de DM por meio da administração intraperitoneal (IP) de Aloxano monohidrato (150 mg/Kg IP). Após a confirmação de hiperglicemia (>200 mg dL⁻¹), os animais foram distribuídos nos grupos Diabético (D; n=6) e Diabético Tratado (DT; n=6). O tratamento consistiu na administração diária do extrato aquoso da casca de *H. heptaphyllus* via oral (v.o.) (150mg/Kg v.o.) por quatro semanas. O extrato aquoso foi analisado qualitativamente por cromatografia de camada delgada. Resultados: A análise qualitativa do extrato aquoso da casca indicou a presença de compostos fenólicos da subclasse flavonoides. O tratamento com o extrato aquoso reduziu a glicemia de jejum a partir da 3ª semana de tratamento, melhorou a resposta glicêmica à sobrecarga de glicose, diminuiu os níveis de triglicerídeos e índice LDL (Triglicerídeos/HDL). Estes resultados sugerem o uso terapêutico do extrato aquoso das cascas de *H. heptaphyllus* no tratamento do DM.

Palavras-chave: lipoperoxidação, diabetes, plantas medicinais, *Handroanthus heptaphyllus*, Ipê roxo.

ABSTRACT: Phenolic compounds from *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos bark and effects of aqueous extract on lipid profile, glucose, and lipid peroxidation in diabetic rats. Alternative medicine for diabetes mellitus (DM) treatment represents a growing research area on the use of medicinal plants, of which *Handroanthus heptaphyllus* (mart.) Mattos (popularly known as purple ipe) is most prominent. In this study, we investigated the presence of phenolic compounds and the effects of treatment with aqueous extract of in *H. heptaphyllus* in biochemical profile in plasma and the levels of lipid peroxidation in tissues and plasma in diabetic animals. Male Wistar rats were induced to develop DM through intraperitoneal (IP) administration of alloxan monohydrate (150 mg/kg IP). Once hyperglycemia (>200 mg dL⁻¹) was confirmed, the animals were divided into the Diabetic (D; n=6) and Treated Diabetic (TD; n=6) groups. The TD group received daily administration (150 mg/kg v.o.) of aqueous extract of *H. heptaphyllus* for four weeks. The aqueous extract was also analyzed qualitatively by layer chromatography. Qualitative analysis of the aqueous extract of the bark indicated the presence of phenolic compounds from the flavonoid subclass. The treatment with the aqueous extract reduced fasting blood glucose levels from the third week of treatment on, improved the glycemic response to the glucose tolerance test, and lowered the levels of triglycerides and the LDL

index (triglycerides/HDL). These findings suggest therapeutic use of the aqueous extract of *H. heptaphyllus* bark in treating DM.

Keywords: diabetes, lipid peroxidation, medicinal plants, *Handroanthus heptaphyllus*, purple ipe.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais representa uma possibilidade de acesso a terapias de menor custo para o tratamento de doenças, especialmente as crônicas não transmissíveis, sendo uma alternativa adotada frequentemente pela sociedade (Simões, 1999). A utilização popular de plantas no tratamento alternativo e/ou complementar de doenças crônicas como o Diabetes *mellitus* (DM) aponta para a necessidade de investigações químicas, experimentais e clínicas voltadas à validação das propriedades terapêuticas destas. No Brasil, cerca de 200 plantas já foram descritas como sendo utilizadas pela comunidade no tratamento do DM, com o intuito de reduzir hiperglicemia e amenizar as complicações da doença e suas comorbidades (Barbosa-Filho et al., 2005).

Entre as plantas utilizadas pela população para o tratamento do diabetes destaca-se a *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (sinônimo de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo), conhecida na região sul do Brasil como Ipê roxo (Grose & Olmstead, 2007). A *Handroanthus heptaphyllus*, pertence à família botânica Bignoniaceae, sendo utilizada empiricamente para o tratamento do DM (Lorenzi & Matos, 2008; Simões et al., 1998) com alegação de potencial antioxidante e de regulação glicêmica (Ishige et al., 2001; Lopes et al., 2000; Neto & Moraes, 2003), contudo há poucos estudos relativos às características químicas da planta e seus efeitos em modelos experimentais com vista ao tratamento de DM. Para tal, investigamos a presença de compostos fenólicos na casca de *Handroanthus heptaphyllus*, que agregam potencial antioxidante da planta, e avaliamos o efeito do tratamento com extrato aquoso da mesma sobre parâmetros bioquímicos no plasma, e sobre a lipoperoxidação tecidual e plasmática, em animais diabéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 26 ratos da linhagem Wistar, machos, adultos, provenientes do Biotério da UNIJUÍ, com idade de 2,5 meses, mantidos em gaiolas semi-metabólicas forradas com maravalha, em ambiente com temperatura controlada (22 ± 2 °C), umidade relativa do ar entre 50% e 60% e iluminação artificial com ciclos de 12/12 horas de claro/escuro. Os animais receberam ração padronizada (Nuvilab CR-1) e água *ad libitum*.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da UNIJUI, conforme Parecer Consubstanciado N°. 016/2014.

Delineamento experimental

O tratamento foi iniciado a partir da confirmação do quadro de diabetes (glicemia > 200 mg dL⁻¹). Na primeira semana experimental (T=0) foi realizada a coleta de dados relativos ao peso e glicemia dos animais e consumo de água e ração. Na segunda semana foi administrado Aloxano monohidrato (150 mg/kg) para indução do diabetes mellitus (IND) e na terceira semana, houve a confirmação do quadro diabético dos animais (CONF).

Doze (12) animais foram efetivamente incluídos no estudo e divididos em dois grupos: Diabético (D; n=6) e Diabético Tratado (DT; n=6), sendo que o grupo D recebeu água potável via oral (v.o.) e o grupo DT recebeu o extrato aquoso da casca de *Handroanthus heptaphyllus* (150 mg/kg, v.o.) por quatro semanas. O peso, a glicemia, o consumo de água e de ração foram monitorados semanalmente. Os animais foram mortos ao final do estudo para coleta do plasma para verificação dos níveis de triglicerídeos, colesterol total, HDL e avaliação de lipoperoxidação.

Indução do Diabetes

O quadro de diabetes foi induzido nos animais por meio da administração de Aloxano monohidrato (Sigma-Aldrich), via intraperitoneal (IP), na dose de 150 mg/Kg, após 12 horas de jejum. Nas primeiras 24 horas pós-indução os animais receberam água glicosada 10%. Setenta e duas (72) horas após a administração de Aloxano monohidrato, foi verificada a glicemia dos animais, sendo considerados diabéticos os animais com níveis glicêmicos ≥ 200 mg dL⁻¹.

Coleta da planta

As cascas de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (Bignoniaceae), conhecido como Ipê roxo, foram coletadas no município de Ijuí (Rio Grande do Sul, Brasil, latitude 28°23'16" sul e a uma longitude 53°54'53" oeste, 328 metros do nível do mar), no campus da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul/ UNIJUÍ, no período de outono, e identificadas pela Curadora do Herbário Rogério Bueno da UNIJUI. A exsiccata da planta encontra-se depositada no

Herbário Rogério Bueno – UNIJUÍ e seu respectivo número de registro é 6378. Parte da planta coletada foi levada ao Laboratório de Ensaios Biológicos (LEBio-UNIJUÍ) para a realização da decocção e tratamento dos animais, e outra parte foi levada para o Laboratório de Pesquisa em Química (LAPEQ-UNIJUÍ) onde foram secas em estufa à 35 °C com ar circulante, desidratado e moído em moinho de facas.

Preparação e tratamento com o extrato aquoso

O tratamento foi desenvolvido com base em estudo piloto e nos estudos de Peglow & Velloso (2002). Calculou-se o valor da dose de extrato aquoso para humanos correlacionando-a ao peso do animal, estabelecendo como dose terapêutica o valor de 150 mg/Kg. As cascas secas e moídas de *Handroanthus heptaphyllus* foram submetidas ao processo de decocção em água (1,5 g:100 mL), aquecidas até temperatura de ebulição (100 °C), e mantidas em decocção por cinco minutos. Escolheu-se o processo de decocção a fim de mimetizar a forma de utilização do extrato aquoso desta planta pela população. O extrato aquoso foi preparado diariamente durante as quatro semanas de estudo e administrado por gavagem imediatamente após o preparo, o volume administrado nos animais foi calculado levando em consideração a proporção de extrato seco em relação ao peso corporal (1 mL/100 g de peso corpóreo).

Peso corpóreo, consumo de água e ração

O peso corpóreo dos animais foi monitorado semanalmente para ajuste do volume de extrato aquoso administrado. O consumo de ração e água foi aferido três vezes por semana, durante todo o período de estudo.

Perfil Glicêmico, Lipídico e Risco aterosclerótico

A glicemia foi monitorada três vezes por semana, aferida com Glicosímetro Optium Xceed, com punção da parte distal da cauda dos ratos, após jejum de 12 horas. A escolha deste método está de acordo com as orientações para monitoramento frequente da glicemia, apresenta um resultado preciso e confiável com o menor volume de amostra e menor estresse nos animais (Bock et al., 2015; Danieletto, 2011). O perfil lipídico, relativo à concentração de triglicerídeos (TRI), colesterol total (CT) e fração de lipoproteína de alta densidade (HDL), foi realizado ao final do estudo por meio de análise enzimática colorimétrica, com a utilização dos Kits de análise Labtest Diagnóstica SA (Triglicérides Liquiform – Ref.87,

Colesterol Liquiform – Ref.76 e Colesterol HDL – Ref. 13, respectivamente). A leitura foi realizada por espectrofotometria (espectrofotômetro UV Vis - Metrolab 1700) em comprimentos de onda indicado segundo protocolo de procedimento de análise dos Kits (TRI – 505nm, CT – 500nm, HDL – 500nm). O Índice de LDL (indLDL) foi calculado pela divisão entre níveis de TRI/HDL, indicando alta probabilidade (indLDL > 5), potencial intermediário (indLDL entre 3,5 e 5,0) ou baixa probabilidade (indLDL ≤ 3,5) de risco para o desenvolvimento de doença aterosclerótica (Friedewald et al., 1972; Terra & Costa, 2008).

Teste de Tolerância à Glicose (GTT)

Após as quatro semanas de tratamento, os animais foram submetidos ao GTT, após jejum alimentar de 12 horas e 24 horas após a última administração do extrato aquoso. Realizou-se a verificação da glicemia antes (T=0) e nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração de solução de glicose a 80%, na dose de 1 g/Kg, via IP.

Lipoperoxidação plasmática e tecidual

Ao final do estudo os animais foram mortos por decaptação para coleta de plasma e dos seguintes tecidos: pâncreas, fígado, rim e músculo esquelético (gastrocnêmio e soléio). Os tecidos foram homogeneizados em tampão fosfato de potássio (K_{pi}, pH 7,4). A concentração de proteínas nas amostras foi determinada por espectrofotometria através do método de Bradford (1976) a 595 nm, usando curva padrão de albumina (pontos de 0,04 – 3,0 mg mL⁻¹).

A lipoperoxidação foi realizada utilizando o método de TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), (Buege & Aust, 1978) por espectrofotometria através do espectrofotômetro UV Vis (Metrolab 1700), em 535nm. A concentração de MDA formada está expressa em µmol de malonaldeído (MDA) por mg de proteína (µmol MDA/mg Proteína).

Preparação do extrato e identificação da presença de flavonoides em *Handroanthus heptaphyllus*

Para preparar o extrato aquoso (decocção), uma parte das cascas em pó seco (100 g) foi extraída em água destilada (cozidos em água durante 5 minutos) na relação de 1:5 (m/v). As cascas foram moídas com base em metodologias clássicas propostas para identificação de compostos polifenólicos (Evans, 2009; Wagner & Bladt, 2001).

A solução resultante foi liofilizada para pó fino seco obtendo-se um extrato aquoso bruto (15,48 g). Uma parte do extrato aquoso bruto (2 g) foi adicionado a 15 mL de etanol 75%, cozidos em

água durante 5 minutos na relação de 1:5 (m/v). A mistura foi, em seguida, resfriada à temperatura ambiente (25 °C) e filtrada em papel filtro, sendo o resíduo descartado. A solução resultante foi liofilizada para pó fino seco obtendo-se o extrato. Este foi diluído em água destilada (1:5) (Solução A), para as seguintes análises: a) em uma amostra da solução A, adicionou-se 10µL de cloreto de ferro III ($\text{FeCl}_{3(\text{aq})}$) 2%. A variação da coloração entre verde escura intensa, amarelo-castanho e violeta, ocorre de acordo com o tipo de composto flavonoídico; b) adicionou-se a 5 mL de extrato uma alíquota de 20µL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 5%. A coloração amarela indica presença de flavonoides; c) adicionou-se 3,0 mL do extrato, 200 mg de zinco metálico e 1,0 mL de ácido clorídrico concentrado. O resultado positivo pode ser visualizado pelo surgimento de coloração vermelha (reação de PEW); d) adicionou-se 3,0 mL do extrato, 200 mg de magnésio metálico, 1,0 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl). A coloração rósea-avermelhada indica presença de flavonóis, violeta indica flavanonas e laranja flavonas (reação de Cianidina ou Shinod) (Duke, 2000).

Outra porção do extrato bruto aquoso (10 g), foi extraída, quatro vezes (4 x) com acetato de etila (AcOEt), à temperatura ambiente. O extrato de AcOEt foi filtrado e concentrado em rota-evaporador. Para remoção de resíduos de solvente, o extrato foi submetido ao fluxo de nitrogênio ($\text{N}_{2(\text{g})}$) até massa constante. Foi armazenado em geladeira, à 4 °C, até o momento dos testes. O extrato AcOEt obtido foi analisado, separadamente, por Cromatografia Camada Delgada (CCD).

Para a análise do perfil cromatográfico utilizou-se cromatoplasmas de sílica gel 60 F254 (Merck), cuba para eluição, fase móvel, câmara com lâmpada UV (ultravioleta 254nm- 365nm) e reagentes reveladores gerais e específicos: cloreto férrico - solução a 2% em etanol e o extrato foi dissolvido em solvente (9:1) AcOEt : H_2O para obter uma concentração 10 mg mL^{-1} . Foram testadas as misturas de solventes (eluentes) para flavonoides: Tolueno/acetato de etila/ácido fórmico (5:4:1); Acetato de etila/ácido fórmico/água (90:5:5); Acetato de etila/ácido fórmico/ácido acético glacial/água (100:11:11:26) (Wagner & Bladt, 2001) As cromatoplasmas foram analisadas inicialmente através de UV e posteriormente reveladas com solução de cloreto férrico a 2% e reagente NP-PEG.

Análise Estatística

Utilizou-se o programa Graph Pad 3.0, sendo os resultados analisados por Teste t de Student considerando nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$), expressos como médias \pm desvio padrão.

RESULTADOS

Os extratos da casca de *Handroanthus heptaphyllus*, avaliados através de testes químicos preliminares e de CCD, indicaram a presença de compostos polifenólicos pertencentes à subclasse dos flavonoides. Pelo método de Shinoda, foi obtida a coloração alaranjada, indicando a presença de flavonas. Com hidróxido de sódio, a reação apresentou coloração amarelada, sugerindo a presença de flavonoides (Evans, 2009).

A análise através de CCD evidenciou a presença, nos extratos, de bandas características de substâncias com sistemas conjugadas (cromóforos) que indicaram a presença de compostos fenólicos. A revelação com cloreto férrico e NP/PEG mostrou que as principais manchas das cromatoplasmas produziram, respectivamente, cores verde escuro e amarela, sugerindo a presença de flavonoides na amostra analisada. Uma vez que a presença de compostos fenólicos, dentre eles os flavonoides, indica atividade antioxidante (Pietta, 2000), o extrato aquoso da casca de *Handroanthus heptaphyllus* mostra-se como uma possível alternativa para o uso popular terapêutico em indivíduos com doenças metabólicas, como o DM, que apresenta importante inferência do estresse oxidativo em sua patogênese (Ullah et al., 2015).

Antes de iniciar o tratamento (IND), os animais apresentaram níveis glicêmicos de jejum normais para a espécie, de $70 \pm 4,2$ mg dL^{-1} ($T=0$ da Figura 1A). Conforme esperado, a administração de Aloxano (IP; 150 mg/Kg) elevou a glicemia de jejum para valores superiores à 200 mg dL^{-1} (Figura 1A). Após a confirmação do quadro hiperglicêmico os animais foram tratados com o extrato aquoso das cascas de *Handroanthus heptaphyllus* (150 mg/Kg) por quatro semanas, o que resultou em redução da glicemia de jejum a partir da 3ª semana de tratamento (Figura 1A). Além disso, observou-se redução da área sob a curva, relativa aos valores da glicemia de jejum aferidos ao longo do tempo de tratamento no grupo de animais diabéticos tratados com o extrato aquoso (Figura 1B).

As concentrações plasmáticas de colesterol total e de triglicerídeos apresentaram-se elevadas, quando comparadas aos valores normais estabelecidos para esta espécie, em consequência do diabetes mellitus induzido (Dantas et al., 2006; Santos et al., 2010). Quanto aos níveis de HDL, os animais não apresentaram alterações quando comparados aos valores de referência para a espécie (Dantas et al., 2006; Santos et al., 2010). O tratamento com o extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus*, neste caso, foi capaz de diminuir os triglicerídeos plasmáticos (Tabela 1).

O índice de LDL (indLDL) dos animais diabéticos que receberam tratamento (DT) foi menor

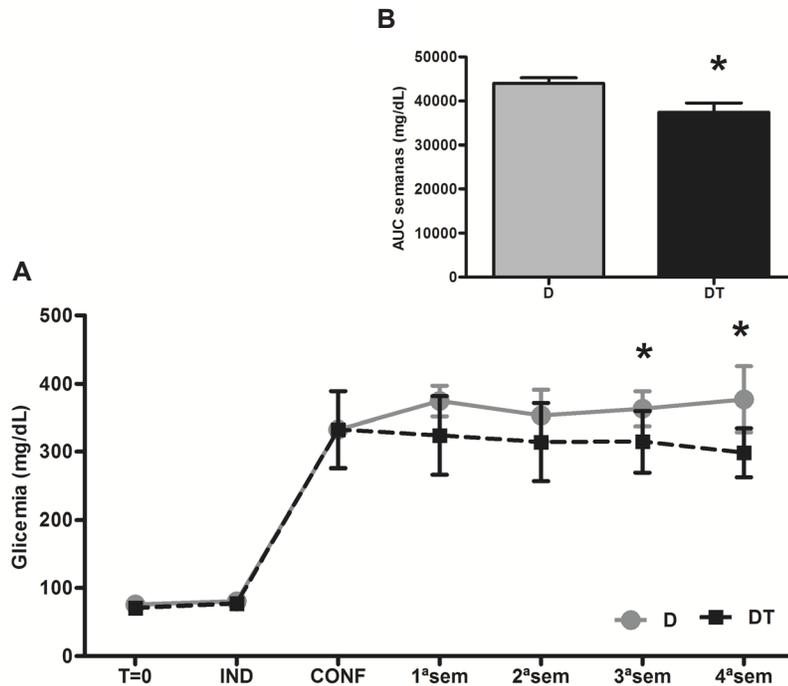


FIGURA 1. A: Níveis glicêmicos dos animais ao longo do experimento, desde o tempo zero (antes do início da intervenção) até o final do tratamento com o extrato aquoso de *H. heptaphyllus* na dose de 150mg/Kg durante quatro semanas. Teste t de Student, *Diferença entre DT vs D na 3ª sem ($p=0,0455$) e na 4ª sem ($p=0,0097$). **B:** Área sob a curva da glicemia durante o tratamento com o extrato aquoso de *H. heptaphyllus*. Teste T Student, *Diferença entre DT vs D ($p=0,01731$). Dados apresentados como média \pm desvio padrão, $n=6$ por grupo.

TABELA 1. Lipídeos plasmáticos dos animais diabéticos e diabéticos tratados com o extrato aquoso de *H. heptaphyllus* (150mg/Kg) ao final das 4 semanas de tratamento

Grupo	Triglicerídeos	Colesterol Total	HDL
D	167,17 \pm 28,63	99,47 \pm 16,71	37,92 \pm 5,24
DT	113,26 \pm 19,37 *	85,17 \pm 7,19	43,62 \pm 6,41

Teste t de Student, *Diferença entre DT vs D em Triglicerídeos ($p=0,0082$); Colesterol Total ($p=0,1168$); HDL ($p=0,1623$). Dados apresentados como média \pm desvio padrão, $n=5$ por grupo.

em relação ao dos animais diabéticos não tratados (D) (Tabela 2), indicando baixa probabilidade para o desenvolvimento de aterosclerose. Este índice prediz a presença de LDL pequenas e densas no sangue e relaciona o nível desta lipoproteína ao risco do desenvolvimento de doenças ateroscleróticas e cardiovasculares (Friedewald et al., 1972; Terra & Costa, 2008).

Quanto à resposta ao teste de tolerância à glicose, realizado ao final de quatro semanas de tratamento (Figura 2A), observa-se que os animais diabéticos tratados com o extrato aquoso de *H. heptaphyllus* apresentam melhor resposta glicêmica frente à sobrecarga de glicose, conforme Figura 2B.

O tratamento não alterou as variáveis de ganho de peso e consumo de ração (Figuras 3A

e 3B), no entanto, produziu redução no consumo de água a partir da terceira semana de tratamento (Figura 3C).

O tratamento com o extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* não alterou os níveis de lipoperoxidação no plasma ($p=0,082$), no pâncreas ($p=0,2486$), no fígado ($p=0,1206$), no rim ($p=0,1164$), no músculo gastrocnêmio ($p=0,9228$) e sóleo ($p=0,9013$) quando comparado ao grupo diabético não tratado (Figura 4).

DISCUSSÃO

Neste estudo foi investigada a presença de compostos flavonoides nas cascas de *Handroanthus heptaphyllus* e o efeito do extrato aquoso das cascas no tratamento de animais diabéticos. As plantas

TABELA 2. Índice de LDL dos animais em experimento

Grupo	Índice LDL	Risco de desenvolvimento de doença aterosclerótica
D	4,47 ± 1,06	Potencial intermediário
DT	2,68 ± 0,79 *	Baixa probabilidade

Teste t de Student, *Diferença entre DT vs D (p=0,0164). Dados apresentados como média ± desvio padrão, n=5 por grupo (Friedewald et al., 1972; Terra & Costa, 2008).

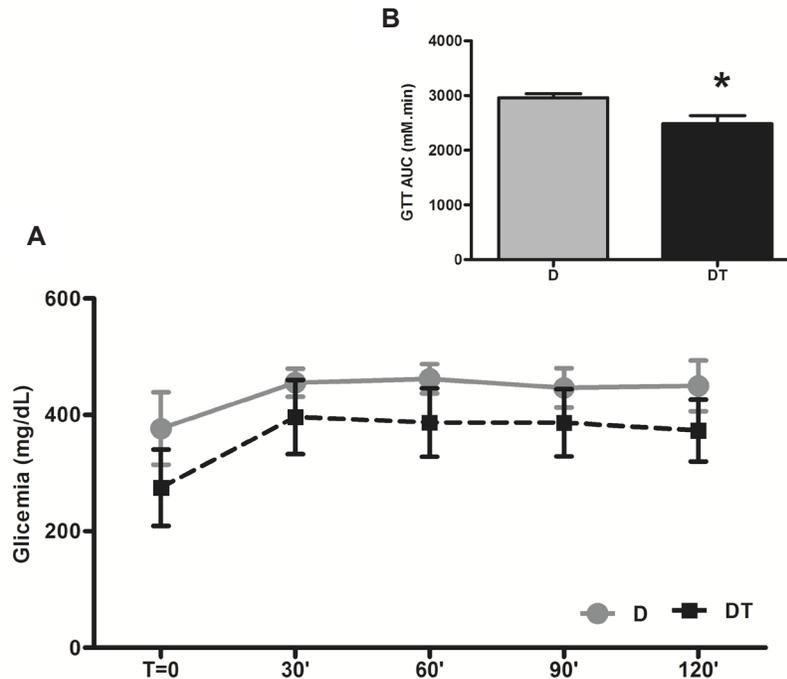


FIGURA 2. A: Teste de Tolerância a Glicose (GTT) aplicado nos animais em experimento na 4ª semana após o início do tratamento com o extrato aquoso de *H. heptaphyllus* na dose de 150mg/Kg. Teste t de Student, T=0 (p=0,9172); T=30' (p=0,0524); T=60' (p=0,0842); T=90' (p=0,2685); T=120' (p=0,6655). **B:** Área sob a curva da glicemia durante o GTT. Teste T Student, *Diferença entre DT vs D (p=0,022). Dados apresentados como média ± desvio padrão, n =6 por grupo.

com atividade antioxidante, como a *Handroanthus heptaphyllus*, têm sido utilizadas no tratamento de hiperlipidemia, hipercolesterolemia e aterosclerose (Pizzolo et al., 2011). A utilização do extrato aquoso das cascas de *Handroanthus heptaphyllus* teve como propósito mimetizar a forma mais comum de uso comum desta planta pela população, para tal, o efeito deste extrato foi investigado em modelo experimental de diabetes, considerando o uso popular desta planta como tratamento complementar do diabetes mellitus.

A investigação da presença de compostos flavonoídicos, realizada por meio de ensaio de cromatografia em camada delgada (CCD) e reações características de grupos fenólicos, especificamente flavonoides (Julião et al., 2003), sugere a presença de destes compostos no extrato aquoso das cascas de *Handroanthus heptaphyllus*, o que lhe confere potencial terapêutico antioxidante (Pietta,

2000). A menor lipoperoxidação pode se refletir em redução de possíveis complicações do diabetes mellitus, como o aumento da proliferação de células β-pancreáticas, regulação do metabolismo da glicose em hepatócitos, redução da resistência à insulina e redução da inflamação (Babu et al., 2013).

O estado de hiperglicemia, característico do diabetes, induz ao aumento na produção de radicais livres e a glicação não enzimática de proteínas, aumentando os níveis de marcadores de estresse oxidativo (Hamden et al., 2009).

Kakkar et al. (1998) demonstraram que durante a progressão do DM ocorre um aumento nos níveis de MDA no fígado e pâncreas. Neste estudo, contudo, os níveis de lipoperoxidação analisados no plasma e nos tecidos hepático, pancreático, renal e muscular não foram alterados pelo tratamento com o extrato aquoso da planta.

Na terceira semana de tratamento foi

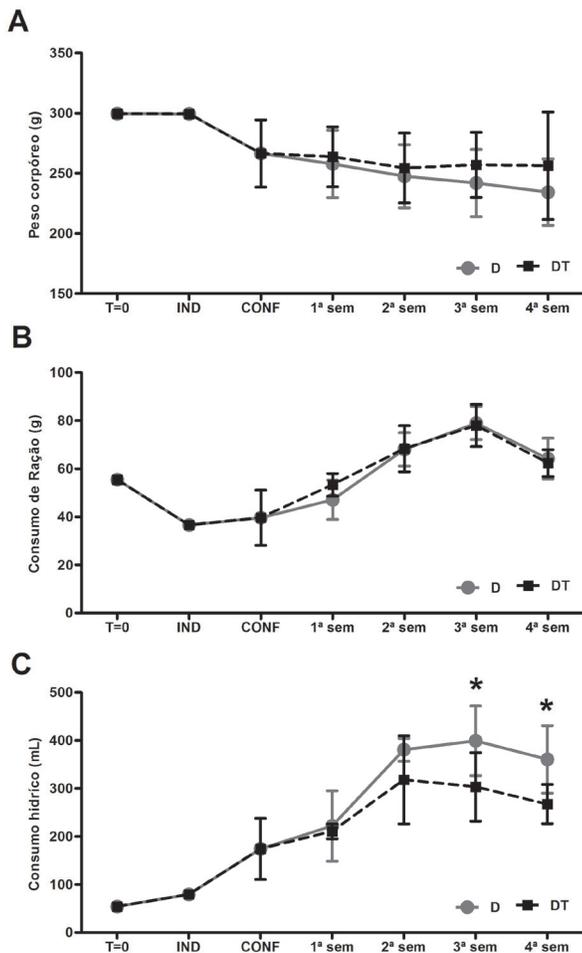


FIGURA 3. A: Peso Corporal dos animais em gramas (g) ao longo do estudo. **B:** Consumo de ração em gramas (g) pelos animais em experimento ao longo do estudo. **C:** Consumo hídrico em mililitros (mL) pelos animais em experimento ao longo do estudo. Teste T Student, *Diferença entre DT vs D na 3ª semana ($p=0,0431$) e na 4ª semana ($p=0,0187$). Dados apresentados como média \pm desvio padrão, $n=6$ por grupo.

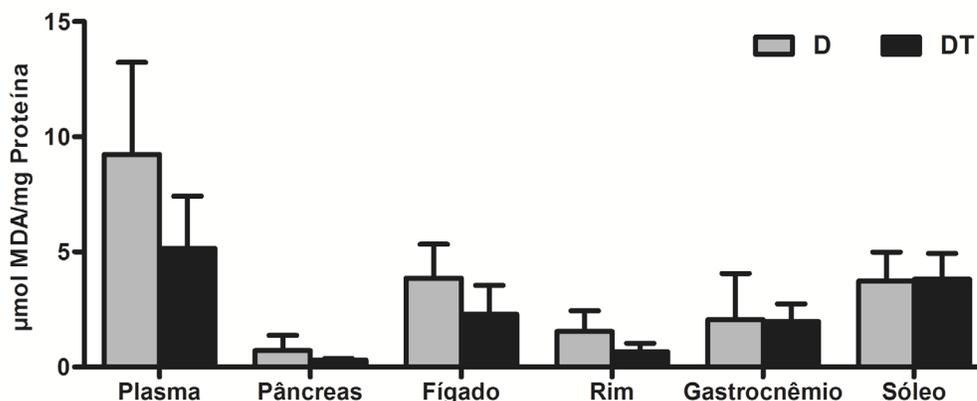


FIGURA 4. Níveis de lipoperoxidação plasmática e tecidual dos animais diabéticos (D) e diabéticos tratados (DT) com o extrato aquoso de *H. heptaphyllus* (150mg dL^{-1}). Teste T Student, Dados apresentados como média \pm desvio padrão, $n=6$ por grupo. Valores de μmol de MDA: Plasma $\times 100$, Pâncreas $\times 10.000$, Fígado $\times 10$.

observada a melhora no perfil glicêmico dos animais tratados, com redução da glicemia de jejum e melhor resposta ao teste de tolerância à glicose, este último realizado na quarta semana de tratamento, indicando benefícios do uso desta planta no controle glicêmico e, possivelmente, sobre a perda renal de líquidos, uma vez que, foi observado uma diminuição no consumo hídrico pelos animais que receberam o extrato aquoso (Carpinelli, 2009; Lerco et al., 2003; Widmaier et al., 2006).

Não foram observados efeitos do tratamento sobre o consumo de ração e peso corporal dos animais. Porém, no perfil lipídico observa-se redução da concentração de triglicerídeos, indicando uma ação benéfica deste extrato aquoso sobre a dislipidemia, geralmente associada ao diabetes (Kraus, 2004).

Considerando os valores do índice de LDL obtidos neste estudo, pode-se sugerir que os animais diabéticos investigados apresentam potencial intermediário para o desenvolvimento de doença aterosclerótica (Friedewald et al., 1972) e de que o tratamento com o extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* diminuiu a probabilidade para o desenvolvimento de aterosclerose. O principal fator de risco associado à progressão de lesões da aterosclerose são os altos níveis de colesterol e triglicerídeos e, portanto, terapias relacionadas ao tratamento de hiperlipidemia, como a usada neste estudo, podem se constituir em opção terapêutica alternativa para a desaceleração/redução do risco de aterogênese em animais diabéticos (Schoenhagen & Tuzcu, 2008).

A capacidade das plantas em combater a hiperglicemia e hiperlipidemia é atribuída a vários fatores, entre os quais a resistência à peroxidação de lipídios, a correção da desordem metabólica causada em lipídios e/ou proteínas e a eliminação de radicais livres por meio de compostos antioxidantes (Huo et

al., 2003; Li et al., 2004; Pereira, 1997; Said et al., 2002), como por exemplo, os flavonoides. Nossos estudos indicam a presença destes compostos no extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* conferindo ao mesmo potencial terapêutico de disfunções lipídicas associadas ao DM.

Por outro lado, estudos têm demonstrado que além das propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias de *Handroanthus heptaphyllus* (Byeon et al., 2008) esta planta também apresenta constituintes com atividade biológica pró-oxidativa, como o Lapachol, com a capacidade de indução ao estresse oxidativo (Barbosa et al., 2010). A presença dos flavonoides e demais compostos fenólicos no extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* evidencia, além do seu potencial antioxidante, benefícios sobre a homeostase glicêmica e lipídica indicados neste estudo, contudo, são necessários estudos acerca do efeito citotóxico dos compostos pró-oxidantes da planta.

CONCLUSÃO

O tratamento com o extrato aquoso de ipê roxo apresentou-se eficiente em promover a diminuição da glicemia de jejum a partir da terceira semana de tratamento, além de melhorar a resposta à sobrecarga de glicose. A redução da concentração de triglicerídeos plasmáticos e do índice de LDL sugere um potencial terapêutico da planta na redução do risco de desenvolvimento da aterosclerose.

REFERÊNCIAS

- BABU, P.V.A. et al. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n.11, p.1777-1789, 2013.
- BARBOSA, K.B.F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutricao**, v.23, n.4, p.629-643, 2010.
- BARBOSA-FILHO, J.M. et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, p.392-413, 2005.
- BOCK, P.M. et al. Oral supplementations with L-glutamine or L-alanyl-L-glutamine do not change metabolic alterations induced by long-term high-fat diet in the B6.129F2/J mouse model of insulin resistance. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.24, n.11, p.1777-1789, 2015.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v.72, p.248-54, 1976.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v.52, p.302-310, 1978.
- BYEON, S.E. et al. In vitro and in vivo anti-inflammatory effects of taheebo, a water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Journal of ethnopharmacology**, v.119, n.1, p.145-52, 2008.
- CARPINELLI, A. . Pâncreas Endócrino. In: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia Básica**. 1ed. Rio de Janeiro/RJ: Guanabara Koogan, 2009. p.765-777.
- DANIELETTO, C.F. Análise Comparativa entre Aparelhos de Pressão Arterial (Digital e Aneróide) e entre Glicosímetros de Diferentes Marcas na Detecção de Pacientes Hipertensos e Diabéticos. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.11, n.4, p.525-531, 2011.
- DANTAS, J.A. et al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do , Estado do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v.28, n.2, p.165-170, 2006.
- DUKE, J. . **Handbook of Phytochemical of Constituents of Gras Herbs and Other Economic Plants**. 1.ed. USA: CRC Press, 2000. 654p.
- EVANS, W.C. **Trease and Evans Pharmacognosy**. 16.ed. Edinburgh/New York: Saunders/Elsevier, 2009. 616p.
- FRIEDEWALD, W.T. et al. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v.18, n.6, p.499-502, 1972.
- GROSE, S.O.; OLMSTEAD, R.G. Taxonomic Revisions in the Polyphyletic Genus *Tabebuia* s. l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany**, v.32, n.3, p.660-670, 2007.
- HAMDEN, K. et al. Combined vitamins (C and E) and insulin improve oxidative stress and pancreatic and hepatic injury in alloxan diabetic rats. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomédecine & pharmacothérapie**, v.63, n.2, p.95-99, 2009.
- HUO, Y.; et al. Prevention of diet-induced type 2 diabetes in the C57BL/6J mouse model by an antidiabetic herbal formula. **Phytotherapy research : PTR**, v.17, n.1, p.48-55, 2003.
- ISHIGE, K.; et al. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. **Free radical biology & medicine**, v.30, n.4, p.433-446, 2001.
- JULIÃO, L.S. et al. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p.36-38, 2003.
- KAKKAR, R. et al. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. **Clinical Science**, v.94, n.6, p.623-32, 1998.
- KRAUSS, R.M. Lipids and Lipoproteins in Patients With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, v.27, n.6, p.1496-1504, 2004.
- LERCO, M. et al. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus , induzido pela aloxana em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.18, n.2, p.132-142, 2003.
- LI, W.L. et al. Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **Journal of ethnopharmacology**, v.92, n.1, p.1-21, 2004.
- LOPES, R.M. et al. Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.3, p.18-22, 2000.

- LORENZI, H.; MATOS, F. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2.ed. Nova Odessa/SP: Insituto Plantarum, 2008. 544p.
- NETO, G.G.; MORAIS, R.G.DE. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, v.17, n.4, p.561-584, 2003.
- PEGLOW, K.; VELLOSO, C. A groecológica Por que e como utilizar plantas medicinais. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v.3, n.3, p.67-68, 2002.
- PEREIRA, N. A. Plants as hypoglycemic agents. **Ciência cultura (São Paulo)**, v.49, n.5/6, p.354-358, 1997.
- PIETTA, P.G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, n.7, p.1035-1042, 2000.
- PIZZIOLO, V.R. et al. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: Uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.98-109, 2011.
- SAID, O. et al. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. **Journal of ethnopharmacology**, v.83, n.3, p.251-265, 2002.
- SANTOS, M.R.V. et al. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia plena**, v.6, n.10, p.1-6, 2010.
- SCHOENHAGEN, P.; TUZCU, E.M. Métodos por imagem da aterosclerose em estudos de progressão/regressão: marcador substituto ou janela direta para o processo patológico da aterosclerose? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.91, n.6, p.418-431, 2008.
- SIMÕES, C.M.O. et al. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 5. ed. Porto Alegre/RS: UFRGS, 1998. 173p.
- SIMÕES, C.M.O.. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/USFC, 1999. 821p.
- TERRA, N.L.; COSTA, P.M. **Previna-se da Aterosclerose**. 1.ed. Porto Alegre/RS: EDIPUCRS, 2008. 63p.
- ULLAH, A.; et al. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, s/n. 2015. Disponível em< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016415000766>> Acesso em: 20 nov. 2015.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography atlas**. 2. ed. Berlin: Springer, 2001. 384p.
- WIDMAIER, E.P. et al. Regulação do metabolismo orgânico e balanço energético. In: WIDMAIER, E.P. et al. **Fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais**. 9.ed. Rio de Janeiro/RJ: Guanabara Koogan, 2006. p.581-616.